

Endbericht zur Vorlage bei der Deutschen Bundesstiftung Umwelt

Projekttitlel: Bestimmung der langfristigen Denitrifikationskapazität von Lockergesteins-aquiferen anhand von ¹⁵N-Tracerexperimenten an Grundwassermessstellen – Entwicklung einer neuen Methode für die Praxis zur Identifizierung denitrifizierender Bereiche

Aktenzeichen: 24945

Verfasser: Wolfram Eschenbach

Institution: Abt. Ökopedologie der gemäßigten Zonen, Buisgeninstitut,
Georg-August-Universität Göttingen

Kooperationspartner: Oldenburgisch-Ostfriesischer Wasserverband (OOWV)

Projektbeginn: 01.11.2007

Laufzeit: 01.11.2007 bis 30.10.2010

Ort: Göttingen

Jahr: 2011



Az	Referat	Fördersumme	124.898
----	---------	-------------	----------------

Antragstitel **Bestimmung der langfristigen Denitrifikationskapazität von Lockergesteins-aquiferen anhand von ¹⁵N-Tracerexperimenten an Grundwassermessstellen – Entwicklung einer neuen Methode für die Praxis zur Identifizierung denitrifizierender Bereiche**

Stichworte Grundwasser, Nitratabbau,

Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)
36 Monate	1.11. 2007	30.10. 2010	2
Zwischenberichte			

Bewilligungsempfänger	Prof. apl. Dr. Heinz Flessa Ökopedologie der gemäßigten Zonen, Buisgeninstitut Universität Göttingen Büsgenweg 2, 37077 Göttingen	Tel 0551 - 39-3507
		Fax 0551 - 39-3310
		Projektleitung PD Dr. Reinhard Well
		Bearbeiter

Kooperationspartner Oldenburgisch-Ostfriesischer Wasserverband (OOWV)
Donnerschweerstrasse 76 – 80, 26123 Oldenburg

Zielsetzung und Anlaß des Vorhabens

In vielen Grundwasserleitern werden die Grenzwerte für Nitrat im Rohwasser der Wasserwerke nur deshalb eingehalten, weil Prozesse der Nitratelimination wie die Denitrifikation vorhanden sind. Für die Bewirtschaftung der Grundwasserressourcen sind Erkenntnisse zur Art, Intensität, räumlichen Verteilung und Lebensdauer dieser Prozesse von großer Bedeutung. Einige dieser Informationen ließen sich bisher nur durch Laboruntersuchungen an Bohrkernen gewinnen. Wegen des hohen Kosten- und Arbeitsaufwands für diese Untersuchungen liegen derartige Ergebnisse nur vereinzelt vor. Es sollte deshalb ein Verfahren entwickelt werden, bei dem über eine in situ - Messung der aktuellen Denitrifikationsaktivität eine Abschätzung des langfristigen Nitratabbaupotentials und der Menge an reaktivem Material (Gehalt an organischem Kohlenstoff und Sulfid) im Aquifer möglich ist.

Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden

An ausgewählten Aquifermesspunkten werden die Gehalte an organischem Kohlenstoff und Sulfid, die in situ - Denitrifikationsaktivität und das langfristige Nitratabbaupotential gemessen. Aus den statistischen Beziehungen zwischen diesen Messgrößen wird ein Prognosemodell zur Abschätzung des langfristigen Nitratabbaupotentials abgeleitet. Die in situ - Messung der aktuellen Denitrifikation erfolgt an Grundwassermessstellen im Gelände mittels ¹⁵N-Tracertechnik. Das langfristige Nitratabbaupotential und der Vorrat an reaktiven Stoffen werden durch Laboruntersuchungen an Bohrproben aus dem Filterbereich der Messstellen bestimmt. Die Methodik soll an 13 Messpunkten in zwei pleistozänen Lockergesteinsaquiferen geeicht werden. Bohrgut und Messstellen bis 15 m Tiefe sind für ein Untersuchungsgebiet bereits vorhanden. Zu Beginn des Projekts erfolgen vom OOWV finanzierte Bohrarbeiten in einem Trinkwassergewinnungsgebiet des OOWV (2. Untersuchungsgebiet) zur Gewinnung von Aquifermaterial aus bis zu 90 m Tiefe und zum Bau neuer Grundwassermessstellen. Anschließend erfolgen für beide Gebiete die Laboruntersuchungen am Bohrgut und die in situ Messungen. Durch das neue Verfahren werden sich in Zukunft besonders gefährdete Bereiche im Aquifer durch Untersuchung an vorhandenen Grundwassermessstellen identifizieren lassen, was bisher nicht möglich war. Dadurch können Maßnahmen zur langfristigen Sicherung der Wasserqualität, wie z.B. Steuerung der Wasserentnahme oder der Bodennutzung, in Zukunft gezielter und damit effizienter eingesetzt werden.

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	1
2. Bericht	2
2.1 Anlass und Zielsetzung des Projektes	2
2.2 Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden	3
2.2 (a) Auswahl eines geeigneten Standorts für die Erkundungs- und Kernbohrungen im Nahbereich einer vorhandenen Vorfeldmessstelle im Untersuchungsgebiet des OOWV (Großenkneten) und Auswahl geeigneter vorhandener Multilevel-Messstellen (Fuhrberg).	3
2.2 (a1) Bewertung von älteren Daten der Wasserbeschaffenheit der vorhandenen Messstellen, Einteilung nach Reaktionstypen im Hinblick auf N-Umsatzprozesse	3
2.2 (a2) Erfassung der aktuellen Wassermatrix	3
2.2 (b) Organisation und Durchführung einer Aufschlussbohrung zur Ermittlung der vertikalen Verteilung des reaktiven Materials im Untersuchungsgebiet des OOWV (Großenkneten). Festlegung der Teufen, in denen bei einer erneuten Bohrung in der Nachbarschaft der ersten Bohrung in Tiefen mit reaktivem Material Kerne gewonnen werden. Ausbau des Standortes zur Staffelmessstelle.	3
2.2 (b1) Entwurf und Organisation des Bohrprogramms im Gebiet Großenkneten	3
2.2 (b2) Aufschlussbohrung zur Gewinnung von gestörtem Material	3
2.2 (b3) Kernbohrung und Messstellenbau (Großenkneten)	3
2.2 (b4) Auswahl von Messstellen und Kernbereichen in Fuhrberg	4
2.2 (c) Untersuchung des reaktiven Materials und des Nitratumsatzes an Bohrkernen im Labor	4
2.2 (c1) Gesamtgehalte an reaktivem Material (Gesamt-C _{org} , Gesamt-S, Glühverlust) und hydraulische Leitfähigkeit	4
2.2 (c2) Untersuchung der für die Denitrifikation verfügbaren C _{org} – und Sulfid-S-Fraktion	6
2.2 (c3) DI _{Labor} , D _{pot} , Intensivvariante	8
2.2 (d) Messung von DI _{in situ}	11
2.2 (e) Ableitung eines Schätzverfahrens von D _{pot} aus den Messdaten	12
2.3 Über das Arbeitsprogramm des DBU-Projekts hinausgehende Arbeiten	14
2.3 (a) Gewinnung zusätzlicher DI _{in situ} Messpunkte in Großenkneten	14
2.3 (b) Entwicklung eines automatisierten Probenahmesystems für ¹⁵ N-Tracerversuche	15
2.3 (c) Ein neuer rekursiver mathematischer Ansatz zur Berechnung des Beitrags der Denitrifikation zu einer gegebenen N ₂ -Mischung basierend auf der ¹⁵ N-Tracertechnik	15
2.4 Publikationen und Berichte	16
2.5 Dokumentation und Verbreitung der Projektergebnisse	16
2.6 Beiträge zu Tagungen und Workshops	16
2.7 Kooperationspartner und Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern	17
2.8 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	17

Tabellenverzeichnis

Tab. 1.	Messpunkte für $DI_{in situ}$ Messungen	4
Tab. 2.	Spearman Rangkorrelationskoeffizienten zwischen dem in anaeroben Langzeitbrutversuchen gemessenen Denitrifikationspotential (D_{pot}) und verschiedenen Sedimentparametern	7
Tab. 3.	Multiple Regressionsanalysen zwischen D_{pot} und verschiedenen unabhängigen Parametern ($\log D_{pot}=C_1+C_2 \times \log(\% \text{ Sand})+C_3 \times \log(\% \text{ Schluff})+C_4 \times \log(\% C_{org})+C_5 \times \% \text{ Gesamt-S}+C_6 \times \text{mg SO}_4^{-2} \text{ kg}^{-1}+C_7 \times \text{mg C kg}^{-1}+C_8 \times \text{mg C kg}^{-1}+C_9 \times \log(\text{mmol KMnO}_4 \text{ kg}^{-1})$).	13

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.	C_{org} und Gesamt-S-Gehalte der untersuchten Aquiferproben unterteilt nach Herkunft und Sulfidgehalt	5
Abb. 2.	Vergleich der C_{org} und Gesamt-S Gehalte bestimmt in Aquiferproben aus der Spül- und Kernbohrung	5
Abb. 3.	Verschiedene für die Denitrifikation relevante Sedimentparameter: extrahierbares Sulfat, extrahierbares DOC, Heißwasserlöslicher Corg (C_{hws}) und KMnO_4 -Verbrauch	6
Abb. 4.	(A) Messbares Denitrifikationspotential (D_{pot}), (B) beispielhafter Verlauf von Denitrifikationsraten von sulfidischem und nicht sulfidischem Aquifermaterial und (C) reaktives Stoffdepot (RSD) der untersuchten Aquiferproben	9
Abb. 5.	$DI_{in situ}$ Messpunkte in den Multilevelmessstellen B1 und B2 in Fuhrberg. Zeitkurven des nach ^{15}N -Tracerinjektion durch Denitrifikation gebildeten ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) und des gelösten Sauerstoffs im Grundwasser.	11
Abb. 6.	Lineare Regression zwischen D_{pot} und C_{org} sowie Gesamt-S	12
Abb. 7.	Vergleich des aus DI_{Labor} und $DI_{in situ}$ abgeleiteten Denitrifikationspotential mit den zugehörigen Messwerten von D_{pot} nach einem Jahr anaerober Inkubation.	14

Abkürzungen

DI	initiale Denitrifikationsrate, errechnet aus der in einem Zeitintervall von 3 bis 7 Tagen durch Denitrifikation gebildeten Menge an N_2 und N_2O
$DI_{in situ}$	<i>in situ</i> Messung der initialen Denitrifikationsrate
DI_{Labor}	mittels Batchversuchen unter Laborbedingungen bestimmte initiale Denitrifikationsrate
C_{hws}	Heißwasserlöslicher organischer Kohlenstoff
D_{pot}	messbares Denitrifikationspotential am Versuchsende bei Verbleib an denitrifikativer Restaktivität im untersuchten Substrat
RSP	reaktives Stoffdepot
V_{RSP}	verfügbares reaktives Stoffdepot
exzess- N_2	Überschuss an N_2 , bestimmt aus gemessenem N_2/Ar Verhältnis
GOK	Geländeoberkante
IRMS	Isotopenverhältnis-Massenspektrometer
MIMS	Membraneinlass-Massenspektrometer

1. Zusammenfassung

Das Ziel des DBU-Projektes war es, eine Methode zur Schätzung des reaktiven Stoffdepots von Aquiferen mittels ^{15}N -Tracerexperimenten zu einem praxistauglichen Instrument weiterzuentwickeln, das es erlaubt, auf relativ einfache Art und Weise kostengünstig die minimale Lebensdauer der Denitrifikation des untersuchten Aquifers abzuschätzen. Zu diesem Zweck wurden in den Wassereinzugsgebieten Fuhrberg und Großenkneten *in situ* Messungen mittels ^{15}N -Tracerexperimenten an Vorfeldmessstellen und Laborversuche an Kernproben zur Charakterisierung des reaktiven Materials der jeweiligen Aquifere durchgeführt.

Um die Methode soweit zu entwickeln, dass eine selbständige Durchführung in der Praxis durch Wasserversorger oder Ingenieurbüros leichter möglich ist, wurde ein Quadrupol-Massenspektrometer mit Membraneinlass-System (MIMS) der Firma InProcess Bremen zur Messung von Gelöstgasen im Grundwasser angeschafft. Im Rahmen von Laborversuchen wurde das entwickelte MIMS-Messsystem auf seine Einsetzbarkeit für die zu bearbeitende Aufgabenstellung geprüft (siehe Anhang 1). Die MIMS-Messtechnik wurde anschließend auch zu Freilandmessungen im Zuge von ^{15}N -Tracerexperimenten angewandt, um deren Eignung für $\text{DI}_{\text{in situ}}$ -Messungen zu prüfen. Die Ergebnisse zeigen, dass die MIMS-Technik geeignet ist, da sie im Gelände gut handhabbar ist und die Messwerte sehr gut mit der bisherigen IRMS-Methode übereinstimmen.

Die Projektarbeiten umfassten folgende Schritte:

- die Erkundung eines geeigneten Standorts für den Bau einer Staffelmessstelle in Großenkneten, sowie die Auswahl geeigneter Multilevelmessstellen in Fuhrberg (Punkt a des Projektantrags)
- die Organisation der Bohrungen, die Bohrungen selbst und den Messstellenbau in Großenkneten.
- Batchversuche zur Ermittlung des messbaren Denitrifikationspotentials (D_{pot}) und der initialen Denitrifikationsrate (DI_{Labor}), sowie eine Intensivvariante der Batchversuche, um das reaktive Stoffdepot der Aquiferproben möglichst innerhalb des Bebrütungszeitraumes zu erschöpfen.
- *in situ* Messungen der initialen Denitrifikationsaktivität ($\text{DI}_{\text{in situ}}$) an den ausgewählten bzw. neu errichteten Messstellen in Fuhrberg bzw. Großenkneten.

Zusätzlich zu den im Projektantrag festgehaltenen Arbeiten wurde ein automatisiertes MIMS-Messsystem erprobt, das eine automatisierte Messung von ^{15}N -Tracerversuchen erlaubt (siehe Anhang 1). Weiterhin wurde ein neuer rekursiver mathematischer Ansatz zur Berechnung des durch Denitrifikation gebildeten N_2 in Proben auf Basis des massenspektrometrisch zu messenden Verhältnisses $^{29}\text{N}_2$ zu $^{28}\text{N}_2$ abgeleitet (siehe Punkt 2.3 (c) und Anhang 2). In Großenkneten wurden zwei zusätzliche Multilevelmessstellen vom Typ 3-Kanal-CMT-Rohr am Standort der Staffelmessstelle errichtet, um weitere Messpunkte für $\text{DI}_{\text{in situ}}$ -Messungen zu gewinnen.

Das Ziel der Ermittlung von Transferfunktionen zur Prognose des Denitrifikationspotentials aus Sedimentparametern oder mittels Tracerversuchen im Gelände konnte erreicht werden. Allerdings bestehen weiterhin Unsicherheiten im Hinblick auf die Frage, welcher Anteil des reaktiven Stoffdepots langfristig, d.h. über Jahrzehnte hinweg, für die Denitrifikation verfügbar ist. Eine weitere Unsicherheit besteht darin, dass in tieferen Aquiferbereichen, die von der Nitratfront bisher nicht erreicht wurden, die bisherige Form der Tracerversuche eine Unterschätzung des Denitrifikationspotentials ergeben. Es wurden methodische Fortschritte erzielt, die erstmals eine *in-situ*-Analytik bei ^{15}N -Tracerversuchen sowie eine verbesserte

Datenauswertung erlauben und die somit für die Etablierung der vorgestellten Methode in der Praxis eine wichtige Voraussetzung darstellen.

2. Bericht

Die ursprüngliche Projektlaufzeit von 19 Monaten wurde auf drei Jahre verlängert. Ursprünglich war für die Bearbeitung des Projektes vorgesehen, einen Wissenschaftler für 19 Monate in voller Anstellung nach Bat IIa zu entlohnen. Die Bearbeitung des Projekts erfolgte nach Änderung der Projektlaufzeit durch einen Doktoranden (Wolfram Eschenbach) mit einer halben Stelle, der in Zusammenhang mit diesem Projekt seine Promotion anstrebt.

Im Zuge der jetzt mit dem Projekt verknüpften Doktorarbeit traten weitere Arbeitsschritte und Entwicklungsarbeiten zusätzlich zum Arbeitsprogramm, wie es im Projektantrag niedergelegt ist, hinzu (siehe Punkt 2.3).

Dieser Endbericht zur Vorlage bei der DBU enthält die wichtigsten Ergebnisse, die im Verlauf des Projektes erarbeitet wurden. Zum derzeitigen Zeitpunkt sind alle Labor und Feldarbeiten abgeschlossen.

Die vollständige umfassende Darstellung aller erarbeiteten Ergebnisse dieses Projektes wird der DBU und den Kooperationspartnern in Form einer kumulativen Dissertation voraussichtlich im ersten Halbjahr 2011 zugänglich gemacht.

2.1 Anlass und Zielsetzung des Projektes

Eine steigende Nitratbelastung oberflächennaher Grundwässer ist in den europäischen Nationen ein seit langem bekanntes und andauerndes Problem. Angesichts des weltweit steigenden Bedarfs an landwirtschaftlichen Produkten, ist in Zukunft mit einer intensiveren Nutzung landwirtschaftlicher Flächen zu rechnen. Vor diesem Hintergrund wird auch in Zukunft der Nitratreintrag aus der Landwirtschaft ins Grundwasser sowie über den Grundwasserfließpfad in Oberflächengewässer sowohl ein ökologisches als auch ein ökonomisches Problem darstellen.

Erhöhte Nitratreinträge in Oberflächen- und Küstengewässer sind problematisch, da diese Nährstofffracht einer Eutrophierung dieser Gewässer Vorschub leistet. Laut LAWA (1995: 3f) stammt ein nicht zu vernachlässigender Anteil des Nitrats in Oberflächengewässern aus dem Grundwasser. Neben den ökologischen Problemen der Nitratbelastung von Grund- und Oberflächengewässern treten ökonomische Kosten. Durch den Nitratreintrag ins Grundwasser und die hierdurch ausgelösten bio-geochemischen Folgereaktionen wie z.B. der Nitratverockerung von Filterbrunnen und Wasserleitungen, dem Anstieg des Sulfat- und Eisengehalts im Grundwasser etc. ergeben sich eine Reihe von Folgekosten für Wasserversorger. Diese Kosten resultieren aus den notwendig werdenden Ausgaben für die Erneuerung von Filterbrunnen, die Unterhaltung von aufwendigen Wasseraufbereitungsanlagen und dem Flächenmanagement, um die Grenzwerte der Trinkwasserverordnung einhalten zu können.

Eine Wassergewinnung aus Gebieten mit hohem Nitratreintrag aus dem Boden ist häufig nur möglich, weil Nitrateliminationsprozesse, zumeist Denitrifikation, im Aquifer die Nitratkonzentration im Grundwasser erheblich vermindern. Denitrifikationsprozesse sind an ein reaktives Stoffdepot (RSD) im Grundwasserleiter geknüpft. Dieses reaktive Stoffdepot wird durch den aus der landwirtschaftlichen Nutzung resultierenden erhöhten Nitratreintrag ins Grundwasser sukzessive aufgebraucht. Die Hauptkonstituenten dieses reaktiven Stoffdepots an reduzierten Verbindungen im Aquifer sind organischer Kohlenstoff und sulfidische Verbindungen (z.B. Pyrit).

Wissen über die Art, Lebensdauer und Verteilung von Nitrat abbauenden Prozessen im Grundwasserraum ist von großer Bedeutung für die Sicherung der Trinkwasserressourcen und

setzt Kenntnisse über die Verteilung von reaktiven Substanzen im Aquifer voraus. An diesem zentralen Punkt für die Prognose von Nitrat eliminierenden Prozessen im Grundwasserraum setzt dieses Projekt an.

Ziel des Projektes ist es, eine schnelle und kostengünstige Methode weiterzuentwickeln, die es erlaubt, die Verteilung von reaktiven Verbindungen im Aquifer zu erfassen. Diese Methode basiert auf der ^{15}N -Tracertechnik zur *in situ* Messung der Initialen Denitrifikationsrate ($\text{DI}_{\text{in situ}}$) und wurde von der Arbeitsgruppe Well (Well & Myrold, 1999; Well *et al.*, 2003) für die *in situ* Messung in oberflächennahem Grundwasser bis max. 3 m unter Geländeoberkante entwickelt. Die Denitrifikationsrate wird hierbei aus dem Zeitgang der durch Denitrifikation gebildeten Konzentration von ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) am Injektionspunkt abgeleitet. Die *in situ* Daten zur initialen Denitrifikationsrate ($\text{DI}_{\text{in situ}}$) wurde mit Labormessungen am Sedimentmaterial verglichen, wobei die Daten zum Stickstoffumsatz im Laborversuch mit den *in situ* Messungen signifikant, teils hochsignifikant korrelierten (Well *et al.*, 2003). Vorarbeiten der Arbeitsgruppe Walther galten dem Bereich des Stickstoffumsatzes in Grundwasserleitern der norddeutschen Tiefebene (Walther *et al.* 2002, 2005a, 2005b).

Zur Prüfung der Übertragbarkeit der Messung der initialen Denitrifikationsrate in tiefere Grundwasserbereichen wurden in Zusammenarbeit der Arbeitsgruppen Walther und Well *in situ* Messungen mittels ^{15}N -Tracertechnik im Gebiet Thülsfelde an Grundwassermessstellen erfolgreich vorgenommen (Konrad, 2007).

