

# Nachweismethoden zum Schadstoffabbau in Altlasten – Erfahrungen aus 12 Jahren Praxisanwendung

*Dr. Heinrich Eisenmann, Isodetect GmbH, München*

*Dr. Anko Fischer, Isodetect GmbH, Leipzig*

## Inhaltübersicht

	Rdnr.
1 Historische Entwicklung von Sanierungsstrategien und Monitoringverfahren zum Schadstoffabbau	1 – 10
1.1 Von Natural Attenuation zum Treatment Train	3 – 6
1.2 Fortschritte bei Isotopenmethoden	7 – 10
2 Abbaumonitoring in verschiedenen Sanierungsphasen	11 – 22
3 Quantitatives und semiquantitatives Abbaumonitoring <i>in situ</i>	23 – 55
3.1 Isotopenfraktionierung von Schadstoffen ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , $^2\text{H}/^1\text{H}$ , $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$ )	27 – 44
3.2 In <i>situ</i> Mikrokosmen (BACTRAPS)	45 – 47
3.3 Molekulargenetische Analysen (qPCR)	48 – 55
4 Laboruntersuchungen	56 – 64
4.1 Abbauversuche zur Vorbereitung von <i>in situ</i> Sanierungsmaßnahmen	56 – 60
4.2 Mineralisierung von Schadstoffen zu $\text{CO}_2$	61 – 64
5 Qualitative Nachweisverfahren	65 – 87
5.1 Metabolitenanalysen	66 – 68
5.2 Enantiomer-Analysen	69 – 71
5.3 Isotopenfraktionierung von Redoxindikatoren	72 – 76
5.4 Elektronenbilanzierung potenzieller Redoxreaktionen	77 – 80
5.5 GC/MS-Screening	81 – 87
6 Anwendungshäufigkeit der Untersuchungsmethoden	88 – 102
6.1 Schadstoffspektrum und Sanierungskonzepte	88 – 90
6.2 Kostenrahmen	91 – 94
6.3 Methodenspektrum	95 – 98
6.4 Mehrmethodenansätze	99 – 102
7 Mehrmethodenansatz – zwei Praxisbeispiele	103 – 118
7.1 Abbau von Kraftstoffadditiven (ETBE)	103 – 110
7.2 Abbau chlorierter Ethene	111 – 118
8 Zusammenfassung und Zukunftsperspektiven	119 – 125

**A**  
**Abkürzungsverzeichnis****B**  
**Literatur****Schlagwortübersicht nach Rdnr.**

- δ‰-Einheit 30  
BACTRAPS 45 – 47, 103 – 105  
Batchansätze 56  
Chlor-Isotopenanalyse 40  
Detailuntersuchung 16  
Elektronenbilanzierung 77 – 79  
ENA enhanced natural attenuation 3  
Enantiomere 69 – 71  
Erfolgskontrolle  
Sanierungsmaßnahmen 20  
ETBE-Kontamination  
Mehrmethodenansatz 103 – 105  
Fingerprint 41, 81  
funktionelle Genmarker 50 f.  
GC/MS-Screening 81 – 83  
Isotopenanreicherungsfaktor 29  
Isotopenfraktionierung Schadstoffe 28  
Isotopischer Fingerabdruck 41  
Kohlenstoff-Isotopenanalyse 27 – 29,  
45 – 47, 72 – 74, 92, 95 – 99, 103 – 105,  
111 – 113  
Komponentenspezifische  
Isotopenanalyse CSIA 27 – 29  
Kontaminationspektrum 88  
Laborabbauversuche 56 – 58, 111 – 113  
LCKW-Kontamination  
Mehrmethodenansatz 111 – 113
- LCKW-Summenisotopenwert 39  
Mehrmethodenansatz 16, 98 – 100,  
103 – 105, 111 – 113  
Messstellenauswahl 42 – 44  
Metabolitenanalyse 66 – 68  
MNA kombiniert 89  
MNA monitored natural attenuation 3  
Monitoringkosten 91 – 93  
Monitoringmethoden  
Anwendungshäufigkeit 95 – 97  
Nachsorge 21  
Ölschäden Abbaugrad und Alterung  
81 – 83  
Orientierende Untersuchung 13  
Prozentuale Biodegradation 33  
qPCR-Analyse 48 – 50, 111 – 113  
Redoxindikatoren 72 – 74  
Sanierungskonzepte 89  
Sanierungszonen 18  
Schadstoffmineralisierung 61 – 63,  
111 – 113  
taxonomische Genmarker 49  
Treatment Train 5  
Wasserstoff-Isotopenanalyse 40,  
103 – 105

**Zusammenfassung**

Die Berücksichtigung des biologischen Schadstoffabbaus war in den vergangenen zwei Dekaden ein vielbeachtetes Thema der Altlastenerkundung. Häufige Zielstellungen sind die orientierende oder die detaillierte Bewertung des natürlichen Schadstoffabbaus, die Erfolgskontrolle von *in situ* Sanierungsmaßnahmen oder die forensische Aufklärung von Schadensereignissen.

nissen. Bis heute werden der Untersuchungsaufwand, die erforderlichen Methoden und die Einbindung der gewonnenen Informationen in schlüssige und effiziente Sanierungskonzepte diskutiert.

Der folgende Übersichtsartikel fasst Praxiserfahrungen aus zwölf Jahren Altlastenmonitoring zusammen. Er erklärt die Prinzipien von zehn wichtigen Untersuchungsverfahren zum Schadstoffabbau und stellt ihre Anwendungshäufigkeit und Praxisrelevanz in bestimmten Sanierungsphasen und -konzepten dar.

Statistisch ausgewertet wurden Untersuchungen, die zwischen 2006 und 2017 an 233 Standorten durchgeführt wurden. Schadstoffspezifische Schlüsselverfahren waren für LCKW/BTEX/MTBE-Kontaminationen die komponentenspezifische  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenanalyse sowie für PAK-Kontaminationen Metabolitenanalysen bzw. BACTRAPS. Eine Kombination mit weiteren unabhängigen Nachweisverfahren (z. B. qPCR, Labortests mit  $^{13}\text{C}$ -markierten Zielsubstanzen) oder ein wiederholtes  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenmonitoring wurde dann durchgeführt, wenn der natürliche oder aktivierte Schadstoffabbau als wesentlicher Bestandteil eines Sanierungskonzepts berücksichtigt werden konnte. Dies traf für knapp die Hälfte der untersuchten Standorte zu. Fast immer wurden an den Standorten auch aktive Sanierungsmaßnahmen (oft eine *in situ* Stimulierung des vorhandenen Abbaupotenzials) durchgeführt.

## 1 Historische Entwicklung von Sanierungsstrategien und Monitoringverfahren zum Schadstoffabbau

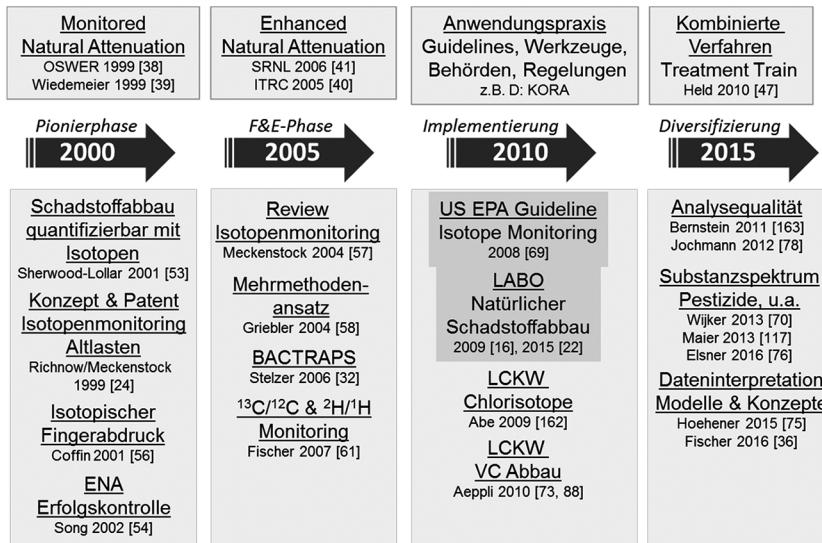
Die **Einbindung des natürlichen oder stimulierten Schadstoffabbaus in Sanierungstechnologien** war in den vergangenen 20 Jahren mit Innovationsauf konzeptueller und methodischer Ebene verbunden [1–23]. Von der prinzipiellen Idee über die Entwicklung/Validierung von Monitoringmethoden bis zur regulatorischen Implementierung und schließlich zur erfahrungsbasierten, flexiblen Sanierungspraxis dauerte es etwa zwei Dekaden.

Die Entwicklung von Sanierungsverfahren, die *in situ* Abbauprozesse nutzen, und Untersuchungsmethoden, mit denen die Prozesse nachgewiesen werden können, lässt sich in **vier Phasen** einteilen (Abb. 1). In der Pionierphase (um 2000) wurden neue Konzepte und Monitoringmethoden auf wissenschaftlicher Ebene erarbeitet [1, 2, 24, 25]. Basierend auf diesen Ideen folgte ab ca. 2005 eine Periode intensiver Forschung, Entwicklung und Validierung [11, 26–32], deren Ergebnisse anschließend ( $\sim 2010$ ) mit Regelungen und Handlungsempfehlungen [15–23] in die Praxis [33] umgesetzt wurden. In der Folge mündeten die gewonnenen Erfahrungen in eine diversifizierte,

variable Anwendung des Know-Hows, wobei bis heute weitere Entwicklungsfortschritte erzielt werden [34–37].

### 1.1 Von Natural Attenuation zum Treatment Train

- 3 Die Idee zur Nutzung des natürlichen Schadstoffabbaus bei Grundwasser-Sanierungsfällen (*monitored natural attenuation, MNA*) wurde in den 1990er Jahren in den USA mit der sog. OSWER directive [38] verbreitet, welche auf den wissenschaftlichen Konzepten von Wiedemeier et al. 1999 [39] aufbaute. Relativ rasch kam der Ansatz hinzu, die Biodegradation durch die *in situ* Zugabe von stimulierenden Substanzen zu beschleunigen (*enhanced natural attenuation, ENA*; [40, 41]). Hierfür ist ein stichhaltiges Monitoring zur Erfolgskontrolle der aktivierten Abbauprozesse erforderlich [20, 42–43].
- 4 *Natural Attenuation* wurde in Deutschland zu einem Schlagwort, das heftige Diskussionen und Kontroversen („kontrolliertes Nichtstun“) auslöste [44]. Mit dem erfolgreichen Forschungsverbund KORA wurden methodische und vor allem auch regulatorische Grundlagen zur Implementierung des *in situ* Schadstoffabbaus in der Altlastensanierung geschaffen [13, 15]. Es entstanden Handlungsempfehlungen und Positionspapiere, die bis heute die wissenschaftliche und regulatorische Basis für die **Implementierung** vieler Sanierungskonzepte darstellen [3, 4, 6–8, 10, 13, 15, 16, 22, 23]. Umstritten ist die damals eingeführte Bevorzugung sog. aktiver Sanierungsmaßnahmen gegenüber dem Nachweis des natürlichen Schadstoffabbaus. Das alleinige Monitoring der Abbauprozesse reicht nur dann aus, wenn die Kosten einer aktiven Sanierung wesentlich höher wären. Dadurch ist eine Verhältnismäßigkeitsprüfung der potenziell anfallenden Sanierungskosten nötig [45].
- 5 KORA bewirkte einen erheblichen Entwicklungsschub für die Altlastensanierung in Deutschland und brachte eine Vielfalt neuer Sanierungsansätze sowie länderspezifische Richtlinien für deren Anwendung. In jüngster Zeit beruhigt sich diese Dynamik zugunsten etablierter, diversifizierter Verfahrensweisen, die den Erfahrungsschatz der Vorjahre effizient nutzen. Heute werden die vorhandenen Sanierungs- und Monitoringmethoden oft geschickt miteinander kombiniert. Der sog. **Treatment Train**, d.h. die sukzessive oder parallele Anwendung von mehreren *in situ* Sanierungstechnologien (inkl. *Natural Attenuation*) an einem Standort [46–48] beschreibt die vorläufig anspruchsvollste Entwicklungsphase in der Altlastensanierung.



**Abb. 1:** Entwicklungsperioden und Schlüsselpublikationen von Sanierungskonzepten (oben) und Isotopenmethoden (unten) zum Schadstoffabbau in Altlasten.

6

## 1.2 Fortschritte bei Isotopenmethoden

Die Pionierideen zu *Natural Attenuation* bewirkten intensive Forschungsaktivitäten zu **Monitoringverfahren**, welche den Schadstoffabbau stichhaltig nachweisen und möglichst quantitativ erfassen können. In kürzester Zeit wurden **Isotopenanalysen** als effizientes Werkzeug zum Nachweis und zur Quantifizierung von Abbauprozessen erkannt und entsprechende Monitoringverfahren entwickelt (Abb. 1, [24, 25, 49–54]), wobei auch die forensische Identifizierung von Schadensverursachern möglich wurde [49, 55, 56]. Den Wissensstand dieser Phase fassten Meckenstock et al. 2004 in einem Übersichtsartikel zusammen [57].

7

Im Rahmen von KORA gab es **Weiterentwicklungen**, welche z. B. die erstmalige Kombination von Isotopen- und Metabolitenanalysen umfassten [58]. Mit der Analyse mehrerer Isotopensignaturen ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  &  $^2\text{H}/^1\text{H}$  [59–62]) wurden Möglichkeiten zur Unterscheidung von Abbauprozessen geschaffen. Erstmals wurden auch *in situ* Mikrokosmen mit isotopenmarkierten Schadstoffen eingesetzt (BACTRAPS [29, 32]), die das Substanzspektrum

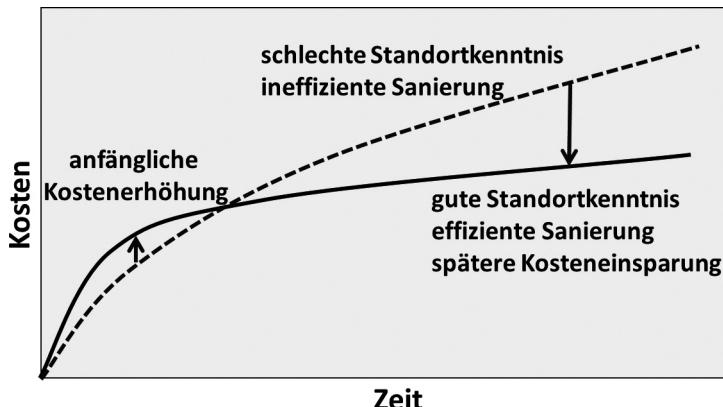
8

des Abbaunachweises erheblich erweiterten (z. B. für PAKs). Grundwassertracerversuche mit  ${}^2\text{H}$ -markierten Schadstoffen zeigten weitere Quantifizierungsmethoden des *in situ* Abbaus auf [28].

- 9 Die nun in mehreren Studien validierten Isotopenverfahren fanden rasch Eingang in zahlreiche **Handlungsempfehlungen**, wo sie als Schlüsselinstrument zur Bewertung des Schadstoffabbaus hervorgehoben wurden [4, 6, 7, 13, 15, 16, 19, 22, 23, 63–68]. Von großer Bedeutung im regulatorischen Kontext sind der (von weltweit führenden Isotopenexperten erstellte) Leitfaden der amerikanischen Umweltbehörde (US EPA 2008; [69]) sowie das Positionspapier der deutschen Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Bodenschutz (LABO, [6, 16] aktualisiert in 2015 [22]). Zugleich werden die Verfahren auf Forschungsebene weiter verbessert. Neuerungen gab es in jüngster Zeit insbesondere auf den Gebieten der Multielement-Isotopenanalyse [70–72], der quantitativen Interpretation von Isotopendaten [73–75], der Isotopenanalyse von Mikroschadstoffen [76] sowie dem Abbaumonitoring [62, 73, 88–89, 162] und der Chlorisotopenanalyse von LCKWs [163–165]. Der Anwendung von Isotopenuntersuchungen zur Bewertung von Schadstoffabbauprozessen in der Umwelt widmen sich im Detail auch einige Fachbücher [77, 78].
- 10 Die **parallelen Innovationen** in Sanierungskonzepten und Isotopenmethoden zum Schadstoffabbau in Altlasten erscheinen nahezu zwangsläufig. Beide Entwicklungsebenen haben sich gegenseitig immer wieder ergänzt (Abb. 1) und schlussendlich zu erheblichen Fortschritten in der Altlastensanierung geführt.

## 2 Abbaumonitoring in verschiedenen Sanierungsphasen

- 11 In der Sanierungspraxis stellt sich häufig die Frage nach dem **Erkundungsaufwand**, der in verschiedenen Sanierungsphasen für die Nutzung des Schadstoffabbaus erforderlich ist. Insbesondere in der Anfangsphase werden Einsparungen gewünscht, die später jedoch oft kontraproduktiv sind (Abb. 2). Genaue Kenntnisse der Schadstoffverteilung und der Transport- sowie Abbauprozesse in einer Schadstofffahne sind eine lohnende Investition in die spätere Auswahl und Dimensionierung von Sanierungsmaßnahmen. In der Regel kann dabei ein Mehrfaches der Erkundungskosten wieder eingespart werden [79, 80].

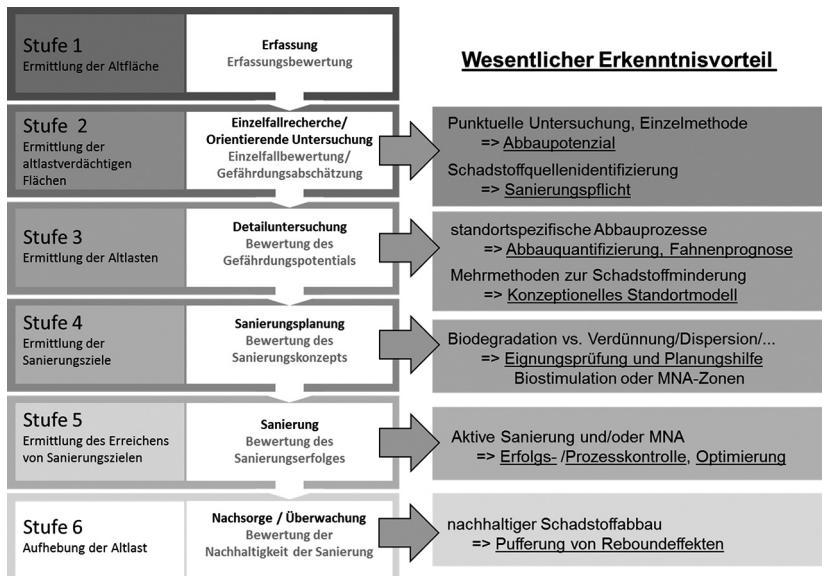


**Abb. 2:** Investitionseffekt anfänglich kostenaufwändiger Erkundungsmaßnahmen (durchgezogene Linie) auf die späteren Sanierungsausgaben (vgl. gestrichelte Linie bei mäßiger Standortkenntnis).

12

13

Häufig wird bereits in der **orientierenden Untersuchung** kontaminierte Standorte (Abb. 3, Stufe 2) das biologische Abbaupotenzial geprüft, um verschiedene Sanierungsoptionen im Rahmen der Gefährdungsabschätzung abzuklären. Ergänzend zu den Konzentrationen von Schadstoffen und Redoxindikatoren liefern punktuelle Untersuchungen zu Abbauprozessen (siehe Methodenbeschreibungen Kap. 3 bis 5) wegweisende Informationen zu möglichen Standortgegebenheiten, die sich in ein Sanierungskonzept einbinden lassen.



14 **Abb. 3:** Vorteile von Kenntnissen zum Schadstoffabbau und zu Schadstoffquellen in verschiedenen Stufen der Altlastensanierung (Vorlage aus [81]).

- 15 An Standorten mit multiplen Schadstoffquellen sind Abbauprosesse in der Regel schwerer zu erkennen, da eine heterogene Verteilung der Kontaminanten und eine Überlagerung von Einträgen vorliegt. Um die Sanierungspflicht zu klären, ist hier zumeist die frühzeitige Differenzierung der **Schadstoffquellen** und die forensische Zuordnung der Schadensverursacher ein wichtiges Erkundungsziel. Die entsprechenden Untersuchungen (z. B. Isotopenanalysen potenzieller Eintragsherde oder GC/MS-Screening) können meist effizient mit einem Abbaumonitoring verknüpft werden.
- 16 Die Erstellung eines konzeptionellen Standortmodells und die Bewertung des Gefährdungspotenzials sind die Hauptziele der **Detailuntersuchung** einer Altlast (Stufe 3). Hier ist ein ortszogenes Verständnis der Transport- und Abbauprozesse unerlässlich. Ausschließlich frachtbezogene Untersuchungen wie Immisionspumpversuche oder Konzentrationsmessungen entlang von Transekten reichen nicht aus, um verdünnende Prozesse von nachhaltigen, eliminierenden Abbauprozessen zu unterscheiden [6, 16, 22]. Diese entscheidende Anforderung an MNA- wie auch ENA-Konzepte kann nur durch gezielte Abbauuntersuchungen erfüllt werden. Um eine hinreichende

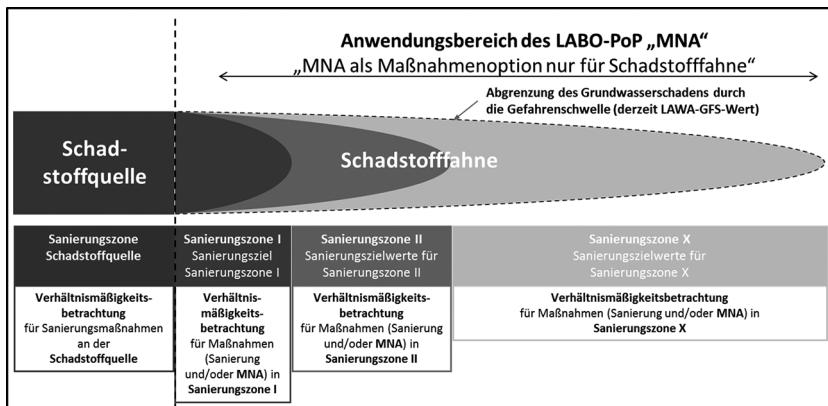
Prognose zur Entwicklung der Schadstofffahne zu erstellen (ausdehnend? stationär? schrumpfend?), sind belastbare, standort- und substanzspezifische Informationen zum Schadstoffabbau und -transport erforderlich. Inzwischen gibt es viele Erfolgsbeispiele, bei denen hierfür mehrere Monitoringmethoden kombiniert wurden [36–37, 42]. Der **Mehrmethodenansatz** (*multiple-line-of-evidence*) überzeugt durch die erfolgreiche Anwendung von mindestens zwei, voneinander unabhängigen Nachweisverfahren.

