

Isotopen voor het vaststellen van afbraak bodemverontreiniging

In het veld is de *in situ*-afbraak van bodemverontreiniging vaak moeilijk aantoonbaar omdat voor een aantal verbindingen de tot dusver gebruikelijke methodes niet goed toepasbaar zijn. Een alternatief voor het vaststellen en kwantificeren van natuurlijke of gestimuleerde afbraak in het veld biedt het feit dat verbindingen van nature bestaan uit verschillende stabiele isotopen. Een verschuiving in de verhouding van deze stabiele isotopen is een aanwijzing voor de afbraak van een verbinding. Dit is het principe achter een nieuwe meetmethode bij bodemreiniging.

Alette Langenhoff en Harry Veld



Mevr. dr. ir. A.A.M. Langenhoff
is werkzaam bij
TNO-MEP, afdeling
Milieubiotechnologie



Dr. H. Veld
is werkzaam bij
TNO-NITG, afdeling
Geo-Milieu

In het veld is de *in situ*-afbraak van bodemverontreiniging vaak moeilijk aantoonbaar. Tot dusver gebruikelijke methodes zijn gebaseerd op:

1. het meten van de verdwijning van de uitgangsstof (concentratie metingen);
2. het meten van tussen- en/of eindproducten (concentratie metingen);
3. het aantonen van (actieve) microbiële populaties (bacterietellingen en/of activiteitsmetingen).

Ad 1

De *verdwijning van de uitgangsstof* is veelal niet te relateren aan biologische afbraak omdat in de bodem ook tal van andere processen (bijvoorbeeld adsorptie, verdunning, vervluchtiging) van belang zijn. Bovendien dienen voor het kwantificeren van afbraaksnelheden in het veld de concentraties van verontreinigingen over een periode van vaak vele jaren gevolgd te worden.

Ad 2

Voor een aantal verbindingen (BTX, PAK, minerale oliën) is het niet mogelijk om *specifieke afbraakproducten* te meten, zoals dit bijvoorbeeld voor de anaërobe reductieve dechlorering van PER → TRI → CIS → VC → etheen wel kan worden toegepast. Redenen hiervoor zijn dat:

- niet is aangetoond wat mogelijke tussenproducten zullen zijn, in het geval van bijvoorbeeld de anaërobe afbraak van aromatische verbindingen (bijvoorbeeld benzeen en naftaleen);
- tussenproducten vaak slechts in zeer lage, moeilijk detecteerbare concentraties gevormd worden;
- de ontstane intermediären afkomstig kunnen zijn van verschillende verbindingen, bijvoorbeeld het ontstaan van benzoaat bij de aërobe en anaërobe

afbraak van zowel toluen als xyleen.

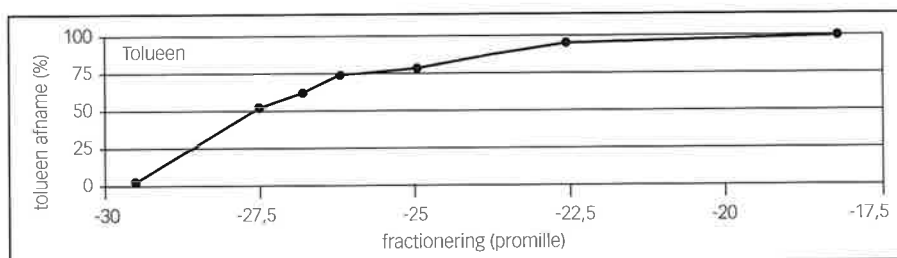
Dit is met name lastig wanneer verontreinigingen in mengsels voorkomen;

- afbraakproducten ook gevormd kunnen worden uit natuurlijke verbindingen, bijvoorbeeld de productie van vetzuren en CO₂ bij afbraak van minerale olie, aromaten etc.

Ad 3

Ook het aantonen van (*actieve*) *microbiële populaties* is controversieel. Batch incubaties worden meestal onder 'atypische' omstandigheden in het laboratorium uitgevoerd. Bovendien zullen de aangetoonde populaties niet altijd specifiek een rol spelen bij de omzetting van de verontreinigingen omdat ze in de bodem bijvoorbeeld natuurlijke substraten in plaats van de contaminanten gebruiken.