Ziele

- Das übergeordnete Ziel war es, die beschriebene Methode zur Schätzung des reaktiven Stoffdepots durch *in situ* Messungen an Grundwassermessstellen zu einem validen und praxistauglichen Verfahren weiterzuentwickeln.
- Dazu sollten an einer größeren Zahl von Grundwassermessstellen *in situ* Messungen durchgeführt werden.
- In Laborinkubationen sollte an den zugehörigen Sedimentproben die Menge an reaktivem Material im Sediment sowie die initiale Denitrifikationsrate und das langfristige Denitrifikationspotential bestimmt werden. Letzteres ist ein Maß für die potentielle Lebensdauer der Denitrifikation im Sediment.
- Aus den Ergebnissen sollte eine Transferfunktion zur Abschätzung des reaktiven Stoffdepots am Messpunkt abgeleitet werden.
- Mit der Methodik sollte zumindest eine grobe Einteilung von Aquiferbereichen nach der minimaler Lebensdauer der Denitrifikation in die Klassen geringer (<10 Jahre), mittlerer (10 – 100 Jahre) und hoher Lebensdauer (>100 Jahre) möglich sein.

2.2 bis 2.2(b3) Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden (vgl. 7.5 (a) bis (b) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Die Punkte 2.2(a) bis 2.2 (b3) wurden in den vorangegangenen 1. und 2. Zwischenberichten ausführlich abgehandelt. Da diese Punkte des Arbeitsprogramms nur der Auswahl geeigneter $\text{DI}_{\text{in situ}}$ -Messpunkte in Fuhrberg sowie eines geeigneten Standorts für die zu errichtende Staffelmessstelle in Großenkneten dienen wird, in diesem Endbericht auf diese Erkundungs- und Messstellenerrichtungsarbeiten im Vorfeld der Labor und Feldarbeiten nicht nochmals detailliert eingegangen (siehe dazu die Punkte 2.2(a) bis 2.2(b3) Zwischenbericht 1 und 2).

2.2 (b4) Auswahl von Messstellen und Kernbereichen in Fuhrberg und Großenkneten (vgl. 7.5 (b4) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Aus den vorhandenen Daten zu C_{org} , Gesamt-S, N_2 -Excess, N_2O -Konzentrationen und den Parametern der Grundwasserbeschaffenheit wurden fünf Multilevelbrunnen in Fuhrberg ausgewählt, an denen insgesamt 14 $DI_{in situ}$ Messungen in der Prozesszone I und II des Fuhrberger-Feld-Aquifers durchgeführt wurden (Tab. 1). Basierend auf den mit der Aufschlussbohrung in Großenkneten gewonnenen Daten zur Verteilung von C_{org} und Gesamt-S wurden zusätzlich zu den bereits bestehenden zwei Messstellen zwei weitere konventionelle Grundwassermessstellen gebaut und zusätzlich zwei Multilevelmessstellen errichtet. Am Aquifermaterial, das aus den zugehörigen Tiefenabschnitten der ausgewählten Messpunkten stammt, wurden die unter Punkt 2.2 (c) beschriebenen Laborversuche und Sedimentanalysen zur Untersuchung des reaktiven Stoffdepots (RSD) des Feststoffgerüsts durchgeführt als auch die hydraulische Leitfähigkeit nach Beyer (1961) bestimmt.

Tab. 1. Messpunkte für $DI_{in situ}$ -Messungen

Messstelle	Fuhrberg					Großenkneten					
	B1	B2	B4	B6	N10	Gro 326	Gro 327	S1	S2	CMT 1	CMT 2
	[m u. GOK]										
Prozesszone I		3		3	5	8-10					8,3
		4,2		6							22,8
Prozesszone II	7	8	8		8	35-39	66-67	26-27	29,3	26,8	
	8	9	9						31,3		
		10							33,5		
		14									

Insgesamt wurden mit Aquifermaterial aus 41 Tiefenabschnitten im Labor anaerobe Langzeitinkubationsversuche durchgeführt, 10 mehr als im Projektantrag vorgesehen. An 24 Messpunkten wurde mittels ^{15}N -Tracerversuchen $DI_{in situ}$ bestimmt, im Antrag waren 13 vorgesehen. Es stehen dadurch zusätzliche Messwertepaare für die Ableitung von D_{pot} aus $DI_{in situ}$ zur Verfügung.

2.2 (c) Untersuchung des reaktiven Materials und des Nitratumsatzes an Bohrkernen im Labor (vgl. 7.5 (c) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Am Aquifermaterial wurden folgende Laboruntersuchungen durchgeführt: anaerobe Langzeitinkubationsversuche zur Ermittlung des langfristigen Denitrifikationspotentials (D_{pot}), Kurzzeitinkubationsversuche zur Ermittlung der initialen Denitrifikationsrate (DI_{Labor}) und Bestimmung der für die Denitrifikation verfügbaren C_{org} und Sulfid-S-Fractionen im Labor.

2.2 (c1) Gesamtgehalte an reaktivem Material (C_{org} , Gesamt-S, Glühverlust) und hydraulische Leitfähigkeit (vgl. 7.5 (c1) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Die Werte der analysierten ungestörten Kernproben für den Glühverlust liegen zwischen 0,2 und maximal 2,8%. Der Glühverlust zeigte eine enge Korrelation mit der Verteilung von C_{org}

in den Aquiferproben. Die Gehalte an C_{org} liegen im Bereich von 0,007 und 0,9% (Abb. 1). Die Gehalte an Gesamtschwefel reichen von 0,003 bis 0,1%. Sowohl die C_{org} als auch Gesamt-S Gehalte zeigen für Teildatensätze gute lineare Korrelationen mit dem messbaren Denitrifikationspotential (D_{pot}) (siehe Punkt 2.2 (c2)).

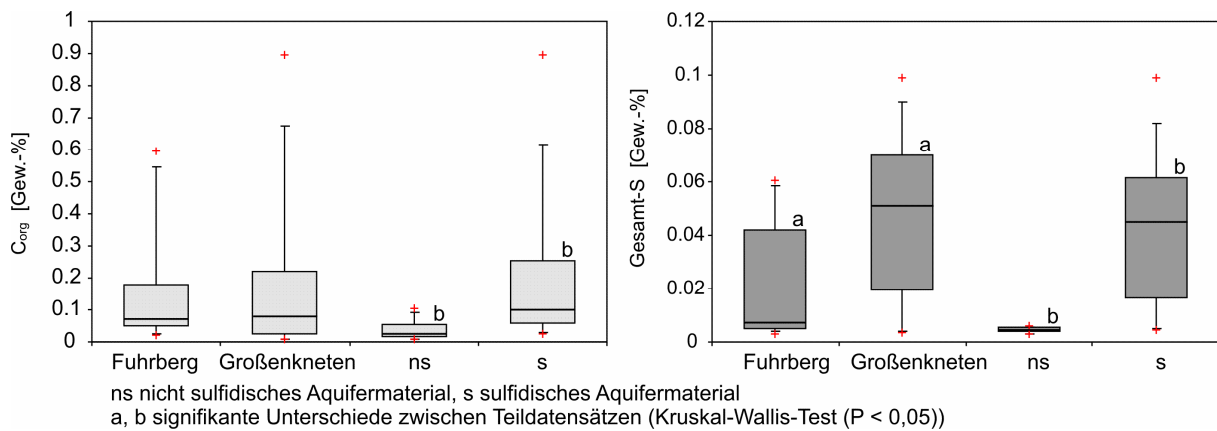


Abb. 1. C_{org} und Gesamt-S-Gehalte der untersuchten Aquiferproben unterteilt nach Herkunft und Sulfidgehalt

Die hydraulischen Leitfähigkeiten des untersuchten Aquifermaterials wurde nach Beyer (1961) aus den Korngrößenanalysen abgeleitet. Die hydraulische Leitfähigkeit der betreffenden Aquiferproben liegt mit k_f -Werten von $1,0 \cdot 10^{-5}$ und $1,0 \cdot 10^{-4}$ m/s durchweg im hydraulisch aktiven Bereich. Es ist somit davon auszugehen, dass alle beprobten Aquiferbereiche vom Grundwasser intensiv genug durchströmt werden, so dass ihr Vorrat an Reduktionsmitteln quantitativ zur Denitrifikation im Grundwasserraum beitragen kann.

Die mittleren Gehalte an C_{org} sind in gestörten Proben, die mittels der Spülbohrung gewonnen wurden, mit 0.15% etwas geringer als im gekernten ungestörten Aquifermaterial mit 0.19%. Ebenfalls sind die mittleren Gehalte an Gesamt-S in den gestörten Proben mit 0.037% etwas niedriger als in gekernten Proben mit 0.047%. Die gemessenen Gehalte an C_{org} und Gesamt-S in den gestörten und ungestörten Proben unterscheiden sich aber insgesamt nicht signifikant ($P < 0,05$) voneinander. Bei den einzelnen Proben treten jedoch starke Abweichungen auf (Abb. 2). Insgesamt ist eine leichte Tendenz zu geringeren Gehalten an C_{org} und Gesamt-S festzustellen (Abb. 2).

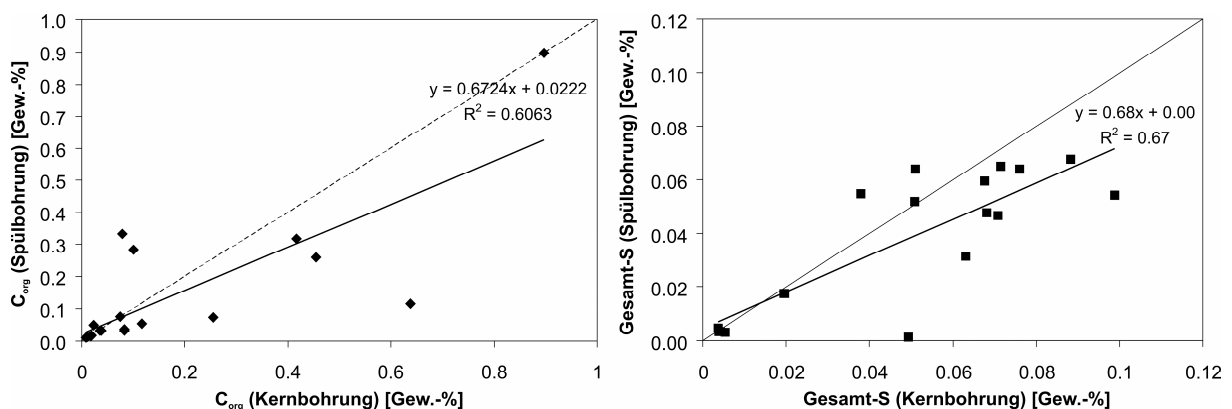
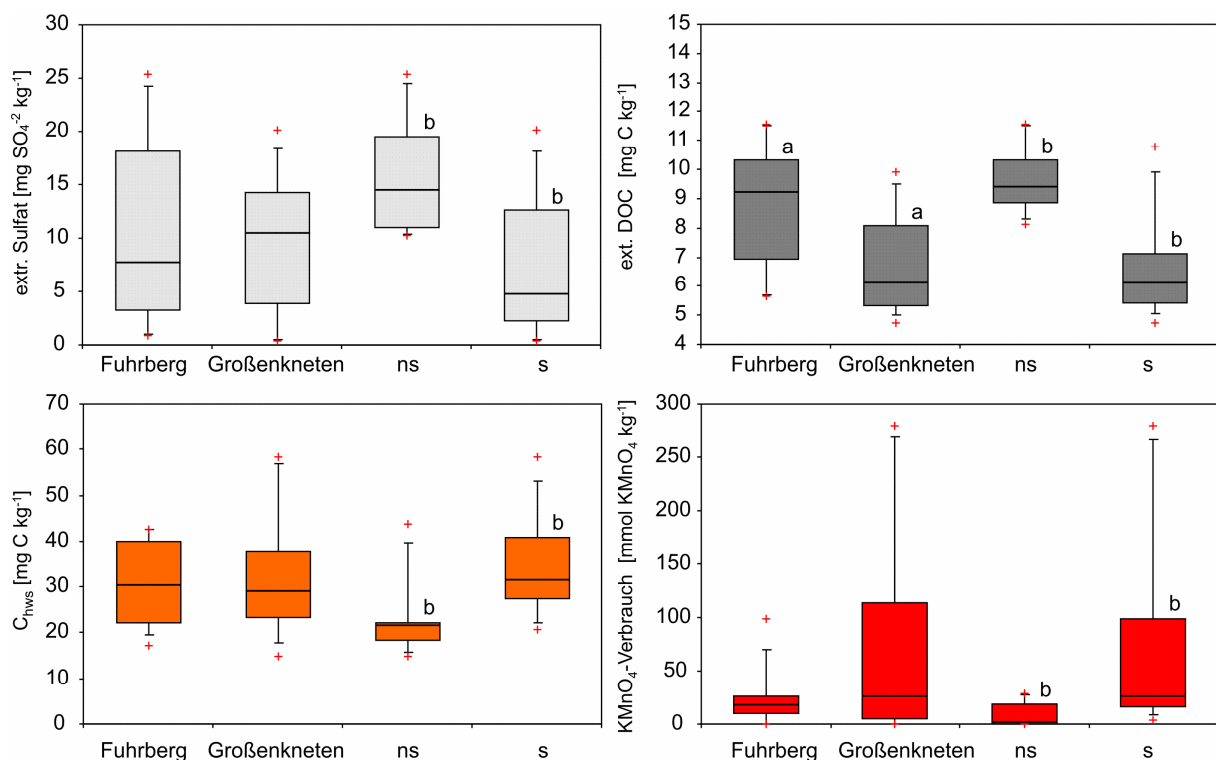


Abb. 2. Vergleich der C_{org} und Gesamt-S Gehalte bestimmt in Aquiferproben aus der Spül- und Kernbohrung

Die kostengünstigere Spülbohrung führt im Vergleich zur Kernbohrung somit zu ungenaueren Ergebnissen. Diese Ergebnisse stimmen gut mit Untersuchungen von Konrad et al. (2008) zum Gehalt an Reduktionsmitteln in Parallelproben aus Spül- und Kernbohrungen überein.

2.2 (c2) Untersuchung der für die Denitrifikation verfügbaren C_{org} - und Sulfid-S-Fraktion (vgl. 7.5 (c2) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Neben den unter Punkt 2.2 (c3) beschriebenen anaeroben Langzeitinkubationsversuchen wurden an korrespondierendem Sedimentmaterial der 41 untersuchten Aquiferkerne aus Fuhrberg und Großenkneten folgende im Vergleich zu Inkubationsversuchen relativ einfach zu bestimmenden Sedimentparameter untersucht: extrahierbares Sulfat (extr. Sulfat), extrahierbarer organischer Kohlenstoff (extr. DOC), Heißwasserlöslicher C_{org} (C_{hws}), $KMnO_4$ -Verbrauch sowie C_{org} , Gesamt-S und Gesamt-N. Für die Messung von Gesamt-N, Gesamt-S und C_{org} wurden das bergfrische karbonatfreie Aquifermaterial bei $106^\circ C$ getrocknet, fein gemahlen und anschließend im Institut für Bodenkunde der Universität Hannover analysiert. Für die Messung von extr. DOC und extr. Sulfat wurde jeweils 20 g Probe mit 25 ml 0,02 molare $CaCl_2$ Lösung versetzt, eine Stunde geschüttelt und anschließend wurde das Extrakt abfiltriert. Das Filtrat wurde anschließend auf gelösten Sulfatschwefel und DOC analysiert. Die Konzentrationen an extr. Sulfat liegen für Aquiferprobenmaterial aus Fuhrberg bzw. Großenkneten zwischen 0,9 und 25,3 bzw. 0,3 und 20,2 $mg\ SO_4^{-1}\ kg^{-1}$.



ns nicht sulfidisches Aquifermaterial, s sulfidisches Aquifermaterial
a, b signifikante Unterschiede zwischen den Teildatensätzen (Kruskal-Wallis-Test ($P < 0,05$))

Abb. 3. Verschiedene für die Denitrifikation relevante Sedimentparameter: extrahierbares Sulfat, extrahierbares DOC, Heißwasserlöslicher C_{org} (C_{hws}) und $KMnO_4$ -Verbrauch

Aquiferproben aus Großenkneten und Fuhrberg weisen Spannweiten von Konzentrationen an extr. DOC von 5,6 bis 11,5 bzw. 4,7 bis 9,9 $mg\ C\ kg^{-1}$ auf. Insgesamt zeigen tiefere sulfidische Aquiferabschnitte signifikant geringere Konzentrationen an extr. DOC als auch extr. Sulfat (Abb. 3).

Beim C_{hws} unterscheiden sich Proben aus Fuhrberg und Großenkneten nicht signifikant voneinander. Die in den Proben angetroffenen Konzentrationen reichen von 14,9 bis 58,5 mg C kg⁻¹. Im Gegensatz zum extr. DOC zeigen hier die oberflächennäheren, nicht sulfidischen Aquiferproben im Mittel mit 21,6 mg C kg⁻¹ zu 31,6 mg C kg⁻¹ um ein Drittel geringere Mediangehalte an C_{hws} (Abb. 3). Beim Sedimentparameter KMnO₄-Verbrauch weisen die Proben aus Großenkneten eine signifikant größere Spannbreite des KMnO₄-Verbrauchs (0,1 – 278,3 mmol KMnO₄ kg⁻¹) auf als das Fuhrbergmaterial (0,3 – 98,6 mmol KMnO₄ kg⁻¹) (Abb 3).

Sowohl extr. Sulfat als auch extr. DOC zeigen signifikant negative Korrelationen mit dem messbaren Denitrifikationspotential (Tab. 2). Der Sedimentparameter KMnO₄-Verbrauch ist insbesondere mit dem D_{pot} des Aquifermaterials aus Großenkneten hoch korreliert (Tab. 2), hingegen ist der lineare Zusammenhang zwischen KMnO₄-Verbrauch und D_{pot} für Aquiferproben aus Fuhrberg nicht signifikant. C_{hws} ist nur beim nicht sulfidischen und beim Fuhrbergmaterial signifikant mit D_{pot} korreliert. C_{org} und Gesamt-S zeigen sehr hohe Korrelationen für alle Teildatensätze außer für das nicht sulfidische Aquifermaterial (Tab. 2 u. Abb. 6).

Tab. 2: Spearman Rangkorrelationskoeffizienten zwischen dem in anaeroben Langzeitbrutversuchen gemessenen Denitrifikationspotential (D_{pot}) und verschiedenen Sedimentparametern

	extr. Sulfat	extr. DOC	C_{hws}	KMnO ₄ - Verbrauch	Total-N	C_{org}	Gesamt-S
Gesamtdatensatz	-0,63 ³	-0,59 ³	0,36 ¹	0,68 ³	0,55 ³	0,72 ³	0,64 ³
Fuhrberg	-0,82 ³	-0,87 ³	0,58 ²	0,38n.s.	0,34n.s.	0,64 ³	0,82 ³
Großenkneten	-0,49 ¹	-0,40n.s.	0,12n.s.	0,87 ³	0,78 ³	0,88 ³	0,88 ³
ns Sedimentmaterial	0,13n.s.	-0,17n.s.	0,75 ²	0,79 ²	0,43n.s.	0,33n.s.	0,37n.s.
s Sedimentmaterial	-0,36 ¹	-0,11n.s.	0,06n.s.	0,46 ¹	0,57 ³	0,61 ³	0,37 ¹

¹ Korrelation signifikant zum Wahrscheinlichkeitsniveau 0,05, ² Korrelation signifikant zum Wahrscheinlichkeitsniveau 0,01; ³ Korrelation signifikant zum Wahrscheinlichkeitsniveau 0,001, n.s. nicht signifikant
ns nicht sulfidisch, s sulfidisch

Die relativ einfach zu messenden Sedimentparameter sind gut geeignet, das mögliche Denitrifikationspotential des untersuchten Aquifermaterials qualitativ einzuschätzen. C_{org} und Gesamt-S zeigen für Teildatensätze die besten lineare Korrelationen mit D_{pot} der untersuchten Sedimentparameter (Tab. 2). Hohe Gehalte an extr. Sulfat und extr. DOC weisen bei den untersuchten Proben auf oberflächennahes Aquifermaterial mit geringem Denitrifikationspotential hin. Die negative Korrelationen des extr. DOC mit D_{pot} passen in ihrer Tendenz zu Ergebnissen von Weymann et al. (2010) und von der Heide et al. (2010).

Insgesamt unterscheiden sich die nicht sulfidischen Proben in allen untersuchten Sedimentparametern signifikant von den sulfidischen (Abb. 3). Demgegenüber unterscheiden sich die analysierten Aquiferproben beider Aquifere nur beim extr. DOC signifikant voneinander.

Die untersuchten Sedimentparameter zeigen insgesamt für Großenkneten eine größere Bedeutung des organischen Kohlenstoffs für das Denitrifikationspotential der beprobten Aquiferbereiche. Dieses Ergebnis passt zu dem Umstand, dass auch in den anaeroben Langzeitbrutversuchen das im Headspace messbare CO₂ bei Aquiferproben aus Großenkneten stärker positiv mit D_{pot} korreliert, als dies für Material aus Fuhrberg der Fall ist. Dies zeigt für Großenkneten somit einen höheren Anteil der heterotrophen Denitrifikation am

Denitrifikationspotential an. In Fuhrberg besitzen hingegen Sulfide eine stärkere Bedeutung für das Denitrifikationspotential als in Großenkneten.