Der detaillierten Standorterkundung folgt die Entscheidung für eine **angemessene Sanierungstechnologie**. Oft haben sich in den letzten Jahren *in situ* Technologien (z. B. Air-Sparging, Injektion von Melasse oder Nanopartikeln) gegenüber den Reinigungsverfahren an der Oberfläche (z. B. *Pump-and-Treat*, Auskofferung) durchgesetzt. Inzwischen steht eine breite Reihe innovativer Verfahren zur Verfügung, die je nach Schadstoffspektrum flexible Anwendungsvarianten ermöglichen [17–18, 20]. Die Herausforderung besteht unter anderem darin, den idealen Mix aus abbaustimulierenden, emulgierenden und stabilisierenden Substanzen zu finden, der schließlich injiziert werden soll. Es sollte nicht nur der erste Abbauschritt der Schadstoffe, sondern deren vollständige Mineralisierung erreicht werden. Zur Planung dieser Ziele werden Labortests und manchmal lokal begrenzte Pilotversuche vorgeschaltet.

Ein weiterer Aspekt der Sanierungsplanung ist die räumliche und zeitliche Dimensionierung aktiver Reinigungsmaßnahmen. In der großen Mehrzahl der Standorte wird der Schadensherd möglichst entfernt oder zumindest abgesichert. In ein Sanierungskonzept muss jedoch auch die – oft weit ausgedehnte – Schadstofffahne einbezogen werden. Zur flexibleren Konzeption können an einem Standort verschiedene **Sanierungszonen** definiert werden, für die jeweils eigene Vorgehensweisen und Zielwerte planbar sind (Abb. 4). In der Praxis können so größere oder heterogene Grundwasserschäden effizient saniert werden, für die in bestimmten Bereichen ein intensiver Schadstoffabbau nachgewiesen wurde [22].

17

18



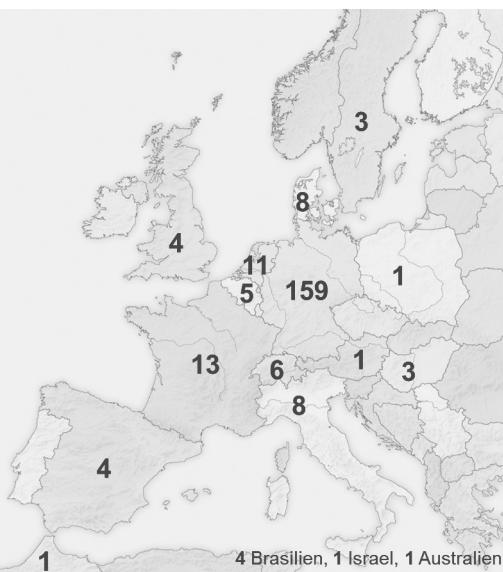
19 Abb. 4: Mögliche Differenzierung einer Altlast in Zonen mit spezifischen Zielwerten und Sanierungskonzepten (aus LABO 2015 [22]).

- 20 Die aktive Elimination von Schadstoffen im Schadensherd ist ein Prozess, der einer stichhaltigen **Erfolgskontrolle** bedarf. Insbesondere bei *in situ* Technologien ist es empfehlenswert, die erwarteten Abbauprozesse mit einer sorgfältigen Überwachung zu validieren. Ein sofortiger Rückgang von Schadstoffkonzentrationen nach Injektion abbaustimulierender Reagenzien ist oftmals auf einen Verdünnungseffekt zurückzuführen. Andererseits kann es durch die hydraulischen Effekte der Injektion zu einer Schadstofffreisetzung (Mobilisierung) kommen. Die Dynamik und kleinräumige Heterogenität der Schadstoffkonzentrationen bei *in situ* Sanierungsmaßnahmen wirkt deshalb manchmal verwirrend. Für die unmittelbare Überwachung wurden in den letzten Jahren schlüssige Monitoringkonzepte entwickelt, die vor allem auf qPCR- und Isotopenanalysen basieren [33, 62, 82, 166].
- 21 Die **Nachsorge** ist eine oft vernachlässigte Phase der Altlastenbearbeitung, obwohl es zahlreiche Erfahrungen mit unerwünschten Rebound-Effekten nach der Beendigung von Sanierungsmaßnahmen gibt [20, 167, 168]. Nachhaltige Sanierungskonzepte zeichnen sich durch eine umsichtige Rückfall-option aus. Dazu sollte der Beleg des Abbaupotenzials im Abstrom einer potenziell sanierten Schadstoffquelle gehören.
- 22 Zusammenfassend ist es empfehlenswert die biologische (oder chemische) **Degradation von Schadstoffen in jeder Sanierungsphase** zu beachten. Die frühzeitige Untersuchung der natürlichen Abbauprozesse in einer Schadstofffahne wird zu einer effizienten Auswahl, Dimensionierung und Kontrolle von aktiven Sanierungsmaßnahmen führen. Die Anwendung der Un-

tersuchungsmethoden richtet sich vor allem nach dem Schadstoffspektrum (LCKW, BTEX, MTBE, PAK, MKW) und den Zielsetzungen (quantitativer/qualitativer Nachweis, ausschließlich MNA oder MNA kombiniert mit aktiven Sanierungsmaßnahmen, Vorbereitung oder Erfolgskontrolle von ENA-Verfahren, Nachsorge).

### 3 Quantitatives und semiquantitatives Abbaumonitoring in situ

Im Folgenden werden **zehn Nachweisverfahren** zum Schadstoffabbau kurz dargestellt, die von der Firma Isodetect in den Jahren 2006 bis einschl. 2017 bei der Erkundung von 233 Altlastenstandorten (Abb. 5) angewendet wurden. Isodetect ist ein Dienstleister im Bereich der Altlasterkundung und -bewertung, der auf Isotopenanalysen und mikrobiologische Untersuchungen spezialisiert ist ([www.isodetect.de](http://www.isodetect.de)). Der Schwerpunkt der 280 Monitoringkampagnen (teils mehrfach an einem Standort) war Deutschland (159), insgesamt fanden sie in 17 Ländern statt.



**Abb. 5:** Staatenzuordnung der Sanierungsstandorte, an denen die dargestellten und statistisch ausgewerteten Monitoringmethoden angewandt wurden

Die Nachweismethoden zum Schadstoffabbau können klassifiziert werden hinsichtlich der Quantifizierbarkeit des Abbaus sowie dessen Nachweis in

*situ* oder *ex situ* (d. h. im Labor). Dementsprechend ergeben sich drei Gruppen:

- I. ein **quantitativer** (oder semiquantitativer) **Abbaunachweis** *in situ* ist möglich mit
  - Bestimmung der Isotopenfraktionierung von Schadstoffen
  - Ausbringung isotopenmarkierter Mikrokosmen (BACTRAPS)
  - Bestimmung taxonomischer oder enzymspezifischer Genabundanzen (qPCR),
- II. in **Laboruntersuchungen** sind Abbaupotenziale quantifizierbar
  - durch Konzentrationsanalysen in Batchansätzen oder Durchflusssäulen
  - durch isotopenmarkierte Schadstoffe, die zu  $^{13}\text{CO}_2$  mineralisiert werden,
- III. der **qualitative Nachweis** des Schadstoffabbaus oder zumindest ein verbessertes Verständnis der Abbauprozesse und des Abbaupotenzials ist möglich mit
  - Metabolitenanalysen
  - Analyse der Konzentrationen und Isotopenwerte von Enantiomeren
  - dem Nachweis der Isotopenfraktionierung von Redoxindikatoren
  - der Elektronenbilanzierung von Redoxindikatoren,
  - Konzentrationsverhältnissen bestimmter Komponenten (z. B. Hep-tadecan/Pristan)

Das Substanzspektrum, die Grundprinzipien und die Vorteile dieser Methoden sind untenstehend stichwortartig zusammengefasst und im Folgenden näher erklärt.

**Tab. 1:** Stichwortartiger Überblick über Substanzspektrum, Anwendungsprinzip und Vorteile von Untersuchungsverfahren zum Schadstoffabbau in Altlasten

<b>Komponentenspezifische Isotopenanalyse von Schadstoffen (<math>^{13}\text{C}/^{12}\text{C}</math>, <math>^2\text{H}/^1\text{H}</math>, <math>^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}</math>)</b>	26
Schadstoffe:	u. a. LCKW, CB, BTEX, Naphthalin, MTBE/ETBE
Prinzip:	Schwere Isotope ( $^{13}\text{C}$ , $^2\text{H}$ , $^{37}\text{Cl}$ ) reichern sich proportional zum biologischen Abbau an.
Vorteile:	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Abbauquantifizierung mittels Isotopenanreicherungsfaktor (Abbau in %, Abbauraten)</li> <li>- Prognose der künftigen Ausdehnung einer Schadstofffahne</li> <li>- Erfolgskontrolle von <i>in situ</i> Maßnahmen zur Abbau-stimulation</li> <li>- Aufklärung dominierender Abbauprozesse (z. B. aerob/anaerob)</li> <li>- Zuordnung von Kontaminationseignissen durch isotopischen Fingerabdruck</li> </ul>
<b>BACTRAPS</b>	
Schadstoffe:	Einzelkomponenten: BTEX, MTBE, TBA, PAK, Anilin, Aliphaten, Pestizide, etc.
Prinzip:	<i>In situ</i> Mikrokosmen mit adsorbiertem, isotopenmarkiertem Schadstoff. Die Isotopenmarkierung lässt sich in aufwachsenden Mikroorganismen nachweisen.
Vorteile:	Sensitiver <i>in situ</i> Abbaunachweis einzelner Zielkomponenten; relativer Vergleich der Abbauintensität in mehreren BACTRAPS
<b>qPCR-Analyse genetischer Marker</b>	
Schadstoffe:	LCKW, BTEX, bestimmte PAK, etc.
Prinzip:	Die Präsenz und Menge schadstoffabbauender Mikroorganismen wird durch Detektion taxonomischer oder funktioneller Gene nachgewiesen.
Vorteile:	Quantitativer Vergleich, Abundanz und potenzielle Aktivität von Schadstoffabbauern.

**Tab. 1:** Stichwortartiger Überblick über Substanzspektrum, Anwendungsprinzip und Vorteile von Untersuchungsverfahren zum Schadstoffabbau in Altlasten (Fortsetzung)

---

#### **Labormikroskopen**

Schadstoffe:	BTEX, LCKW, PAK, MKW, Anilin, Phenol, Heterozyklen, Pestizide, etc.
Prinzip:	Der Schadstoffabbau wird in <i>in situ</i> ähnlichen Laboransätzen nachverfolgt.
Vorteile:	Gut definierte, kontrollierbare, variable Abbaubedingungen

---

#### **Labormikroskopen mit $^{13}\text{C}$ -markierten Schadstoffen**

Schadstoffe:	BTEX, LCKW, PAK, MKW, Anilin, Phenol, Heterozyklen, etc.
Prinzip:	Die Mineralisierung eines $^{13}\text{C}$ -markierten Schadstoffs wird durch die $^{13}\text{C}$ -Anreicherung im $\text{CO}_2$ nachgewiesen und quantifiziert.
Vorteile:	Sensitiver, quantitativer Nachweis des vollständigen Abbaus von Schadstoffen

---

#### **Nachweis von Abbaumetaboliten**

Schadstoffe:	BTEX, PAK, LCKW,
Prinzip:	Zwischenprodukte des Schadstoffabbaus werden nachgewiesen.
Vorteile:	Einfacher qualitativer Abbaunachweis

---

#### **Enantiomer-Analyse**

Schadstoffe:	Pestizide (Phenoxykarbonsäuren, $\alpha\text{-HCH}$ ), Pharmazeutika
Prinzip:	Enantiomere von Schadstoffen werden unterschiedlich schnell abgebaut.
Vorteile:	Aussagekräftiger, sensitiver, zukünftig quantitativer <i>in situ</i> Abbaunachweis

---

**Tab. 1:** Stichwortartiger Überblick über Substanzspektrum, Anwendungsprinzip und Vorteile von Untersuchungsverfahren zum Schadstoffabbau in Altlasten (Fortsetzung)

#### Isotopenanalyse von Redoxindikatoren

Substanzen:	Nitrat, Nitrit, Ammonium, Sulfat, Sulfid, Methan, DIC
Prinzip:	Schwere Isotope ( $^{13}\text{C}$ , $^2\text{H}$ , $^{15}\text{N}$ , $^{34}\text{S}$ ) reichern sich proportional zum biologischen Abbau an.
Vorteile:	Erkundung und Nachweis von Denitrifizierung, Sulfat-reduktion, Mineralisierung oder Methanogenese

#### Elektronenbilanzierung potenzieller Redoxreaktionen

Substanzen:	Nitrat, Sulfat, Methan, Mangan-, Eisen-, Chlorionen
Prinzip:	Konzentrationsänderung der Redoxindikatoren entspricht potenziellem Schadstoffabbau.
Vorteile:	Grundlegendes standortspezifisches Prozessverständnis

#### GC/MS-Screening von Raffinationsprodukten

Schadstoffe:	BTEX, PAK, MKW
Prinzip:	Konzentrationsverhältnisse bestimmter Komponenten ändern sich durch Abbau. Spezifische Komponenten indizieren ungefähre Eintragszeiträume.
Vorteile:	Abbauindikation und Altersunterscheidung verschiedener Eintragsherd.

### 3.1 Isotopenfraktionierung von Schadstoffen ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , $^2\text{H}/^1\text{H}$ , $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$ )

Die **komponentenspezifische Isotopenanalyse von Schadstoffen** (CSIA, compound-specific isotope analysis) ist das einzige Monitoringverfahren, welches eine direkte und quantitative Aussage zum *in situ* Schadstoffabbau ermöglicht [36, 57, 63–64, 66–67, 69, 74, 77–78]. Der Abbaunachweis erfordert lediglich eine Probenahme, ist unabhängig von Konzentrationsparametern und ermöglicht die Unterscheidung der Biodegradation von anderen konzentrationsmindernden Prozessen (Sorption, Verdünnung, Dispersion, Verflüchtigung).

27

Der Untersuchungsansatz beruht auf dem Prinzip der **Isotopenfraktionierung**. Moleküle, die schwere Isotopen (z. B.  $^{13}\text{C}$ ) enthalten, sind etwas stabiler (höhere Bindungsenergie) als Moleküle, die ausschließlich leichte Isotopen (z. B.  $^{12}\text{C}$ ) enthalten. Erstere reichern sich deshalb in einer Schadstofffah-

28

ne an, sobald ein biologischer oder chemischer Abbau der Kontaminanten stattfindet.

- 29 Das Ausmaß der Isotopenanreicherung ist proportional zur Intensität des Abbaus. Der entsprechende Proportionalitätsfaktor (sog. **Isotopenanreicherungsfaktor  $\varepsilon$** ) ist spezifisch für i) jedes Isotopenverhältnis ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$ ,  $^{81}\text{Br}/^{79}\text{Br}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ), ii) jede Substanz, iii) jeden Abbauprozess und iv) unterschiedliche mikrobielle Populationen. Er kann nur unter kontrollierten Bedingungen im Labor ermittelt werden. Die größte Datenbank für Isotopenanreicherungsfaktoren ( $n = 788$ ) von Schadstoffen findet sich unter <http://www.isodetect.de/forschung/isofrac/>. Sie ist aufgeschlüsselt nach Schadstoffen ( $n = 60$ ; Stand Dezember 2017), Isotopen, Abbaureaktionen (biologisch, chemisch, aerob, anaerob, sulfatreduzierend, methanogen etc.) sowie Schadstoff abbauenden Mikroorganismen (z. B. Bakterienstamm).
- 30 Gewöhnungsbedürftig ist die **%o-Einheit der Isotopenwerte**, die den Tausendstel-Unterschied ( $\delta$ ) des Isotopenverhältnisses in einer Probe zum Isotopenverhältnis eines weltweit definierten Referenzstandards (z.B. VPDB für  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  oder VSMOW für  $^2\text{H}/^1\text{H}$ ) beschreibt. Die Formel für die Angabe von Kohlenstoff-Isotopenwerten (auch -Isotopensignaturen) lautet  $\delta^{13}\text{C} [\%] = (^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{Probe}} / ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{Referenzstandard}} - 1) * 1000$
- An Stelle der gebräuchlichen %o-Einheit wird seit kurzem die Angabe in mUr (milli-Urey) vorgeschlagen [83]. Die als signifikanter Abbaunachweis geltende  $^{13}\text{C}$ -Isotopenanreicherung von +2 %o bedeutet eine Veränderung des Isotopenverhältnisses  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  um +0,0000224.
- 31 Als **eindeutiger Nachweis für den Schadstoffabbau** zwischen zwei Messstellen gilt eine Veränderung des  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenwerts um +2,0 %o, was der vierfachen Messunsicherheit entspricht [69]. Für fast alle organischen Schadstoffe sind die primären Kohlenstoff-Isotopenwerte (Quellisotopenwerte) negativer als -22,0 %. Positivere Isotopenwerte (z. B. -17 %o) im Abstrom einer Schadstoffquelle sind als eindeutiger Abbaunachweis zu werten [74]. Dagegen sind plötzlich negativer werdende Isotopenwerte (z. B. -25 %o im Abstrom einer Grundwassermessstelle mit -17 %o) in der Regel auf eine sekundäre Schadstoffquelle zurückzuführen [63].
- 32 **Hauptvorteile** der komponentenspezifischen  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenanalyse sind
- die einmalige, unkomplizierte Probenahme und der einfache Probentransport
  - der *in situ* Nachweis des Abbaus direkt am Schadstoff

- die Unabhängigkeit des Abbaunachweises von der Schadstoffkonzentration
- die einfache qualitative Bewertung
- die vielfach erprobte Praxisanwendung
- die Quantifizierbarkeit des Schadstoffabbaus anhand von nur drei Parametern (Abb. 6).

Die Abbauquantifizierung anhand von Isotopendaten ermöglicht zuerst die Bestimmung der **prozentualen Degradation B** im Abstrom einer Schadstoffquelle. Zu ihrer Berechnung reicht es aus, die Isotopenwerte von zwei Grundwassermessstellen zu ermitteln und den geeigneten Isotopenanreicherungsfaktor aus der Literatur zu entnehmen (Abb. 6, [74]). Daraus können bei bekannter Distanz zur Quelle, gut eingegrenzter Fließrichtung und der Abstandsgeschwindigkeit Abbauratenkonstanten (pro Meter bzw. pro Tag), absolute Abbauraten oder die Fahnenausdehnung bis zum Erreichen eines Schadstoffgrenzwerts abgeleitet werden. Die entsprechenden Gleichungen finden sich in Handlungsempfehlungen [63, 69] wie auch im Internet (<http://www.isodetect.de/forschung/grundlagen>).



**Abb. 6:** Abbauquantifizierung (prozentualer Schadstoffabbau B) im Abstrom einer Schadstoffquelle anhand von Isotopenwerten ( $\delta_0$ ,  $\delta_{abstromig}$ ) und dem Isotopenanreicherungsfaktor ( $\varepsilon$ ).

**Limitationen** des  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenmonitorings ergeben sich durch

- die Bestimmungsgrenze (in der Regel 1 – 10 µg/L)
- die Zahl der C-Atome im Schadstoffmolekül. Bei mehr als 10 C-Atomen (z.B. längerketige PAK oder MKW) ist die Isotopenfraktionierung analytisch nicht mehr erfassbar. Bei diesen Schadstoffen sind verschiedene Kohlenstoff-Isotopensignaturen eindeutig auf unterschiedliche Schadstoffquellen zurückzuführen, was die Zuordnung von Schadensverursachern wesentlich vereinfacht.