Vanwege de hierboven genoemde nadelen van deze drie methodes zijn deze niet altijd bruikbaar voor het vaststellen en kwantificeren van natuurlijke of gestimuleerde afbraak. Een alternatief hiervoor zijn component specifieke, stabiele isotopenanalyses (CSIA), die de hierboven genoemde nadelen niet hebben. CSIA is onafhankelijk van concentratiemetingen en wordt niet beïnvloed door adsorptie, verdunning of vervluchtiging. Verder richt CSIA zich in veel gevallen op metingen aan de uitgangsstof, zodat kennis over de gevormde intermediären en/of verantwoordelijke bacteriën niet nodig is. Verbindingen bestaan van nature uit verschillende stabiele isotopen. Koolstofverbindingen bestaan bijvoorbeeld voornamelijk uit 'lichte' ¹²C-isotopen, maar bevatten daarnaast een klein percentage aan zware ¹³C-isotopen, terwijl gechlorideerde verbindingen naast ³⁵Cl-, ook ³⁷Cl-isotopen bevatten.



FIGUUR 1: FRACTIONERING IN EEN LABEXPERIMENT BIJ DE ANAEROBE AFBRAAK VAN TOLUEEN.

Het is bekend dat micro-organismen bindingen tussen lichte isotopen preferentieel afbreken, waardoor in het geval van koolstof de verhouding $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ (de ' $\delta^{13}\text{C}$ -ratio') van het resterende substraat verandert als gevolg van afbraak. De verandering van de relatieve verhouding van de isotopen in een molecuul wordt ook wel fractionering genoemd. Vastgesteld is dat niet-biologische processen (bijvoorbeeld adsorptie, verdunning of vervluchtiging) een minimale invloed hebben op de fractionering.

Door gebruik te maken van component specifieke, stabiele isotopenanalyse is het mogelijk om de mate van afbraak van een verbinding in veldmonsters direct aan te tonen. Doordat de fractionering van een afzonderlijke verbinding wordt bepaald, kan onderscheid worden gemaakt tussen de biologische omzetting van de afzonderlijke gechloreerde en niet-gechloreerde verontreinigingen en organisch materiaal. De analyse van een koolstof-, chloride- of waterstoffractionering van een verbinding in een stroombaan van een verontreinigingspluim in het veld geeft hierbij weer of nog sprake is van het oorspronkelijke uitgangproduct, of dat inmiddels afbraak is opgetreden. Vooral nog is veel gebruik gemaakt van koolstof- en chloridefractionering, maar de laatste tijd wordt steeds meer aandacht besteed aan waterstof fractionering, met name voor BTEX-metingen.

De isotopen-ratio (bijvoorbeeld $\delta^{13}\text{C}$) van een monster (in ‰) wordt via de onderstaande formule berekend:

$$\delta^{13}\text{C} = (R_s/R_r - 1) * 1000$$

$\delta^{13}\text{C}$ = isotopenratio, mate van fractionering

R_s = $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ ratio van het monster

R_r = $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$ ratio van een standaard (De standaard voor koolstof is Vienna PeeDee Belemniet; kalk uit de PeeDee-formatie die wordt bewaard in Wenen)

Een hogere (minder negatieve) waarde, duidt op verrijking van de ^{13}C -isotoop en is een maat voor biologische afbraak. Des te meer biologische afbraak, des te groter de fractionering. De fractionering treedt

met name op in het latere stadium van het afbraakproces (figuur 1).

Uit bovenstaande blijkt dat door het gebruik van stabiele isotopen een kwalitatieve inschatting van afbraak mogelijk is. Indien genoeg gegevens bekend zijn (o.a. de fractioneringsfactor α) is ook een kwantitatieve inschatting van de afbraak mogelijk. Deze fractioneringsfactor α is specifiek per verbinding, redoxconditie en gemeten isotoop en kan in het lab worden bepaald.