2.2 (c3) Inkubationsversuche im Labor (DI_{Labor} , D_{pot} , Intensivvariante) (vgl. 7.5 (c3) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Es wurden für 41 Aquiferkerne mit jeweils 3 bis 4 Parallelen anaerobe Langzeitinkubationsversuche mit Proben aus Fuhrberg und Großenkneten durchgeführt. Inklusiv Intensivvariante der anaeroben Langzeitbrutversuche wurden insgesamt 192 einzelne Batchansätze jeweils ein Jahr lang inkubiert. Für die Standardvariante der Batchversuche zur Messung von DI_{Labor} und D_{pot} wurden im Labor jeweils 300 g feuchtes Aquifermaterial in eine Flasche mit 1150 ml Volumen gefüllt. Anschließend wurden 300 ml einer mit 60atom% ^{15}N markierten Kaliumnitratlösung mit einer Konzentration von $200 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ hinzu gegeben. Der Versuchsansatz wurde verschlossen, evakuiert, mit N_2 gespült und bei 10°C ein Jahr lang bebrütet. Nach einem festgesetzten Beprobungsschema wurden die gasförmigen Reaktionsprodukte beprobt und mittels Gaschromatographie (GC) und Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS) analysiert. Neben den gasförmigen Reaktionsprodukten der Denitrifikation wurde auch NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , SO_4^{2-} , pH sowie teilweise Gesamteisen und die Hauptkationen und -anionen in Wasserproben der Inkubationsversuche bestimmt.

Aquiferproben, die während den Inkubationen keinen Anstieg der Sulfatkonzentrationen in der Batchlösung zeigten, entstammten durchweg den oberen Bereichen beider Aquifere und wurden der Teilmenge des nicht-sulfidischen Sedimentmaterials zugewiesen. Versuchsansätze die während der Inkubation steigende Konzentrationen an Sulfat zeigten, wurde dementsprechend der Gruppe des sulfidischen Sedimentmaterials der untersuchten Kernproben zugeordnet.

Innerhalb der ersten sieben Tage der anaeroben Inkubation per Standardvariante wurde aus den Messwerten der akkumulierten Denitrifikationsprodukte die im Labor messbare initiale Denitrifikationsraten (DI_{Labor}) abgeleitet. Die gemessenen Raten für DI_{Labor} reichen für die inkubierten Aquifersande von $0,7$ bis $109 \mu\text{g N kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$, wobei sich Raten der initialen Denitrifikation des Aquifermaterials aus Fuhrberg statistisch nicht signifikant von dem aus Großenkneten unterscheiden. Signifikante Unterschiede zeigten sich demgegenüber zwischen dem sulfidischen und nicht sulfidischen Material beider Aquifersande. Für nicht sulfidisches Material reicht DI_{Labor} von $9,7$ bis $35 \mu\text{g N kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und für sulfidisches Material von 12 bis $109 \mu\text{g N kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Von den inkubierten Aquiferproben kam es nur bei 3 Kernabschnitten zu einem vollständigen Erliegen der Denitrifikation während der Inkubationsversuche. Die meisten Versuche wiesen zu Beginn der Inkubation die höchsten Denitrifikationsraten auf die dann im Verlauf der Inkubation abnahmen (Abb. 4B). Einige zeigten hingegen auch über ein ganzes Jahr relativ konstante Denitrifikationsraten. Bei den nicht sulfidischen Aquiferproben lief die Denitrifikation meist relativ konstant auf einem sehr niedrigen Niveau ab (Abb. 4B).

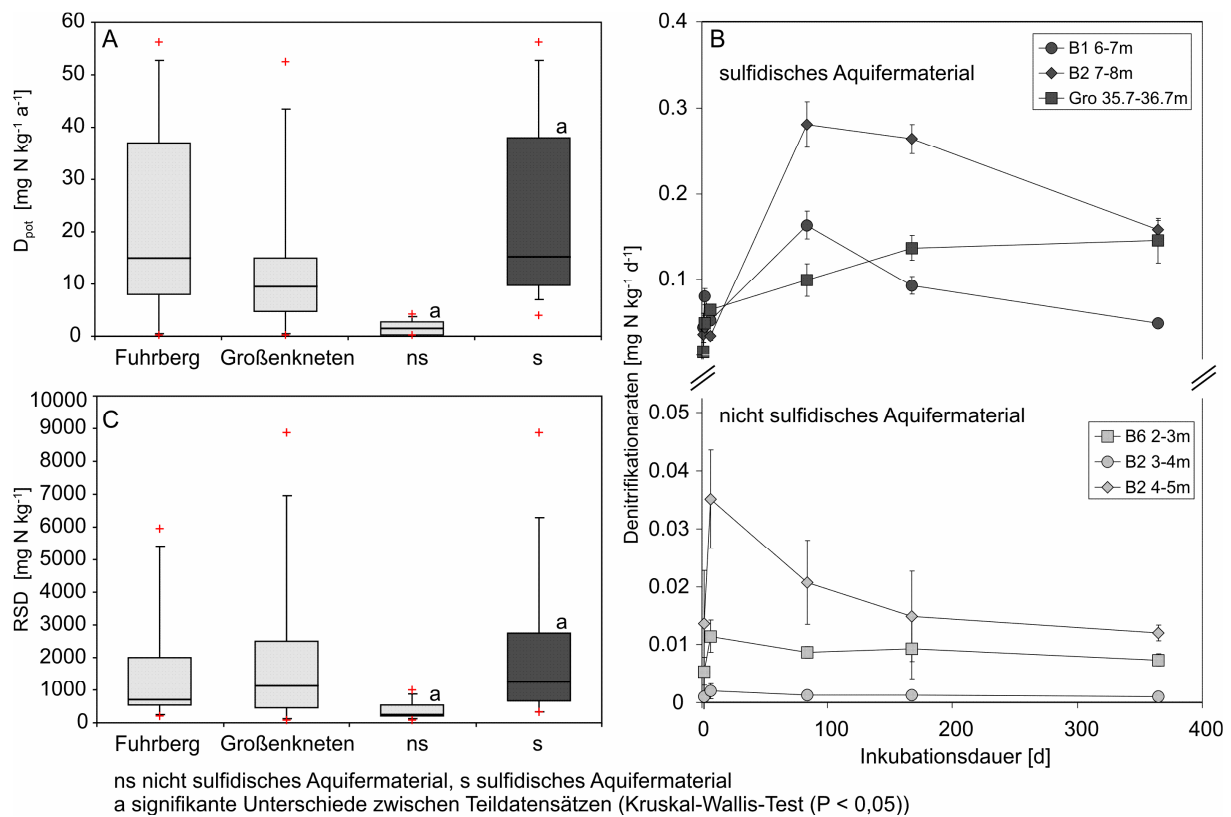


Abb. 4. (A) Messbares Denitrifikationspotential (D_{pot}), (B) beispielhafter Verlauf von Denitrifikationsraten von sulfidischem und nicht sulfidischem Aquifermaterial und (C) reaktives Stoffdepot (RSD) der untersuchten Aquiferproben

Das nach einem Jahr anaerober Inkubation messbare Denitrifikationspotential (D_{pot}) der inkubierten Aquifersande reichte von 0,19 bis 56,2 mg N kg⁻¹ (Abb. 4A). Nicht sulfidische Aquiferproben wiesen mit Werten von 0,19 bis 4,3 mg N kg⁻¹ ein 10fach geringeres D_{pot} auf als sulfidischen Proben (Abb. 4A u. 4B).

Das reaktive Stoffdepot (RSD) als Gesamtvorrat an reaktiven Stoffen in den Aquiferproben wurde als Summe von C_{org} und Gesamt-S berechnet, wobei die Konzentration dieser beiden Sedimentparameter entsprechend ihrer potentiellen Fähigkeit NO_3^- zu N_2 zu reduzieren in die Dimension mg N kg⁻¹ umgerechnet wurden.

Das reaktive Stoffdepot (RSD) des sulfidischen Materials übersteigt das des nicht sulfidischen im Mittel um etwa das 10fache (Abb. 4C). Zwischen den Aquiferproben aus Fuhrberg und Großenkneten ließen sich sowohl was das D_{pot} als auch das RSD angeht keine signifikanten Unterschiede feststellen, wobei Fuhrbergproben im Durchschnitt ein etwas höheres D_{pot} und ein kleineres RSD als Großenknetenproben besitzen. Dies weist auf eine höhere Verfügbarkeit des RSD im Fuhrberger Aquifer hin. C_{org} bildet in beiden Aquiferen den größten Teil des RSD.

Innerhalb eines Jahres Inkubation betrug die Verfügbarkeit des reaktiven Stoffdepots (V_{RSD} (%) = $100 \cdot D_{pot} / RSD$) 0,08 bis maximal 5,44%. Das V_{RSD} des Fuhrberger Materials betrug im Durchschnitt 1,5% und war somit signifikant größer als das V_{RSD} des Aquifermaterials aus Großenkneten (0,78%). Ebenso unterschied sich das nicht sulfidische Material mit einem V_{RSD} von durchschnittlich 0,38% signifikant vom sulfidischen Material mit einem V_{RSD} von 1,15%.

Das RSD des nicht sulfidischen Materials war also nicht nur signifikant kleiner als das des sulfidischen, sondern zu dem auch noch in geringerem Maß für die Denitrifikation verfügbar.

Die Intensivvariante der anaeroben Langzeitinkubationsversuche verfolgte das Ziel, eine weitestgehende Erschöpfung des reaktiven Stoffdepots in der Versuchszeit zu erreichen. Der Versuchsansatz unterschied sich von den übrigen Batchversuchen dahingehend, dass nur 30 g

frisches Aquifermaterial mit 270 g Quarzsand in Batchflaschen gefüllt wurde. Diese Versuchsansätze wurden für ein Jahr auf einem Überkopfschüttler bei 20°C inkubiert. Die Intensivvariante der anaeroben Inkubationsversuche musste ein Mal komplett wiederholt werden, weil der zuerst verwendete Quarzsand trotz vorherigen Ausglühens eine zu hohe Restaktivität aufwies. Beim zweiten Versuchsansatz war die Restaktivität des verwendeten Quarzsandes, die in vier gesonderten Blankansätzen ermittelt wurde, vernachlässigbar gering. Es wurde Material aus 9 verschiedenen Aquiferkernen aus Fuhrberg und Großenkneten in 4-facher Wiederholung inkubiert. Zusammen mit 4 Blankansätzen wurden 40 Batchansätze inkubiert.

Wieder erwarten kam es bei der Intensivvariante der anaeroben Langzeitinkubationsversuche zu keiner Erschöpfung des Denitrifikationspotentials der inkubierten Aquifersedimente. Allerdings war das messbare Denitrifikationspotential bei der Intensivvariante mit Werten von 161,2 bis 412,0 mg N kg⁻¹ um das 3,7 bis 17fache höher als das D_{pot} des gleichen Materials gemessen mit der Standardvariante der anaeroben Inkubationsversuche. Der Anteil des verfügbaren reaktiven Stoffdepots (V_{RSD}) am RSD war mit 4,7 bis 26,4% vom RSD teilweise bis über das 17fache höher als bei der Standardvariante der anaeroben Inkubationen. Diese deutlich höhere Verfügbarkeit des RSD innerhalb eines Jahres kann auf die höheren Inkubationstemperaturen und die höhere reaktive Oberfläche zurückgeführt werden. Die größere reaktive Oberfläche des RSD liegt zum einen an der Verdünnung des Aquifermaterials mit Quarzsand zum Anderen an der mechanischen Beanspruchung der reaktiven Stoffverbindungen im Aquifermaterial durch das ständige Schütteln der Batchflaschen.

Die Intensivvariante der anaeroben Inkubationsversuche legt nahe, dass deutlich größere Anteile des RSD potentiell für die Denitrifikation zur Verfügung stünden, als dies aus den Messungen nach einem Jahr Standardinkubation bei 10°C ableitbar ist.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass sowohl D_{pot} als auch RSD bei dem sulfidischen Aquifermaterial etwa um den Faktor 10 größer sind als bei den nicht sulfidischen Sedimentproben beider Aquifere. Die langfristige potentielle Verfügbarkeit des RSD ließ sich in unseren Versuchen nicht quantifizieren, da die einjährige Inkubation für eine weitgehende Erschöpfung des RSD nicht ausreichte. Anhand der Intensivinkubation konnte aber gezeigt werden, dass von einer potentiellen Verfügbarkeit des RSD von deutlich > 5 % auszugehen ist. Das RSD des Fuhrberger Aquifers ist signifikant besser verfügbar als das des Aquifers in Großenkneten, ebenso ist das RSD sulfidischer Aquiferbereiche besser für die Denitrifikation verfügbar als in nicht sulfidischen Bereichen.

Weitergehende Grundlagenforschung ist im Hinblick auf die verschiedenen C_{org}-Fraktionen notwendig. In dieser Arbeit zeigte sich, dass die Parameter C_{hws} und KMnO₄-Verbrauch Teilmengen des C_{org} erfassen, die in beiden Aquiferen in unterschiedlichem Maße mit D_{pot} korreliert sind. Insbesondere sollte auch der Frage nachgegangen werden, in wie weit die mikrobielle Verfügbarkeit des RSD bzw. die Höhe möglicher Denitrifikationsraten nicht nur mit der Größe des RSD sondern auch der Größe seiner reaktiven Oberflächen verknüpft ist. Hier böten sich weitergehende mikroskopische Untersuchungen am Aquifermaterial an. Es wäre zu prüfen, ob die festgestellte schlechtere Verfügbarkeit des RSD der nicht sulfidischen Proben mit dem Verhältnis zwischen der reaktiven Oberfläche zur Masse der reaktiven Stoffe erklärbar ist.

2.2 (d) Messung von $DI_{in\ situ}$ (vgl. 7.5 (d) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Eine detaillierte Beschreibung der Durchführung der $DI_{in\ situ}$ Messungen findet sich im Antrag zu diesem Projekt (DBU Antrag S. 20). Das Versuchsprinzip besteht aus der Injektion einer ^{15}N -Nitrat-Lösung in eine Grundwassermessstelle („push“-Phase), des Rückpumpens der Tracerlösung über ca. 3 Tage hinweg („pull“-Phase) und der Analytik der ^{15}N -markierten gasförmigen Denitrifikationsprodukte (N_2 und N_2O) in den geförderten Proben sowie der Ableitung von Denitrifikationsraten aus dem Anstieg der ^{15}N -Häufigkeiten. Zusätzlich zu der dort beschriebenen offline-Analytik von ^{15}N -markiertem (N_2+N_2O) erfolgte eine online-Messung und Auswertung im Gelände während eines Teils der Tracerversuche durch Membran-Einlass-Massenspektrometrie (MIMS, siehe Punkt 2.3 (b)). Ziel war es, eine für Ingenieurbüros geeignete Methodik zu entwickeln, die zum einen von der aufwändigen IRMS-Technik unabhängig ist und zum anderen unmittelbar Messergebnisse liefert. Eine Beschreibung des MIMS-Messsystems findet sich im Anhang 1. Für die Feldmessungen wurde das MIMS-Messsystem in einem Minibus vom Typ VW T4 eingebaut. Der für die Analytik benötigte flüssige Stickstoff wurde im Wasserwerk Fuhrberg in einem Isoliertank zwischengelagert und dort einmal am Tag entnommen. Die Online-Messung des durch Denitrifikation gebildeten ^{15}N -angereichertem (N_2+N_2O) im Gelände verlief erfolgreich. In situ Messungen der initialen Denitrifikationsrate ($DI_{in\ situ}$) wurde an den in Tab. 1 aufgelisteten Standorten durchgeführt. Insgesamt wurde 24 ^{15}N -Tracerversuche mit der „push-pull“-Technik zur Ableitung von $DI_{in\ situ}$ Werten durchgeführt, also 11 mehr als die 13 im Projektantrag vorgesehenen Messungen.

Die durchgeführten $DI_{in\ situ}$ Messungen verliefen insgesamt erfolgreich. An der Messstelle N10 in Fuhrberg mussten $DI_{in\ situ}$ -Messungen einmal komplett wiederholt werden, da die Tracerwolke innerhalb eines Tages vollständig aus dem Filterbereich der Messstelle abwanderte. In Großenkneten konnten bei einer Messstelle nur zu zwei Zeitpunkten innerhalb von 36 Stunden zwei Messwerte gewonnen werden. Zu einem späteren Zeitpunkt war auch hier die Tracerwolke zu sehr mit Grundwasser verdünnt.

Die gemessenen Raten für $DI_{in\ situ}$ reichen von 0 bis $26,4\ \mu\text{g N kg}^{-1}\ \text{d}^{-1}$, wobei sich die $DI_{in\ situ}$ Messwerte aus Fuhrberg statistisch nicht signifikant von dem aus Großenkneten unterscheiden. Signifikante Unterschiede zeigten sich hingegen zwischen den sulfidischen und nicht sulfidischen Bereichen beider Aquifere. Einen typischen Verlauf der ^{15}N -markierten Denitrifikationsprodukte nach Injektion des Nitratracers zeigt Abb. 5.

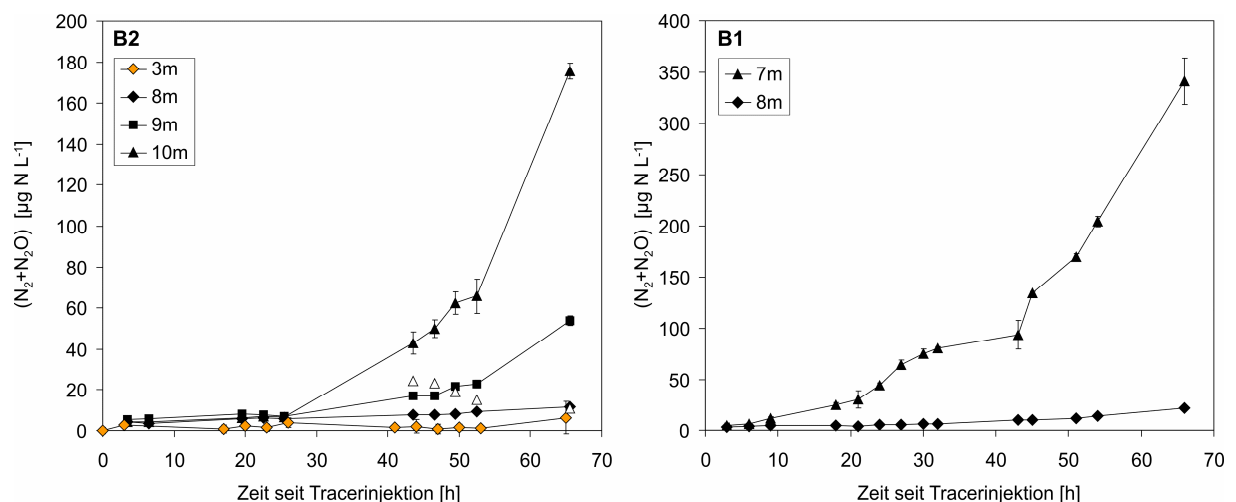


Abb. 5. $DI_{in\ situ}$ Messpunkte in den Multilevelmessstellen B1 und B2 in Fuhrberg. Zeitkurven des nach ^{15}N -Tracerinjektion durch Denitrifikation gebildeten (N_2+N_2O) im Grundwasser.

Wie für die analysierten Sedimentparameter, das RSD, V_{RSD} , D_{pot} als auch die im Labor bestimmte initiale Denitrifikationsrate (siehe Punkte 2.2 (c2) und 2.2 (c3)), so ergaben sich auch für $DI_{in situ}$ Messungen statistisch signifikante Unterschiede zwischen nicht sulfidischem oberflächennahem Aquifermaterial (kein oder nur ein geringes Denitrifikationspotential) und sulfidischem Aquifermaterial (aus streng anaeroben Bereichen beider Aquifere). Somit lässt sich mittels $DI_{in situ}$ Messungen bereits das zu erwartende Denitrifikationspotential der beprobten Aquiferbereiche qualitativ abschätzen.

2.2 (e) Ableitung eines Schätzverfahrens von D_{pot} aus den Messdaten (vgl. 7.5 (e) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Wie im Projektantrag auf Seite 21 beschrieben beruhen die Transferfunktionen für D_{pot} im Wesentlichen auf Regressionen mit den Parametern des reaktiven Stoffdepots (Tab. 3). D_{pot} der Aquiferproben beider Aquifere ist hoch signifikant mit Gehalten an C_{org} und Gesamt-S korreliert (Abb. 6 und Tab. 2). Für C_{org} ergeben sich Bestimmtheitsmaße von $R^2=0,65$ für Aquiferproben aus Fuhrberg und $R^2=0,93$ für Aquiferproben aus Großenkneten, d.h. etwa 65 bis 93% der gemessenen Varianz der D_{pot} Werte der verschiedenen inkubierten Aquiferproben lassen sich allein mit dem Sedimentparameter C_{org} erklären. Der durchschnittlich höhere $KMnO_4$ -Verbrauch (Punkt 2.2 (c2)) des Aquifermaterials aus Großenkneten könnte möglicherweise erklären, warum die Korrelation zwischen C_{org} und D_{pot} enger war als im Aquifermaterial aus Fuhrberg. Die bessere chemische Oxidierbarkeit ist möglicherweise ein Zeiger für die höhere mikrobielle Verfügbarkeit des C_{org} in dem Material aus Großenkneten. Für Gesamt-S ergeben sich ähnlich hohe Bestimmtheitsmaße (Fuhrberg $R^2=0,88$ und Großenkneten $R^2=0,50$). Auch mit den Gehalten an Gesamt-S lassen sich 50 bis 88% der Varianz in dem ermittelten D_{pot} erklären. (Es sei nochmals darauf verwiesen, dass in den untersuchten Proben aus beiden Aquiferen die Gehalte an C_{org} und Gesamt-S selbst miteinander hoch signifikant korreliert sind.)