Die Variabilität der Isotopenanreicherungsfaktoren führt zu **Unschärfen und unterschiedlichen Sensitivitäten** bei der Abbauquantifizierung [74]. So

kann für LCKW mit der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenanalyse bereits ein anaerober Abbau von ca. 10–15% mit einer Unschärfe von ca.  $\pm 5\%$  nachgewiesen werden, während der Sensitivitätsbereich für BTEX höher liegt (ca. 50%) und eine größere Unschärfe aufweist [63]. Je stärker die Isotopenanreicherung ausgeprägt ist, desto präziser ist die Abbauquantifizierung. Die Interpretation einer möglichen Isotopenanreicherung kann erschwert werden durch eine variierende Quellisotopensignatur sowie komplexe hydrogeologische Verhältnisse. Ungewöhnliche Fließwege an einem Standort sind jedoch gerade durch Isotopendaten oft besser erkennbar. Weitere Unschärfen der Abbauquantifizierung können durch multiple Schadstoffquellen mit jeweils unterschiedlichen Quellisotopensignaturen entstehen [86–87]. Dabei kann es zur Überlagerung (Maskierung) von Isotopenwerten aus verschiedenen Quellbereichen kommen, die zu einer Unterschätzung des Schadstoffabbaus führen [88]. Eine Abbaüberschätzung aufgrund einer zusätzlichen Isotopenfraktionierung durch Dispersion bzw. Diffusion wurde postuliert [169, 170], ist aber aufgrund aktueller Studien in nahezu allen Fällen vernachlässigbar [172–175].

- 37 Erfahrungsgemäß stellt fast jeder Standort spezifische Herausforderungen an die fachliche Bewertung von Isotopendaten. Entsprechende Gutachten sollten deshalb nur **von ausgewiesenen Experten** erstellt werden.
- 38 Die quantitative Erfassung des *in situ* Abbaus anhand der Isotopenanreicherung von Schadstoffen ist inzwischen für mehr als 60 Grundwasserkontaminanten anwendbar. Die wichtigsten Zielsubstanzen sind leichtflüchtige chlorierte Kohlenwasserstoffe (LCKW, z. B. Tetrachlorethen PCE, Trichlorethen TCE, Dichlorethen DCE, Vinylchlorid VC), monoaromatische Kohlenwasserstoffe (Benzol, Toluol, Ethylbenzol, Xylole; BTEX), Benzinadditive (z. B. Methyl-tert-butylether MTBE, Ethyl-tert-butylether ETBE), einige sprengstofftypische Verbindungen und Hexachlorcyclohexane (HCH, Lindan) [74]. In den letzten Jahren wurde das **Substanzspektrum** insbesondere für Mikroschadstoffe wie Pestizide und Arzneimittel erweitert [76].
- 39 Eine besonders häufige Zielstellung für komponentenspezifische Isotopenuntersuchungen ist der Nachweis des VC-Abbaus an LCKW-kontaminierten Standorten, der aufgrund der hohen Toxizität von VC und dessen potenzieller Akkumulation eine Schlüsselanforderung an entsprechende Sanierungsverfahren ist. Mit der Definition eines konzentrationsgewichteten **LCKW-Summenisotopenwerts** haben Aeppli et al. (2010) ein erfolgreiches Nachweiskonzept entwickelt [73, 87, 89]. Eine vollständige Dehalogenierung der chlorierten Ethene ist dann evident (und quantifizierbar), wenn der LCKW-Summenisotopenwert oder der VC-Isotopenwert isotopisch positiver ist als der Quellisotopenwert der Primärkontaminanten [89].

Die komponentenspezifische  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenanalyse von Schadstoffen ist seit fast 10 Jahren ein Routineverfahren in der Altlastenerkundung. In jüngerer Zeit werden jedoch auch andere Isotopensignaturen berücksichtigt, besonders wenn Schadensverursacher oder dominierende Abbauprozesse (aerob oder anaerob) identifiziert werden sollen [59–62, 70–72, 85–86]. Die Analyse von **Chlorisotopen** kann entscheidende Hinweise für diese Zielstellungen liefern, zumal sie ebenso sensitiv (Bestimmungsgrenze 1 – 10 µg/L) und sogar etwas präziser ist ( $\text{sd} \pm 0,1\%$  bis  $\pm 0,5\%$ ) als die Kohlenstoff-Isotopenanalyse. Demgegenüber ist die Bestimmungsgrenze von **Wasserstoff-isotopen** bei den wichtigsten Schadstoffgruppen (BTEX, PAK) um etwa eine Größenordnungen höher (ca. 50 µg/L) und daher als Abbaunachweis meist wenig praktikabel. Die  $^{2}\text{H}/^{1}\text{H}$ -Isotopenanalyse kann jedoch Schlüsselinformationen zur Dominanz bzw. Erfolgskontrolle bestimmter Abbauprozesse liefern [59–61, 85, 86]. Außerdem wird sie häufig zur forensischen Untersuchung eingesetzt [86, 90], bei der zumeist hochkontaminierte Schadensbereiche untersucht werden.

Die Isotopenanalyse mehrerer Elemente ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{2}\text{H}/^{1}\text{H}$ ,  $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$ ) im Bereich von Schadstoffquellen liefert einen **isotopischen Fingerabdruck**, mit dem sich Kontaminationsereignisse in der Regel sehr gut unterscheiden lassen [55–56, 72]. Je nach den historischen Kenntnissen über den Standort ist damit oft eine Zuordnung von Schadensverursachern möglich. Für LCKW-Schäden kann ggf. eine **ungefähre Alterszuschreibung** für bestimmte Dekaden (vor den 1940ern, 1940er bis 1980er, nach den 1980ern) erfolgen, in denen sie mit unterschiedlichen großtechnischen Verfahren synthetisiert wurden. Diese Herstellungszeiträume korrespondieren mit spezifischen Isotopenwerten von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  und  $^{2}\text{H}/^{1}\text{H}$  [171].

Die **Konzeption** (insbesondere die Messstellenauswahl) eines komponentenspezifischen Isotopenmonitorings ergibt sich aus der Sanierungsphase (vgl. Abb. 3: punktuelle Beprobung in Stufen 2 und 6, flächendeckende Beprobung in Stufen 3–5) sowie der Schadstoffausbreitung und des Messnetzes am Standort [63, 69]. Entscheidend ist außerdem die Zielstellung der Untersuchung. Während forensische Analysen lediglich die einmalige Beprobung hochkontaminiierter, potenzieller Eintragsherde erfordern (möglichst jeweils 2–3 Proben), muss bei der Erfolgskontrolle von *in situ* Maßnahmen die zeitliche Prozessdynamik mit erfasst werden. Dies bedeutet Beprobungen in zwei- bis zehnwöchentlichem Abstand.

In den in dieser Studie ausgewerteten **Monitoringkampagnen** ( $n = 281$ ; teils mehrfach an einem Standort) zur Isotopenuntersuchung des Schadstoffabbaus zeigten sich zwei unterschiedliche Gruppen (Abb. 7). Etwa 2/3 aller Kampagnen erfassten nicht mehr als 10 Messstellen, während in 1/3 der Fäl-

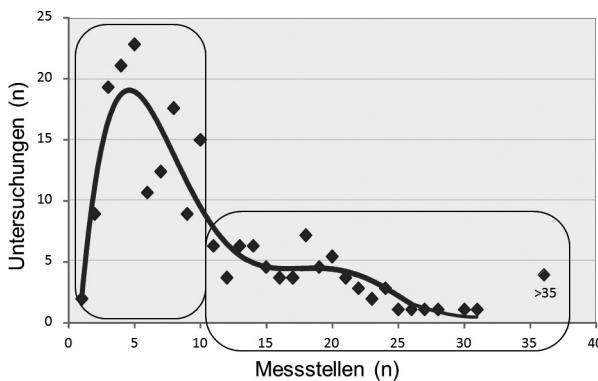
40

41

42

43

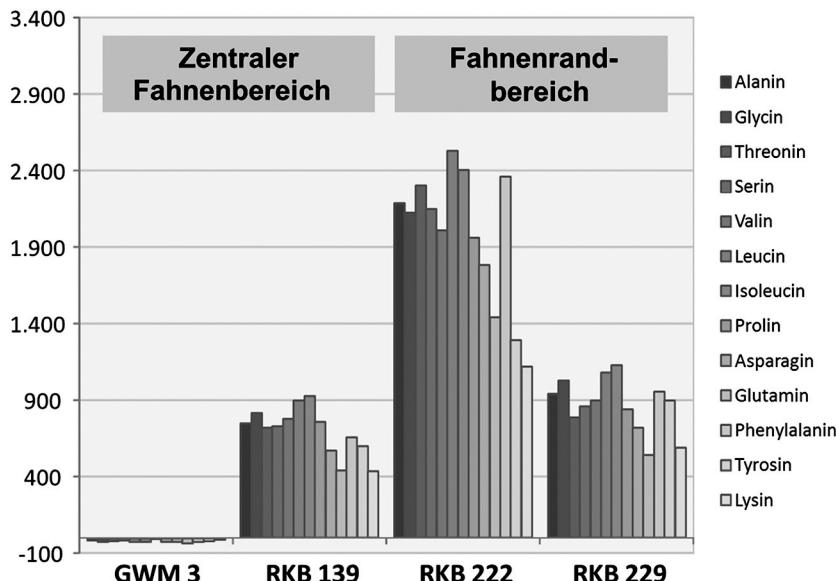
le oft deutlich mehr Proben (max. 72) analysiert wurden. Diese Verteilung entspricht in etwa der Häufigkeit der orientierenden bzw. forensischen Erkundung gegenüber der detaillierteren Abbauuntersuchung, zu der auch die Erfolgskontrolle von ENA-Maßnahmen gehört. Häufig wird für letztere ein zweistufiges Vorgehen geplant, das die Beprobung von GWM vorsieht, die nur bei Erfüllung bestimmter Voraussetzungen (z. B. bestimmte Schadstoffkonzentrationen) berücksichtigt werden.



44 **Abb. 7:** Zahl der beprobeden Messstellen bei 281 Monitoringkampagnen zur Untersuchung von Schadstoffquellen/Schadstoffabbau mittels Isotopenanalysen.

### 3.2 In situ Mikrokosmen (BACTRAPS)

45 BACTRAPS sind *in situ* Mikrokosmen, die mit einem  $^{13}\text{C}$ -markierten Schadstoff beladen werden [29, 31, 32, 36, 63]. Nach der Exposition in einer Grundwassermessstelle (6–12 Wochen) dient das Aufwuchsmaterial als Besiedlungsoberfläche für Mikroorganismen, welche die adsorbierte, isotopenmarkierte Zielkomponente abbauen und assimilieren. Nach Entnahme der BACTRAPS werden bestimmte Biomoleküle (sog. Biomarker) der angesiedelten Mikroorganismen extrahiert (meist Fettsäuren oder Aminosäuren) und deren  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopensignaturen ermittelt. Der signifikante  $^{13}\text{C}$ -Einzug in den Biomarkern zeigt eindeutig die *in situ* Biodegradation der isotopenmarkierten Zielsubstanz an (Abb. 8), auch eine hohe mikrobielle Besiedlungsdichte auf den BACTRAPS ist bereits ein Indiz. Der Vergleich der  $^{13}\text{C}$ -Gehalte in den standardisierten Mikrokosmen an verschiedenen Messstellen erlaubt eine relative, semiquantitative Bewertung der jeweiligen Abbauintensität.



**Abb. 8:**  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Werte von in Aminosäuren nach Exposition von BACTRAPS mit  $^{13}\text{C}$ -markiertem Fluoren in verschiedenen Fahnenbereichen einer PAK-Kontamination. Die natürlichen  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Werte von Biomarkern sind meist negativer als 0 ‰ (GWM3: kein Fluorenabbau erkennbar). Deutlich positivere  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Werte sind auf die  $^{13}\text{C}$ -Inkorporation der abgebauten,  $^{13}\text{C}$ -markierten Zielverbindung zurückzuführen.

46

Mit BACTRAPS kann ein *in situ* Abbau für alle Schadstoffe nachgewiesen werden, die mit  $^{13}\text{C}$  markierbar sind und deren C-Atome beim mikrobiellen Wachstum assimiliert (d. h. in die Biomasse eingebaut) werden. BACTRAPS sind im Vergleich zur Isotopenfraktionierung eine aufwändiger Methode, sie ermöglichen jedoch eine besonders **sensitive Bestimmung des Abbaus ausgewählter Zielkomponenten**, insbesondere für PAKs. Gut erprobt ist der Einsatz von BACTRAPS bisher für

47

- PAK: Naphthalin, Acenaphthen, Acenaphthylen, Phenantren, Fluoren, etc.
- Benzinzusatzstoffe: MTBE, ETBE, TBA
- BTEX: Benzol, Toluol, Ethylbenzol, Xylole
- Chlorierte Benzole (CB): Monochlorbenzol (MCB), . . .
- Anilin, Phenol, . . .

### 3.3 Molekulargenetische Analysen (qPCR)

- 48 Die Abundanz und biologische Aktivität von schadstoffabbauenden Mikroorganismen lässt sich in Grundwasser- oder Sedimentproben anhand bestimmter **Markergene** ermitteln [91]. Insbesondere für **LCKW- und BTEX-Abbauer** wurden in den vergangenen Jahren Markergene gefunden, die mit einer qPCR-Analyse (*quantitative polymerase chain reaction*) quantifiziert werden können (in der Einheit Genkopien pro mL Grundwasser oder pro cm<sup>3</sup> Sediment).
- 49 Zu unterscheiden ist die Bestimmung **taxonomischer Gene**, welche die Abundanz spezifischer Schadstoffabbauer repräsentieren. Hierfür gibt es Marker insbesondere für die Gruppe der *Dehalococcoides* (*dhc*), die bisher als einzige zur vollständigen reduktiven Dechlorierung von LCKW (d. h. zum VC-Abbau) fähig und auch kultivierbar sind [92–93]. An allen Zonen, in denen *Dehalococcoides* auftreten, ist ein etabliertes intrinsisches Abbaupotenzial von PCE, TCE, DCE und VC anzunehmen. Ein direkter Zusammenhang zwischen der *Dehalococcoides*-Abundanz und den Abbauraten der reduktiven Dechlorierung wird gelegentlich hergestellt [92, 94–96], ähnliches gilt für die Abundanz von aneroben Naphthalinabbauern (*nahAc* Gene) und einem entsprechenden Naphthalinabbau [97]. Auch die Bestimmung der mikrobiellen Gesamtabundanz und die Zusammensetzung der bakteriellen Populationen können charakteristische Potenziale und Veränderungen der mikrobiellen Gemeinschaft an einem Standort anzeigen [103].
- 50 In jüngerer Zeit werden qPCR-Analysen auch zum Nachweis **funktioneller, enzymspezifischer Schadstoff-Abbauenzyme** eingesetzt. Damit sind bestimmte Abbauwege charakterisierbar. Beispielsweise zeigen hohe Abundanzen der Markergene *vcrA*, *bvcA* und *tceA* eine vollständige reduktive Dechlorierung von LCKW an [98–99], während die Markergene *etnC* oder *etnE* auf einen aeroben DCE- und VC-Abbau verweisen [100]. Auch die mikrobiellen Abbauer von BTEX- und PAK-Komponenten sind mittels qPCR quantifizierbar, da ihre funktionellen Gene für die aerobe (z. B. *tmo*) und anaerobe (*bssA*, *bamA*) Degradation bestimmt werden können [101–104].
- 51 Die grundsätzliche Limitation von qPCR-Methoden in Bezug auf eine Abaubewertung ist immer der indirekte Ansatz über die Genabundanzen. Letztlich stellt die auf Basis von DNA-Analysen ermittelte Populationsdichte schadstoffabbauender Bakterien lediglich ein **Abbaupotenzial** dar und sagt nichts über deren wirkliche metabolische Aktivität. Die Bestimmung enzymspezifischer, funktioneller Gene an der DNA kommt diesem Anspruch näher, da die enzymatische Genexpression nur zum Zweck des Schadstoffabbaus erfolgt. Noch besser könnte die Abbauaktivität durch

qPCR-Analysen an der mRNA (messenger-Ribonukleinsäure) erfasst werden [105–107], da diese verstärkt gebildet wird, wenn das funktionelle Marker-Gen beim Schadstoffabbau exprimiert wird. Jedoch ist mRNA sehr labil [108] und die qPCR-Analyse dadurch stark limitiert.

Weitere **Unsicherheitsfaktoren** bei der Interpretation von qPCR-Daten sind analytische Unschärfen bei stark verschmutzten Proben. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass Mikroorganismen detektiert werden, die gar nicht zum Schadstoffabbau befähigt sind. Umgekehrt decken die Markergene nicht alle potenziellen Schadstoffabbauer ab. Auf wissenschaftlicher Ebene werden immer neue schadstoffdegradierende Mikroorganismen entdeckt, für die oft keine Markergene bekannt sind. In der Praxis des Abbaumonitorings scheinen die etablierten qPCR-Methoden das wirkliche Abbaupotenzial deshalb eher zu unterschätzen.

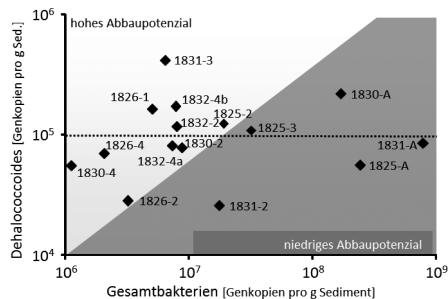
Die qPCR-Analyse ist an **Grundwasser- oder Sedimentproben** durchgeführt worden. Erstere sind einfach zu entnehmen, müssen aber umgehend transportiert und präpariert werden. Sie haben den großen Nachteil, dass in ihnen nur ein geringer Teil (1–10%) der gesamten mikrobiellen Besiedlung enthalten ist, welche hauptsächlich als Biofilm auf den Sedimentoberflächen festliegt [109–110]. Somit ist die Gewinnung von Sedimentproben vorzuziehen, die jedoch aufwändig und nicht immer praktikabel ist. Eine Kompromisslösung ist die Ausbringung von standardisiertem Aufwuchsmaterial, das einfach verarbeitet und dessen Besiedlung gut miteinander verglichen werden kann.

Trotz der methodischen Limitationen liefern qPCR-Analysen oft erstaunlich **klare Hinweise auf einen vorhandenen oder einsetzenden Schadstoffabbau**. Die Genabundanzen in Bereichen mit Schadstoffabbau können oft um mehrere Größenordnungen höher sein als in Kontrollzonen und sind deshalb auch semiquantitativ interpretierbar. Überraschenderweise gibt es trotz einer Vielzahl von Publikationen mit qPCR-Daten jedoch kein befriedigendes Gesamtkonzept zur quantitativen Einordnung von Genabundanzen in Bezug auf die Abbauintensität. Bewährt hat sich nach eigener Erfahrung der Vergleich der absoluten Werte sowie auch der prozentualen Anteile an der mikrobiellen Gesamtabundanz (Abb. 9).

52

53

54



55 Abb. 9: Absolute Genabundanzen von *Dehalococcoides* sowie mikrobielle Gesamt-abundanz an einem LCKW-kontaminierten Standort [33]. Messwerte oberhalb der Winkelhalbierenden und unterhalb der gestrichelten Linie wurden mit hohem Abbaupotenzial eingestuft.

## 4 Laboruntersuchungen

### 4.1 Abbauversuche zur Vorbereitung von *in situ* Sanierungsmaßnahmen

- 56 Einfache, kontrollierte Abbauuntersuchungen in hydrostatischen Ansätzen (Batchversuche) oder Durchflusssäulen erleben in der Altlastensanierung seit einiger Zeit einen Neuaufschwung. Im Gegensatz zu früher dienen sie jedoch nicht mehr zur Ermittlung von vermeintlichen *in situ* Abbauratenkonstanten, sondern zur **Vorbereitung von *in situ* Sanierungsmaßnahmen** [17, 18, 20, 40, 41, 43]. Verschiedene Mixturen von Abbaustimulanzien (aktivierende, emulgierende, lösende, stabilisierende, mobilisierende Substanzen) werden unter verschiedenen Milieubedingungen (Redoxverhältnisse, Temperatur, hydraulische Verhältnisse etc.) im Hinblick auf die Aktivierung des Schadstoffabbaus getestet. Die Ergebnisse liefern entscheidende Grundlagen für die Zusammensetzung abbaustimulierender Gemische und die spätere Steuerung der Injektion (Konzentrationen, Dauer, Pulshäufigkeit etc.).
- 57 Da im Labor eine Vielzahl von Umwelteinflüssen auf den Schadstoffabbau untersucht werden kann, besteht die Herausforderung bei der Planung von Laborversuchen in der **Festlegung der zu untersuchenden Schlüsselparameter**. In der Regel wird die Wirkung verschiedener abbauaktivierender Gemische (Injektionscocktails) und Redoxbedingungen im Vergleich zu einem unbehandelten Kontrollansatz beobachtet (Abb. 10). Sollen weitere Umweltparameter wie Temperatur, Fließgeschwindigkeit, Konzentrationsverhältnisse oder hydraulische Faktoren berücksichtigt werden, so ergibt sich ein erheblicher Untersuchungsbedarf. In der Praxis wird der Aufwand

meist auf 5–30 verschiedene Ansätze (Duplikate oder Triplikate) beschränkt, die in einer Zeitreihe (meist über Monate!) analysiert werden. Routinemäßig wird dafür Grundwasser bzw. Sediment- oder Aufwuchsmaterial vom Standort verwendet.

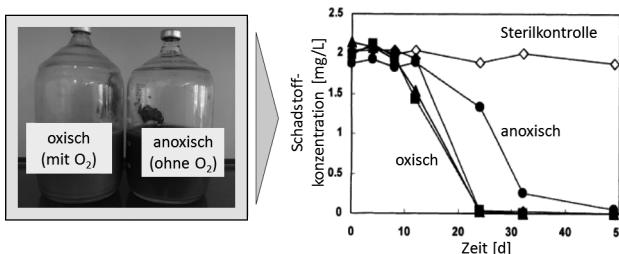


Abb. 10: Grundprinzip eines klassischen Batchversuches zur Bewertung der Stimulierung des Schadstoffabbaus durch Zugabe von Sauerstoff.