In de Verenigde Staten is CSIA inmiddels succesvol toegepast voor het kwantificeren van de in-situ-afbraak van benzeen, toluen en MTBE (C- en H-fractionering) en tetra- en trichlooretheen (C- en Cl-fractionering). CSIA wordt gezien als een belangrijk nieuw instrument voor het valideren, kwantificeren en monitoren van natuurlijke afbraakprocessen in het veld. Theoretisch is CSIA ook geschikt voor PCB's, Aroclors, minerale olie, PAK enz., alleen is dit nog niet toegepast, zodat daar nog geen gegevens over bekend zijn.

Er zijn enkele randvoorwaarden om de afbraakprocessen te kwantificeren met behulp van stabiele isotopen:

- Fractionering van de te onderzoeken verbinding treedt op onder de condities die in het lab of in het veld heersen.
- De hoeveelheid fractionering (‰) is significant.
- Er moet een relatie zijn tussen de bron en de pluim, of er moet een duidelijke pluim aanwezig zijn.
- Monsters in de tijd of in de ruimte (op verschillende plaatsen in de pluim waar afbraak lijkt op te treden) moeten con-

centraties bevatten boven de detectielimiet van de CSIA-analyses.

De voordelen van CSIA staan hieronder weergegeven:

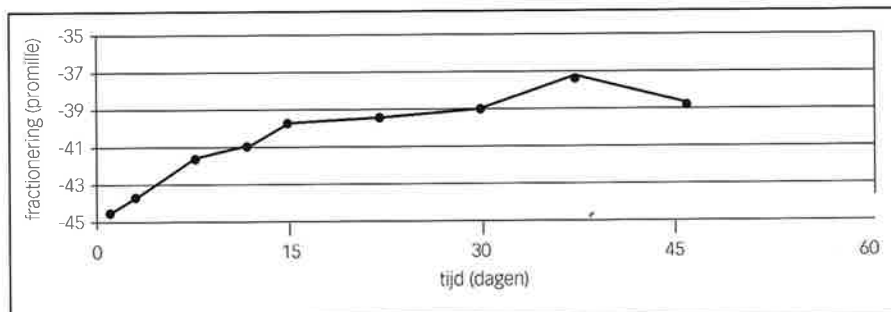
- Deze methode zegt iets over het gedrag van een specifieke verbinding in een mengsel met andere verbindingen.
- Onderscheid tussen verschillende bronnen is mogelijk.

De nadelen van CSIA staan hieronder weergegeven:

- Fractionering van koolstof treedt met name op bij verregaande afbraak (>60%). Uit recent onderzoek met waterstoffractionering blijkt dat dit al optreedt bij 30% afbraak, zodat afbraak eerder aantoonbaar is.
- Enkele jaren geleden lag de detectielimiet voor $\delta^{13}\text{C}$ -analyses nog redelijk hoog, waardoor de methode alleen bruikbaar is als er hoge concentraties van een verbinding in het monster aanwezig zijn. Door gebruik te maken van extractiemethodes (SPME of vloeistof-extractie) of dynamic headspace-injectie is de detectielimiet tegenwoordig sterk verlaagd. Er is wel een verschil in detectielimiet bij het gebruik van de verschillende isotopen-ratio's, $\delta^{13}\text{C}$ -ratio zijn veel gevoeliger meetbaar dan $\delta^2\text{H}$, maar daar staat weer tegenover dat de fractionering van waterstof veel groter is.

In Nederland en Duitsland hebben wij de methode op enkele locaties toegepast, met name voor BTEX-pluimen. Op deze plaatsen was het niet mogelijk om aan de hand van concentratiemetingen inzicht te krijgen in het optreden van natuurlijke afbraak. Door het meten van de isotopen-ratio is vastgesteld dat op enkele van deze locaties daadwerkelijk afbraak van de betreffende verbindingen heeft plaatsgevonden (figuur 2).

In principe is CSIA in veel gevallen bruikbaar om natuurlijke afbraak (NA) aan te tonen. De mate van fractionering varieert per verbinding, redoxconditie en gemeten isotoop, maar CSIA lijkt een ideale methode om natuurlijke afbraak in het veld aan te tonen.



FIGUUR 2: WATERSTOFFRACTIONERING BIJ DE ANAEROBE AFBRAAK VAN BENZEEN IN EEN VELDEXPERIMENT.