D_{pot} lässt sich somit für die untersuchten Aquiferproben sehr gut aus den Gehalten an C_{org} bzw. Gesamt-S vorhersagen. Im Folgenden werden zwei Beispiele für entsprechende einfache Transferfunktionen gegeben:

1. D_{pot} für Aquiferproben aus Fuhrberg abgeleitet aus Gesamt-S

$$D_{pot} [mgN kg^{-1}] = 777.73 \cdot \text{Gesamt-S} [\%] + 7,3$$

2. D_{pot} für Aquiferproben aus Großenkneten abgeleitet aus C_{org}

$$D_{pot} [mgN kg^{-1}] = 59.72 \cdot C_{org} [\%] + 5,0$$

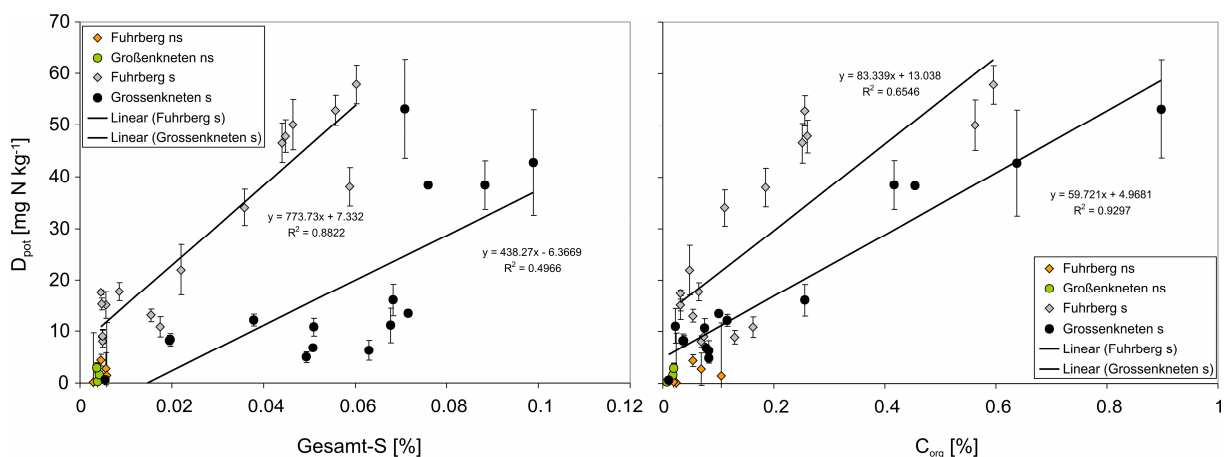


Abb. 6. Lineare Regression zwischen D_{pot} und C_{org} sowie Gesamt-S

Mit Hilfe von multiplen Regressionsanalysen lassen sich aus den untersuchten Sedimentparametern (Punkt 2.2 (c2)) Transferfunktionen für alle Teildatensätze (sulfidisch und nicht sulfidisches Material, Aquiferproben aus Großenkneten und Fuhrberg) bilden, die das Denitrifikationspotential der untersuchten Aquiferproben mit Korrelationskoeffizienten zwischen 0.86 und 0.97 sehr gut vorhersagen (Tab. 3).

Tab. 3. Multiple Regressionsanalysen zwischen D_{pot} und verschiedenen unabhängigen Parametern ($\log D_{pot}=C_1+C_2 \times \log(\% \text{ Sand})+C_3 \times \log(\% \text{ Schluff})+C_4 \times \log(\% C_{org})+C_5 \times \% \text{ Gesamt-S}+C_6 \times \text{mg SO}_4^{-2} \text{ kg}^{-1}+C_7 \times \text{mg C kg}^{-1}+C_8 \times \text{mg C kg}^{-1}+C_9 \times \log(\text{mmol KMnO}_4 \text{ kg}^{-1})$).

Datensatz	R^a	F^b	Regressionskoeffizienten								
			C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6	C_7	C_8	C_9
Auswahl I: Textur, Corg; Gesamt-S, extr. Sulfat, extr. DOC, C_{hws} und KMnO_4 -Verbrauch											
gesamt	0,94	26,9	0,288	0,452	0,065	0,204	0,119	-0,020	-0,066	0,003	0,379
Fuhrberg	0,91	8,1	0,362	0,238	-0,026	-0,005	0,305	-0,013	-0,114	0,017	0,526
Großenkneten	0,97	30,5	6,621	-3,086	-0,360	0,029	7,778	-0,020	-0,032	0,005	0,362
nicht sulfidisch	0,98	112,2	-180,339	90,331	0,107	-1,689	24,953	-0,008	-0,250	0,010	1,164
sulfidisch	0,86	8,1	-0,342	1,469	0,098	0,873	1,984	-0,015	-0,006	-0,003	-0,327
Auswahl II: Corg und Gesamt-S											
gesamt	0,76	26,9	1,768	*	*	0,833	2,944	*	*	*	*
Fuhrberg	0,68	09,9	1,152	*	*	0,424	15,415	*	*	*	*
Großenkneten	0,90	38,9	1,378	*	*	0,659	5,225	*	*	*	*
nicht sulfidisch	0,39	1,7	0,191	*	*	0,494	136,07	*	*	*	*
sulfidisch	0,69	14,7	1,780	*	*	0,551	-0,533	*	*	*	*

Regressionsmodelle wurden für verschiedene Teildatensätze berechnet. Die Teildatensätze wurden nach folgenden Kriterien gebildet: Lokalität (Fuhrberg und Großenkneten), sulfidisches und nicht sulfidisches Aquifermaterial. *: Variable im Regressionsmodell nicht enthalten.

^a Korrelationskoeffizient

^b F-Koeffizient

Für die Ableitung von D_{pot} aus $DI_{in\ situ}$ stehen insgesamt 34 Wertepaare zur Verfügung (Abb. 7). D_{pot} ist sowohl mit Werten für DI_{Labor} als auch $DI_{in\ situ}$ bis zu einem messbaren Denitrifikationspotential von maximal $150 \text{ mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ gut korreliert. Daher lassen sich nur aus dem Teildatensatz mit $D_{pot} < 150 \text{ mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ Transferfunktionen bilden. Für $D_{pot} > 150 \text{ mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ zeigen sowohl $DI_{in\ situ}$ als auch DI_{Labor} keinen linearen Zusammenhang mit steigenden D_{pot} Werten. Von den 11 untersuchten Aquiferkernen aus tieferen Bereichen mit $D_{pot} > 150 \text{ mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$ beider Aquifere lagen 10 sicher in Aquiferbereichen, in die noch nie NO_3^- eingetragen wurde. Wir vermuten, dass in diesen Aquiferbereichen trotz eines großen reaktives Stoffdepots (RSD) eine geringe Populationsdichte der Denitrifizierer die gemessenen Werte von DI_{Labor} und $DI_{in\ situ}$ limitiert hat. Das RSD lässt sich in diesen Bereichen mit unserer Methode offenbar nicht ohne weiteres anhand von DI bestimmen. Für künftige Studien schlagen wir vor, zu prüfen, ob durch eine Vorbehandlung des Messstellenbereichs mittels kontinuierlicher Injektion von Nitrat-haltigem Grundwasser eine ausreichende Denitrifiziererpulation aufgebaut werden kann, um dann nachfolgend wie in den flacheren Bereichen das RSD anhand von push-pull-Versuchen zu bestimmen.

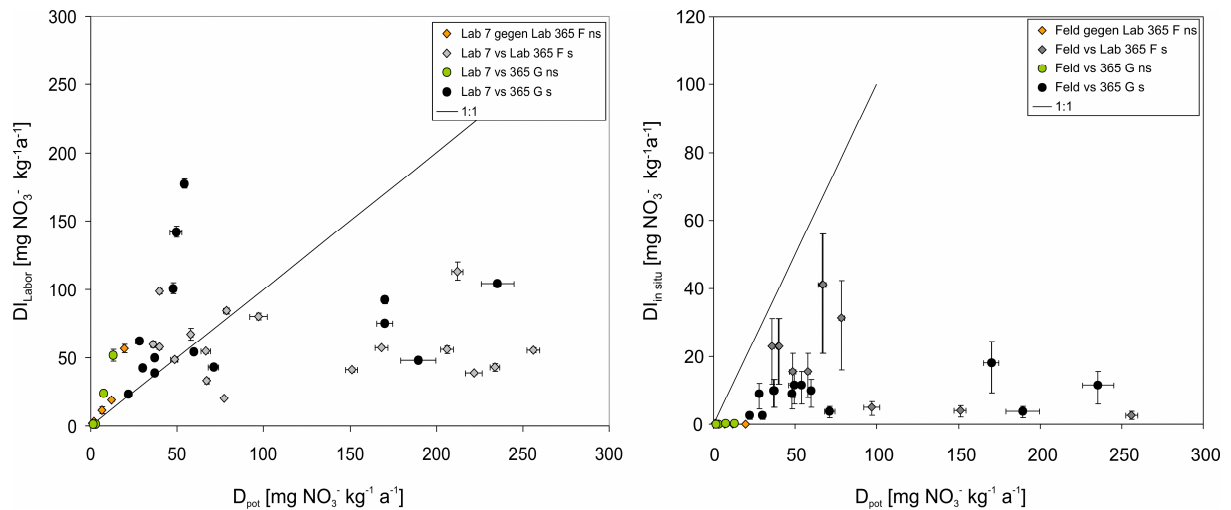


Abb. 7. Vergleich des aus DI_{Labor} und $DI_{\text{in situ}}$ abgeleiteten Denitrifikationspotential mit den zugehörigen Messwerten von D_{pot} nach einem Jahr anaerober Inkubation.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die untersuchten Sedimentparameter (Punkt 2.2 (c2)) sehr gut geeignet sind, dass messbare Denitrifikationspotential vorherzusagen. Für die Praxis der Wasserversorger ergibt sich hieraus, dass an vorhandenem Bohrgut anhand einfacher Sedimentparameter - insbesondere sind hier CNS-Messungen am Aquifermaterial zu nennen - das Denitrifikationspotential der erbohrten Aquiferbereiche abgeschätzt werden kann.

Messungen zum initialen Denitrifikationspotential im Labor als auch in situ waren im Rahmen der vorliegenden Untersuchung nicht in der Lage, dass Denitrifikationspotential tiefer Aquiferbereiche zufriedenstellend vorherzusagen zu können, hier besteht weiterhin Forschungsbedarf.

2.3 Über das Arbeitsprogramm des DBU-Projekt hinausgehende Arbeiten

Die über das Arbeitsprogramm des DBU-Projektes hinausgehenden Arbeiten waren größtenteils methodischer Art und zielten auf eine Vereinfachung des apparativen Aufwandes zur Messung der Denitrifikationsaktivität von Bodenproben bzw. Aquifermaterial mittels MIMS Messungen (siehe Punkt 2.3 (a)) ab. Auf theoretischer Ebene wurde ein neuer, einfach zu handhabender rekursiver mathematischer Ansatz zur Berechnung des Anteils des denitrifikations bürtigem N_2 in Gas- oder Wasserproben nach ^{15}N -Tracerapplikation abgeleitet (siehe Punkt 2.3 (b)). Diese methodischen Arbeiten geschahen vor dem Hintergrund dessen, dass trotz langjähriger Forschung im Bereich der Denitrifikation, diese ein schwer zu messender Prozess ist (Groffman *et al.*, 2006). Aus diesem Grund gibt es bis heute trotz vieler Studien zur Denitrifikation nur wenige Untersuchungsgebiete mit Messungen, die hinreichend sind zur Ableitung von Denitrifikationsraten auf Ökosystemebene (Groffman *et al.*, 2009), wie z.B. die Ableitung von Denitrifikationsraten in Aquiferen.

2.3 (a) Gewinnung zusätzlicher $DI_{\text{in situ}}$ Messpunkte in Großenkneten

Im Rahmen der Konzeption der Staffelmessstelle in Großenkneten (siehe Projektantrag S. 17) wurde mit dem OOWV vereinbart, dass für den Fall noch ausreichender Mittel aus dem Sacheigenanteil des OOWV der Bau einer Multilevelmessstelle geplant ist. Nach der Errichtung der Staffelmessstelle in Großenkneten wurden vom 27.04. bis 29.04.2009 im

Bereich der bestehenden Staffelmessstelle zwei zusätzliche Multilevelmessstellen vom Typ 3-Kanal-CMT-Rohr errichtet. Hiermit standen für den Standort Großenkneten 6 zusätzliche $DI_{in\ situ}$ Messpunkte zur Verfügung, insgesamt also 10 und damit 7 mehr als im Projektantrag vorgesehen.

2.3 (b) Entwicklung eines automatisierten Probenahmesystems für ^{15}N -Tracerversuche

Wie im vorangegangenen Zwischenbericht dargelegt, ist es ein Ziel dieses Projekts, die Methode zur Schätzung des reaktiven Stoffdepots in Aquiferen im Rahmen des beantragten Projekts soweit zu entwickeln, dass eine selbständige Durchführung der Methode in der Praxis der Wasserwirtschaft durch Wasserversorger oder Ingenieurbüros leichter möglich ist.

Um dies zu erreichen wurde ein Quadropol-Massenspektrometer mit Membraneinlass-System (MIMS) zur Messung von Gelöstgasen im Grundwasser von der Firma InProcess Bremen angeschafft. Dies ermöglicht es, den apparativen Aufwand zur Auswertung von ^{15}N -Tracereperimenten zu senken und die Methode unabhängiger von der Zuarbeit von Forschungsinstituten zu machen.

Nach den ersten Testmessungen mit dem im Labor aufgebauten MIMS-Messsystem wurde ein ^{15}N -Tracerversuch zur Messung der Denitrifikationsaktivität von Aquifermaterial im Labor mit einem selbst entwickelten automatischen Probenahmesystem erfolgreich durchgeführt (Eschenbach et al., 2011). Die automatisch mit dem MIMS-Messsystem gewonnenen Messwerte waren in sehr guter Übereinstimmung mit manuell genommenen Parallelproben, die im Kompetenzzentrum für Stabile Isotope in Göttingen mittels eines herkömmlichen Isotopenverhältnis-Massenspektrometers (IRMS) analysiert wurden. Die Ergebnisse dieses Versuchs zeigen, dass eine automatisierte Beprobung von ^{15}N -Tracerversuchen mit MIMS möglich ist.

2.3 (c) Ein neuer rekursiver mathematischer Ansatz zur Berechnung des Beitrags der Denitrifikation zu einer gegebenen N_2 -Mischung basierend auf der ^{15}N -Tracertechnik

Mulvaney (1984) gibt Formeln zur Bestimmung der Fraktion des aus der Denitrifikation stammenden ^{15}N markierten N_2 in einer Mischung mit atmosphärischem N_2 mit Hilfe der Messung des Verhältnisses $^{29}N_2$ zu $^{28}N_2$. Bei geringen Hintergrundkonzentrationen an atmosphärischem N_2 in Proben wie bei der Analyse von Wasserproben mit MIMS kann dieser mathematische Ansatz den Anteil des aus der Denitrifikation stammenden N_2 deutlich überschätzen (siehe Anhang 1).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein einfach zu handhabender rekursiver mathematischer Ansatz abgeleitet, der unabhängig vom Verhältnis von ^{15}N markiertem N_2 zu atmosphärischem N_2 den Anteil des aus der Denitrifikation stammenden markierten N_2 korrekt berechnet (Anhang 2). Dieser mathematische Ansatz ist für MIMS Messungen besser geeignet als der bisherige von Mulvaney (1984). Er kann aber ebenso zur Auswertung von IRMS Messungen verwandt werden und ist auch auf die Verhältnisse $^{30}N_2$ zu $^{28}N_2$ und $^{30}N_2$ zu $^{29}N_2$ anwendbar.

2.4 Publikationen und Berichte

Publikation in referierten Fachzeitschriften

Eingereicht:

Eschenbach, W. & Well, R., 2011: „*¹⁵N-nitrate tracer test with membrane-inlet mass spectrometry – a novel automated system for online measurement of denitrification in groundwater*”, Rapid Communications in Mass Spectrometry.

In Vorbereitung:

Eschenbach et. al.: Transfer functions from the amount of reactive phases to the denitrification capacity of aquifer material. (Punkte 2.2 (c2) bis 2.2 (c3))

Eschenbach et. al.: $DI_{in\ situ}$ measurements with MIMS and IRMS in comparison to DI_{Labor} (Punkte 2.2 (e) und 2.2 (d))

Eschenbach et. al.: A new recursive mathematical approach for calculating the contribution of denitrification for a given N_2 mixture based upon the ^{15}N tracer technique. (Punkt 2.3 (c))

Dissertationsschrift

Die Ergebnisse die sich aus diesem Projekt ergeben sollen im Rahmen einer kumulativen Dissertation veröffentlicht werden. Dazu ist vorgesehen, die Arbeitsergebnisse dieses Projektes in den zuvor genannten Manuskripten in Fachzeitschriften zu publizieren.

2.5 Dokumentation und Verbreitung der Projektergebnisse

(vgl. 7.5 (f) im Arbeitsprogramm des Antrags)

Es wird ein kurzer Leitfaden für Wasserversorger erstellt, der die Möglichkeit der Abschätzung des Denitrifikationspotentials von Aquiferbereichen mit Hilfe der im Projekt verwendeten Methoden in Grundzügen erläutert und Hinweise auf methodische Details in den Publikationen und der Dissertationsschrift enthält.

2.6 Beiträge zu Tagungen und Workshops

1. European Geosciences Union General Assembly, 19. bis 24. April 2009 in Wien: Development of a method for in situ measurement of denitrification in aquifers using ^{15}N tracer tests and membrane inlet mass spectrometry. (Vortrag)

2. Kurzworkshop für Nutzer des Massenspektrometers GAM200 mit Membraneinlass am 27. August 2009 in Bremen: Entwicklung einer Methode zur in situ Messung der Denitrifikation in Aquiferen unter Verwendung von ^{15}N -Tracertests und Membraneinlass-Massenspektroskopie. (Vortrag auf Einladung der Veranstalter)

3. Tagung der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft vom 5. bis 13. September 2009 in Bonn: Development of a method for in situ measurement of denitrification in aquifers using ^{15}N tracer tests and membrane inlet mass spectrometry. (Poster)

4. European Geosciences Union General Assembly vom 02. bis 07. Mai 2010 in Wien: Denitrification activity of aquifer material from two different sandy aquifers in northern Germany measured by laboratory incubation experiments in relation to influencing sediment parameters. (Poster)

5. DBG Workshop – Stabile Isotope in der Bodenkunde vom 27. bis 28. September 2010 in Göttingen: ^{15}N -Tracer Studien zur Denitrifikationsaktivität von Aquifermaterial zweier sandiger Grundwasserleiter in Norddeutschland – Inkubationsversuche in Relation zu beeinflussenden Sedimentparametern. (Vortrag)

6. Arbeitstreffen im Rahmen des DVGW F&E-Vorhabens "Konsequenzen nachlassenden Nitratabbauvermögens in Grundwasserleitern" am 16.11.2010 in Elze-Berkhof: ^{15}N -Tracer Studien zur Denitrifikationsaktivität von Aquifermaterial zweier sandiger Grundwasserleiter in Norddeutschland – Labormessungen und in situ Versuche. (Vortrag auf Einladung der Veranstalter)

2.7 Kooperationspartner und Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern

Folgende Kooperationspartnern waren bei der Bearbeitung des Projektes beteiligt bzw. es werden Publikationen mit ihnen erarbeitet (siehe Punkt 2.6):

Institution	Name	Bereich der Zusammenarbeit
Oldenburgisch-Ostfriesischer-Wasserverband (OOWV), Brake.	Dipl. - Geol. E. Harms, Dipl. - Geol. M. Penning	Bau $\text{DI}_{\text{in situ}}$ Messstellen Großenkneten, Grundwasserbeprobung
Ingenieurbüro Wasser.Fall., Hildesheim.	Prof. Dr.- Ing. W. Walther	Planung Messstellenbau, Beratung bei Feld- und Laborarbeiten
Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe, Hannover	Dr. W. Duijnsveld	N_2 -Exzess und $\text{DI}_{\text{in situ}}$ Messungen in Fuhrberg
Abteilung Agrarpedologie	Dr. C. Ahl, Dr. P. Gernandt	Laborversuche mit anaerober Inkubation von Aquifermaterial, GC- Messung von Gelöstgasen
Stadwerke Hannover AG.	W. Raue	logistische Unter- stützung bei $\text{DI}_{\text{in situ}}$ Messungen in Fuhrberg
Institut für Grundwasserwirtschaft der Technischen Universität Dresden.	Prof. Dr. R. Liedel, Dr. M. Dietze	Bereitstellung von Gerätschaften für Traceruntersuchungen

2.8 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Ziel war es, ein Verfahren zu entwickeln, bei dem über eine *in situ* - Messung der Denitrifikationsaktivität (initiale Denitrifikationsrate, DI) eine Abschätzung des langfristigen Nitratabbaupotentials (Denitrifikationspotential, D_{pot}) und der Menge an reaktivem Material (Gehalt an C_{org} und Sulfid) im Aquifer möglich ist.