58

59

60

61

Tests mit **Durchflusssäulen** sind Batchansätzen vorzuziehen, wenn die hydraulischen Bedingungen der Stimulationsmaßnahme ein entscheidender Faktor sind. Laborsäulen sind jedoch aufwändig und ihre Ergebnisse manchmal schwer reproduzierbar [120]. Dagegen liefern **Batchansätze** gut vergleichbare Resultate für die Abbaustimulation bei verschiedenen Bedingungen. Für beide Systeme gilt, dass die im Labor ermittelten, absoluten Abbauratenkonstanten nur sehr bedingt auf die Feldbedingungen übertragbar sind [121–122].

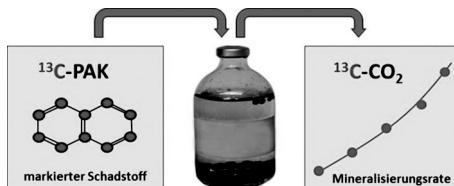
Im Gesamtergebnis liefern Laboruntersuchungen ein **differenziertes Prozessverständnis** der Abbaudynamik an einem Standort, das für die erfolgreiche Durchführung von *in situ* Stimulationsverfahren von entscheidender Bedeutung ist. Da *in situ* Maßnahmen aufwändig und irreversibel sind, benötigen sie einer guten Informations- und Steuerungsgrundlage. Allein die Bewertung verschiedener *in situ* Standortparameter (pH, T, Redoxparameter, Fließgeschwindigkeit) reicht hierfür nicht aus.

#### 4.2 Mineralisierung von Schadstoffen zu CO<sub>2</sub>

Die **vollständige Umsetzung von Schadstoffen zu CO<sub>2</sub>** (Mineralisierung) lässt sich im Feld nicht eindeutig bestimmen, da CO<sub>2</sub> durch verschiedene Prozesse gebildet werden kann. Dieser Nachweis ist besonders wichtig für Schadstoffe, bei denen die Akkumulation eines persistenten oder toxischen Zwischenprodukts befürchtet wird. In Labor-Abbauversuchen gibt es im Normalfall mehrere Kohlenstoff-Pools (z. B. Biomasse, Bicarbonat, Schad-

stoff, DOC), die jeweils zur CO<sub>2</sub>-Bildung beitragen können. Eine steigende CO<sub>2</sub>-Konzentration ist deshalb nicht immer auf eine Schadstoffmineralisierung zurückzuführen.

- 62 Die Mineralisierung eines <sup>13</sup>C-markierten Schadstoffs zu CO<sub>2</sub> kann dagegen in einer **Massenbilanz** exakt nachvollzogen werden, da sich die Markierung als <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> wiederfindet (Abb. 11). Die Methode besticht durch ihre hohe Sensitivität und die quantitative Ermittlung der Mineralisierungsraten [123–124]. In der Kombination mit BACTRAPS kann der Abbau eines isotopenmarkierten Schadstoffs somit *in situ* und *ex situ* charakterisiert werden [125].
- 63 Mit <sup>13</sup>C-Labormikrokosmen ist eine **Mineralisierung quantifizierbar** für
- PAK: Naphthalin, Acenaphthen, Acenaphtylen, Phenanthen, Fluoren, etc.
  - Benzinzusatzstoffe: MTBE, ETBE, TBA
  - BTEX: Benzol, Toluol, Ethylbenzol, Xylole, ...
  - LCKW: PCE, TCE, cDCE
  - prinzipiell alle mit <sup>13</sup>C markierbaren Chemikalien.



- 64 **Abb. 11:** Laborversuche zur Mineralisierung von Schadstoffen verwenden eine Isotopenmarkierung (<sup>13</sup>C), die im entstehenden <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> zur Berechnung der Mineralisierungsrate bilanziert wird.

## 5 Qualitative Nachweisverfahren

- 65 **Qualitative Untersuchungsmethoden** zum Schadstoffabbau sind analytisch und konzeptionell ebenso anspruchsvoll wie die quantitativen Verfahren. Sie umfassen spezielle Analysemethoden (Metaboliten, Enantiomere, Isotopen von Redoxindikatoren, GC/MS-Screening) und erfordern ein erhebliches Vorwissen. Die Metabolitenanalyse, die Bestimmung von Enantiomer-Verhältnissen und das GC/MS-Screening liefern einen klaren Abbaunachweis, während andere Methoden vor allem das Verständnis dominierender Redoxprozesse verbessern. Der einfachste Untersuchungsansatz, die Elektronenbilanzierung von Redoxindikatoren, liefert wichtige Hinweise zu den bio- und geochemischen Rahmenbedingungen von Schadstoffabbauprozessen.

sen [126–128]; sie ist jedoch kein Nachweis für die Degradation eines spezifischen Schadstoffs [122] und liefert daher potenziell ein täuschendes Bild der wirklichen Abbauprozesse.

### 5.1 Metabolitenanalysen

Der Nachweis **spezifischer Abbauprodukte** eines Schadstoffs ist ein einfacher qualitativer Beleg für seine Biodegradation. Für BTEX und PAKs sind bisher etwa 20 Abbaumetaboliten beschrieben (z. B. aromatische Carbonsäuren und Alkohole, Bernsteinsäuren), die auch Hinweise auf dominierende Abbauprozesse (aerob oder anaerob) geben [58, 124, 129–135]. Sie lassen sich noch bei einer Konzentration unter 1 µg/L nachweisen.

66

Mit Metabolitenanalysen ist ein **Schadstoffabbau nachweisbar für**

67

- PAK: Naphthalin, Acenaphthen, Acenaphtylen, Phenantren, Fluoren, ....
- Benzinzusatzstoffe: MTBE, ETBE, TBA
- BTEX: Benzol, Toluol, Ethylbenzol, Xylole
- LCKW: PCE, TCE, ...
- Sonstige: bestimmte Pestizide, Sprengstoffe, ....

Metabolitenkonzentrationen geben grundsätzlich **keine Hinweise auf die Intensität der Biodegradation**. Der Schadstoffabbau einer Komponente kann beispielsweise mit einer hohen Abbaurate ihrer Metaboliten verbunden sein, wodurch diese trotz hoher Abbauintensität nicht nachweisbar sind.

68

### 5.2 Enantiomer-Analysen

69

Einige Schadstoffe haben einen Molekülaufbau, der **spiegelverkehrte räumliche Strukturen** (Enantiomere) ermöglicht. Die beiden Enantiomere eines sog. chiralen Moleküls unterscheiden sich räumlich voneinander ähnlich wie die rechte und linke Hand [112]. Beim enzymatischen Abbau des Schadstoffs wird häufig eines der beiden Enantiomere bevorzugt umgesetzt. Somit kommt es zu einer Enantiomer-Fraktionierung (analog zur Isotopenfraktionierung): mit zunehmender Abbauintensität verändert sich das Verhältnis der Enantiomerkonzentrationen. Zugleich ändern sich auch die Isotopensignaturen der beiden Enantiomere, womit ein zusätzlicher Nachweis des Schadstoffabbaus möglich ist.

Obwohl die Untersuchungsmethode exotisch anmutet, ist sie **für einige Pestizide** (Phenoxyäuren: 2,4-D; 2,4-DB; Dichlorprop, Fenoprop, MCPA, MCPB; 2,4,5-T; α-Hexacyclohexan, Heptachlor, Bromacil) und **Arzneimittelrückstände** (z. B. Ibuprofen, Naproxen, Metoprolol, Venlafaxin, Salbutamol)

70

die Methode der Wahl, um eine Biodegradation nachzuweisen. In Zukunft wird wahrscheinlich eine Abbauquantifizierung anhand der Enantiomerkonzentrationen in Analogie zur Isotopenfraktionierung möglich sein [113–115]. Hierzu müssen jedoch entsprechende Enantiomer-Fraktionierungsfaktoren ermittelt werden.

- 71 Für die Verifizierung der Biodegradation chiraler Schadstoffe können die Isotopenwerte der Enantiomere bestimmt werden. Diese **enantiomerspezifische Isotopenanalyse (ESIA)** ist ein neuartiges Konzept [113, 116, 117], welches aber derzeit für die Praxisanwendung etabliert wird [118, 119].

### 5.3 Isotopenfraktionierung von Redoxindikatoren

- 72 Beim Schadstoffabbau ändern sich nicht nur die Isotopenwerte der Kontaminanten, sondern auch der Redoxpartner. Je nach **vorherrschender Redoxreaktion** findet sich in einer Schadstofffahne deshalb eine Anreicherung der schweren Isotopen von Nitrat ( $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ; [136–138]) oder Sulfat ( $^{34}\text{S}$ , evtl. auch  $^{18}\text{O}$ ; [26, 136, 137, 139–141]). Daraus lässt sich die Dominanz der jeweiligen Redoxreaktion in bestimmten Fahnenbereichen ableiten.
- 73 Die Kohlenstoff-Isotopenwerte von gelöstem, anorganischem Kohlenstoff (dissolved inorganic carbon, DIC; vorwiegend Hydrogencarbonat) ermöglichen Rückschlüsse auf Mineralisierungsprozesse an kontaminierten Standorten [26, 136, 137, 141–145]. Mit Isotopenanalysen ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^2\text{H}/^1\text{H}$ ) von Methan können zudem die Bildungs- und -abbauprozesse von Methan identifiziert werden (acetoklastische vs. hydrogenothrophe Methanogenese [26, 137, 141, 146–148]).
- 74 Alle genannten Redoxkomponenten weisen zudem spezifische Isotopenwerte auf, die auf ihre **Herkunft** hinweisen. So lassen sich beispielsweise Nitratquellen aus Kunstdünger, Mineraldünger oder Gülle ebenso unterscheiden wie Sulfatquellen aus Evaporiten oder anthropogenen Einträgen [77].
- 75 Isotopenuntersuchungen an Redoxindikatoren werden nicht nur zur Detailuntersuchung im Rahmen von MNA-Konzepten, sondern immer häufiger zur **Vorbereitung bzw. Kontrolle von *in situ* Stimulationsmaßnahmen** eingesetzt. Eine erfolgreiche Stimulierung des BTEX-Abbaus durch Sulfatzugabe ist an der Anreicherung von  $^{34}\text{S}$  und  $^{18}\text{O}$  in  $\text{SO}_4^{2-}$ -Ionen allerdings nur erkennbar, wenn sulfatreduzierende Nebenreaktionen vernachlässigbar sind.
- 76 **Redoxprozesse**, die mit Isotopenanalysen aufgeklärt werden können, sind
- Nitratreduktion: ggf. parallele Ammoniumoxidation (Anammox-Prozess)

- Sulfatreduktion: ggf. Bildung von Sulfid oder elementarem Schwefel sowie Sulfidoxidation
- Methanogenese: acetoklastische vs. hydrogenotrophe Methanoxidation, Schadstoffmineralisierung.

#### 5.4 Elektronenbilanzierung potenzieller Redoxreaktionen

Der erste Ansatz zur Berücksichtigung von Abbauprozessen in Sanierungs-konzepten beginnt mit der Charakterisierung der **Milieubedingungen** und der **Redoxprozesse**. Anhand der Konzentrationen von Redoxindikatoren (Sauerstoff, Redoxpotenzial, Leitfähigkeit, pH-Wert, Nitrat/Nitrit/Ammo-nium,  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  (ggf.  $\text{Fe}_{\text{gesamt}}$ ),  $\text{Mn}^{4+}/\text{Mn}^{2+}$  (ggf.  $\text{Mn}_{\text{gesamt}}$ ), Sulfat/Sulfid, Me-than, DIC, DOC) lässt sich das oxidative bzw. reduktive Potenzial (d. h. die Elektronenverfügbarkeit) in verschiedenen Fahnenbereichen bilanzieren [34, 123–125, 149].

77

Die **Bilanzierung potenzieller Redoxreaktionen** (Tab. 2) beruht auf der Konzentrationsabnahme bzw. -zunahme von Redoxindikatoren. Dabei kön-nen einige wichtige Parameter nicht ausreichend berücksichtigt werden (z. B. DOC). Die Hochrechnung des Schadstoffabbaus aus der Konzentrati-onsveränderung ist in Anbetracht zahlreicher, alternativ möglicher Redox-prozesse meist eine erhebliche Überschätzung. Somit liefert die Elektronen-bilanzierung eher eine ungefähre Darstellung der möglichen Abbaukapazi-tät. Kritisch betrachtet ist sie ein Zahlenspiel, für das konkrete Belege erfor-derlich sind.

78

**Tab. 2:** Für Schadstoffabbauprozesse relevante Redoxindikatoren (eingekreist) mit Reaktionen terminaler Elektronenakzeptoren (TEA) zur Oxidation (ox) und Redukti-on (red).

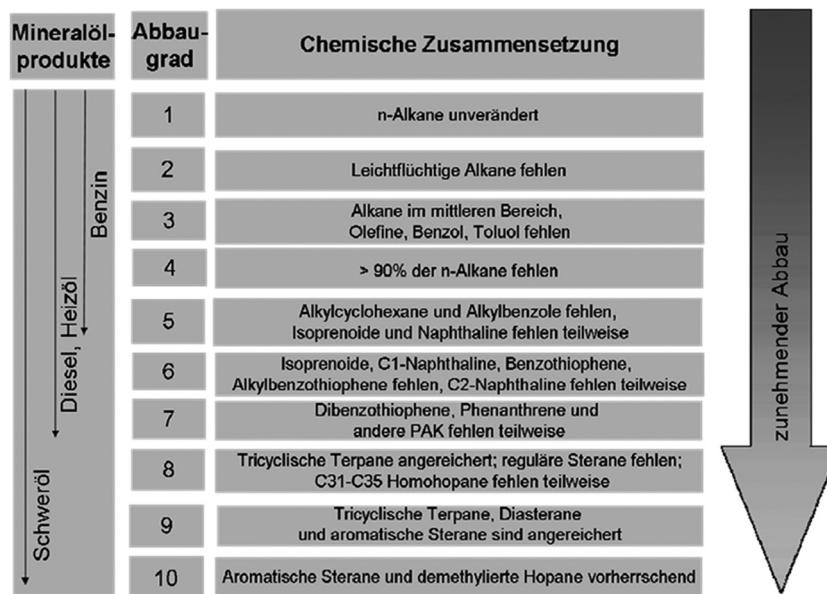
79

Halbreaktionen für terminale Elektronenakzeptoren			Prozess
TEA <sub>ox</sub>	→	TEA <sub>red</sub>	
$\text{O}_2 + 4 \text{e}^- + 4 \text{H}^+$	→	$2 \text{H}_2\text{O}$	Aerobe Atmung
$2 \text{NO}_3^- + 10 \text{e}^- + 12 \text{H}^+$	→	$\text{N}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$	Denitrifikation
$\text{Mn}^{IV}(\text{OH})_4 + 2 \text{e}^-$	→	$(\text{Mn}^{II}) + 4 \text{OH}^-$	Manganreduktion
$\text{Fe}^{III}(\text{OH})_3 + 1 \text{e}^-$	→	$(\text{Fe}^{II}) + 3 \text{OH}^-$	Eisenreduktion
$\text{Cl}-\text{R} + 2 \text{e}^- + \text{H}^+$	→	$(\text{Cl}^-) + \text{H}-\text{R}$	Reduktive Dehalogenierung
$\text{SO}_4^{2-} + 8 \text{e}^- + 8 \text{H}^+$	→	$\text{S}^{2-} + 4 \text{H}_2\text{O}$	Sulfatreduktion
$\text{CO}_2 + 8 \text{e}^- + 8 \text{H}^+$	→	$(\text{CH}_4) + 2 \text{H}_2\text{O}$	Methanogenese

- 80 Trotz der geringen Aussagekraft im Hinblick auf den wirklichen Schadstoffabbau ist die ausführliche Interpretation der vorherrschenden Milieubedingungen und Redoxverhältnisse an einem Standort ein unerlässliches **Routeneverfahren zur Einleitung weiterer Untersuchungsschritte**. Als alleiniger Beleg für die Bewertung des Abbaupotenzials reicht er allerdings nicht aus.

### 5.5 GC/MS-Screening

- 81 Bei einer Kontamination durch Mineralölkohlenwasserstoffe (MKW) handelt es sich um ein Gemisch aus unterschiedlichen Kohlenwasserstoffen, die in erster Linie aus der Erdölraffination stammen. Die MKW-Zusammensetzung von Raffinationsprodukten unterscheidet sich oft signifikant und wird daher als **Fingerprint (Fingerabdruck)** bezeichnet. Er kann mittels GC/MS-Screening ermittelt werden.
- 82 Neben physikalischen Prozessen (Evaporation der leichter flüchtigen Inhaltsstoffe in die Bodenluft bzw. Atmosphäre; Auswaschung leichter löslicher Inhaltsstoffe durch Niederschlags- und/oder Grundwasser) führt vor allem der natürliche, mikrobielle Schadstoffabbau zu **charakteristischen Veränderungen in der Zusammensetzung von Raffinationsprodukten**. Zuerst werden die homologen *n*-Alkane beim mikrobiellen Schadstoffabbau selektiv aus Mineralölgemischen wie Benzin, Diesel und Heizöl entfernt (Abb. 12). Die mehrfach methyl-verzweigten isoprenoiden Verbindungen sind dagegen vielfach schlechter mikrobiell abbaubar. Der Abbau alicyclischer und aromatischer Verbindungen verläuft noch langsamer.
- 83 Diese Tatsache kann zur Bewertung des **Alters eines MKW-Schadens** anhand **diagnostischer Konzentrationsverhältnisse bestimmter Komponenten** genutzt werden. Hierzu werden bestimmte Peakhöhen in GC/MS-Screenings aus verschiedenen Messstellen verglichen. Für Diesel- oder Heizölkontaminationen kann das Eintragsalter beispielsweise anhand des diagnostischen Verhältnisses von *n*-Heptadecan (*n*-C<sub>17</sub>) zu Pristan (Pr) *n*-C<sub>17</sub>/Pr ggf. abgeschätzt werden [150–152]. Die auf diagnostischen Konzentrationsverhältnissen basierenden Methoden zur Altersbewertung von MKW-Kontaminationen beruhen allerdings auf empirischen Zusammenhängen für spezifische Boden- und Grundwasserkompartimente und sollten deshalb nur für die jeweiligen Rahmenbedingungen angewandt werden [155]. Deshalb sind zusätzliche Untersuchungen notwendig, um die Ergebnisse der Altersbewertung mittels diagnostischer Verhältnisse zu verifizieren.



**Abb. 12:** Veränderung der chemischen Zusammensetzung von Mineralölprodukten aufgrund des biologischen Abbaus [153].

84

Die **Biodegradation von Benzinschadensfällen** kann durch folgende diagnostische Verhältnisse nachgewiesen werden [154]:

85

- $C_4-C_8$  (*n* + *iso*) Alkane/ $C_4-C_8$  Olefine
- 3-Methylhexan/*n*-Heptan
- Methylcyclohexan/*n*-Heptan
- $\Sigma$ Trimethylpentane/*n*-Octan.

Zur **Altersbewertung von Benzinschadensfällen** wurde eine Methode auf Basis von BTEX-Verhältnissen ( $R_b = (B+T)/(E+X)$ ) an Grundwasserproben abgeleitet [153].

Eine weitere Möglichkeit zur zeitlichen Eingrenzung eines Mineralölschadens ist die Erfassung von **Additiven** oder besonders umweltschädigenden **Inhaltsstoffen**, die für bestimmte Zeiträume typisch sind. Zur Altersdatierung von Benzinschadensfällen werden hauptsächlich bleiorganische Verbindungen sowie Oxygenate (MTBE, ETBE) herangezogen [156, 157]. Außerdem können die Gehalte an Schwefel, Benzol, Aromaten und Olefinen

86

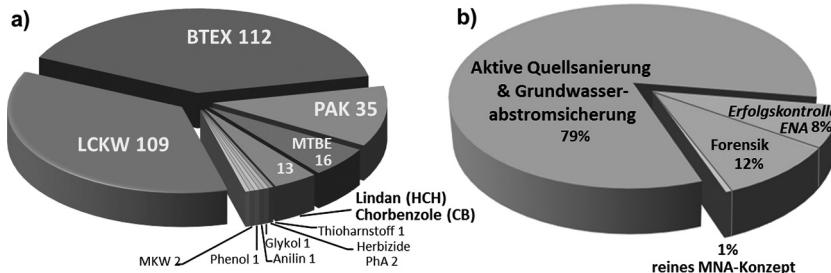
Hinweise auf bestimmte Eintragszeiträume geben, da ihre Anteile zu bestimmten Zeitpunkten regulatorisch begrenzt wurden [153, 154, 158].

- 87 Die hohe Variabilität der Ausgangsgemische, der Raffinerieverfahren und die vielen möglichen Wechselwirkungen mit der Umwelt (z. B. Evaporation, Auswaschung, Einkapselung, Phasenbildung, biologischer Abbau) lassen jedoch in der Regel nur sehr unscharfe Altersangaben zu. Es ist deshalb vorteilhaft, die ursprünglichen **Reinphasen** als Referenzmaterial zur Verfügung zu haben.