Insgesamt wurde Material von 41 Aquiferkernproben aus 2 bis 67 m u. GOK aus den Trinkwassereinzugsgebieten Fuhrberg und Großenkneten untersucht und es wurde an insgesamt 192 Versuchsansätze das messbare Denitrifikationspotential bestimmt. Bei nur wenigen der untersuchten Aquiferproben kam es im Versuchsverlauf zur Erschöpfung des D_{pot} . Beide Aquifere unterscheiden sich hinsichtlich der Höhe ihres D_{pot} nicht signifikant voneinander. Signifikante Unterschiede bei allen untersuchten Sedimentparametern fanden

sich hingegen zwischen dem oberflächennahen, Sulfid-freien und dem tieferen, sulfidischen Aquifermaterial beider Grundwasserleiter. Die untersuchten Sedimentparameter eignen sich bereits gut, um das zu erwartende D_{pot} des untersuchten Aquifermaterials qualitativ einzuschätzen.

Maximal 5% des reaktiven Stoffdepots (RSD) der analysierten Aquiferproben war in der Standardvariante der Inkubationen innerhalb eines Jahres für die Denitrifikation verfügbar, bei der kontinuierlich geschüttelten Intensivvariante betrug dieser Wert hingegen bis zu 26%. Es ist daher davon auszugehen, das langfristig deutlich über 5% des RSD für die Denitrifikation der untersuchten Aquiferbereiche zur Verfügung stehen.

Von den analysierten Sedimentparametern zeigten vor allem C_{org} und Gesamt-S hochsignifikante Korrelationen mit dem Denitrifikationspotential. Allein diese Sedimentparameter konnten die in den Inkubationsversuchen gemessene Varianz des D_{pot} verschiedener Aquiferproben mit bis zu 90% erklären. Mittels multiplen linearen Regressionen war es möglich, hoch signifikante Transferfunktionen zwischen den untersuchten Sedimentparametern und D_{pot} zu bilden. Die Regressionskoeffizienten liegen hierbei zwischen 0.86 und 0.98.

$DI_{\text{in situ}}$ -Messungen wurden an 24 Messpunkten in Fuhrberg und Großenkneten durchgeführt.

DI_{Labor} und $DI_{\text{in situ}}$ zeigten nur für Proben bzw. Messstellenbereiche oberhalb der Nitratfront im Aquifer eine gute Korrelation mit D_{pot} . Wir vermuten, dass für die tieferen Messpunkte/Aquiferproben, die noch nie mit Nitrat in Kontakt kamen, trotz eines großen RSD die Population der Denitrifizierer einen limitierenden Faktor beim messbaren DI_{Labor} als auch $DI_{\text{in situ}}$ darstellt.

Für künftige $DI_{\text{in situ}}$ Messungen ist zu prüfen, ob durch eine Vorbehandlung der Messstellenbereiche mittels kontinuierlicher Injektion von Nitrat-haltigem Grundwasser eine ausreichende Denitrifiziererpopulation aufgebaut werden kann, um dann nachfolgend wie in den flacheren Bereichen das RSD anhand von push-pull-Versuchen zu bestimmen.

Es wurde weiterhin ein MIMS-Messsystem entwickelt, mit dem ^{15}N -Tracerversuche automatisiert beprobt und gemessen werden können. Dadurch wurde die Durchführbarkeit der Methodik vereinfacht, was die Umsetzung in die Praxis erleichtern wird.

Weiterhin wurde ein neuer rekursiver mathematischer Ansatz zur Berechnung des Beitrags der Denitrifikation zu einer gegebenen N_2 -Mischung basierend auf der ^{15}N -Tracertechnik hergeleitet. Dieser Ansatz ist besser für die Auswertung von ^{15}N -Messdaten geeignet als ein bisher verwendeter.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass das Ziel der Ermittlung von Transferfunktionen zur Prognose des im Laborversuch gemessenen Denitrifikationspotentials aus Sedimentparametern oder mittels Tracerversuchen im Gelände erfüllt wurde. Eine grobe Einteilung von Aquiferbereichen nach der minimaler Lebensdauer der Denitrifikation anhand von ^{15}N -Tracerversuchen ist damit grundsätzlich möglich. Allerdings bestehen weiterhin Unsicherheiten im Hinblick auf die Frage, welcher Anteil des reaktiven Stoffdepots langfristig, d.h über Jahrzehnte hinweg, für die Denitrifikation verfügbar ist. Eine weitere Unsicherheit besteht darin, dass in tieferen Aquiferbereichen, die von der Nitratfront bisher nicht erreicht wurden, die bisherige Form der Tracerversuche eine Unterschätzung des Denitrifikationspotentials ergibt. Es wurden methodische Fortschritte erzielt, die erstmals eine in-situ-Analytik bei ^{15}N -Tracerversuchen sowie eine verbesserte Datenauswertung erlauben und die somit für die Etablierung der vorgestellten Methode in der Praxis eine wichtige Voraussetzung darstellen.

Literatur

Beyer, W. (1961). Zur Bestimmung der Wasserdurchlässigkeit von Kiesen und Sanden aus der Kornverteilung. *Wasserwirtschaft - Wassertechnik (WWT)*, 165-169.

Eschenbach, W. & Well, R., 2011: ¹⁵N-nitrate tracer test with membrane-inlet mass spectrometry – a novel automated system for online measurement of denitrification in groundwater. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, submitted.

Groffman, P. M., Altabet, M. A., Bohlke, J. K., Butterbach-Bahl, K., David, M. B., Firestone, M. K., Giblin, A. E., Kana, T. M., Nielsen, L. P., & Voytek, M. A. (2006). Methods for measuring denitrification: Diverse approaches to a difficult problem. *Ecological Applications*, 16(6), 2091-2122.

Groffman, P. M., Davidson, E. A., & Seitzinger, S. (2009). New approaches to modeling denitrification. *Biogeochemistry*, 93(1-2), 1-5.

Konrad, C. (2007). Methoden zur Bestimmung des Umsatzes von Stickstoff für drei pleistozäne Grundwasserleiter Norddeutschlands. 161.

Konrad, C., Walther, W., Reimann, T., Rogge, A., Stengel, P., & Well, R. (2008). Comparison of hydraulic and chemical properties of sediments from flush- and core drillings in the area of Peine (North Germany). *Grundwasser*, 13(1), 42-49.

LAWA (1995): Bericht zur Grundwasserbeschaffenheit Nitrat – Stand 1995.- 104 S., Berlin (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser).

Mulvaney, R. L. (1984). Determination of N-15-labeled dinitrogen and nitrous oxide with triple-collector mass spectrometers. *Soil Science Society of America Journal*, 48(3), 690-692.

von der Heide, C., Bottcher, J., Deurer, M., Duijnsveld, W. H. M., Weymann, D., & Well, R. (2010). Spatial and temporal variability of N₂O in the surface groundwater: a detailed analysis from a sandy aquifer in northern Germany. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 87(1), 33-47.

Walther, W.; Mioduszewski, W.; Diankov, Z.; Querner, E.; Pätsch, M.; Fic, M.; Velkovsky, G.; Reinstorf, F.; Marinov, D.; Weller, D.; Slesicka, A.; Radoslavov, S., Nitcheva, O.; Roelsma, J., (2002): Development of tools needed for an impact analysis for groundwater quality due to changing of agricultural soil use. *Final report, project inco – Copernicus, Contract number : IC15-CT98-0131.*

Walther, W. Konrad, Ch., Reimann, T., Well, R. Marre, D. Geyer, D.; (2005a): Untersuchungen zum N-Umsatz im Wassergewinnungsgebiet Wehnsen. *Endbericht im Auftrag des Wasserverandes Peine und der Bezirksregierung Braunschweig.* Institut für Grundwasserwirtschaft, TU Dresden, unveröffentlicht.

Walther, W. , Konrad, Ch., Well, R., Marre, D., 2005b: Bewertung des Nitratabbau- und Sorptionsverhaltens im Grundwasser des Wassergewinnungsgebietes Sulingen, Abschlussbericht im Auftrag des Wasserverbandes Sulingen Land und des Landes Niedersachsen, Institut für Grundwasserwirtschaft, TU Dresden, unveröffentlicht.

Well, R., & Myrold, D. D. (1999). Laboratory evaluation of a new method for in situ measurement of denitrification in water-saturated soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 31(8), 1109-1119.

Well, R., Augustin, J., Meyer, K., & Myrold, D. D. (2003). Comparison of field and laboratory measurement of denitrification and N₂O production in the saturated zone of hydromorphic soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 35(6), 783-799.

Weymann, D., Geistlinger, H., Well, R., von der Heide, C., & Flessa, H. (2010). Kinetics of N₂O production and reduction in a nitrate-contaminated aquifer inferred from laboratory incubation experiments. *Biogeosciences*, 7(6), 1953-1972.

Anhang 1

¹⁵N-nitrate tracer test with membrane-inlet mass spectrometry – a novel automated system for online measurement of denitrification in groundwater

Abstract

Easy methods for the measurement of denitrification rates are important for predicting and managing N-flows within agricultural catchments and aquifers, since such systems show a high spatial variability of denitrification. Therefore we present an automated measuring system for ¹⁵N-nitrate “push pull” tracer tests by a combination of an automated sampling device with membrane inlet mass spectroscopy (MIMS) for the online measurement of ¹⁵N labeled gaseous denitrification products.

In this study we measured the labeled denitrification gases evolved from ¹⁵N-nitrate tracer. During the 7 day tracer test pore water samples from the incubated aquifer slurries were automatically sampled and online measured with the MIMS system. The aquifer material originated from the two process zones of heterotrophic and autotrophic denitrification present within the Fuhrberger Feld aquifer in northern Germany. The measured denitrification rates were 55 and 360 $\mu\text{g N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ for the heterotrophic and autotrophic material, respectively.

We compared the online measured MIMS data with established isotope analysis by IRMS and found that our new method yielded accurate results of produced ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) within a range of 10 to 3300 $\mu\text{g N L}^{-1}$. We compared 3 different mathematical approaches (the isotope pairing method, formulas given by Spott & Stange^[1] and the approach of Mulvaney^[2]) for their suitability for the analysis of MIMS raw data under the condition of ¹⁵N-tracer tests. The 3 approaches were in good agreement except for the approach of Mulvaney^[2], which overestimated concentrations of evolved labeled ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) in case of large ratios of labeled denitrification products to natural background ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$).

Introduction

Denitrification as the process to turn bioavailable fixed nitrogen into nitrous oxide and dinitrogen (N_2) is important to primary production, water quality and chemistry at landscape, regional and global scales^[3]. Nitrate loading of near-surface ground water^[4, 5] or riparian zones^[6-8] is a well known problem for the quality of water resources and, with respect to the rising need of agricultural products world wide, even an increasing one. Due to the input of fertilizer-N, agricultural fields have the largest potential for emissions of reactive nitrogen to the environment, but also for an effective management to reduce emissions to aquifers or riparian systems^[9]. Inputs of reactive N to ecosystems such as aquifers or riparian systems can be minimized by fertilizer management, i.e. by matching application rates with plant demand or integrated plant nutrition systems^[10]. However, identification of sites with low or high denitrification potential is a prerequisite to mitigate export of reactive N effectively. Aquifers show a high spatial variability of denitrification in groundwater, which ranges from 0 to 100% of the N-input, mainly depending on the amount and microbial availability of reduced minerals or organic C in the aquifer, capable to support denitrification^[9]. Therefore, information about the denitrification rates within aquifers is important for predicting and managing N-flows within agricultural catchments.

To measure denitrification rates in the saturated zone, there are three basic approaches. One is the indirect derivation of denitrification rates from gradients and mass balances of nitrate, sulfate and other redox relevant species^[5, 11]. It is difficult and laborious to obtain quantitative estimates of denitrification rates with this method due to spatial and temporal heterogeneity of these chemical parameters within aquifers and the difficulty to determine groundwater flow paths and groundwater residence times. Another method to attain denitrification rates are laboratory incubation studies either with undisturbed or disturbed material^[12-15]. Those incubations were either conducted with the ^{15}N tracer technique or the acetylene inhibition method. Laboratory incubations offer the opportunity for precise measurements of denitrification, but their transferability to in situ conditions are still under debate^[15]. Another disadvantage is that sampling of deeper aquifer material is difficult and highly expensive.

A third method is the in situ measurement of denitrification by single-well push-pull tests. This technique was first applied by Trudell et al.^[16] and consists of a rapid injection of test solution at an existing well (“push phase”) and a longer period of recovery of the injected solution (“pull phase”). This method was successfully applied in a variety of studies^[16-20], where denitrification rates were indirectly estimated from the disappearance of nitrate in

relation to conservative tracers. Because this approach requires the consumption of significant fractions of the injected nitrate within the experimental period, it is only suitable for detecting relatively large denitrification rates. A method for direct determination of gaseous denitrification products and thus higher sensitivity has been first tested in a laboratory set-up by Well & Myrold^[21]. In situ push pull tests with direct measurement of gaseous denitrification products have been used only in a limited number of studies^[7, 8, 22-26], which is in part due to the necessary effort for gastight collection of water samples, and the laborious analysis of dissolved gases in the laboratory using gas chromatography or mass spectrometry. Single well push pull tests can be conducted with most types of groundwater monitoring wells^[27]. Networks of these wells are often available in catchments and could thus be used for spatial mapping of denitrification using push-pull tests.

Here we present a new approach for an automated in situ-measurement of gaseous denitrification products at monitoring wells using a combination of ¹⁵N-tracer push-pull experiments with in situ analysis of ¹⁵N-labeled N₂ and N₂O using membrane inlet mass spectrometry (MIMS). This approach should enhance the applicability of in situ as well as laboratory measurements of denitrification and denitrification rates and thus facilitate the determination of the spatial heterogeneity of denitrification rates.

The objectives of this study are (i) to develop an automated measuring system for push pull tests with ¹⁵N-nitrate tracer solution by a combination of an automated sampling device with membrane inlet mass spectroscopy (MIMS), (ii) to test the performance and accuracy of this system during a laboratory ¹⁵N-tracer experiment, and (iii) to examine the suitability of three different methods for calculating denitrification rates from MIMS raw data.

Materials and methods

Study site and sampling procedures

The Fuhrberger Feld aquifer (FFA) is a drinking water catchment area in northern Germany, about 30 km NE of Hannover, consisting of carbonate free, highly permeable Quaternary sands of 20 to 40 m thickness. The unconfined aquifer contains unevenly distributed amounts of microbial available sulphides and organic carbon. An intense agricultural use leads to considerable nitrate inputs to the groundwater. Detailed information about the FFA is given by Strebel^[28], Frind^[11] and von der Heide^[29].

Evidence of an intense ongoing denitrification within this aquifer is given by nitrate and redox gradients^[30] as well as excess-N₂ measurements^[31]. Two different denitrification zones are

present in this aquifer, the zone of heterotrophic denitrification near the groundwater surface with Corg as electron donor and a deeper zone of predominantly autotrophic denitrification with pyrite as electron donor^[29, 30, 32].

The aquifer material used in this ¹⁵N tracer study originates from two depths of the FFA 3 and 7 m below surface, about 30 m south of a measuring field plot used by Weymann et al.^[33]. The aquifer material was collected in March 2009 with a hand-operated bailer boring auger set (EIJKELKAMP, Giesbeek, The Netherlands) which consisted of a stainless steel bailer, casing tubes (OD of 10 cm) and a tube clamp. The aquifer material was extracted from 3 m and 7 m below soil surface out of the heterotrophic and autotrophic denitrification zone with non-sulfidic and sulfidic material, respectively. From each depth, approximately 50 L sediment were collected. The extracted aquifer material was directly transferred from the bailer into 16-L plastic buckets. The buckets were filled until the supernatant groundwater overflowed and then closed airtight. The aquifer material was stored for 5 days at 10°C, which is approximately the mean groundwater temperature in the FFA.

Experimental setup

Incubation of aquifer mesocosms

The tracer solution used in this experiment was prepared in 10-L glass bottles by dissolving K¹⁵NO₃ (60 at% ¹⁵N) in deionized water. Since the tracer-solution would be mixed with the pore water of the aquifer sediments, the K¹⁵NO₃ concentration of the solution was adjusted. The resulting mixture of tracer solution and pore water in the mesocosms should have 10 mg N L⁻¹. The extracted sediment material from 3 and 7 m depth of the FFA was separately and carefully transferred from the buckets into two 60 L PVC vessels, one for each depth level. Previously to the sediment each of the two vessels was filled with 30 L of the ¹⁵N tracer solution. The water saturated sediment material was homogenized within the vessels and thereby sediment, pore water and the tracer solution were mixed simultaneously. For each of the two depth levels the mix of sediment material and tracer solution was transferred into 3 20-L PVC buckets in the same way. First, approximately 5 L of the tracer solution of the corresponding 60 L vessel was filled in the 3 20 L buckets and then the water saturated sediments were slowly filled into the buckets whereby the sediment material was always covered with the supernatant mix of pore water and tracer solution in these buckets. The pore structure of the transferred sediments was disturbed by shaking in order to release any trapped air within the sediments. Subsequently, 4 L of the tracer solution from the original 60 L vessel

was filled in each of the 3 mesocosms until the final tracer solution level in each mesocosm was 4 cm above the sediment surface. The total amount of tracer solution in each mesocosm was estimated 9 L which results from the supernatant (4 L) and the volume of pore water (4.5 L) which was estimated assuming a porosity of 0.35^[34]. Filter elements were installed 10 cm above the bottom of the mesocosms. The filter elements consisted of a PE tubing (6 mm i.d.) with a 7 µm mesh at the bottom of the tubing. The filter elements were connected with Tygon® tubing (1.6 mm ID and 4.8 mm OD.) to solenoid valves of the automated measuring system as described below.

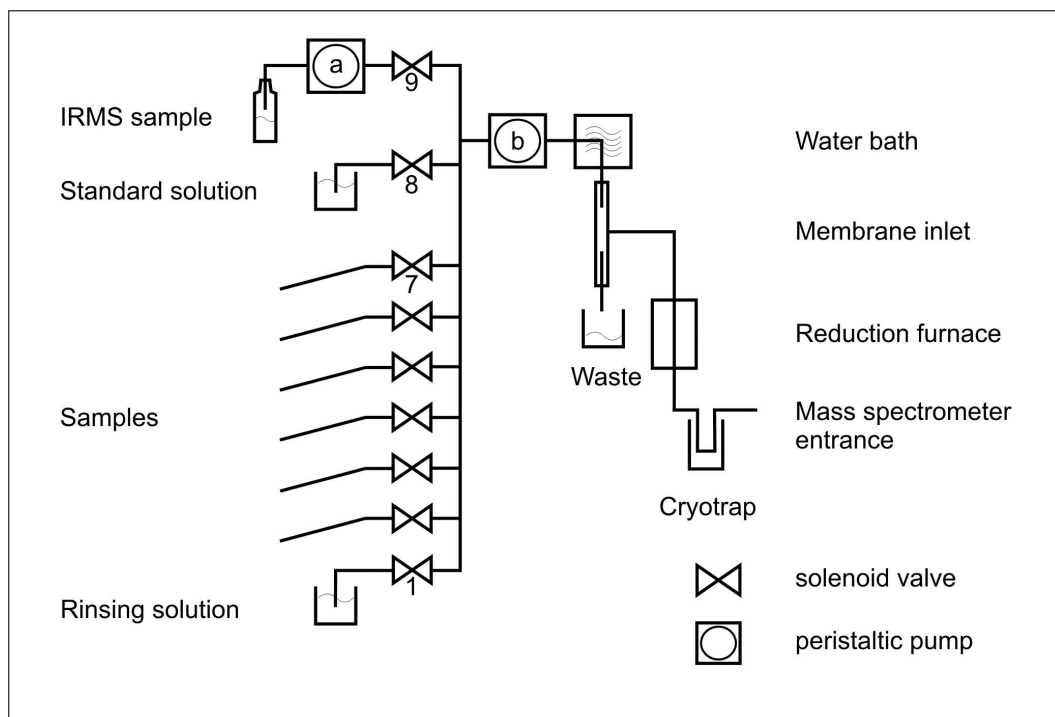


Fig. 1. Setup of the automated measuring device consisting of membrane-inlet mass spectrometer (MIMS) and a sampling system.

Mesocosms were incubated for 7 days at room temperature (approx. 20°C). Online-analysis of dissolved gases was conducted automatically at 4-hour intervals. Water samples were collected 2 to 4 times a day for reference measurements of dissolved gases using off-line gas analysis.

Automated measuring system

For sampling and dissolved gas analysis of pore water we used a system consisting of peristaltic pumps and valves connected to the analyzer. We used a quadrupole mass spectrometer (GAM 200, InProcess, Bremen, Germany) with a mass range of 1 - 100. The gas pressure in the ion source was below 5×10^{-7} mbar during sampling. Data acquisition was performed by IPI QuadStar 32-bit software (Inficon AG, Balzers, Lichtenstein).

The automated sampling unit (Fig. 1) consisted of a set of nine PC-controlled solenoid valves (Bürkert, Typ 6012, Ingelfingen, Germany). On the sample side, the valves were connected via tygon tubing to a glass vessel containing the standard water, to the probes (or connected mesocosms) and the rinsing solution. On the analyzer side, the valves were connected with each other to form the sampling line. At the end of the sampling line a peristaltic pump (pump a) (ISMATEC, BVP-Standard, Wertheim-Mondfeld, Germany) transferred most of the sample solution from the vessels and through the sampling line to a permanent outlet leading either to a waste container or to a sampling vial to store samples for further analysis (Fig. 1). A small part of the sampled solution was pumped through a T-connection by a second peristaltic pump (Pump b) (Gilson Model 312, Villiers-le-Bel, France) which was conducted via stainless steel tubing to the membrane inlet of the analyzer. The membrane inlet and tubing were placed within a cryostatic water bath (Thermo Haake, HAAKE G, Karlsruhe, Germany) to ensure constant sample temperature while passing the membrane inlet. The water bath contained also a flask with the standard water. The membrane inlet consisted of a 4 cm long part of silicon tubing (Silastic Dupont, 0.3 mm i.d. and 0.15 mm wall thickness) connected to in and out flowing stainless steel capillaries. The silicone tubing was placed within a glass tube that was directly connected with the analyzer through a T-connection. The sample solution flowed inside the tubing, whereas its outside was exposed to the high vacuum of the mass spectrometer. A reduction furnace consisting of stainless steel tubing (250 mm long, 4 mm ID) filled with elemental copper and a cryotrap with liquid nitrogen were placed in the vacuum line prior to the mass spectrometer entrance to reduce N_2O to N_2 and to remove water vapor and CO_2 .

One measuring cycle with this instrumentation consisted of the following software controlled steps. First, the rinsing solution was pumped through the sampling line of the measuring unit and the membrane inlet by pumps a and b. In this start configuration of the system only the solenoid valves 1 and 9 were open. Then the flow through the membrane inlet was stopped (pump b off) and the mass spectrometer recorded the underground signals for the selected

masses. Subsequently, pump b was switched on and the magnetic valves 1 and 9 were closed and valve 8 was opened to conduct the standard solution to membrane inlet for 15 minutes. After that valve 8 was closed and the valves 2 and 9 were opened for 15 minutes to sample and analyze the first sample vessel (vessel 2). Finally, valve 2 was closed and by opening valve 1 the system was rinsed for 2 minutes (vessel 1). Vessels 3 to 8 were sampled and analyzed in the same way. After the measurement of all samples, the standard and the mass spectrometer underground were measured again. Finally, the sampling system was rinsed for 90 minutes. Afterwards the whole measuring process started again with the measurement of the mass spectrometer underground and the standard solution as already described above. The suction rates of pumps a and b were 10 and 0.7 ml min⁻¹, respectively. The duration of each sampling cycle for the 8 vessels was 240 minutes inclusive 90 minutes rinsing.

Sampling for offline analysis

Control samples for off-line gas analysis were collected manually from the outlet of the sampling line (Fig. 1) by placing the end of the tygon tubing of the sampling line to the bottom of 26 mL serum bottles. After an overflow of at least three times the volume of these bottles, the tubing was removed and the bottles were immediately sealed with grey butyl rubber septa (ALTMANN, Holzkirchen Germany) and aluminum crimp caps. Afterwards the samples were adjusted to 25°C in a temperature controlled room and a headspace was generated within the serum bottles by injection of 15 mL of ambient air, replacing the same volume of sample solution. Afterwards the vials were agitated for 3 h on a horizontal shaker by constant temperature (25°C) to equilibrate the dissolved gases with the headspace gas. 13 mL of the headspace gas were finally transferred to an evacuated 12 mL Exetainer® (Labco, High Wycombe, U.K.) with a plastic syringe. The nitrogen gases in the Exetainers were then a mixture of atmospheric (N₂+N₂O) and labeled ¹⁵(N₂+N₂O).

Off-line gas analysis

The ¹⁵N analysis of (N₂+N₂O) was carried out by a gas chromatograph (GC) coupled to a isotope ratio mass spectrometer (IRMS) at the Centre for Stable Isotope Research and Analysis in Göttingen, Germany within two weeks, following the method described in Well et al.^[24]. N₂O was measured using a gas chromatograph (Fisons GC 8000, Milan Italy) equipped with a split-injector and an electronic capture detector and a HP-Plot Q column (50 m length × 0.32 mm ID; Agilent Technologies, Santa Clara, USA) kept at 38°C. The concentrations of

denitrified N_2 and N_2O in the gas samples were calculated in the same way as described by Well & Myrold^[21] and Well et al.^[24]. The background concentration in the added atmospheric air was taken into account when calculating N_2O production. From the obtained molar concentrations in the headspace the dissolved N_2 and N_2O concentrations were calculated according to Henry's law using the Henry constants for N_2 and N_2O at 25°C, taking into account temperature, headspace pressure and the liquid-to-headspace volume ratio. For the calculation of the dissolved gas concentrations the solubilities given by Weiss^[35] and Weiss & Price^[36] were used.

On-line analysis of dissolved gasses with the MIMS system

We used the MIMS measuring system to analyze concentrations of N_2 , O_2 and Ar, and the isotopic signatures of (N_2+N_2O). The MIMS was calibrated against air-equilibrated water of known salinity, which was maintained at a constant temperature. Because concentrations of dissolved gases in air-equilibrated water depend also on the partial pressures of the individual gases in the air, the barometric pressure was recorded during the measurements^[37]. The masses 28, 29, 30, 32, 40 and 44 ($^{28}N_2$, $^{29}N_2$, $^{30}N_2$, O_2 , Ar and CO_2) were recorded and the dissolved concentrations of Ar and the nitrogen isotopes were calculated following the same protocol as described by An et al.^[38].

With regard to the measurement of the major atmospheric gases with membrane inlet mass spectrometry, the dependence between signal intensity and dissolved gas concentration in a sample is linear for a wide range of dissolved gas concentrations^[37, 39, 40]. We confirmed this for our quadrupole mass spectrometer which is linear for the range of dissolved gas concentrations of Ar and N_2 as measured during this experiment (10 to 900 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

$^{30}N_2$ was calibrated using the $^{28}N_2$ (m/z 28) signal and the instrumental response factor as proposed by Jensen et al.^[41]. Direct calibration of $^{30}N_2$ with air equilibrated was not possible because of the small fraction of $^{30}N_2$ in atmospheric N_2 and thus a high background-to-sample ratio on mass 30. The background signal of m/z 30 can be affected by formation of $[NO]^+$ in the ion source if O_2 is present. O_2 was removed in the reduction furnace within the vacuum line of our measuring system. We recorded the m/z 32 to measure the O_2 background within the mass spectrometer to check potential $[NO]^+$ formation and found it to be always low ($>5E-11$ mV). The instrumental response factors for N_2 isotopologues was derived according to Jensen et al.^[41].

The signal on mass 44 was measured because CO^+ , a possible fragment of CO_2 within the ion source, can interfere on mass 28. The m/z 44 was below $4\text{E-}11$ mV (i.e. 0.04% of the signal on mass 28) showing that the liquid nitrogen trap prior to the entrance of the mass spectrometer effectively trapped CO_2 .

N_2O was not analyzed individually, since we used a reduction furnace to reduce N_2O to N_2 prior to the mass spectrometer entrance. N_2 isotopologues were thus measured by detection of ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$).

Recovery of added N_2O in standard samples

To calibrate the MIMS for N_2O we tested if the sum of both nitrogen species could be measured simultaneously for different ratios of dissolved N_2 to dissolved N_2O . Air equilibrated deionized water with a known concentration of dissolved natural N_2 was filled in 118 ml serum bottles and immediately sealed with grey butyl rubber septa (ALTMANN, Holzkirchen, Germany) and aluminum crimp caps. Then the samples were adjusted to 25°C in a temperature controlled room and a headspace was generated within the serum bottles by injection of 40 mL of pure N_2 spiked with different amounts of N_2O , replacing the same volume of sample solution. Afterwards the serum bottles were agitated for 3 h on a horizontal shaker by constant temperature (25°C) to equilibrate the dissolved gases with the headspace gas. After measuring the headspace gas pressure with a pressure sensor (GDH 13 AN, Greisinger electronic GmbH, Regenstauf, Germany) the bottles were opened and immediately analyzed. Two experiments with varying levels of N_2O application were conducted on different days. After the reduction of nitrous oxide to dinitrogen in the reduction furnace, the sum of dissolved N_2 and N_2O was detected as N_2 with the MIMS system. The expected concentrations of N_2 and N_2O dissolved in the measured samples were calculated according to Henry's Law with respect to the known concentrations of N_2 in the water standards prior to headspace generation, the solubility constants of N_2 and N_2O , the concentration of N_2 and N_2O in the injected gas as well as the headspace pressure and the equilibration temperature.

Calculations

¹⁵N abundance in nitrate

The ¹⁵N abundance in the denitrified nitrate was calculated from N₂ isotopologues as follows^[41]:

$$X = \frac{100}{1 + \frac{\Delta N_2^{29}}{2f_{30} \Delta N_2^{30}}} \quad (1)$$

where X is the ¹⁵N fraction in the denitrified nitrate, assuming random pairing of nitrate -¹⁴N and -¹⁵N to form the dinitrogen isotopologues, $\Delta^{29}\text{N}_2$ and $\Delta^{30}\text{N}_2$ are the measured increases on mass 29 and 30 and f_{30} is the instrumental response factor for mass 30 in relation to mass 29^[41].

To check the plausibility of X, the nitrate concentrations in the tracer solution before mixing with the pore water of the incubated sediments (t_0) and after mixing (t_1) were measured to calculate the dilution of the tracer by non-labeled pore water nitrate.

Mathematical approaches for labeled dinitrogen gases

One objective of this work was to compare three different mathematical approaches for the calculation of concentration values of labeled dinitrogen gases from the measured isotope data, with respect to possible biases and their suitability for push pull tracer tests.

The isotope pairing method (IPM) was developed by Nielsen^[42] and was since then successfully applied in a multitude of ¹⁵N-tracer studies mostly in flow through experiments with estuarine and marine sediments and a supernatant water phase^[43-45].

The IPM calculates the concentration of denitrification gases from the recorded increases on the masses 28, 29 and 30 ($\Delta^{29}\text{N}_2$ and $\Delta^{30}\text{N}_2$ respectively) during a tracer experiment under the assumption that only denitrification contributes to the change in the isotope composition of the measured gaseous nitrogen in the sample. Nielsen^[42] provides no formulas for the direct calculation of the ¹⁵N enrichment of the nitrate pool undergoing denitrification (X) from N₂ isotopologues. But X can be analyzed directly in the nitrate after reduction to N₂ or be calculated with eq. 1.

The concentration of labeled denitrification gases $^{15}(\text{N}_2+\text{N}_2\text{O})$ based on the denitrification of $^{14}\text{NO}_3^-$ and $^{15}\text{NO}_3^-$ (B_{c14} and B_{c15} respectively) is:

$$B_{c15} = \Delta^{29}\text{N}_2 + 2\Delta^{30}\text{N}_2 \quad (2)$$

$$B_{c14} = B_{c15} \times \frac{(1-X)}{X} \quad (3)$$

where $\Delta^{29}\text{N}_2$ and $\Delta^{30}\text{N}_2$ correspond to the measured increases on mass 29 and 30. This formulation of B_{c14} implies that the added ^{15}N enriched nitrate and possible background nitrate in the tracer solution is well mixed and that the evolved $^{28}\text{N}_2$, $^{29}\text{N}_2$ and $^{30}\text{N}_2$ follow a binomial distribution, i.e. ^{14}N and ^{15}N is randomly paired. The sum of B_{c14} and B_{c15} is the total denitrification B_c .

$$B_c = B_{c14} + B_{c15} \quad (4)$$

The approach of Nielsen^[42] assumes constancy of X and constancy of the concentration of non-labeled background N_2 during the analyzed time interval which is generally fulfilled in flow through experiments. But during push pull experiments this assumption is not necessarily valid, since X might change due to mixing of the tracer solution with ambient water and degassing processes within the pore water of the aquifer can cause a decrease in background N_2 . Since this approach calculates not the fraction of ^{15}N labeled denitrification gases evolved from the nitrate pool in an analyzed mixture it needs two sample measurements to calculate the increase of denitrification gases formed during the investigated time interval^[43, 46] or to subtract a measured standard with the same amount of N_2 from the measured sample^[42].

To study N_2 flux from soil, Mulvaney^[2] derived an equation for the calculation of the fraction (d) of tracer-derived labeled N_2 within a mixture of soil-emitted and atmospheric background N_2 , which is defined as $d = B_c / (A_c + B_c)$, where B_c is the concentration of $(\text{N}_2+\text{N}_2\text{O})$ evolved from a labeled $[\text{NO}_3^-]$ pool and A_c is the concentration of atmospheric N_2 . During incubation of unsaturated soil, the amount of background N_2 is typically large since gaseous denitrification products are usually accumulated within an air filled enclosure and the soil pore space partially filled with air. On condition that (i) the fraction of ^{15}N in the denitrified $[\text{NO}_3^-]$ (X) is known, (ii) denitrification is the sole gaseous nitrogen forming process and (iii) the amount of dinitrogen evolved from the labeled $[\text{NO}_3^-]$ pool is small in comparison to the atmospheric N_2 in the sample, d can be determined by measuring $^{29}\text{N}_2/^{28}\text{N}_2$ ratios (r),

$$d = \frac{(r_{sa} - r_{st})}{2X(1-X)} \quad (5)$$

where r_{sa} and r_{st} are the measured $^{29}\text{N}_2/^{28}\text{N}_2$ ratios in the sample and standard respectively. The concentration of denitrified ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) (B_c) is then the product of d and the concentration of ($\text{N}_2 +\text{N}_2\text{O}$) (B_c) evolved from denitrification and natural background ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) (A_c) in the sample ($D_c=A_c+B_c$).

$$B_c = D_c \times d \quad (6)$$

The calculations given by Mulvaney^[2] require a very small ratio of labeled denitrification products to natural background ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$), i.e. the molar fraction of tracer derived N_2 has to be negligible within the N_2 mixture. This prerequisite must not necessarily be fulfilled in the direct measurement of dissolved denitrification products in liquid samples because the background of dissolved atmospheric N_2 is small compared to an air-filled enclosure.

Spott & Stange^[1] derived new mathematical approaches for calculating the amount of ^{15}N tracer derived N_2 in a mixture of atmospheric dinitrogen with respect to possible contributions of several processes to the N_2 mixture in a sample. We used their simplified approach where calculation of the mole fraction of denitrified N_2 within the gaseous nitrogen mixture is based on the assumption that $[\text{NO}_2]^-$ originates exclusively from the labeled $[\text{NO}_3]^-$ pool, i.e there is no formation of non-labeled $[\text{NO}_2]^-$ e.g. by nitrification. This assumption is appropriate as nitrification is very likely negligible in the $[\text{NH}_4]^+$ free aquifer material and denitrification was shown to be the dominating microbial process in the FFA^[30].

Evolved ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) can then be calculated as follows:

$$\alpha_{29} = \frac{^{29}\text{N}_2}{(^{28}\text{N}_2 + ^{29}\text{N}_2 + ^{30}\text{N}_2)} \quad (7)$$

$$\alpha_{30} = \frac{^{30}\text{N}_2}{(^{28}\text{N}_2 + ^{29}\text{N}_2 + ^{30}\text{N}_2)} \quad (8)$$

$$B = \frac{X^a (X^a - \alpha_{29}) + \alpha_{30} (1 - 2X^a)}{(X^a - X^b)^2} \quad (9)$$

where α_{29} and α_{30} are the mole fractions of $^{29}\text{N}_2$ and $^{30}\text{N}_2$ within the measured N_2 mixture and X^a , X^b are the ^{15}N abundances in atmospheric N_2 and denitrified $[\text{NO}_3]^-$ and B is the fraction of ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) evolved from the labeled denitrified $[\text{NO}_3]^-$.

The advantage of this mathematical approach in comparison to Mulvaney^[2] and Nielsen^[42] is that only one measurement is needed to calculate the fraction B in the analyzed sample and equations are valid for any ratio between pool-derived and atmospheric N_2 .

Precision and limit of detection

To compare the instrumental precision of on-line and off-line analysis, the instrumental precision as coefficients of variation (CV) for d and B was calculated by Gaussian error propagation using the partial derivatives of Eq. (5) and (6). The detection limit was calculated as the minimum amount of labeled B_c in a given background of natural (N₂+N₂O) necessary to increase the measured ²⁹N₂/²⁸N₂ ratio to fulfill the following equation:

$$r_{sa} - r_{st} \geq 3 \times s.d.r_{st} \quad (10)$$

where r_{sa} and r_{st} are the ²⁹N₂/²⁸N₂ ratios in sample and standard, respectively and s.d.r_{st} is the standard deviation of repeated r_{st} measurements.

Under the experimental conditions, the detection limit for the amount of produced B_c (Eq. 6) with online and offline analysis was 1.5 and 2.5 μg N L⁻¹ respectively (Table 3). Although the precision of the ²⁹N₂/²⁸N₂ ratio measurement with IRMS was almost 7 times better than with MIMS, the detection limit for B_c was slightly better with the MIMS measurement because the background of natural N₂ in the sample (A_c) is much smaller compared to the IRMS procedure with a large N₂ background in the generated air headspace in the sample vials.

Results

Recovery of added N₂O in standard samples

For (N₂+N₂O) analysis of all standard mixtures the coefficients of variation (CV) between triplicate replicates were <0.8%. The measured sum of N₂ and N₂O increased linearly over a wide range of dissolved (N₂+N₂O) concentrations (579 to 858 μmol (N₂+N₂O) L⁻¹), with linear regressions coefficients (R²) between expected and measured values of 0.994 to 0.999. The recovery of added N₂O from the measured (N₂+N₂O) standards ranged between 70 and 120% (Table 1). Recoveries were best (95 to 98%) for the highest level of N₂O amendment of each experiment. The deviation between measured and theoretical concentrations sums of (N₂+N₂O) was always in the range of -4 and 6% deviation from the expected concentration.

Table 1. Recovery of dissolved N₂ and N₂O in defined standard mixtures by MIMS analysis. Measured concentrations ((N₂+N₂O)_(m), N₂O_(m)) were compared to expected data ((N₂+N₂O)_(ex), N₂O_(ex), N₂O_(m) was determined indirectly from the difference in the measured N₂ signal and the calculated N₂ and N₂O concentrations. The percent deviation between the measured mean of 3 replicates and the expected value was calculated as (mean – expected)/ expected × 100.

Experiment	(N ₂ +N ₂ O) _(ex)	(N ₂ +N ₂ O) _(m)	Deviation	N ₂ O _(ex)	N ₂ O _(m)	Recovery of N ₂ O	N ₂ O/N ₂
	[μmol L ⁻¹]		[%]	[μmol L ⁻¹]		[%]	
1	627.39	639.54	1.9	55.28	67.42	121.9	0.097
	675.27	672.93	-0.3	105.98	103.64	97.8	0.186
2	613.45	629.00	2.5	51.85	67.40	129.9	0.092
	662.24	672.72	1.6	103.40	113.88	110.1	0.185
	858.64	841.70	-2.0	310.85	293.91	94.6	0.567

Initial conditions of the sediment material and the tracer solution

The nitrate concentrations of the tracer solution after mixing with the sediment pore water were 19.4 ±0.29 and 12 ±0.43 mg N L⁻¹ in the non-sulfidic and sulfidic mesocosms respectively. The ¹⁵N enrichment in nitrate as calculated from N₂ isotopologues (Eq. 1) within the non-sulfidic and sulfidic mesocosms was 37.4 ±1.08 and 59.2 ±0.02 atom% respectively. The calculated ¹⁵N enrichment as obtained from the measured nitrate concentrations before and after mixing of the tracer solution with pore water of the sediments considering the ¹⁵N enrichment of the added [NO₃]⁻ were in good agreement with the measurement giving for the non-sulfidic and sulfidic material 37.0 ±0.55 and 60.0 ±0.82 atom%, respectively.

The development of sulfate concentrations during the ¹⁵N tracer test was used to verify if the classification of the aquifer sands into sulfidic and non-sulfidic material was adequate. In the case of the non-sulfidic material, no detectable [SO₄]²⁻ formation was observed, whereas the sulfidic material showed an increase of sulfate concentrations within the pore water from 30.2±0.92 at the beginning to 41.2±4.29 mg [SO₄]²⁻-S L⁻¹ at the end of the ¹⁵N tracer test.

Denitrification rates and time pattern of gaseous denitrification products

Concentration of denitrification-derived N₂+N₂O evolved from the ¹⁵N-labeled [NO₃]⁻ pool (B_c, eq. 6) in the pore water of the sediments from the sulfidic and non-sulfidic zone increased with time as expected (Fig. 2). Measured values of gaseous denitrification products obtained with the automated MIMS measuring system coincided very good with the control measurements by GC-IRMS. The non-sulfidic sediment material showed an initial time lag of 20 h before a distinct production of denitrification gases started, which is comparable to time

lags observed during in situ measurement in the saturated zone of hydromorphic soils^[24]. In contrast the sulfidic aquifer material showed no initial lag phase. After the start of production of denitrification gases, sulfidic and non-sulfidic materials showed an initial phase of exponential increase of denitrification products which lasted until 30 and 48 h after tracer application, respectively, and was followed by a linear increase for both aquifer material types.

After 55 hours, B_c in the pore water of the sulfidic material showed no further increase. Denitrification rates (Dr) were estimated from the time slope of B_c . We assumed that the final phase of decreasing slope was due to experimental artifacts. Therefore we used the maximum slope during linear increase in gaseous denitrification products to calculate Dr (Table 2). Dr of the non-sulfidic and sulfidic material was $55.3 \pm 0.12.5$ and $360.3 \pm 73 \mu\text{g N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ respectively.