## 6 Anwendungshäufigkeit der Untersuchungsmethoden

### 6.1 Schadstoffspektrum und Sanierungskonzepte

- 88 Chlorige Ethene (LCKW) bzw. Benzole (CB) und kraftstofftypische Kohlenwasserstoffe (BTEX, PAK, MKW, MTBE) sind die **Schadstoffgruppen**, die in Altlasten am häufigsten vorkommen [159–160]. Zugleich lassen sich ihre Abbauprozesse sehr gut nachweisen und charakterisieren. Dementsprechend waren fast alle seit 2006 durch Isodetect untersuchten Standorte ( $n = 233$ ) mit mindestens einer dieser Kontaminanten belastet (Abb. 13, links). Nur in wenigen Einzelfällen fokussierten sich die Abbauuntersuchungen auf exotischere Komponenten (Phenol, Anilin, Glykol, Pestizide, Phenoxyessigsäuren PhA, Lindan, Thioharnstoff), für die meistens spezifische Analysemethoden etabliert werden mussten.



- 89 **Abb. 13:** Dominierende Schadstoffgruppen (links) und sanierungsstrategische Ziele (rechts) von Abbau- und Forensikanalysen an 233 untersuchten Standorten.

- 90 Das **sanierungsstrategische Hauptziel** der Untersuchungen war an den meisten Standorten (79%; Abb. 13, rechts) die Kombination der natürlichen Schadstoffminderung mit aktiven Sanierungsmaßnahmen, die am Schadensherd geplant waren oder bereits durchgeführt wurden (z. B. *in situ* Sti-

mulation der vorhandenen Abbauaktivität, Einspundung, *Pump-and-Treat*, Auskofferung). Die orientierende Erkundung der Abbauprozesse diente der räumlichen Eingrenzung bzw. Vorbereitung einer aktiven Sanierungstechnologie und wurde ggf. mit detaillierten Nachuntersuchungen ergänzt. Nur in zwei Fällen (u. a. Standort Rondenbarg, [33]) wurde aus den Ergebnissen ein ausschließlich überwachendes Konzept abgeleitet (MNA; 1%). Häufiger war die Entscheidung für eine gezielte *in situ* Stimulierung des biologischen Schadstoffabbaus, deren Erfolg durch ein begleitendes Isotopenmonitoring verifiziert wurde (ENA, n = 19; 8%). Forensische Fragestellungen zur Identifizierung von Schadensverursachern standen an 12% der Standorte im Vordergrund.

## 6.2 Kostenrahmen

Eine Schwierigkeit bei der Planung von Sanierungskonzepten ist die Verhältnismäßigkeitsprüfung der Kosten für den aktiven bzw. den passiven (überwachenden) Teil der Sanierung. Derartige Schätzungen haben grundsätzlich eine sehr große Unsicherheit, da sich der Monitoring- bzw. Sanierungsaufwand oft nur hypothetisch bewerten lässt. Als Hilfestellung zur Prognose von **Monitoringkosten** sind die ungefähren Kostenbereiche des Analyseaufwands (pro Probe) der beschriebenen zehn Monitoringmethoden untenstehend aufgelistet (Tab. 3).

91

**Tab. 3:** Kostenbereich von Einzelanalysen/Einzelansätzen der beschriebenen Untersuchungsmethoden zum Schadstoffabbau in Altlasten.

Methode	Kostenbereich pro Analyse
<sup>13</sup> C/ <sup>12</sup> C-Analyse von Schadstoffen	250 € – 350 €
<sup>2</sup> H/ <sup>1</sup> H-Analyse von Schadstoffen	300 € – 450 €
<sup>37</sup> Cl/ <sup>35</sup> Cl-Analyse von Schadstoffen	350 € – 480 €
Isotopenanalyse von Redoxindikatoren	150 € – 270 €
BACTRAPS	1.000 € – 2.500 €
Labormikroskopen ohne <sup>13</sup> C-Markierung	900 € – 3.000 €
Labormikroskopen mit <sup>13</sup> C-Markierung	1.000 € – 3.000 €
Analyse von Abbaumetaboliten	350 € – 480 €
qPCR von taxonomischen Genmarkern	250 € – 500 €

92

**Tab. 3:** Kostenbereich von Einzelanalysen/Einzelansätzen der beschriebenen Untersuchungsmethoden zum Schadstoffabbau in Altlasten. (Fortsetzung)

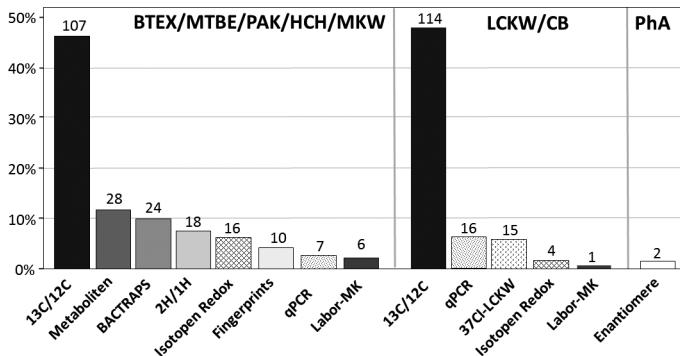
Methode	Kostenbereich pro Analyse		
qPCR von enzymspezifischen Genmarkern	350 €	–	600 €
GC-MS Screening an MKW	250 €	–	600 €
Fraktionierung von Enantiomeren	800 €	–	1.500 €

- 93 Hinzu kommt der Aufwand für **gutachterliche Leistungen**. Diese beinhalten beispielsweise die Bewertung analytischer Unsicherheiten, die Quantifizierung des Abbaus, die Unterscheidung von Schadstoffquellen, die Berücksichtigung von Milieubedingungen, die Prognose der Fahneneentwicklung, die Identifizierung von Abbaumetaboliten oder die Einordnung von Genabundanzen. Je nach Komplexität des Standorts kann dieser Zusatzaufwand 30% bis 70% des Analyseaufwands betragen.
- 94 In der Summe ist bei einem Standort mittlerer Dimension (ca. 10 Messstellen) ein **Gesamtkostenaufwand** von 5 T€ bis 10 T€ für ein orientierendes Abbaumonitoring und von 10 T€ bis 25 T€ für ein Detailmonitoring mit Mehrmethodenansatz wahrscheinlich.

### 6.3 Methodenspektrum

- 95 Die **komponentenspezifische  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenanalyse** von Schadstoffen wurde an den 233 untersuchten Standorten fast immer eingesetzt und für Kontaminationen mit BTEX, MTBE, HCH sowie für LCKW und Chlorbenzole als Standardmethode verwendet (Abb. 14). Für Standorte mit hoher PAK-Belastung waren Metabolitenanalysen (insgesamt an 28 Standorten) sowie BACTRAPS (24) die bevorzugten Nachweismethoden.
- 96 Aufgrund der aktuellen analytischen Fortschritte werden bei LCKW-Kontaminationen inzwischen öfter auch **Chlor-Isotopenanalysen** durchgeführt. Dies ist insbesondere bei forensischen Fragestellungen vorteilhaft, da der isotopische Fingerabdruck dadurch doppelt aussagekräftig wird. Eine hervorragende Ergänzung zum  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenmonitoring von LCKW bieten qPCR-Analysen, die an 19 Standorten eingesetzt wurden. Da sie mit der Aufschlüsselung der mikrobiellen Besiedlung einen völlig unabhängigen Untersuchungsansatz verfolgen, liefern sie andersartige Informationen, mit denen sich das Prozessverständnis zum Abbau oft wesentlich verbessern lässt.

Für Standorte mit **speziellen Kontaminationen** (z. B. Anilin, Phenol, Thioharnstoff, Pestizide, Phenoxyäuren PhA) sind meist **keine Routineverfahren** verfügbar. Laborversuche stellen dann einen gut definierten Ansatz dar, um zu zeigen, unter welchen Bedingungen ein Schadstoffabbau möglich oder auch stimulierbar ist.



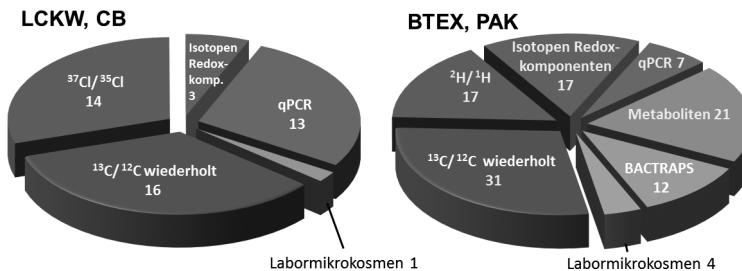
**Abb. 14:** Anwendungshäufigkeit von Untersuchungsmethoden zum Abbau verschiedener Schadstoffgruppen an insgesamt 233 Altlastenstandorten.

#### 6.4 Mehrmethodenansätze

Sobald der *in situ* Schadstoffabbau als wesentlicher Bestandteil eines Sanierungskonzepts etabliert werden soll, sind detaillierte Untersuchungen zum Prozessverständnis und zur Fahnenentwicklung erforderlich [22]. Hierfür werden in der Regel **mehrere, voneinander unabhängige Untersuchungsverfahren** verwendet (Mehrmethodenansatz, *multiple-line-of-evidence* [36–37, 42, 122]). Dies war an knapp der Hälfte (111) der Standorte der Fall.

Die **Kombination von Nachweismethoden** richtete sich vor allem nach dem vorhandenen **Schadstoffspektrum**. Am häufigsten (31× bei BTEX-Kontaminationen, 16× bei LCKW-Kontaminationen) wurde die komponentenspezifische  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Analyse der Schadstoffe in erweitertem Umfang wiederholt, um die orientierende Untersuchung zu bestätigen (Abb. 15). Bei LCKW-Kontaminationen wurden an 13 Standorten neben der  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Bestimmung auch qPCR-Analysen durchgeführt. In jüngerer Zeit bewährte sich auch die Chlor-Isotopenanalyse ( $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$  parallel zu  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ; n = 14) vor allem auch für forensische Zielstellungen. Laborversuche oder Isotopenanalysen von Redoxindikatoren (Nitrat, Sulfat, Methan) wurden vereinzelt zur Vorbereitung von ENA-Maßnahmen durchgeführt.

- 101** Für **BTEX**-Kontaminationen steht eine breitere Methodenpalette zur Charakterisierung des Schadstoffabbaus zur Verfügung. Als unabhängiges Ergänzungsverfahren zum  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Monitoring wurde die Metabolitenanalyse bevorzugt (21x). Je nach spezieller Zielsetzung wurden BACTRAPS (12x zum Abbaunachweis dominierender PAK-Komponenten), die Bestimmung der Wasserstoffisotopen ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ; 17x u. a. zur Unterscheidung aerober/anaerober Abbauprozesse) oder qPCR-Analysen (7x zur Bestätigung des Abbaupotenzials) eingesetzt. Die Isotopenanalyse von Redoxindikatoren wurde vor allem dann verfolgt (17x), wenn die entsprechende Redoxreaktionen durch Substratzugaben stimuliert werden sollten.



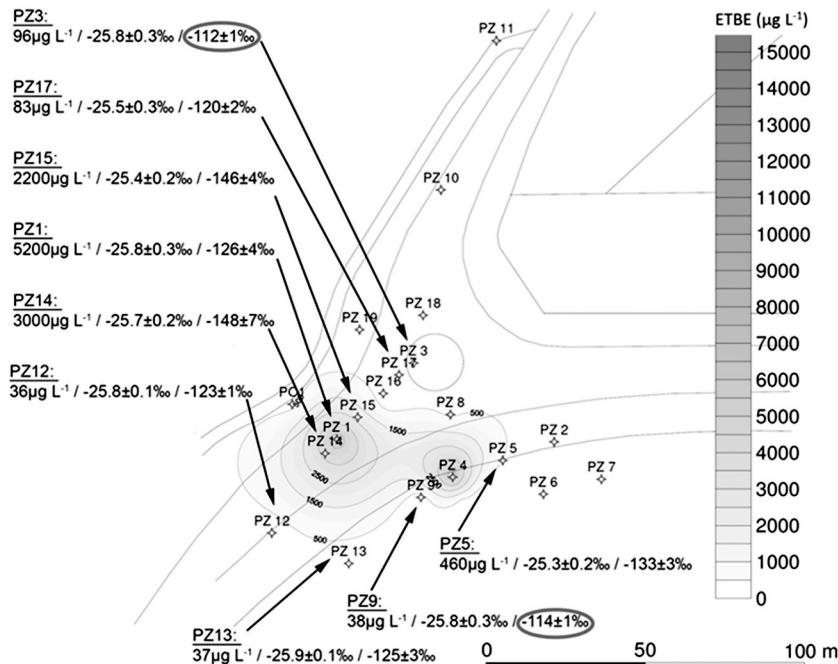
- 102** **Abb. 15:** Ergänzend zur einmaligen komponentenspezifischen  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Analyse eingesetzte Methoden zur Charakterisierung des Schadstoffabbaus von LCKW/CB und BTEX/PAK (Mehrmethodenansatz an insgesamt 111 von 233 Standorten).

## 7 Mehrmethodenansatz – zwei Praxisbeispiele

### 7.1 Abbau von Kraftstoffadditiven (ETBE)

- 103** In Europa wird Ethyl-*tert*-butylether (ETBE) zunehmend als Kraftstoffadditiv in der Nachfolge von MTBE eingesetzt. Um den **ETBE-Abbau** an einem Standort in Spanien zu bewerten, wurden **drei Monitoringverfahren** angewendet: die komponenten-spezifische Analyse der stabilen Isotope i)  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  und ii)  $^2\text{H}/^1\text{H}$  sowie iii) *in situ* Mikrokosmen mit  $^{13}\text{C}$ -markiertem ETBE (BACTRAPS) [161].
- 104** Die **Kohlenstoff-Isotopensignaturen** von ETBE waren an neun untersuchten Messstellen nahezu identisch (-25,9 ‰ bis -25,3 ‰; Abb. 16) und gaben somit keinen Hinweis auf eine ETBE-Biodegradation. Die **Wasserstoff-Isotopensignaturen** von ETBE waren dagegen im Fahnenrandbereich teilweise positiver (-114 ‰ bis -112 ‰) als im Schadenszentrum (-148 ‰ bis -126 ‰), was eine geringe ETBE-Biodegradation indizierte. Da für die Was-

serstoffisotopenfraktionierung von ETBE zum Zeitpunkt der Untersuchung keine geeigneten Isotopenanreicherungsfaktoren vorlagen, konnte der Schadstoffabbau nicht quantifiziert werden.



**Abb. 16:** Konzentrationen, Kohlenstoff- und Wasserstoff-Isotopensignaturen von ETBE im Grundwasser eines benzinbelasteten Standorts. Die rotmarkierten  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenwerte geben einen Hinweis auf Biodegradation.

105

Um den Schadstoffabbau am Standort zu stimulieren, wurde Sauerstoff in verschiedene Bereiche der Schadstofffahne eingespeist. Während dieser Maßnahme wurde der ETBE-Abbau durch **BACTRAPS mit  $^{13}\text{C}$ -markiertem ETBE untersucht**. Eine signifikante  $^{13}\text{C}$ -Zunahme in spezifischen Bestandteilen der Biomasse (z. B. Fettsäuren) ist ein direkter und besonders sensitiver Nachweis für eine *in situ* Biodegradation.

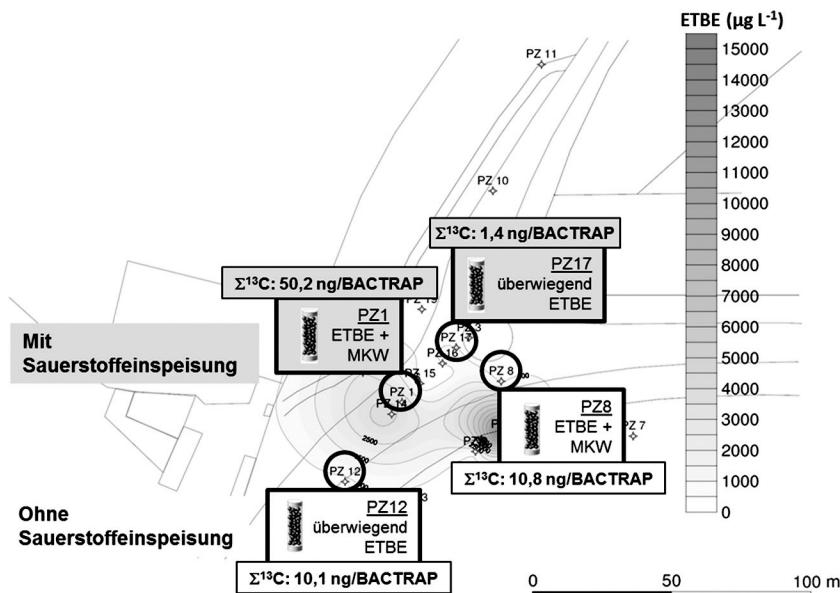
106

Die BACTRAPS wurden in vier Messstellen mit unterschiedlichen Schadstoffmustern bzw. Stimulationsmaßnahmen eingebaut: (i) ETBE als Hauptschadstoff (Abb. 17, PZ12), (ii) ETBE als Hauptschadstoff im Bereich der Sauerstoffeinspeisung (PZ17), (iii) ETBE und Mineralölkohlenwasser-

107

stoffe (MKW) in hohen Konzentrationen (PZ8), (iv) ETBE und MKW mit hohen Konzentrationen im Bereich der Sauerstoffeinspeisung (PZ1). Für alle BACTRAPS wurde eine signifikante Zunahme von  $^{13}\text{C}$  in den extrahierten, mikrobiellen Fettsäuren festgestellt, was demzufolge die *in situ* Biodegradation von ETBE belegte. Der BACTRAP aus PZ1 wies die höchste  $^{13}\text{C}$ -Zunahme in den Fettsäuren auf (50,2 ng  $^{13}\text{C}$ ), wogegen sie in PZ17 mit 1,7 ng  $^{13}\text{C}$  relativ gering (jedoch signifikant) war.

- 108 Aus dem Vergleich der BACTRAPS wurde geschlossen, dass die Sauerstoffeinspeisung zu einer **Stimulation des aeroben ETBE-Abbaus** bei hohen MKW-Konzentrationen geführt hat. Eine Abbaustimulation bei niedrigen MKW-Gehalt erwies sich als wenig effektiv. Zugleich wurde gezeigt, dass auch ein natürlicher ETBE-Abbau erfolgt (PZ12, PZ8), der allerdings um ein Mehrfaches geringer ist als bei der Sauerstoffeinspeisung in den Bereichen mit hohen MKW-Konzentrationen.
- 109 Die Untersuchungen führten zu einem **wesentlich verbesserten Verständnis der Abbauprozesse**, wodurch das Sanierungskonzept modifiziert wurde. Die Sauerstoffeinspeisung wurde vorzugsweise für Zonen mit hoher ETBE- und MKW-Belastung geplant. Zugleich war der doppelte Beleg des natürlichen ETBE-Abbaus (mittels  $^2\text{H}/^1\text{H}$ -Isotopenanalysen und BACTRAPS) eine ausreichende Grundlage für die Berücksichtigung der natürlichen Schadstoffminderung in Zonen ohne Sauerstoffeinspeisung.



**Abb. 17:** Lage und Charakteristik der Messstellen mit BACTRAPS sowie  $^{13}\text{C}$ -Gehalt (ng/BACTRAP), der in extrahierten Fettsäuren bestimmt wurde. 110

## 7.2 Abbau chlorierter Ethene

Mehrere unabhängige Methoden zur komplementären Erfassung des LCKW-Abbaus wurden an einem kontaminierten Standort eingesetzt, an dem TCE zur Entölung und Entfettung von Metallteilen benutzt worden war. Zur Erstellung eines Sanierungskonzepts, das MNA-Prozesse berücksichtigt, sollten die hydrogeochemischen und biologischen Verhältnisse umfassend charakterisiert werden. Dafür wurden **drei Monitoringverfahren** eingesetzt:

- komponentenspezifische  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Analysen zum Nachweis und zur Quantifizierung des biologischen Abbaus von LCKW
- qPCR-Analyse von LCKW-Abbauern, die zur vollständigen reduktiven Dechlorierung befähigt sind (*Dehalococcoides*), wobei taxonomische und enzymspezifische, funktionelle Gene berücksichtigt werden
- Labormikroskopienuntersuchungen mit  $^{13}\text{C}$ -markierten Zielverbindungen zur Bestimmung des Mineralisierungspotenzials unter verschiede-

111

nen Milieubedingungen und zum Test der Abbaustimulierung durch Sauerstoffzugabe.

- 112 Zur Erstbeurteilung des Abbaus der chlorierten Ethene wurde eine **komponentenspezifische  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Analyse** durchgeführt und der Schadstoffabbau auf Basis der Isotopenanreicherung und entsprechender Isotopenanreicherungsfaktoren quantifiziert. Im Schadenszentrum war ein geringer Abbau von TCE und *c*DCE zu verzeichnen (Tab. 4). Der VC-Isotopenwert war negativer als der Quellisotopenwert von TCE, wodurch eine VC-Akkumulation bzw. die Anfangsphase der VC-Bildung indiziert wurde. Im Grundwasserabstrom des Schadensherdes waren die Isotopenwerte von *c*DCE und VC dagegen positiver als der Quellisotopenwert von TCE. Dies verweist auf eine deutlich stärkere Umsetzung von TCE und insbesondere auf einen Abbau von VC. Anhand der jeweiligen Isotopenanreicherungsfaktoren wurde mit einem konservativen Ansatz die prozentuale Biodegradation berechnet. Die Biodegradation von VC war demnach wesentlich geringer (ca. 10% mit Ausnahme von 47% in F-1) als diejenige von TCE und *c*DCE (mehrfaich > 50%). Somit findet am Standort ein VC-Abbau statt, jedoch könnte das Abbaupotenzial höchstwahrscheinlich stimuliert werden.