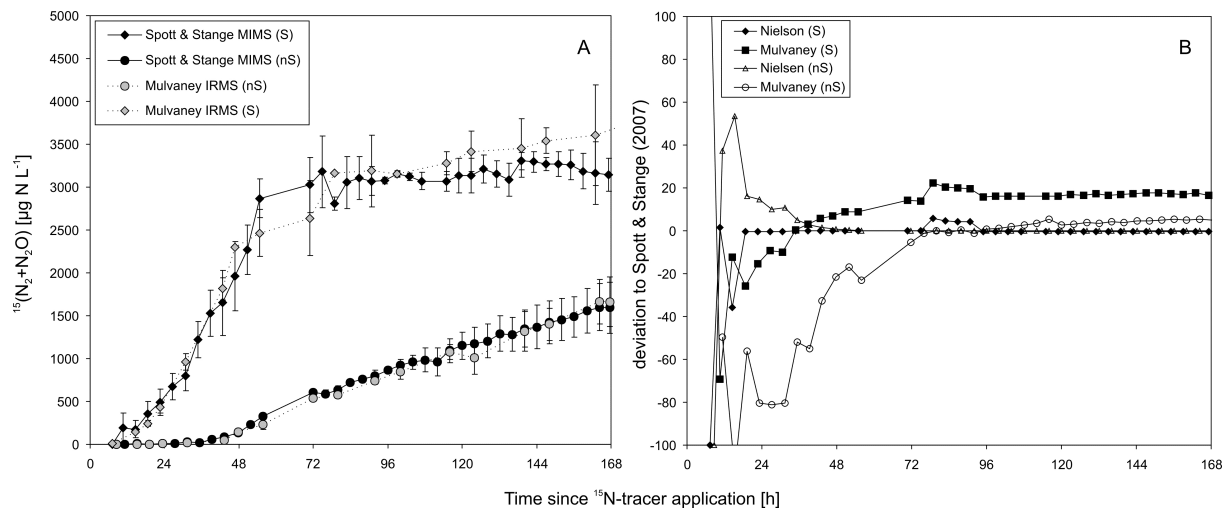


Fig. 2. Concentration courses of denitrification-derived ($\text{N}_2 + \text{N}_2\text{O}$) (B_c) in the pore water of the sediments from the sulfidic (S) and non-sulfidic zone (nS) of the Fuhrberg aquifer during the 7 day laboratory tracer experiment. (A) Comparison of B_c calculated from online data (MIMS) (Eqs 7, 8 and 9) and offline analysis (IRMS) (Eqs 5 and 6) (B) Per cent deviation of the B_c values calculated from MIMS data with Nielsen^[42] and Mulvaney^[2] in comparison to values calculated with Spott & Stange^[1]

Table 2. Texture of the aquifer material, initial concentration of nitrate $[\text{NO}_3^-]$ resulting from added $[\text{NO}_3^-]$ (10 mg N L^{-1}) and initial ambient groundwater, the measured ^{15}N abundance in the tracer solution (eq. 1) and the measured Denitrification rate (Dr).

Aquifer zone	fine sand	middle sand	coarse sand	gravel	$[\text{NO}_3^-]_{t_0}$	^{15}N in $[\text{NO}_3^-]$	Dr
			[%]		$[\text{mg N L}^{-1}]$	[at%]	$[\mu\text{g N kg}^{-1} \text{ d}^{-1}]$
non sulfidic material	18.4	74.3	3.8	1.3	19.40 ± 0.29	37.40 ± 1.08	55.3 ± 12.5
sulfidic material	21.8	54.4	5.5	14.9	12.20 ± 0.43	59.19 ± 0.72	360.3 ± 73

Comparison of the different mathematical approaches for calculating concentration of denitrification gases

Comparing the time course of B_c as obtained from the different equations shows that the approach of Nielsen^[42] and Spott & Stange^[1] are in good agreement after the second day of the tracer test. (Fig. 2 B). The relative difference between both methods was $< 1.5\%$ except for non-sulfidic mesocosms during the low concentrations of B_c in the initial phase until 24 hours after tracer application, when deviations were up to 10%. During the whole tracer test, the total deviation between these two methods never exceeded 1 and $10 \mu\text{g N L}^{-1}$ for the non-sulfidic and sulfidic material, respectively. The calculations according to Mulvaney^[2] are in relatively good agreement to the two other approaches only for samples with B_c below $1500 \mu\text{g N L}^{-1}$ (within $<10\%$ deviation). For higher concentrations, this approach overestimates increasingly the concentrations of dissolved tracer derived denitrification gases (B_c).

Discussion

Comparison between online measurement with MIMS and offline gas analysis

In this study, we wanted to test the feasibility of an automated online measurement during ^{15}N tracer tests in fully water saturated sediments with MIMS and to compare the results with established procedures of offline gas analysis by IRMS^[21, 23, 24]. The good agreement between the methods (Fig. 2 A) shows that the establishment of our new online MIMS approach was successful. Moreover, instrumental precision of the fraction d of $(\text{N}_2+\text{N}_2\text{O})$ evolved from the ^{15}N -labeled pool in a mixture with natural $(\text{N}_2+\text{N}_2\text{O})$ was comparable for both methods (Table 3) and similar to the precision given for previous measurements of d reported by Well

et al.^[47] and Siegel et al.^[48] with CV [%] of 0.26 and 0.36, respectively. This analytical method is thus principally suitable for in situ analysis of denitrification using push-pull type ¹⁵N tracer tests. We expect that its employment in the field will be useful to improve in situ measurement of denitrification because the immediate detection during the tracer test will facilitate its performance during field campaigns. Moreover, compared to IRMS, the quadrupole-based MIMS technology is relatively easy to handle and more economical. It will thus be suitable for a wider group of users.

Table 3. Instrumental precision for the 29/28 mass ratio estimated from coefficients of variation (CV) of 6 repeated measurements of a standard (air-N₂ equilibrated with water). The calculated CV for the fraction (d) and the concentration (B) of denitrified gas within the measured (N₂+N₂O) mixture and the calculated limit of detection of labeled ¹⁵(N₂+N₂O).

Method	Instrumental precision CV	limit of detection ^a	CV calculated from error propagation ^b	
			d	B
	%	µg N l ⁻¹	%	
IRMS	0.020	2.5	0.191	0.963
MIMS	0.133	1.5	0.577	0.931

^a The limit of detection was calculated after Eq [10].

^b The propagation of error was calculated for Eq. [5] and [6].

Despite equal instrumental precisions with respect to B_c for both methods, the standard deviations between replicate samples were higher with the IRMS method (Fig. 2 A). This is explainable by the error introduced due to the sample preparation, i.e. headspace generation and equilibration of headspace gases with dissolved gases, required for offline analysis. Analysis of ground water samples is thus more precise with the MIMS method, which instantaneously detects dissolved gases of the sample flow during the pull phase of the in situ experiments.

The avoidance of the laborious degassing step in sample preparation is another advantage of automated online measurement. This procedure is fast and allows continuous monitoring of dissolved gas concentrations during pumping. In this tracer test we maintained a 4-hourly sampling interval for every mesocosm over one week. With our instrumental configuration we needed a total sample volume of 150 ml for each measurement to obtain sufficient flushing of the inner volumes of tubings, stainless steel capillaries and solenoid valves of the automated sampling unit, whereas the volume conducted to the membrane inlet was only 10

ml. Reducing the total inner volume of the system would reduce the needed sampling volume and also shorten the possible sampling intervals.

The recovery of N₂O added to standard samples with dissolved N₂ was imprecise for low concentrations of N₂O (Table 1). This can be explained by the fact that N₂O was determined indirectly by the difference between (N₂+N₂O) detected and the calculated concentrations of expected N₂ and N₂O. Substantial uncertainties in the recovery rate of small concentrations of N₂O in a dissolved N₂ mixture are thus obtained in view of the limited measuring accuracy. The accuracy of concentration measurement of dissolved N₂ with MIMS is about ±1.5%^[37]. Assuming a concentration of 600 μmol L⁻¹ dissolved N₂ a deviation of ±1.5% would yield an uncertainty of 9 μmol L⁻¹.

For highest concentrations, recoveries were satisfactory, showing that N₂O is completely reduced to N₂ in the copper furnace after passing the membrane of the membrane inlet. This shows that the sum of N₂O and N₂ is quantitatively detected with the MIMS system.

Plausibility of measured denitrification rates

The measured mean denitrification rate (Dr) for the sulfidic mesocosms (360 mg N kg⁻¹ d⁻¹ Table 2) is similar to mean denitrification rates of 284 μg N kg⁻¹ d⁻¹ obtained by anaerobic incubations of sulfidic sediments of the same aquifer^[15]. Dr of the non sulfidic material measured during this ¹⁵N tracer experiment is nearly 50% higher than the highest Dr reported by Weymann et al.^[15] with non-sulfidic material (Dr from 0.2 to 35 μg kg⁻¹ d⁻¹). The higher Dr measured during the laboratory ¹⁵N tracer test might be due to the documented spatial heterogeneity with the aquifer^[29, 31]. Moreover, the mentioned anaerobic incubations were carried out at 10°C, whereas the incubation temperature during the laboratory ¹⁵N tracer test was 20°C leading to faster reaction kinetics. Our results from the sulfidic and non-sulfidic samples are also within the wide range of Dr from 2 to 356 μg kg⁻¹ d⁻¹ measured during anaerobic incubation of sediments from the saturated zone of 3 Quaternary sandy aquifers in North Germany Konrad^[27]. Therefore, we note that Dr measured in the present study is plausible as it is in one order of magnitude with reported Dr from the same^[15] or from comparable Quaternary sandy aquifers^[27].

Comparison of the different mathematical approaches for calculating concentration of denitrification gases

Calculations given by Mulvaney^[2] tend to overestimate the concentrations of dissolved concentrations of B_c during our tracer tests (Fig. 2 B and 3). This overestimation could be explained with the high fraction of tracer derived labeled (N_2+N_2O) in comparison to the background concentration of (N_2+N_2O) with natural ^{15}N abundance. The equations given by Mulvaney^[2] were originally derived for the measurement of labeled denitrification gases in presence of a high background of natural dinitrogen. If air samples are measured (either soil air or nitrogen headspaces after dissolved gas extraction), this is essentially always the case, but if dissolved N_2 in water samples is analyzed by membrane inlet mass spectrometry, the background of dissolved atmospheric N_2 is relatively small. For example under STP conditions 1 cm^3 air contains $34.4\text{ }\mu\text{mol } N_2$ whereas 1 cm^3 pure water includes only $0.816\text{ }\mu\text{mol } N_2$ in equilibration with a headspace of atmospheric composition. We calculated the error resulting from the equations given by Mulvaney^[2] as the divergence from the concentrations obtained using the approach of Spott & Stange^[1]. Calculations were done using a theoretical data-set based on the conditions of this tracer experiment and with the measured raw data. The equations by Mulvaney resulted in an overestimation of N_2+N_2O which grows with increasing N_2+N_2O concentration i.e. with increasing B/A ratio. The overestimations of the theoretical and measured data are in good agreement (Fig. 3).

To our best knowledge we applied the new mathematical approach given by Spott & Stange^[1] for the first time to quantify the formation of denitrification gases during a ^{15}N tracer experiment in combination with MIMS. The comparison shows that the time course of B_c was in close agreement with the concentrations calculated according to Nielsen^[42] with differences never exceeding $10\text{ }\mu\text{g N L}^{-1}$. The fact that relative deviations were initially high ($> 10\%$) may be attributed to the low concentrations of B_c and therefore to a possible error in the calculated ^{15}N abundance of the denitrification-derived gases due to the relative high background on mass 30 in comparison to the measured signal and the different sensitivities of these two approaches to errors in the used ^{15}N abundance for calculating B_c (discussed below). Altogether the new approach^[1] is in very good conformity to the widely used and tested IPM and is thus fully suitable for MIMS data.

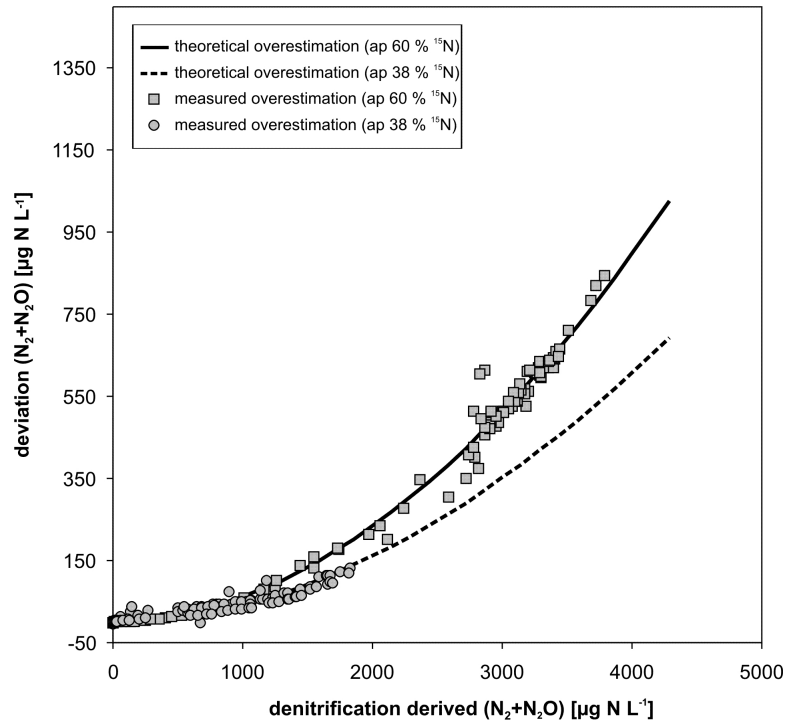


Fig. 3. Theoretical and measured overestimation of denitrified dinitrogen in liquid samples due to the use of the equations given by Mulvaney^[2] in case of high B/A ratios in the sample. For the theoretical curves the following parameters were set in accordance to the experimental conditions: ¹⁵N abundance of [NO₃]⁻ = 38 and 60 % and 14.42 mg L⁻¹ of dissolved atmospheric N₂ in the pore water prior to denitrification. The measured overestimation was calculated as the deviation between concentrations calculated according to approaches of Mulvaney^[2] and Spott & Stange^[1], 2008, respectively.

Sensitivity of the three mathematical approaches to uncertain ¹⁵N fraction in the denitrified nitrate

During push pull tracer tests, dilution of the tracer solution with ambient groundwater are regularly reported^[17, 23, 24, 47]. The ¹⁵N fraction of denitrified nitrate (X) within a tracer plume can thus be variable and difficult to predict in the case the ¹⁵N labeled tracer nitrate mixes during the push phase of the tracer test with ambient groundwater [NO₃]⁻. For example, in this laboratory tracer test X within the non-sulfidic mesocosms fell from 60 to 37.4%, due to the mixing of labeled nitrate with nitrate in the pore water. Therefore X has to be checked during the tracer test. This could be erroneous due to a relatively large ³⁰N₂ error due to the high background on mass 30 or small concentrations of labeled denitrification gasses (B_c) especially at the beginning of the tracer test (see eq. 1). Alternatively, X could be obtained by a mixing calculation using the change in nitrate concentrations standardized with the change of a conservative tracer within the injected tracer solution.

Since both methods to estimate X are subject to potential errors, it is necessary to check the impact of this error on B_c as calculated with the three mathematical approaches. Therefore various theoretical mixtures of natural N_2 with different amounts of N_2 of different ^{15}N abundances (B_c) were modeled and B_c was calculated with the three mathematical approaches taking into account a defined error in X (between 0 and ± 20 atom%). For the equations given by Spott & Stange^[1] and Nielsen^[42] the error in B_c is independent from X as well as from the B/A ratio in the gas mixture (Fig. 4). In contrast, the error in B_c obtained by applying the calculations of Mulvaney^[2] shows a strong dependence from X as well as from the B/A ratio (Fig. 4). The equations of Spott & Stange^[1] are twice as sensitive to errors in X compared to the calculations by Nielsen^[42]. For example, if the assumed or measured ^{15}N abundance of the denitrified nitrate differs by 5% from the real ^{15}N abundance, the deviation of calculated to the real concentration of B_c becomes 10%, whereas the equations of Nielsen^[42] deviate only by 5%. As reported earlier^[21] the equations given by Mulvaney^[2] are quite robust for ^{15}N abundances in the tracer nitrate between 40 and 60 atom%, where a 10% error in X would lead to an error in B_c below 5%. For lower or higher ^{15}N abundances this mathematical approach becomes increasingly sensitive to errors in measured or calculated ^{15}N abundance of the denitrified nitrate (Fig. 4).

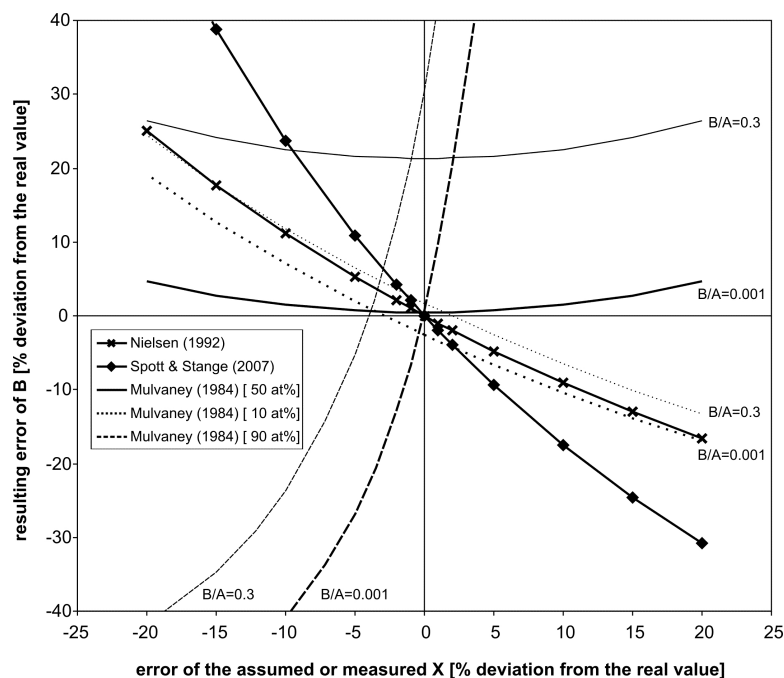


Fig. 4. Susceptibility of the 3 investigated mathematical approaches to errors in ^{15}N abundance of denitrified nitrate. X is the ^{15}N fraction in the denitrified nitrate, A and B are the fractions of natural and denitrified N_2 within analyzed the mixture. Contrary to the approaches of Nielsen^[42] and Spott & Stange^[1] the error of B is dependent from X and the B/A ratio when the Equations given by Mulvaney^[2] are used.

During the whole tracer test the calculated concentrations of denitrification gases are nearly identical for the IPM and the formulas given by Spott & Stange^[1]. The advantage of the latter approach is, as with the one of Mulvaney^[2], that it requires only one measurement to calculate concentrations, whereas the mathematical approach given by Nielsen^[42] requires two. Contrary to the two other approaches the IPM relies on the subtraction of background concentration of natural (N₂+N₂O) (A_c) from the measured concentration of (N₂+N₂O) (D_c). But if A_c in the tracer solution differs from the A_c in the ambient groundwater and the tracer solution mixes during the push or pull phase with the surrounding ground water, A_c in the samples might change during the tracer test. This will affect only B_c calculated with IPM, whereas Mulvaney^[2] and Spott & Stange^[1] directly calculate B_c in an analyzed sample.

A further advantage of the Mulvaney method is that ²⁸N₂ and ²⁹N₂ can be calibrated with simple air equilibrated water. This is not possible for ³⁰N₂ because the mass 30 signal originating from the small fraction of ³⁰N₂ in natural N₂ is relatively small and its detection is further complicated by the high background signal on mass 30

Thus, the formulas of Mulvaney could be advantageous for small concentrations of labeled denitrification gases within a measured mixture of dissolved gases as well as to check the two other approaches for possible error made by measuring mass 30.

Alteration of the measured B_c concentrations due to in situ degassing and the plausibility of the measured time course of denitrification products

In the sulfidic mesocosms the time pattern of gaseous denitrification products showed after 65 hours a turning-point with a decrease of the initially constant slope and concentrations of B_c (Fig. 2) stabilizing between 3100 and 3350 μg L⁻¹. The question arises, if this observation can be explained by degassing of N₂ and N₂O. Increasing partial pressures of these dissolved gases due to ongoing gas accumulation during denitrification can lead to a release of gas bubbles in the pore space of the active sites which is referred to as in situ degassing. This was reported for an aquifer consisting of sand and gravel in Nord Brabant, Netherlands^[49, 50]. From dissolved noble gas and N₂ data Visser et al.^[50] modeled and measured degassing depths between 3.8 and 20 m below the surface.

To answer this, we modeled the expected development of the concentration courses of labeled dinitrogen within the pore water during preceding denitrification with and without simultaneous in situ degassing of dissolved gas (Fig. 5). For these calculations, the concept of closed system equilibration model (CE) between pore water and gas bubbles within the

sediment given by Aeschbach-Hertig et al.^[51] was used. The only extension made to this model was that the concentrations of $^{28}\text{N}_2$, $^{29}\text{N}_2$ and $^{30}\text{N}_2$ were separately calculated, instead of total N_2 . For all three N_2 species the same Henry constant was used.