**Tab. 4:** Prozentuale Mindestbiodegradation chlorierter Ethene abgeleitet aus der komponentenspezifischen Isotopenanreicherung von  $^{13}\text{C}$ . n.b. = unter der Bestimmungsgrenze; n.s. = Isotopenanreicherung nicht signifikant; a. = Akkumulation/Anfangsphase der Metabolitenbildung nachgewiesen.

113

Messstelle	PCE [%]	TCE [%]	<i>c</i> -DCE [%]	VC [%]
<b>Schadenszentrum</b>				
A	n.s.	n.s.	5	a.
B	n.s.	25	7	a.
<b>Unmittelbarer Grundwasserabstrom</b>				
C	n.s.	32	43	11
D-1	n.s.	63	24	n.s.-a.
D-2	n.b.	n.b.	30	a.
D-3	n.b.	n.b.	15	n.b.
<b>Mittlerer Grundwasserabstrom</b>				
E	n.b.	54	28	11
F-1	n.s.	25	38	47

**Tab. 4:** Prozentuale Mindestbiodegradation chlorierter Ethene abgeleitet aus der komponentenspezifischen Isotopenanreicherung von  $^{13}\text{C}$ . n.b. = unter der Bestimmungsgrenze; n.s. = Isotopenanreicherung nicht signifikant; a. = Akkumulation/Anfangsphase der Metabolitenbildung nachgewiesen. (Fortsetzung)

Messstelle	PCE [%]	TCE [%]	c-DCE [%]	VC [%]
F-2	n.b.	n.b.	31	a.
F-3	n.b.	n.b.	31	a.
G	n.b.	n.b.	30	a.
Ferner Grundwasserabstrom				
H	n.s.	n.b.	69	8
I-1	n.b.	n.b.	32	10
I-2	n.b.	n.b.	34	12
I-3	n.b.	n.b.	59	10
I-4	n.b.	n.b.	39	a.

Molekulargenetische Methoden (**qPCR**) zeigten an einer von acht untersuchten Grundwassermessstellen eine Präsenz von *Dehalococcoides* knapp an der Bestimmungsgrenze (nicht mehr als  $3,0 \times 10^2$  Genkopien pro Milliliter Grundwasser). Parallel zur Erfassung von *Dehalococcoides*-Spezies wurden nachfolgend aufgeführte Gene, welche für Enzyme der reduktiven Dechlorierung (sog. Reduktasen) codieren [98–99], mittels qPCR quantifiziert:

Enzym (Gen)	katalysierter Schritt
TCE-Reduktase ( <i>tceA</i> )	TCE → c-DCE → VC → Ethen
VC-Reduktasen ( <i>vcrA</i> , <i>bvcA</i> )	c-DCE → VC → Ethen

Übereinstimmend mit der Abundanzbestimmung von *Dehalococcoides* wurde an derselben Grundwassermessstelle das für die TCE-Reduktase codierende Gen *tceA* detektiert, jedoch ebenfalls knapp an der Bestimmungsgrenze (nicht mehr als  $3,0 \times 10^2$  N/mL). Die Analyseergebnisse deuten darauf hin, dass Mikroorganismen der Gattung *Dehalococcoides*, die zum vollständigen Abbau von chlorierten Ethenen zu Ethen befähigt sind, nur in vernachlässigbaren Zahlen im Grundwasser vorhanden sind. Allerdings ist es möglich, dass die Abbauer vorrangig im Grundwassersediment zu finden sind und deshalb nur in Sedimentproben in ausreichender Zahl nachgewiesen

114

werden können. Dies würde den Widerspruch zu den Isotopendaten, die einen verbreiteten VC-Abbau zeigen, erklären.

- 115 **Labormikroskopen-Untersuchungen** mit  $^{13}\text{C}$ -markierten Zielverbindungen (TCE, cDCE, VC) und Inokulum aus vier Grundwassermessstellen mit verschiedenen LCKW-Belastungen zeigten, dass unter den gegebenen anoxischen Milieubedingungen am Standort anscheinend eine reduktive Dechlorierung von TCE und cDCE erfolgt. Eine mikrobielle Umsetzung von  $^{13}\text{C}$ -TCE zu  $^{13}\text{C}$ -cDCE und weiter zu  $^{13}\text{C}$ -VC sowie von  $^{13}\text{C}$ -cDCE zu  $^{13}\text{C}$ -VC wurde nachgewiesen (Tab. 5). Die vollständige reduktive Dechlorierung von VC zu Ethen war im Untersuchungszeitraum von 144 Tagen allerdings nicht feststellbar, was auf die Persistenz von VC unter den vorgegebenen Milieubedingungen deutet.

**Tab. 5:** LCKW-Abbauprodukte (erkennbar an der Zunahme des  $^{13}\text{C}$ -Gehalts) in Labormikroskopen mit anoxischen und aerobisierten Bedingungen, deren Aufwuchsmaterial aus verschiedenen Fahnenbereichen stammte.

116	Bereich	Ausgangssubstanz	GWM	Anoxische Abbauprodukte	Aerobisierungs-Abbauprodukte
	Schadenszentrum	$^{13}\text{C}$ -TCE	A	$^{13}\text{C}$ -cDCE und $^{13}\text{C}$ -VC	kein Ansatz
	Unmittelbarer Abstrom	$^{13}\text{C}$ -cDCE	D-1	$^{13}\text{C}$ -VC	$^{13}\text{C}$ -CO <sub>2</sub>
	Ferner Abstrom	$^{13}\text{C}$ -cDCE	I-4	$^{13}\text{C}$ -VC	$^{13}\text{C}$ -CO <sub>2</sub>
	Mittlerer Abstrom	$^{13}\text{C}$ -VC	F-2	kein Abbau	$^{13}\text{C}$ -CO <sub>2</sub>
	Ferner Abstrom	$^{13}\text{C}$ -VC	I-4	kein Abbau	$^{13}\text{C}$ -CO <sub>2</sub>

- 117 Zur Beurteilung der Wirksamkeit einer möglichen **Aerobisierungsmaßnahme** wurde der durch Sauerstoffzugabe stimulierte mikrobielle Abbau von  $^{13}\text{C}$ -cDCE und  $^{13}\text{C}$ -VC über einen Versuchszeitraum von 144 Tagen untersucht. In den Labormikroskopen mit O<sub>2</sub>-Zugabe war eine Zunahme des  $^{13}\text{C}$ -Anteils im entstehenden CO<sub>2</sub> erkennbar und somit eine vollständige, jedoch noch sehr geringe Mineralisierung nachweisbar (Tab. 5). Die stark verzögerte Mineralisierung war vermutlich auf die langsame Adaption der LCKW-Abbauer zurückzuführen. Die Ergebnisse demonstrierten, dass der aerobe Abbau von cDCE und VC am Standort prinzipiell stimuliert werden kann.

Das **Sanierungskonzept** wurde mit den Abbauuntersuchungen wesentlich konkretisiert. Es zeichnet sich ab, dass eine erfolgreiche aerobe *in situ* Stimulierung am Standort durchführbar ist. Dabei ist es allerdings möglich, dass sich die *in situ* Abbauraten nur langsam erhöhen. Der durch das  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenanalysen nachgewiesene, weitverbreitete VC-Abbau im anoxischen Bereich der Schadstofffahne stellt eine MNA-Option außerhalb des *in situ* Maßnahmenbereichs dar. Hier bietet sich eine Zonierung der Schadstofffahne mit unterschiedlichen Zielvorgaben an.

118

## 8 Zusammenfassung und Zukunftsperspektiven

Der **Untersuchungsaufwand** zum Schadstoffabbau in Altlasten richtet sich nach der Bedeutung, die diesem Prozess von den Sanierungsverantwortlichen zugeschrieben wird. Von der pauschalen Bewertung des Konzentrationsrückgangs als ausreichendem Abbauidikator bis zur aufwändigen und differenzierten Aufklärung und Modellierung verschiedener Abbauprozesse in verschiedenen Zonen einer Schadstofffahne werden hier in der Praxis unterschiedlichste Kriterien angesetzt. Die Erkundung der natürlichen Schadstoffminderung ist dabei oft unzureichend, obwohl die detaillierte Kenntnis der Prozesse oft zu einer erheblichen Reduzierung des Sanierungsaufwands führt [79, 80]).

119

In der Praxis wird oft versucht, beim Nachweis des Schadstoffabbaus den **Weg des geringsten Widerstands** zu gehen und Abbauprozesse allein mit dem Konzentrationsrückgang der Schadstoffe oder/und Redoxindikatoren (manchmal missverständlich als MNA-Parameter bezeichnet) zu belegen. Da die Abnahme von Schadstoffgehalten komplexen biologischen und physikalischen Prozessen (z. B. Sorption, Dispersion, Verflüchtigung) unterliegt und Elektronenakzeptoren vielfältige Reaktionen eingehen können, ermöglichen diese auf Konzentrationsmessungen basierenden Ansätze weder einen verlässlichen Nachweis noch eine Quantifizierung der biologischen Schadstoffminderung.

120

Die erhobenen Daten zur Anwendungshäufigkeit, Zielsetzung und Methodenkombination von Abbauuntersuchungen in der Altlastenerkundung erheben keinen Anspruch auf statistische Sicherheit oder Repräsentanz in der Bearbeitungspraxis. Dennoch lässt sich klar erkennen, dass bei LCKW-, BTEX-, und MTBE-Kontaminationen die komponentenspezifische **Kohlenstoff-Isotopenanalyse** der Schadstoffe die **Schlüsselmethode** zur späteren Nutzung der Abbauprozesse im Rahmen einer differenzierten Sanierungsstrategie ist. Ebenso wie bei anderen Isotopenmethoden wurden hier in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte bei den Bestimmungsgrenzen (1–10 µg/L), der Schnelligkeit (2–8 Wochen), der Reproduzierbarkeit und Präzisi-

121

on, dem Isotopen- und Substanzspektrum der Analysen und der Qualität der quantitativen Auswertung erzielt. Isotopenuntersuchungen werden somit auch in Zukunft einen erheblichen Informationsgewinn für die Entwicklung einer tragfähigen, kostengünstigen Sanierungsstrategie bedeuten.

- 122 Mit zunehmender Praxiserfahrung wird die komponentenspezifische  $^{13}\text{C}$ /  $^{12}\text{C}$ -Analyse immer effizienter mit anderen Nachweisverfahren zum Schadstoffabbau kombiniert. Dies ist vor allem der Fall, wenn die natürliche oder stimulierte biologische Schadstoffminderung als Teil eines Sanierungskonzepts etabliert werden soll. Die dann erforderlichen Detailuntersuchungen zum Prozessverständnis, zur Abbauquantifizierung und zur Fahnenprognose verwenden mindestens zwei voneinander unabhängige Untersuchungsmethoden (**Mehrmethodenansatz**). Je nach Schadstoffspektrum und Standortbedingungen sind dies in der Regel Metabolitenanalysen, BACTRAPS, qPCR-Analysen, weitere Isotopenanalysen oder Labormikroskopien.
- 123 In der Sanierungspraxis sind reine MNA-Konzepte Ausnahmefälle, dagegen wird sehr häufig eine aktive Sanierung des Schadensherds mit einem Monitoring der natürlichen Schadstoffminderung in Grundwasserabstrom verknüpft. Dieses **kombinierte Sanierungskonzept** wird immer häufiger umgesetzt. In Deutschland haben die regulierenden Behörden in jüngster Zeit die Berücksichtigung von Abbauprozessen in Sanierungskonzepten erleichtert, indem für einen Standort unterschiedliche Sanierungszonen (mit spezifischen Sanierungszielwerten) definiert werden können [22].
- 124 Die Nutzung mikrobieller Abbauprozesse in Sanierungskonzepten wird formal erschwert durch eine hypothetische Verhältnismäßigkeitsprüfung des Monitorings- bzw. Sanierungsaufwands. Bei einem Sanierungsstandort (oder einer Sanierungszone) mittlerer Dimension (ca. 10 Messstellen) ist ein **Gesamtkostenaufwand** von 5 T€ bis 10 T€ für ein orientierendes Abbaumonitoring und von 10 T€ bis 25 T€ für ein Detailmonitoring mit Mehrmethodenansatz wahrscheinlich.
- 125 In jeder Sanierungsphase wird die Charakterisierung der standortspezifischen Abbauprozesse die **Planung, Auswahl, Dimensionierung, Erfolgskontrolle und Nachsorge** von Sanierungsmaßnahmen verbessern. Um validierte standortspezifische Erkenntnisse zum Schadstoffabbau zu erhalten, sollten die grundlegend unterschiedlichen Qualitäten verschiedener Nachweisverfahren zwischen den geologischen/mikrobiologischen Fachexperten und den Projektentscheidern intensiv kommuniziert werden [176, 177].

## A Abkürzungsverzeichnis

B [%]	Prozentualer Abbau (Biodegradation)
BTEX	Benzol, Toluol, Ethylbenzol, Xyole
<i>bssA</i>	funktionelles Markergen zum Nachweis des BTEX-Abbaus mittels qPCR
<i>bamA</i>	funktionelles Markergen zum Nachweis des BTEX-Abbaus mittels qPCR
<i>bvcA</i>	funktionelles Markergen zum Nachweis des anaeroben VC-Abbaus
<sup>12</sup> C	Stabiles, leichtes Kohlenstoffisotop mit der Atommasse 12
<sup>13</sup> C	Stabiles, schweres Kohlenstoffisotop mit der Atommasse 13
CSIA	Komponenten-spezifische Analyse stabiler Isotope (Compound-specific stable isotope analysis)
$\delta$	Isotopensignatur, Isotopenwert, Unterschied der Isotopenverhältnisse von schweren/leichten Isotopen zwischen einer Verbindung und einer weltweiten Referenzsubstanz
$\text{\%}$	gebräuchliche Einheit der Isotopensignatur ( $\delta$ in Tausendstel)
$\delta^{13}\text{C}$	Kohlenstoff-Isotopensignatur auf Grundlage der Delta-Notation
$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	Kohlenstoff-Isotopenverhältnis
$^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$	Chlor-Isotopenverhältnis
CB	Chlorbenzole
<i>dhc</i>	taxonomisches Markergen für die Bakteriengruppe <i>Dehalococcoides</i>
DNA	Desoxyribonucleinsäure (desoxyribonucleic acid), Teil der Erbinformation
<i>cDCE</i>	<i>cis</i> Dichlorethen
DIC	dissolved inorganic carbon, gelöster anorganischer Kohlenstoff
DOC	dissolved organic carbon, gelöster organischer Kohlenstoff
$\epsilon$	Isotopenanreicherungsfaktor
ENA	Sanierungsstrategie zur Erhöhung der natürlichen Selbstreinigung (Enhanced Natural Attenuation)
ESIA	enantiomerspezifische Isotopenanalyse
ETBE	Ethyl- <i>tert</i> -butyl-ether

<i>etnC, etnE</i>	funktionelle Markergene zum Nachweis des aeroben DCE- und VC-Abbaus
GC/MS	Gas-Chromatographie/Massenspektroskopie
GWM	Grundwassermessstelle
<sup>1</sup> H	Stabiles Wasserstoffisotop mit der Atommasse 1
<sup>2</sup> H	Stabiles Wasserstoffisotop mit der Atommasse 2 (Deuterium)
HCH	Hexachlorcyclohexan
<i>in situ</i>	vor Ort, unmittelbar an der Untersuchungsstelle
KORA	Kontrollierter natürlicher Rückhalt und Abbau von Schadstoffen bei der Sanierung kontaminiert Gewässer und Böden, BMBF Förderschwerpunkt von 2002 bis 2008
LABO	Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Bodenschutz
LCKW	Leichtflüchtige, chlorierte Kohlenwasserstoffe, z. B. Tetra-, Tri-, Di-Chlorethen und Vinylchlorid
MCB	Monochlорbenzol
MCPA	2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure
MNA	Überwachung der natürlichen Selbstreinigung (Monitored Natural Attenuation)
MKW	Mineralölkohlenwasserstoffe
mRNA	messenger Ribonukleinsäure, RNA-Transkript eines Gens
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
mUr	milliUrey, alternative Einheit für die Deltanotation δ‰
<i>nahAc</i>	funktionelles Markergen zum Nachweis des aneroben Naphthalin-Abbaus mit qPCR
PAK	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
PCE	Perchlorethen, Tetrachlorethen
PhA	Phenoxyacids, Phenoxyäuren; Pestizid mit chiralem Molekülaufbau
qPCR	quantitative polymerase chain reaction
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure, in Ribosomen gelagerte Erbinformation
TBA	<i>Tert</i> -Butanol, Abbauprodukt von MTBE und ETBE
TCE	Trichlorethen
<i>tceA</i>	funktionelles Markergen zum Nachweis des anaeroben VC-Abbaus
<i>tmo</i>	funktionelles Markergen zum Nachweis des aeroben BTEX-Abbaus
US-EPA	US-amerikanische Umweltbehörde (United States Environmental Protection Agency)

VC	Vinylchlorid
<i>vcrA</i>	funktionelles Markergen zum Nachweis des anaeroben VC-Abbaus
VPDB	Vienna-PeeDee-Belemnite-Standard, weltweiter Referenzstandard zur Angabe der $^{13}\text{C}$ -Isotopensignatur
VSMOW	Vienna-Standard-Mean-Ocean-Water, weltweiter Referenzstandard zur Angabe der $^2\text{H}$ - und $^{18}\text{O}$ -Isotopensignatur

## B Literatur

- [1] Martus P, Püttmann W (2000): Anforderungen bei der Anwendung von „Natural Attenuation“ zur Sanierung von Grundwasserschadensfällen. altlasten spektrum 02/2000, 87–106.
- [2] Rügner H, Teutsch G, Grathwohl P, Kohler W (2001): Natural Attenuation organischer Schadstoffe im Grundwasser. Stand der Technik, Methoden zur Implementierung. altlastenforum Baden-Württemberg e. V., Schriftenreihe Heft 5, 1–35.
- [3] ITVA (2004): Arbeitshilfe – H1-12/04, Monitored Natural Attenuation. [http://www.itv-altlasten.de/fileadmin/user\\_upload/\\_imported/H1-12\\_Monitored\\_Natural\\_Attenuation\\_02.pdf](http://www.itv-altlasten.de/fileadmin/user_upload/_imported/H1-12_Monitored_Natural_Attenuation_02.pdf)
- [4] BLW (2004): Merkblatt Nr. 3.8/3, Natürliche Schadstoffminderung bei Grundwasserverunreinigungen durch Altlasten und schädliche Bodenveränderungen – Natural Attenuation –.
- [5] Rügner H, Wabbel D, Teutsch G, Bittens M (2004): Rezeptor-orientiertes multikompartimentelles Natural Attenuation-Konzept (ROMANA). altlasten spektrum 03/2004, 125–132.
- [6] LABO (2005): Positionspapier – Berücksichtigung der natürlichen Schadstoffminderung bei der Altlastenbearbeitung.
- [7] HLNUG (2005): Arbeitshilfe zu überwachten natürlichen Abbau- und Rückhalteprozessen im Grundwasser (Monitored Natural Attenuation MNA). Handbuch Altlasten, Band 8, Teil 1. [https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/altlasten/handbuch/hba8\\_1\\_web.pdf](https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/altlasten/handbuch/hba8_1_web.pdf)
- [8] Bracke R, Klümpen C (2005): 61 Natural Attenuation. Materialien zur Altlastensanierung und zum Bodenschutz (MALBO) – Band 20: Leistungsbuch Altlasten und Flächenentwicklung 2004/2005, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen. 673–686. [https://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuvpubl/0\\_lua/malbo20.pdf](https://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuvpubl/0_lua/malbo20.pdf)
- [9] Steiner N (2005): Rechtliche Rahmenbedingungen für Natural Attenuation und MNA. TerraTech 10, TT6-TT13.