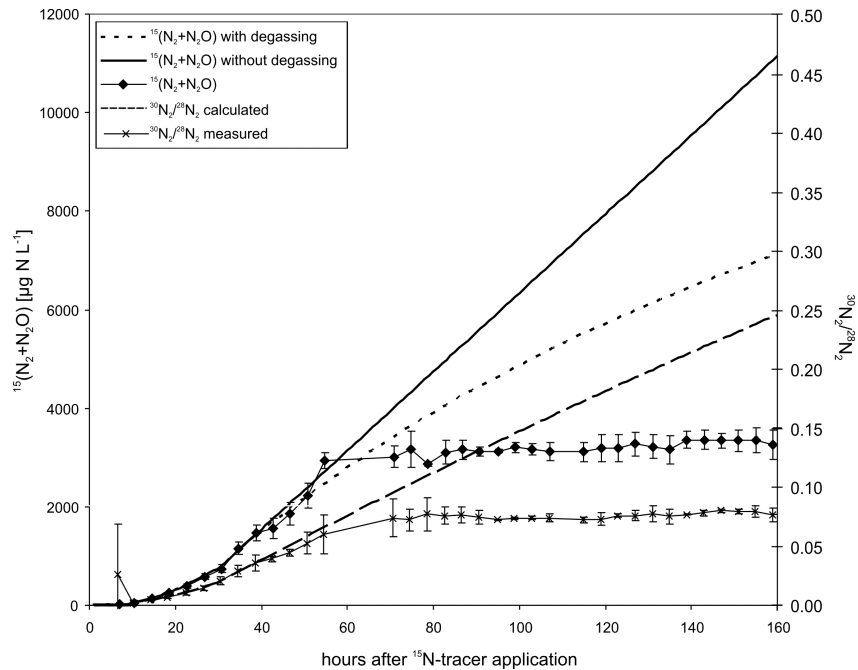


Fig. 5. Measured concentration courses of denitrification-derived ($\text{N}_2+\text{N}_2\text{O}$) in the pore water of the sulfidic material in comparison to calculated concentrations with and without degassing of labeled denitrification gases.

The input parameters for modeling (Fig. 5) are: (i) The molar concentrations of the major dissolved gasses in the pore water. (ii). The measured initial denitrification rate leading to increasing molar concentrations of evolved $^{28}\text{N}_2$, $^{29}\text{N}_2$ and $^{30}\text{N}_2$ in the pore water during the experiment. (iii) The maximum total dissolved gas pressure (mTDGP) before gas bubbles will form in the pore space. The mTDGP is equal to the sum of hydrostatic, atmospheric and capillary pressure. In the calculations a mTDGP of 1036 mbar was assumed, resulting from 50 mbar hydrostatic and 987 mbar atmospheric pressure. The capillary pressure was assumed to be negligible in the hydraulic active pores of the sandy sediments. (iv). The initial trapped air to water volume ratio was set to 0, which means that before in situ degassing takes place, there was no trapped gas phase in the pore space of this water saturated sediment.

According to the denitrification rate, the curve without in situ degassing increases linearly with time (Fig. 5). If the calculated actual total dissolved gas pressure (aTDGP) exceeds the sum of hydrostatic, atmospheric and capillary pressure (mTDGP) due to production of denitrification gases, gas bubbles will form. This trapped gas bubbles will then expand until the aTDGP in the pore water is equal to the mTDGP. During bubble formation, the

concentrations of dissolved gases in the pore water will decrease. The new equilibrium concentrations of the different gasses depend on the volume ratio of trapped gas bubbles to water and the different Henry constants for the several gases^[51]. Taking this into account, the slope of the calculated curve is decreasing with time. For the sulfidic samples the calculated aTDGP exceeded the mTDGP 35 hours after tracer application, in situ degassing might thus explain some of the observed non-linear time course of dissolved denitrification gas concentrations (Fig. 5). In the non-sulfidic samples, aTDGP did not exceed mTDGP (data not shown) until 100 hours after tracer application due to the relatively low denitrification rates. In situ degassing lowered the observed B_c of these samples by maximal 5% at the end of the experiment.

For the sulfidic samples, both modeled time course of B_c with and without in situ degassing fit the measured values only until 64 hours after tracer application. This shows that the flattening of the B_c curve is not explainable by loss of labeled gases by degassing only. Assuming equilibrium degassing, the CE-model predicts no degassing effect on the measured ratio of $^{30}\text{N}_2$ and $^{28}\text{N}_2$ i.e. Δm^{30} to Δm^{28} (Fig. 5). However the measured ratio of Δm^{30} to Δm^{28} did not increase steadily during the tracer experiment. In contradiction to this degassing model, which predicts no effect of equilibrium degassing on this ratio, also this curve becomes nearly constant after 64 hours. This and the divergence of calculated to measured concentration values of denitrified gases suggest that an additional factor limits the maximum measurable concentrations of denitrified gases in the pore water.

Another explanation might be the residence time of the tracer solution within the hydrologic active pores in the sediment, because the repeated extraction of samples from the probes cause migration of the supernatant tracer solution into the sediment. This supernatant tracer solution, which was not in contact with the sulphidic aquifer material at the beginning of the experiment, might have later reached the sampling probes. A break-through of the supernatant tracer solution after 65 hours, i.e. when the B_c curves sharply flattened, could be explained if the hydraulic active pore volume of the mesocosms was replaced during this time. Taking into account the pumping of 0.9 L pore water per day this volume would be 2.5 L. The total pore volume of mesocosms was estimated 5.3 L resulting from the porosity (0.35) and the sediment volume (15 L). According to Kollmann^[52] the hydraulic active pore volume in fine sands is between 15 and 25%. In view of this fact and that the tracer solution is not flowing through the sediment below the probes in the lower part of the mesocosms, an hydraulic active pore volume around 2.5 L is plausible. This suggests that in addition to in situ degassing the break-through of supernatant tracer solution contributed to the flattening of the concentration

curves. The constancy after 65 hours might reflect steady state conditions, i.e. the accumulation of $^{15}(\text{N}_2+\text{N}_2\text{O})$ during the residence time of the tracer solution within the denitrifying sediment. In the non-sulfidic samples, the fraction of fine sands and gravel was lower and the fraction of medium sands higher compared to the sulfidic samples (Table 2) and thus the hydraulic active fraction of the porosity was probably higher. The effective porosity of the non-sulfidic sediment was thus higher, which shows that a hydraulic active pore volume around 4 L is plausible. With the pumping of 0.9 L pore volume per day and the fact that a measurable production of B_c started in the non-sulfidic mesocosms 40 hours after tracer application, a flattening of the observed B_c curve could be expected past 146 hours after tracer application. In essence, the lack of degassing and a larger hydraulic active volume in the non-sulfidic mesocosms might thus explain that the flattening of the B_c curve was less pronounced for the non-sulfidic mesocosms during the tracer experiment (Fig. 2 A).

Conclusions

For the first time we used membrane-inlet mass spectrometry (MIMS) for online analysis of ^{15}N -labeled denitrification products in groundwater extracted during push-pull tracer tests in the laboratory. By comparing MIMS data with established isotope analysis by IRMS, we found that our new method yielded accurate results of produced $(\text{N}_2+\text{N}_2\text{O})$ within a range of 10 to 3300 $\mu\text{g N L}^{-1}$. Analysis was even more precise than with the IRMS method. An automated sampling device connected to the MIMS system successfully enabled unattended measurement during 7 days, where only the refilling of the liquid nitrogen trap and the reservoir of standard water had to be conducted manually.

During the laboratory tracer test, the linear increase in dissolved denitrification products during approximately two days enabled a reliable determination of denitrification rates, where the order of magnitude was in agreement with previous studies. Experiments were thus suitable for a comparison of methods. The non-linear behavior of concentration curves during the later phase of experiments could be explained as a combined effect of (i) degassing due to gas production in excess to solubility and (ii) of the fact that the extracted sample volume exceeded the total volume of the hydraulic active pores in the sediment. Our analysis of these experimental artifacts will help to handle similar effects in future field studies.

To optimize analysis of our instrumental raw data, we compared 3 different mathematical approaches. Results were in good agreement on condition that the ^{15}N enrichment of the $[\text{NO}_3]^-$ pool undergoing denitrification (X) was known and the ratio of natural background $(\text{N}_2+\text{N}_2\text{O})$ to labeled denitrification gasses (B/A) was small. However, each method is

associated with certain limitations. The well established isotope pairing method (IPM) and the new approach by Spott & Stange^[1] both require analysis of all N₂ isotopologues and are thus sensitive to bias in ³⁰N₂ which occurs from the high instrumental background in mass 30. The equations given by Mulvaney^[2] are applicable without analyzing ³⁰N₂ provided X is known, but lead to overestimation of B_c if the B/A ratio is relatively large. The methods differ in their sensitivity to inaccurate determination of ³⁰N₂ or X.

Overall, our laboratory experiments show that the tested instrumentation will be suitable for online in situ measurement of ¹⁵N-labeled (N₂+N₂O) dissolved in groundwater and can thus be used as a new tool for push-pull tracer tests for measuring denitrification rates in aquifers. Advantages of the new approach comprise the possibility to conduct measurements in the field almost in real-time, the relatively low cost of the instrumentation and the dispensability of laborious sample preparation necessary for offline IRMS.

Acknowledgements

This research was made possible by financial support from the Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU). The authors would like to thank I. Ostermeyer and K. Schmidt for their assistance in the laboratory and L. Szwec and R. Langel (Centre for Stable Isotope Research, University of Göttingen) for stable isotope analyses.

References

- [1] O. Spott, C. F. Stange, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2007**, *21*, 2398.
- [2] R. L. Mulvaney, *Soil Science Society of America Journal* **1984**, *48*, 690.
- [3] P. M. Groffman, M. A. Altabet, J. K. Bohlke, K. Butterbach-Bahl, M. B. David, M. K. Firestone, A. E. Giblin, T. M. Kana, L. P. Nielsen, M. A. Voytek, *Ecological Applications* **2006**, *16*, 2091.
- [4] K. M. Hiscock, J. W. Lloyd, D. N. Lerner, *Water Research* **1991**, *25*, 1099.
- [5] S. F. Korom, *Water Resources Research* **1992**, *28*, 1657.
- [6] T. L. Martin, N. K. Kaushik, J. T. Trevors, H. R. Whiteley, *Water Air and Soil Pollution* **1999**, *111*, 171.
- [7] J. M. Sanchez-Perez, C. Bouey, S. Sauvage, S. Teissier, I. Antiguada, P. Vervier, *Hydrology and Earth System Sciences* **2003**, *7*, 87.
- [8] T. A. Kneeshaw, J. T. McGuire, E. W. Smith, I. M. Cozzarelli, *Applied Geochemistry* **2007**, *22*, 2618.
- [9] S. Seitzinger, J. A. Harrison, J. K. Bohlke, A. F. Bouwman, R. Lowrance, B. Peterson, C. Tobias, G. Van Drecht, *Ecological Applications* **2006**, *16*, 2064.
- [10] R. N. Roy, R. V. Misra, A. Montanez, *Ambio* **2002**, *31*, 177.
- [11] E. O. Frind, W. H. M. Duynisveld, O. Strebel, J. Boettcher, *Water Resources Research* **1990**, *26*, 1707.
- [12] S. Paramasivam, A. K. Alva, O. Prakash, S. L. Cui, *Plant and Soil* **1999**, *208*, 307.
- [13] R. L. Smith, J. H. Duff, *Applied and Environmental Microbiology* **1988**, *54*, 1071.

- [14] R. Well, H. Hoper, O. Mehranfar, K. Meyer, *Soil Biology & Biochemistry* **2005**, *37*, 1822.
- [15] D. Weymann, H. Geistlinger, R. Well, C. von der Heide, H. Flessa, *Biogeosciences* **2010**, *7*, 1953.
- [16] M. R. Trudell, R. W. Gillham, J. A. Cherry, *Journal of Hydrology* **1986**, *83*, 251.
- [17] J. D. Istok, M. D. Humphrey, M. H. Schroth, M. R. Hyman, K. T. Oreilly, *Ground Water* **1997**, *35*, 619.
- [18] M. H. Schroth, J. Kleikemper, C. Bolliger, S. M. Bernasconi, J. Zeyer, *Journal of Contaminant Hydrology* **2001**, *51*, 179.
- [19] J. T. McGuire, D. T. Long, M. J. Klug, S. K. Haack, D. W. Hyndman, *Environmental Science & Technology* **2002**, *36*, 2693.
- [20] S. H. Harris, J. D. Istok, J. M. Suflita, *Microbial Ecology* **2006**, *51*, 535.
- [21] R. Well, D. D. Myrold, *Soil Biology & Biochemistry* **1999**, *31*, 1109.
- [22] R. Well, D. D. Myrold, *Soil Science Society of America Journal* **2002**, *66*, 507.
- [23] K. Addy, D. Q. Kellogg, A. J. Gold, P. M. Groffman, G. Ferendo, C. Sawyer, *Journal of Environmental Quality* **2002**, *31*, 1017.
- [24] R. Well, J. Augustin, K. Meyer, D. D. Myrold, *Soil Biology & Biochemistry* **2003**, *35*, 783.
- [25] K. Addy, A. Gold, B. Nowicki, J. McKenna, M. Stolt, P. Groffman, *Estuaries* **2005**, *28*, 896.
- [26] D. Q. Kellogg, A. J. Gold, P. M. Groffman, K. Addy, M. H. Stolt, G. Blazejewski, *Journal of Environmental Quality* **2005**, *34*, 524.
- [27] C. Konrad, **2007**, 161.
- [28] O. Strelbel, J. Böttcher, W. H. M. Duijnsveld, *DVGW Schriftenreihe Wasser* **1992**, *73*, 55.
- [29] C. von der Heide, J. Böttcher, M. Deurer, D. Weymann, R. Well, W. H. M. Duijnsveld, *Journal of Hydrology* **2008**, *360*, 230.
- [30] J. Böttcher, O. Strelbel, W. Kölle, *Progress in Hydrogeochemistry* **1992**, 219.
- [31] D. Weymann, R. Well, H. Flessa, C. von der Heide, M. Deurer, K. Meyer, C. Konrad, W. Walther, *Biogeosciences* **2008**, *5*, 1215.
- [32] J. Böttcher, S. O., D. W.H.M., *Water Resources Research* **1991**, *27*, 3275.
- [33] D. Weymann, R. Well, C. von der Heide, J. Böttcher, H. Flessa, W. H. M. Duijnsveld, *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **2009**, *85*, 299.
- [34] G. Franken, D. Postma, W. H. M. Duijnsveld, J. Böttcher, J. Molson, *Applied Geochemistry* **2009**, *24*, 890.
- [35] R. F. Weiss, *Deep-Sea Research* **1970**, *17*, 721.
- [36] R. F. Weiss, B. A. Price, *Marine Chemistry* **1980**, *8*, 347.
- [37] T. M. Kana, C. Darkangelo, M. D. Hunt, J. B. Oldham, G. E. Bennett, J. C. Cornwell, *Analytical Chemistry* **1994**, *66*, 4166.
- [38] S. M. An, W. S. Gardner, T. Kana, *Applied and Environmental Microbiology* **2001**, *67*, 1171.
- [39] P. D. Tortell, *Limnology and Oceanography-Methods* **2005**, *3*, 24.
- [40] M. A. Lapack, J. C. Tou, C. G. Enke, *Analytical Chemistry* **1991**, *63*, 1631.
- [41] K. M. Jensen, M. H. Jensen, R. P. Cox, *Fems Microbiology Ecology* **1996**, *20*, 101.
- [42] L. P. Nielsen, *Fems Microbiology Ecology* **1992**, *86*, 357.
- [43] B. D. Eyre, S. Rysgaard, T. Dalsgaard, P. B. Christensen, *Estuaries* **2002**, *25*, 1077.
- [44] L. K. Smith, M. A. Voytek, J. K. Bohlke, J. W. Harvey, *Ecological Applications* **2006**, *16*, 2191.
- [45] J. K. Bohlke, J. W. Harvey, M. A. Voytek, *Limnology and Oceanography* **2004**, *49*, 821.

- [46] S. Rysgaard, N. Risgaardpetersen, N. P. Sloth, K. Jensen, L. P. Nielsen, *Limnology and Oceanography* **1994**, 39, 1643.
- [47] R. Well, K. W. Becker, R. Langel, B. Meyer, A. Reineking, *Soil Science Society of America Journal* **1998**, 62, 906.
- [48] R. S. Siegel, R. D. Hauck, L. T. Kurtz, *Soil Science Society of America Journal* **1982**, 46, 68.
- [49] A. Visser, H. P. Broers, M. F. P. Bierkens, *Water Resources Research* **2007**, 43, 14.
- [50] A. Visser, J. D. Schaap, H. P. Broers, M. F. P. Bierkens, *Journal of Contaminant Hydrology* **2009**, 103, 206.
- [51] W. Aeschbach-Hertig, H. El-Gamal, M. Wieser, L. Palcsu, *Water Resources Research* **2008**, 44, 12.
- [52] W. Kollmann, *Mitteilungen österreichische geologische Gesellschaft* **1986**, 79, 14.

Anhang 2

Ein neuer rekursiver mathematischer Ansatz zur Berechnung des Beitrags der Denitrifikation zu einer gegebenen N₂-Mischung basierend auf der ¹⁵N-Tracertechnik

Eine Probe enthalte eine Mischung aus atmosphärischem N₂ und durch Denitrifikation aus ¹⁵N markiertem NO₃⁻ gebildetem N₂. X^a und X^b seien die ¹⁵N-Fractionen im atmosphärischen bzw. denitrifikationsbürtigem N₂, so sind $\alpha_{28nat} = (1-X^a)^2$, $\alpha_{29nat} = 2(1-X^a)X^a$ und $\alpha_{28den} = (1-X^b)^2$, $\alpha_{29den} = 2(1-X^b)X^b$ die Molfraktionen von ²⁸N₂ and ²⁹N₂ im atmosphärischen N₂ bzw. im denitrifikationsbürtigem N₂. Das massenspektrometrisch auf den Massen *m/z* 29 und *m/z* 28 gemessene Verhältnis von ²⁹N₂ zu ²⁸N₂ auf kann dann wie folgt ausgedrückt werden:

$$\frac{{}^{29}N_2}{{}^{28}N_2} = \frac{A\alpha_{29nat} + B\alpha_{29den}}{A\alpha_{28nat} + B\alpha_{28den}} = \frac{\alpha_{29nat}}{\alpha_{28nat} + \frac{B}{A}\alpha_{28den}} + \frac{B}{A} \frac{\alpha_{29den}}{\alpha_{28nat} + \frac{B}{A}\alpha_{28den}} \quad [1]$$

A und B sind hierbei die Fraktionen von atmosphärischem und ¹⁵N angereichertem NO₃⁻ bürtigem N₂ im Gesamt-N₂ der Probe. Durch umformen von Gleichung [1] und ersetzen des unbekanntes Verhältnisses B/A mit (b/a)ⁱ ergibt sich:

$$\left(\frac{{}^{29}N_2}{{}^{28}N_2} - \frac{\alpha_{29nat}}{\alpha_{28nat} + \left(\frac{b}{a}\right)^i \alpha_{28den}} \right) \cdot \frac{\alpha_{28nat} + \left(\frac{b}{a}\right)^i \alpha_{28den}}{\alpha_{29den}} = \left(\frac{b}{a}\right)^{i+1} \quad [2]$$

Nach Kürzen erhalten wir:

$$\frac{{}^{29}N_2}{{}^{28}N_2} \cdot \frac{\alpha_{28nat} + \left(\frac{b}{a}\right)^i \alpha_{28den}}{\alpha_{29den}} - \frac{\alpha_{29nat}}{\alpha_{29den}} = \left(\frac{b}{a}\right)^{i+1} \quad [3]$$

Gleichung [3] kann als rekursive Folge mit dem Startwert $(b/a)^0 = 0$ und dem Index $i = 1, \dots, n$ aufgefasst werden. Der Grenzwert dieser Folge ist grade das Verhältnis B/A (der entsprechende Beweis dazu wird ausführlich in der Dissertation dargestellt). Durch das Berechnen weiterer Folgeglieder $(b/a)^i$, $(b/a)^{i+1} \dots (b/a)^n$, konvergiert der Wert für $(b/a)^n$ schnell gegen den Grenzwert B/A. Für ein beliebig kleines $\varepsilon \in R^+$ gilt dann, es gibt ein $n \in N$ so das folgende Gleichung erfüllt ist:

$$\left| \frac{B}{A} - \left(\frac{b}{a}\right)^n \right| < \varepsilon \quad [4]$$

Das heißt der Wert des n-ten Folgelieds nähert sich beliebig nah an B/A an und somit kann $B/A=(b/a)^n$ gesetzt werden. Es gilt sodann $A=B/(b/a)^n$. Es sei $A+B=1$, d.h. die beprobte N_2 Mischung setzt sich nur aus atmosphärischem N_2 und durch Denitrifikation gebildetem N_2 zusammen. B errechnet sich dann wie folgt:

$$B = \frac{1}{\frac{1}{\left(\frac{b}{a}\right)^n} + 1} \quad [5]$$

Mit der gemessenen Gesamtkonzentration an N_2 (D_c) in der Probe ergibt sich die Konzentration des denitrifikationsbürtigen N_2 (B_c) aus:

$$B_c = D_c \cdot B \quad [6]$$