- [10] Kohler W (2006): Monitored Natural Attenuation – Konzepte im Rahmen der systematischen Altlastenbearbeitung in Baden-Württemberg. [http://www.fachdokumente.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/10124/s\\_32\\_natural\\_attenuation.pdf?command=downloadContent&filename=s\\_32\\_natural\\_attenuation.pdf&FIS=161](http://www.fachdokumente.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/10124/s_32_natural_attenuation.pdf?command=downloadContent&filename=s_32_natural_attenuation.pdf&FIS=161)
- [11] Kerndorff H, Kühn S, Minden T, Orlikowski D, Struppe T (2006): Schutzspezifische Bewertung von Grundwasserkontaminationen durch Altablagerungen mit dem Ziel einer passiven Sanierung mittels natürlicher Selbstreinigungs Kräfte (NA). *altlasten spektrum* 01/2006, 9–20.
- [12] Rügner H, Grathwohl, P (2006): Nutzung von Natural Attenuation Prozessen bei der Altlastenbearbeitung (Kapitel 2.5). In: Förstner, U. & Grathwohl, P. (Eds.), *Ingenieurgeochemie – Technische Geochemie im Boden- und Gewässerschutz*, 2. Auflage. Springer-Verlag.
- [13] Held T (2007): Mikrobiologische NA-Untersuchungsmethoden. Förderschwerpunkt KORA. ISBN 978-3-89746-086-7.
- [14] Wöstmann U (2007): Natürliche Selbstreinigung und Immobilisierung bei schädlichen Bodenveränderungen und Altlasten. Erich Schmidt Verlag.
- [15] Michels J, Stuhrmann M, Frey C, Koschitzky H P (2008): Handlungsempfehlung mit Methodensammlung, Natürliche Schadstoffminde rung bei der Sanierung von Altlasten. Förderschwerpunkt KORA <http://www.natural-attenuation.de/download.html>
- [16] LABO (2009): Positionspapier – Berücksichtigung der natürlichen Schadstoffminderung bei der Altlastenbearbeitung. [https://www.labo-deutschland.de/documents/MNA-Positionspapier\\_Stand\\_10-12-2009\\_e51.pdf](https://www.labo-deutschland.de/documents/MNA-Positionspapier_Stand_10-12-2009_e51.pdf)
- [17] ITVA (2010): Arbeitshilfe – H 1 – 13, Innovative In-situ-Sanierungsverfahren. [http://www.itv-altlasten.de/fileadmin/user\\_upload/\\_imported/H1-13\\_Innovative\\_in-Situ-Sanierungsverfahren.pdf](http://www.itv-altlasten.de/fileadmin/user_upload/_imported/H1-13_Innovative_in-Situ-Sanierungsverfahren.pdf)
- [18] Dörrie T, Längert-Mühlegger (2010): Technologiequickscan In-situ-Sanierungstechnologien. <https://www.bmvt.gv.at/umwelt/abfallressourcen/altlastenmanagement/Quickscan.html>
- [19] LUBW (2014): Integrales Altlastenmanagement – Leitfaden und Handlungshilfe zur integralen Untersuchung und Sanierung von Altlasten. [https://www4.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/245503/integrales\\_altlastenmanagement.pdf?command=downloadContent&filename=integrales\\_altlastenmanagement.pdf](https://www4.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/245503/integrales_altlastenmanagement.pdf?command=downloadContent&filename=integrales_altlastenmanagement.pdf)
- [20] Held T (2014): In-situ-Verfahren zur Boden- und Grundwassersanierung – Verfahren, Planung und Sanierungskontrolle. Wiley-VCH Verlag.

- [21] Weindl J, Huber J (2014): Auswertung von MNA-Konzepten in Deutschland. [https://www.ufz.de/export/data/2/93337\\_ENDBERICHT%20-%20Auswertung%20von%20MNA-Konzepten%20in%20Deutschland.pdf](https://www.ufz.de/export/data/2/93337_ENDBERICHT%20-%20Auswertung%20von%20MNA-Konzepten%20in%20Deutschland.pdf)
- [22] LABO (2015): Positionspapier – Berücksichtigung der natürlichen Schadstoffminderung bei der Altlastenbearbeitung. [https://www.labo-deutschland.de/documents/2015\\_09\\_15-Endf\\_LABO-Pos-papier\\_Natuerl-Schadst.pdf](https://www.labo-deutschland.de/documents/2015_09_15-Endf_LABO-Pos-papier_Natuerl-Schadst.pdf)
- [23] BLU (2015): Merkblatt Nr. 3.8/3, Natürliche Schadstoffminderung bei Grundwasserverunreinigungen durch Altlasten und schädliche Bodenveränderungen – Monitored Natural Attenuation (MNA). [https://www.stmuv.bayern.de/themen/boden/vollzug/doc/nr\\_383.pdf](https://www.stmuv.bayern.de/themen/boden/vollzug/doc/nr_383.pdf)
- [24] Richnow H-H, Meckenstock R U (1999): Isotopen-geochemisches Konzept zur In-situ Erfassung des biologischen Abbaus in kontaminiertem Grundwasser. TerraTech 8/1999, TT38-TT41.
- [25] Vieth A, Morasch B, Meckenstock R U., Richnow H-H (2001): Charakterisierung des biologischen Abbaus von BTEX im Grundwasser über Isotopenfraktionierung – Feldstudien. TerraTech 5/2001, TT37-TT41.
- [26] Fischer A, Vieth A, Knöller K, Wachter T, Dahmke A, Richnow H-H (2004): Charakterisierung des mikrobiellen Schadstoffabbaus mit Hilfe von isotopenchemischen Methoden. Grundwasser 9, 159–172.
- [27] Rügner H, Holder T, Ronecker U, Schiffler G, Grathwohl P, Teutsch G (2004): Natural Attenuation Untersuchungen „Teerölproduktefabrik/ehemaliges Gaswerk Kehl“. Grundwasser 9, 43–53.
- [28] Fischer A, Bauer J, Dietze M, Gödeke S, Schirmer M, Weiß H, Kästner M, Meckenstock R U, Richnow H-H (2005): Konzept zur Quantifizierung des anaeroben in situ-Schadstoffabbaus in BTEX-kontaminierten Grundwasserleitern mittels Deuterium-markierter Substanzen. altlasten spektrum 03/2005, 5–12.
- [29] Büning C, Pfeifer F, Podwojewski E, Quecke W, Dohrmann A B, Tebbe C C, Kästner M, Richnow H-H (2005): In situ Mikrokosmenuntersuchungen mit <sup>13</sup>C-markiertem Benzol und Toluol zum Nachweis des natürlichen biologischen Abbaus im Grundwasser und zur molekularbiologischen Analyse der abbauaktiven Mikroflora. altlasten spektrum 03/2005, 137–146.
- [30] Martin H, Heidinger M, Ertl S, Eichinger L, Tiehm A, Schmidt K, Karch U, Leve J (2006): <sup>13</sup>C-Isotopenuntersuchungen zur Bestimmung von Natural Attenuation – Abgrenzung und Charakterisierung eines CKW-Schadens am Standort Frankenthal. TerraTech 3–4/2006, TT14-TT17.

- [31] Fischer A, Stelzer N, Eisenmann H, Richnow H-H (2006): Nachweis des mikrobiellen Schadstoffabbaus in Grundwasserleitern. Terra-Tech 1–2/2006, TT14–TT17.
- [32] Stelzer N, Fischer A, Kästner M, Richnow H H (2006): Analyse des anaeroben in-situ Benzolabbaus anhand von Mikrokosmen (BACT-RAPs) und Isotopenfraktionierungsprozessen. Grundwasser 11, 247–258.
- [33] Mäurer D, Stupp H D., Heinrichs D, Haupt T, Eisenmann H (2009): Strategien zur Behandlung des CKW-BTEX-Grundwasserschadens Deponie Rondenbarg: Vergleich von Pump-and-Treat und MNA unter Berücksichtigung der Kosten. altlasten spektrum 05/2009, 225–231.
- [34] Meckenstock R U et al (2015): Biodegradation: Updating the concepts of control for microbial cleanup in contaminated aquifers. Environ. Sci. Technol. 49, 7073–7081.
- [35] Yargicoglu E, Reddy K (2015): Review of biological diagnostic tools and their applications in geoenvironmental engineering. Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 14, 161–194.
- [36] Fischer A, Manefield M, Bombach P (2016): Application of stable isotope tools for evaluating natural and stimulated biodegradation of organic pollutants in field studies. Curr. Opin. Biotechnol. 41, 99–107.
- [37] Wittebol J, Dinkla I (2017): The use of multiple lines of evidence to substantiate anaerobic BTEX degradation in groundwater. In: McGenity, T. J., Timmis, K. N., Nogales, B. (Eds.), Hydrocarbon and lipid microbiology protocols: pollution mitigation and waste treatment applications. Springer-Verlag.
- [38] US-EPA, Office of Solid Waste and Emergency Response (1999): Use of Monitored Natural Attenuation at Superfund, RCRA Corrective Action, and Underground Storage Tank Sites. Nr. 9200.4-17P. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-02/documents/d9200.4-17.pdf>
- [39] Wiedemeier T H, Rifai H S, Newell C J, Wilson J T (1999): Natural Attenuation of fuels and chlorinated solvents in the subsurface. John Wiley and Sons.
- [40] ITRC (2005): Enhanced Attenuation – Fact Sheet. ITRC EACO Team-11/28/05. [https://www.itrcweb.org/Documents/EA\\_Fact\\_Sheet.pdf](https://www.itrcweb.org/Documents/EA_Fact_Sheet.pdf)
- [41] SRNL (2006): Enhanced attenuation: a reference guide on approaches to increase the natural treatment capacity of a system. WSRC-TR-2005-00198. [https://clu-in.org/download/contaminantfocus/tce/DOE\\_EA\\_doc.pdf](https://clu-in.org/download/contaminantfocus/tce/DOE_EA_doc.pdf)

- [42] Illman W A, Alvarez P J (2009): Performance assessment of bioremediation and natural attenuation. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 39, 209–270.
- [43] US-EPA, Office of Solid Waste and Emergency Response (2013): Introduction to in situ bioremediation of groundwater. EPA 542-R-13-018. [https://clu-in.org/download/remed/introductiontolsitubioremediationofgroundwater\\_dec2013.pdf](https://clu-in.org/download/remed/introductiontolsitubioremediationofgroundwater_dec2013.pdf)
- [44] Wienberg R (1997): Nichtstun und beobachten – eine alternative Grundwasser-Sanierungstechnik? *altlasten spektrum* 06/1997, 55–56.
- [45] Stupp H D, Bakenhus A, Staufer R, Lorenz D (2006): Kosten zur Sanierung von Grundwasserverunreinigungen durch CKW und Ansätze zur Definition der Verhältnismäßigkeit von Sanierungsmaßnahmen. *altlasten spektrum* 02/2006, 84–92.
- [46] Tsai T T, Kao C M, Hong A, Liang S H, Chien HY (2008): Remediation of TCE-contaminated aquifer by an in situ three-stage treatment train system. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 322, 130–137.
- [47] Held T (2010): Sanierung komplex kontaminiert heterogener Grundwasserleiter – Integrierte Sanierungskonzepte –. In: Franzius, V., Gerhold, F., Altenbockum, Z. (Hrsg.): *Handbuch der Altlastensanierung*, 60. Aktualisierung, 3. Aufl., C. F. Müller Verlag.
- [48] Konertz K, Biener E, von Mücke T, Rajes B, Zwartscholten E (2012): Kombination herkömmlicher und innovativer Sanierungsverfahren am Standort der ehemaligen Textilfabrik NINO in Nordhorn. In: Franzius, V., Gerhold, F., Altenbockum, Z. (Hrsg.): *Handbuch der Altlastensanierung*, 65. Aktualisierung, 3. Aufl., Verlagsgruppe Hüthig Jehle Rehm.
- [49] Kelley C A, Hammer B T, Coffin R B (1997): Concentrations and stable isotope values of BTEX in gasoline-contaminated groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 31, 2469–2472.
- [50] Sturchio N C, Clausen J L, Heraty L J, Huang L, Holt B D, Abrajano T A (1998): Chlorine isotope investigation of natural attenuation of trichloroethene in an aerobic aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3037–3042.
- [51] Hunkeler D, Aravena R, Butler B J (1999): Monitoring microbial dechlorination of tetrachloroethene (PCE) in groundwater using compound-specific stable carbon isotope ratios: Microcosm and field studies. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2733–2738.
- [52] Stehmeier L G, Francis M M, Jack T R, Diegor E, Winsor L, Abrajano T A (1999): Field and in vitro evidence for in-situ bioremediation using compound-specific C-13/C-12 ratio monitoring. *Org. Geoch.* 30, 821–833.

- [53] Sherwood-Lollar B, Slater G F, Sleep B, Witt M, Klecka G M, Harkness M, Spivack J (2001): Stable carbon isotope evidence for intrinsic bioremediation of tetrachloroethene and trichloroethene at area 6, Dover Air Force Base. Environ. Sci. Technol. 35, 261–269.
- [54] Song D L, Conrad M E, Sorenson K S, Alvarez-Cohen L (2002): Stable carbon isotope fractionation during enhanced in situ bioremediation of trichloroethene. Environ. Sci. Technol. 36, 2262–2268.
- [55] Hammer B T, Kelley C A, Coffin R B, Cifuentes L A, Müller J G (1998): delta C-13 values of polycyclic aromatic hydrocarbons collected from two creosote-contaminated sites. Chem. Geol. 152, 43–58.
- [56] Coffin R B, Miyares P H, Kelley C A, Cifuentes L A, Reynolds C M (2001): Stable carbon and nitrogen isotope analysis of TNT: Two-dimensional source identification. Environ. Toxicol. Chem. 20, 2676–2680.
- [57] Meckenstock R U, Morasch B, Griebler C, Richnow H-H (2004): Stable isotope fractionation analysis as a tool to monitor biodegradation in contaminated aquifers. J. Contam. Hydrol. 75, 215–255.
- [58] Griebler C, Safinowski M, Vieth A, Richnow H-H, Meckenstock R U (2004): Combined application of stable carbon isotope analysis and specific metabolites determination for assessing in situ degradation of aromatic hydrocarbons in a tar oil-contaminated aquifer. Environ. Sci. Technol. 38, 617–631.
- [59] Steinbach A, Seifert R, Annweiler E, Michaelis W (2004): Hydrogen and carbon isotope fractionation during anaerobic biodegradation of aromatic hydrocarbons – A field study. Environ. Sci. Technol. 38, 609–616.
- [60] Kuder T, Wilson J T, Kaiser P, Kolhatkar R, Philp P, Allen J (2005): Enrichment of stable carbon and hydrogen isotopes during anaerobic biodegradation of MTBE: Microcosm and field evidence. Environ. Sci. Technol. 39, 213–220.
- [61] Fischer A, Theuerkorn K, Stelzer N, Gehre M, Thullner M, Richnow H-H (2007): Applicability of stable isotope fractionation analysis for the characterization of benzene biodegradation in a BTEX contaminated aquifer. Environ. Sci. Technol. 41, 3689–3696.
- [62] Hunkeler D, Abe Y, Broholm M M, Jeannottat S, Westergaard C, Jacobsen C S, Aravena R, Bjerg P L (2011): Assessing chlorinated ethene degradation in a large scale contaminant plume by dual carbon-chlorine isotope analysis and quantitative PCR. J. Contam. Hydrol. 119, 69–79.
- [63] Eisenmann H, Fischer A (2010): Isotopenuntersuchungen in der Altlastenbewertung. In: Franzius, V, Gerhold, F, Altenbockum, Z.

- (Hrsg.): Handbuch der Altlastensanierung, 60. Aktualisierung, C. F. Müller Verlag.
- [64] Eisenmann H, Fischer A (2012): Isotopenverfahren in der Altlastenuntersuchung. In HLNUG (Hrsg.): Altlasten-annual 2012, 87–96. [https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/altlasten/annual/aa2012\\_web.pdf](https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/altlasten/annual/aa2012_web.pdf)
- [65] LANUV NRW (2014): 112 Nachweismethoden schadstoffmindernder Prozesse. In Leistungsbuch Altlasten und Flächenentwicklung. <http://www.leistungsbuch.de/Frontend/Download/downloadPdf.aspx?pdfStrukturContent=5206>
- [66] Haderlein S, Buchner D (2015): Leitfaden zur Ermittlung und Interpretation isotopischer Fingerabdrücke. [http://www.fachdokumente.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/116355/leitfaden\\_istotopenanalysen\\_20151127\\_final.pdf?command=downloadContent&filename=leitfaden\\_istotopenanalysen\\_20151127\\_final.pdf&FIS=161](http://www.fachdokumente.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/116355/leitfaden_istotopenanalysen_20151127_final.pdf?command=downloadContent&filename=leitfaden_istotopenanalysen_20151127_final.pdf&FIS=161)
- [67] Watzinger A, Leitner S (2015): Altlastenerkundung mit Hilfe von komponentenspezifischer Isotopenuntersuchung (CSIA). ÖVA-Erkundungstechnologiereport. ER 001. [http://www.altlastenmanagement.at/home/wp-content/uploads/ÖVA-ER-001\\_22122015-1.pdf](http://www.altlastenmanagement.at/home/wp-content/uploads/ÖVA-ER-001_22122015-1.pdf)
- [68] Döberl G, Dörrie T, Müller-Grabherr D, Weisgram M (2016): Quick-scan Erkundungs- und Monitoringtechnologien – Quickscan über erfolgversprechende Verfahren zur Erkundung von kontaminierten Standorten. <http://www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/publikationen/REP0570.pdf>
- [69] US EPA (2008): A Guide for assessing biodegradation and source identification of organic ground water contaminants using compound specific isotope analysis (CSIA). EPA-600/R-08/148. <https://cluin.org/download/contaminantfocus/vi/A%20Guide%20for%20Assessing%20Biodegradation.pdf>
- [70] Wijker R S, Bolotin J, Nishino S F, Spain J C, Hofstetter T B (2013): Using compound-specific isotope analysis to assess biodegradation of nitroaromatic explosives in the subsurface. Environ. Sci. Technol. 47, 6872–6883.
- [71] Audi-Miro C, Cretnik S, Torrento C, Rosell M, Shouakar-Stash O, Otero N, Palau J, Elsner M, Soler A (2015): C, Cl and H compound specific isotope analysis to assess natural versus Fe(0) barrier-induced degradation of chlorinated ethenes at a contaminated site. J. Hazard. Mater. 299, 747–754.

- [72] Ivdrá N, Fischer A, Herrero-Martin S, Giunta T, Bonifacie M, Richnow H-H (2017): Carbon, hydrogen and chlorine stable isotope fingerprinting for forensic investigations of hexachlorocyclohexanes. Environ. Sci. Technol. 51, 446–454.
- [73] Aepli C, Hofstetter T B, Amaral H I, Kipfer R, Schwarzenbach R P, Berg M (2010): Quantifying in situ transformation rates of chlorinated ethenes by combining compound-specific stable isotope analysis, groundwater dating, and carbon isotope mass balances. Environ. Sci. Technol. 44, 3705–3711.
- [74] Thullner M, Centler F, Richnow H-H, Fischer A (2012): Quantification of organic pollutant degradation in contaminated aquifers using compound specific stable isotope analysis – Review of recent developments. Org. Geochem. 42, 1440–1460.
- [75] Höhener P, Elsner M, Eisenmann H, Atteia O (2015): Improved constraints on in situ rates and on quantification of complete chloroethene degradation from stable carbon isotope mass balances in groundwater plumes. J. Contam. Hydrol. 182, 173–182.
- [76] Elsner M, Imfeld G (2016): Compound-specific Isotope Analysis (CSIA) of micropollutants in the environment – Current developments and future challenges. Curr. Opin. Biotechnol. 41, 60–72.
- [77] Aelion C M, Höhener P, Hunkeler D, Aravena R (2010): Environmental isotopes in biodegradation and bioremediation. CRC Press.
- [78] Jochmann M A, Schmidt C (2012): Compound-specific stable isotope analysis. Royal Society of Chemistry.
- [79] Toussaint B (1998): 1 Erkundung von Grundwasserschäden, 1.2 Aufgabenstellung. In Toussaint, B., Rehner, G., Held, T. (Hrsg.): Sanierung von Grundwasserschäden, Defizite der Grundwassererkundung – Möglichkeiten und Grenzen konventioneller und neuer Sanierungsverfahren. Kontakt & Studium, Bd. 563. expert verlag.
- [80] NICOLE (2002): Report of the NICOLE workshop: Cost-effective Site Characterisation – Dealing with uncertainties, innovation, legislation constraints, Executive Summary. 4–6. <http://www.nicole.org/uploadedfiles/NICOLE-Pisa-April2002.pdf>
- [81] HLNUG (2015): Altlastenbearbeitung in Hessen. Handbuch Altlasten, Band 1, 2., überarbeitete Auflage 2014. [https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/altlasten/handbuch/Handbuch\\_Altlasten\\_Band\\_1\\_Auflage\\_2\\_web.pdf](https://www.hlnug.de/fileadmin/dokumente/altlasten/handbuch/Handbuch_Altlasten_Band_1_Auflage_2_web.pdf)
- [82] Atashgahi S, Lu Y, Zheng Y, Saccenti E, Suarez-Diez M, Ramiro-Garcia J, Eisenmann H, Elsner M, Stams A J M, Springael D, Dejonghe W, Smidt H (2017): Geochemical and microbial community determini-

- nants of reductive dechlorination at a site biostimulated with glycerol. Environ. Microbiol. 19, 968–981.
- [83] Brand W A, Coplen T B (2012): Stable isotope deltas: Tiny, yet robust signatures in nature. Isotopes Environ. Health Stud. 48, 393–409.
- [84] Hunkeler D, 2008. Strategies to quantify contaminant degradation in groundwater using stable isotope data. In: Candela, L, Vadillo, I, Elorza, F J (Eds.), Advances in subsurface pollution of porous media: Indicators, processes and modelling. CRC Press/Balkema.
- [85] Van Keer I, Broders J, Verhack J, Schwarzbauer J, Swennen R (2012): Limitations in the use of compound-specific stable isotope analysis to understand the behaviour of a complex BTEX groundwater contamination near Brussels (Belgium). Environ. Earth Sci. 66, 457–470.
- [86] Lutz S R, Van Breukelen B M (2014): Combined source apportionment and degradation quantification of organic pollutants with CSIA: 2. Model validation and application. Environ. Sci. Technol. 48, 6229–6236.
- [87] Morrill P L, Sleep B E, Seepersad D J, McMaster M L, Hood E D, Le-Bron C, Major D W, Edwards E A, Sherwood-Lollar B (2009): Variations in expression of carbon isotope fractionation of chlorinated ethenes during biologically enhanced PCE dissolution close to a source zone. J. Contam. Hydrol. 110, 60–71.
- [88] Aepli C, Amaral H I, Kipfer R, Berg M, Wermeille C, Wenger C (2011): Beurteilung des Abbauperhaltens von CKWs an Altlastenstandorten mittels Einzelstoff-Isotopenanalyse (CSIA) und Grundwasserdatierung. Teil 1: Grundlagen. altlasten spektrum 03/2011, 105–110.
- [89] Aepli C, Amaral H I, Kipfer R, Berg M, Wermeille C, Wenger C (2011): Beurteilung des Abbauperhaltens von CKWs an Altlastenstandorten mittels Einzelstoff-Isotopenanalyse (CSIA) und Grundwasserdatierung. Teil 2: Fallstudien. altlasten spektrum 04/2011, 161–171.
- [90] Mancini S A, Lacrampe-Couloume G, Sherwood-Lollar B (2008): Source differentiation for benzene and chlorobenzene groundwater contamination: A field application of stable carbon and hydrogen isotope analyses. Environ. For. 9, 177–186.
- [91] ITCR (2011): Quantitative polymerase chain reaction – EMD Team Fact Sheet. [https://www.itrcweb.org/documents/team\\_emd/qPCR\\_Fact\\_Sheet.pdf](https://www.itrcweb.org/documents/team_emd/qPCR_Fact_Sheet.pdf)
- [92] US-EPA, Office of Research and Development (2006): Evaluation of the role of *Dehalococcoides* organisms in the natural attenuation of chlorinated ethylenes in ground water. EPA/600/R-06/029.

- [https://cfpub.epa.gov/si/si\\_public\\_record\\_Report.cfm?dirEntryId=150983](https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?dirEntryId=150983)
- [93] Cupples A M (2008): Real-time PCR quantification of *Dehalococcoides* populations: Methods and applications. *J Microbial. Meth.* 72, 1–11.
- [94] Lu X, Wilson J T, Campbell D H (2006): 3131–3140. Relationship between *Dehalococcoides* DNA in ground water and rates of reductive dechlorination at field scale. *Water Res.* 40, 3131–3140.
- [95] Rowe A R, Heavner G L, Mansfeldt C B, Werner J, Richardson R E (2012): Relating chloroethene respiration Rates in *Dehalococcoides* to protein and mRNA biomarkers. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9388–9397.
- [96] Bælum J, Chambon J C, Scheutz C, Binning P J, Laier T, Bjerg P L, Jacobsen, C S (2013): A conceptual model linking functional gene expression and reductive dechlorination rates of chlorinated ethenes in clay rich groundwater sediment. *Water Res.* 47, 2467–2478.
- [97] Park J W, Crowley D E (2006): Dynamic changes in nahAc gene copy numbers during degradation of naphthalene in PAH-contaminated soils. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 72, 1322–1329.
- [98] Hug L A, Maposa F, Leys D, Löffler F E, Smidt H, Edwards E A, Adrian L (2013): Overview of organohalide-respiring bacteria and a proposal for a classification system for reductive dehalogenases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 368, 20120322.
- [99] Nijenhuis I, Kuntze K (2016): Anaerobic microbial dehalogenation of organohalides – state of the art and remediation strategies. *Curr. Opin. Biotechnol.* 38, 33–38.
- [100] Jin Y O, Mattes T E (2010): A quantitative PCR assay for aerobic, vinyl chloride and ethene-assimilating microorganisms in groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 44, 9036–9041.
- [101] DeBruyn J M, Chewning C S, Sayler G S (2007): Comparative quantitative prevalence of Mycobacteria and functionally abundant nida, nahAc, and nagAc dioxygenase genes in coal tar contaminated sediments. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5426–5432.
- [102] Nebe J, Baldwin B R, Kassab R L, Nies L, Nakatsu C H (2009): Quantification of aromatic oxygenase genes to evaluate enhanced bioremediation by oxygen releasing materials at a gasoline-contaminated site. *Environ. Sci. Technol.* 43, 2029–2034.
- [103] Winderl C, Anneser B, Griebler C, Meckenstock R U, and Lueders T (2008): Depth-resolved quantification of anaerobic toluene degraders and aquifer microbial community patterns in distinct redox zones of a tar oil contaminant plume. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 792–801.

- [104] Staats M, Braster M, Röling W F M (2011): Molecular diversity and distribution of aromatic hydrocarbon-degrading anaerobes across a landfill leachate plume. Environ. Microbiol. 13, 1216–1227.
- [105] Lee P K H, Macbeth T W, Sorenson K S Jr., Deeb R A, Alvarez-Cohen L (2008): Quantifying genes and transcripts to assess the in situ physiology of „*Dehalococcoides*“ spp. in a trichloroethene contaminated groundwater site. Appl. Environ. Microb. 74, 2728–2739.
- [106] Badin A, Broholm M M, Jacobsen C S, Palau J, Dennis P, Hunkeler D (2016): Identification of abiotic and biotic reductive dechlorination in a chlorinated ethene plume after thermal source remediation by means of isotopic and molecular biology tools. J. Contam. Hydrol. 192, 1–19.
- [107] Táncsics A, Szoboszlay S, Szabó I, Farkas M, Kovács B, Kukolya J, Mayer Z, Kriszt B (2012): Quantification of subfamily I.II.C catechol 2, 3-dioxygenase mRNA transcripts in groundwater samples of an oxygen-limited BTEX-contaminated site. Environ. Sci. Technol. 46, 232–240.
- [108] Grunberg-Manago M (1999): Messenger RNA stability and its role in control of gene expression in bacteria and phages. Ann. Rev. Genet. 33, 193–227.
- [109] Alfreider A, Krossbacher M, Psenner R (1997): Groundwater samples do not reflect bacterial densities and activity in subsurface systems. Water Res. 31, 832–840.
- [110] Griebler C, Mindl B, Slezak D, Geiger-Kaiser M (2002): Distribution patterns of attached and suspended bacteria in pristine and contaminated shallow aquifers studied with an in situ sediment exposure microcosm. Aquat. Microb. Ecol. 28, 117–129.
- [111] Hühnerfuss H, Shah M R (2009): Enantioselective chromatography – A powerful tool for the discrimination of biotic and abiotic transformation processes of chiral environmental pollutants. J. Chrom. A 1216, 481–502.
- [112] Wikipedia: [https://de.wikipedia.org/wiki/Chiralit%C3%A4t\\_\(Chemie\)](https://de.wikipedia.org/wiki/Chiralit%C3%A4t_(Chemie))
- [113] Jammer S, Voloshenko A, Gelman F, Lev O (2014): Chiral and isotope analyses for assessing the degradation of organic contaminants in the environment: Rayleigh dependence. Environ. Sci. Technol. 48, 3310–3318.
- [114] Souchier M, Benali-Raclot D, Casella C, Ingrand V, Chiron S (2016): Enantiomeric fractionation as a tool for quantitative assessment of biodegradation: the case of metoprolol. Water Res. 95, 19–26.

- [115] Brienza M, Chiron S (2017): Enantioselective reductive transformation of climbazole: A concept towards quantitative biodegradation assessment in anaerobic biological treatment processes. *Water Res.* 116, 203–210.
- [116] Bashir S, Fischer A, Nijenhuis I, Richnow H-H (2013): Enantioselective carbon stable isotope fractionation of hexachlorocyclohexane during aerobic biodegradation by *Sphingobium spp.*. *Environ. Sci. Technol.* 47, 11432–11439.
- [117] Maier M P, Qiu S, Elsner M (2013): Enantioselective stable isotope analysis (ESIA) of polar herbicides. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 2825–2831.
- [118] Milosevic N, Qiu S, Elsner M, Einsiedl F, Maier M P, Bensch H K. V, Albrechtsen H-J, Bjerg P L (2013): Combined isotope and enantiomer analysis to assess the fate of phenoxy acids in a heterogeneous geological setting at an old landfill. *Water Res.* 47, 637–649.
- [119] Liu Y, Bashir S, Stollberg R, Trabitzsch R, Weiß H, Paschke H, Nijenhuis I, Richnow H-H (2017): Compound specific and enantioselective stable isotope analysis as tools to monitor transformation of hexachlorocyclohexane (HCH) in a complex aquifer system. *Environ. Sci. Technol.* 51, 8909–8916.
- [120] Banzhaf S, Hebig K H (2016): Use of column experiments to investigate the fate of organic micropollutants – a review. *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 20, 3719–3737.
- [121] Röling W F. M, van Verseveld H W (2002): Natural attenuation: what does the subsurface have in store? *Biodegradation* 13, 53–64.
- [122] Bombach P, Richnow H-H, Kästner M, Fischer A (2010): Current approaches for the assessment of in situ biodegradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86, 839–852.
- [123] Morasch B, Höhener P, Hunkeler D (2007): Evidence for in situ degradation of mono-and polycyclic aromatic hydrocarbons in alluvial sediments based on microcosm experiments with C-13-labeled contaminants. *Environ. Pollut.* 148, 739–748.
- [124] Morasch B, Hunkeler D, Zopfi J, Temime B, Höhener P (2011): Intrinsic biodegradation potential of aromatic hydrocarbons in an alluvial aquifer – potentials and limits of signature metabolite analysis and two stable isotope-based techniques. *Water Res.* 45, 4459–4469.
- [125] Bahr A, Fischer A, Vogt C, Bombach P (2015): Evidence of polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in a contaminated aquifer by combined application of in situ and laboratory microcosms using <sup>13</sup>C-labelled target compounds. *Water Res.* 69, 100–109.

- [126] Chapelle F H (2000): The significance of microbial processes in hydrogeology and geochemistry. *Hydrol. J.* 8, 41–46.
- [127] Christensen T H, Kjeldsen P, Bjerg P L, Jensen D L, Christensen J B, Baun A, Albrechtsen H J, Heron C (2001): Biogeochemistry of landfill leachate plumes. *Appl. Geochem.* 16, 659–718.
- [128] McMahon P B, Chapelle F H (2008): Redox processes and water quality of selected principal aquifer systems. *Ground Water* 46, 259–271.
- [129] Schmitt R, Langguth H-R, Püttmann W (1998): Abbau aromatischer Kohlenwasserstoffe und Metabolitenbildung im Grundwasserleiter eines ehemaligen Gaswerkstandorts. *Grundwasser* 3, 78–86.
- [130] Jindrová E, Chocová M, Demnerová K, Brenner V (2002): Bacterial aerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene. *Folia Microbiol. (Praha)* 47, 83–93.
- [131] Young L Y, Phelps C D (2005): Metabolic biomarkers for monitoring in situ anaerobic hydrocarbon degradation. *Environ. Health Perspect.* 113, 62–67.
- [132] Safinowski M, Griebler C, Meckenstock R. U (2006): Anaerobic co-metabolic transformation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons: Evidence from laboratory and field studies. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4165–4173.
- [133] Peng R-H, Xiong A-S, Xue Y, Fu X-Y, Gao F, Zhao W, Tian Y-S, Yao Q-H (2008): Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiol. Rev.* 32, 927–955.
- [134] Martus P, Schaal W (2010): Metabolite analysis as direct proof of biodegradation: Experience from Monitored Natural Attenuation (MNA) projects. *Environ. For.* 11, 94–101.
- [135] Jobelius C, Ruth B, Griebler C, Meckenstock R U, Hollender J, Reineke A, Frimmel F H, Zwiener C (2011): Metabolites indicate hot spots of biodegradation and biogeochemical gradients in a high-resolution monitoring well. *Environ. Sci. Technol.* 45, 474–481.
- [136] Aravena R, Robertson W D (1998): Use of multiple isotope tracers to evaluate denitrification in ground water: Study of nitrate from a large-flux septic system plume. *Ground Water* 36, 975–982.
- [137] van Breukelen B M, Röling W F. M, Groen J, Griffioen J, van Verseveld H W (2003): Biogeochemistry and isotope geochemistry of a landfill leachate plume. *J. Contam. Hydrol.* 65, 245–268.
- [138] Böhlke J K, Smith R L, Miller D N (2006): Ammonium transport and reaction in contaminated groundwater: Application of isotope tracers and isotope fractionation studies. *Water Resour. Res.* 42, W05411, 1–19.

- [139] Knöller K, Vogt C, Feisthauer S, Weise S M, Weiss H, Richnow H-H (2008): Sulfur cycling and biodegradation in contaminated aquifers: insights from stable isotope investigations. *Environ. Sci. Technol.* 42, 7807–7812.
- [140] Knöller K, Schubert M (2010): Interaction of dissolved and sedimentary sulfur compounds in contaminated aquifers. *Chem. Geol.* 276, 284–293.
- [141] Feisthauer S, Seidel M, Bombach P, Traube S, Knöller K, Wange M, Fachmann S, Richnow H-H (2012): Characterization of the relationship between microbial degradation processes at a hydrocarbon contaminated site using isotopic methods. *J. Contam. Hydrol.* 133, 17–29.
- [142] Landmeyer J E, Vroblesky D A, Chapelle F H (1996): Stable carbon isotope evidence of biodegradation zonation in a shallow jet-fuel contaminated aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1120–1128.
- [143] Aggarwal P K, Fuller M F, Gurgas M M, Manning J F, Dillon M A (1997): Use of stable oxygen and carbon isotope analyses for monitoring the pathways and rates of intrinsic and enhanced *in situ* biodegradation. *Environ. Sci. Technol.* 31, 590–596.
- [144] Fang J, Barcelona M J, Krishnamurthy R V, Atekwana E A (2000): Stable carbon isotope biogeochemistry of a shallow sand aquifer contaminated with fuel hydrocarbons. *Appl. Geochem.* 15, 169–181.
- [145] Conrad M E, Brodie E L, Radtke C W, Bill M, Delwiche M E, Lee M H, Swift D L, Colwell F S (2010): Field evidence for co-metabolism of trichloroethene stimulated by addition of electron donor to groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 44, 4697–4704.
- [146] Revesz K, Coplen T B, Baedecker M J, Glynn P D (1995): Methane production and consumption monitored by stable H and C isotope ratios at a crude oil spill site, Bemidji, Minnesota. *Appl. Geochem.* 10, 505–516.
- [147] Hackley K C, Liu C L, Coleman D D (1996): Environmental isotope characteristics of landfill leachate and gases. *Groundwater* 34, 827–836.
- [148] Grossman E L, Cifuentes L A, Cozzarelli I M (2002): Anaerobic methane oxidation in a landfill-leachate plume. *Environ. Sci. Technol.* 36, 2436–2442.
- [149] Huth R, Hartmann R, Kiesel M, Pyka W, Stallauer A (2004): Bestimmung von Redoxzonen in einem mineralölbelasteten Grundwasserleiter. *UWSF – Z. Umweltchem. Ökotox.* 16, 239–244.
- [150] Christensen J B, Larsen T H (1993): Method for determining the age of diesel oil spills in the soil. *Groundwater Monit. R.* 13, 142–129.

- [151] Hurst R W, Schmidt. G. W (2005): Age significance of nC<sub>17</sub>/Pr ratios in forensic investigations of refined product and crude oil releases. Environ. Geosci. 12, 177–192.
- [152] Galperin Y, Kaplan I R (2008): Zero-order kinetics model for the Christensen-Larsen method for fugitive fuel age estimates. Groundwater Monit. R. 28, 94–97.
- [153] Kaplan I R, Galperin Y, Lu S-T, Lee R-P (1997): Forensic environmental Geochemistry: differentiation of fuel-types, their sources and release time. Org. Geochem. 27, 289–317.
- [154] Stout S A, Douglas G S, Uhler A D (2006): Automotive Gasoline. In: Morrison, R. D.; Murphy, B. L. (Eds.), Environmental Forensics – Contaminant Specific Guide, Academic Press.
- [155] Wade M J (2016): From Ockham's razor to Rube Goldberg: Don't rely on forensic age-dating miracles. Environ. For. 17, 131–135.
- [156] Petrisor I G (2006): Use of oxygenates to date a gasoline release. Env. For. 7, 103–104.
- [157] Oudijk G (2010): The rise and fall of organometallic additives in automotive gasoline. Env. For. 11, 17–49.
- [158] Richtlinie 98/70/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 13. Oktober 1998 über die Qualität von Otto- und Dieselkraftstoffen und zur Änderung der Richtlinie 93/12/EWG.
- [159] Teutsch G, Gratwohl P, Schiedik T (1997): Literaturstudie zum natürlichen Rückhalt/Abbau von Schadstoffen im Grundwasser. Texte und Berichte zur Altlastenbearbeitung 35/97, Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg. <http://www.fachdokumente.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/10077/?COMMAND=DisplayBericht&FIS=161&OBJECT=10077&MODE=METADATA>
- [160] Panagos P, Van Liedekerke M, Yigini Y, Montanarella L (2013): Contaminated sites in Europe: Review of the current situation based on data collected through a European network. J. Environ. Public Health Article ID 158764, 1–11.
- [161] Bombach P, Nägele N, Rosell M, Richnow H H, Fischer A (2015): Evaluation of ethyl tert-butyl ether biodegradation in a contaminated aquifer by compound-specific isotope analysis and in situ microcosms. J. Hazard. Mater. 286, 100–106.
- [162] Abe Y, Aravena R, Zopfi J, Shouakar-Stash O, Cox E, Roberts JD, Hunkeler D (2009): Carbon and chlorine isotope fractionation during aerobic oxidation and reductive dechlorination of vinyl chloride and cis-1, 2-dichloroethene. Environ. Sci. Technol. 43, 101–107.
- [163] Bernstein A, Shouakar-Stash O, Ebert K, Laskov C, Hunkeler D, Jeannottat S, Sakaguchi-Soder K, Laaks J, Jochmann M A, Cretnik S, Jager

- J, Haderlein S B, Schmidt T C, Aravena R, and 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. *Anal. chem.* 83, 7624–7634.
- [164] Sakaguchi-Söder K A (2010): New method for compound-specific stable chlorine isotope analysis: Basics and application. Ph.D. Thesis, Technische Universität, Darmstadt, Germany.
- [165] Aepli C, Holmstrand H, Andersson P, Gustafsson O (2010): Direct compound-specific stable chlorine isotope analysis of organic compounds with quadrupole GC/MS using standard isotope bracketing. *Anal. Chem.* 82, 420–426.
- [166] Velimirovic M, Tosco T, Uyttebroek M, Luna M, Gastone F, De Boer C, Klaas N, Sapior H, Eisenmann H, Larsson P O, Braun J, Sethi R, Bastiaens L (2014): Field assessment of guar gum stabilized microscale zerovalent iron particles for in-situ remediation of 1, 1, 1-trichloroethane. *J. Contam. Hydrol.* 164, 88–99.
- [167] US-EPA, Office of Research and Development (1994): Methods for monitoring pump-and-treat performance. EPA/600/R-94/123. [https://clu-in.org/download/contaminantfocus/dnapl/Treatment\\_Technologies/Monitoring\\_P\\_and\\_T\\_systems.pdf](https://clu-in.org/download/contaminantfocus/dnapl/Treatment_Technologies/Monitoring_P_and_T_systems.pdf)
- [168] US-EPA, Office of Research and Development (1996): Pump-and-treat ground-water remediation: a guide for decision makers and practitioners. EPA/625/R-95/005. [https://cfpub.epa.gov/si/si\\_public\\_record\\_Report.cfm?dirEntryId=22618](https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?dirEntryId=22618)
- [169] LaBolle E M, Fogg G E, Eweis J B, Gravner J, Leaist D G (2008): Isotopic fractionation by diffusion in groundwater. *Water Resour. Res.*, 44, W07405 DOI: 10.1029/2006wr005264.
- [170] Van Breukelen B M, Rolle M, 2012. Transverse hydrodynamic dispersion effects on isotope signals in groundwater chlorinated solvents' plumes. *Environ. Sci. Technol.* 46, 7700–7708.
- [171] Ertl S, Seibel F, Eichinger L, Frimmel F H, Kettrup A (1998): The  $^{13}\text{C}$ / $^{12}\text{C}$  and  $^{2}\text{H}/^{1}\text{H}$  ratios of trichloroethene, tetrachloroethene and their metabolites. *Isotopes Environ. Health Stud.* 34, 245–253.
- [172] Wanner P, Hunkeler D (2015): Carbon and chlorine isotopologue fractionation of chlorinated hydrocarbons during diffusion in water and low permeability sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 157, 198–212.
- [173] Xu S, Sherwood-Lollar B, Passeport E, Sleep B E (2016): Diffusion related isotopic fractionation effects with one-dimensional advective-dispersive transport. *Sci. Total Environ.* 550, 200–208.

- [174] Xu S, Sherwood-Lollar B, Sleep B E (2017): Rethinking aqueous phase diffusion related isotope fractionation: Contrasting theoretical effects with observations at the field scale. *Sci. Total Environ.* 607–608, 1085–1095.
- [175] Kopinke F-D, Georgi A, Roland U (2018): Isotope fractionation in phase-transfer processes under thermodynamic and kinetic control – Implications for diffusive fractionation in aqueous solution. *Sci. Total Environ.* 610–611, 495–502.
- [176] Eisenmann H, Fischer A (2018): Natural Attenuation – Monitoringverfahren und Sanierungskonzepte – ein Fortschrittsbericht (Teil 1). *altlasten spectrum* 02/2018, 45–57.
- [177] Eisenmann H, Fischer A (2018): Natural Attenuation – Monitoringverfahren und Sanierungskonzepte – ein Fortschrittsbericht (Teil 2). *altlasten spectrum* 03/2018, in Vorbereitung.

