



Eigenschaften und Wirkung

Zusammengestellt von:



Dan Bryant, Kristof Van Vooren und Stijn Haghebaert

**Roodborstjeslaan 31
8300 Knokke Heist**

August 2005

INHALTSVERZEICHNIS

1.	REDUKTIVE ENTCHLORUNG UND ANREICHERUNG VON CAP18™	1
1.1	PRINZIPIEN DER REDUKTIVEN ENTCHLORUNG	1
1.2	HINTERGRUNDWASSERSTOFFBEDARF	2
1.2.1	<i>Gelöster Sauerstoff</i>	3
1.2.2	<i>Nitrat</i>	4
1.2.3	<i>Eisen</i>	4
1.2.4	<i>Sulfat</i>	4
1.2.5	<i>Methanbildung</i>	5
1.2.6	<i>Oleatfällung</i>	5
1.3	CAP18™ SUBSTRAT	6
1.3.1	<i>Zusammensetzung und mikrobielle Verwendung</i>	6
1.3.2	<i>Verhinderung der Methanbildung</i>	7
1.4	ANWENDBARE VERBINDUNGEN	8

Anhänge:

Anhang 1 : Reduktive Entchlorung

Abbildung 1-1 : *PCE reduktive Entchlorung*

Abbildung 1-2 : *Triacylglycerinstruktur*

Abbildung 1-3 : *Struktur der repräsentativen C18 ungesättigten Fettsäure*

Abbildung 1-4 : *Der Beta-Oxidationskreislauf für Fettsäuren*

Abbildung 1-5 : *Fettsäurenabbausequenz während der Beta-Oxidation*

1. REDUKTIVE ENTCHLORUNG UND ANREICHERUNG VON CAP18™

Das Grundprinzip der manipulierten (oder stimulierten) biologischen Sanierung besteht darin, geeignete geochemische Bedingungen zu schaffen und eine Nährstoffquelle (Substrat) bereitzustellen, um das Wachstum von natürlichen mikrobiellen Populationen zu stimulieren. Diese Mikroben erzeugen wiederum Wasserstoff, der von einer zweiten Gruppe von Mikroben benötigt wird, um die chlorierten Kohlenwasserstoffe abzubauen. In einer Anzahl von umfassenden Veröffentlichungen wird die Mikrobiologie des Grundwassers und die Grundlage der manipulierten biologischen Sanierung von chlorierten Lösungsmitteln besprochen (z.B., Wiedemeier et al., 1999; United States Environmental Protection Agency [U.S. E.P.A.], 1999, 2000; Chapelle, 2001). Dieser Abschnitt enthält eine Zusammenfassung der mikrobiellen reduktiven Entchlorung von chlorierten Lösungsmitteln, den Hintergrundwasserstoffbedarf und die Art und Weise, wie CAP18™ die reduktive Entchlorung stimuliert.

1.1 Prinzipien der reduktiven Entchlorung

Die reduktive Entchlorung ist eine Reaktion, bei der ein chloriertes Lösungsmittel als Elektronenakzeptor fungiert und ein Chloratom auf dem Molekül wird durch ein Wasserstoffatom ersetzt, dieses führt zur Reduktion des chlorierten Lösungsmittels (Wiedemeier et al., 1999). Wenn diese Reaktion biologisch vermittelt ist, wird die Reaktion als Halorespiration bezeichnet und die Organismen werden als Halorespiratoren bezeichnet. Der bekannte Weg für die Entchlorung von Perchlorethen (PCE) wird in Abbildung 1-1 vorgestellt und basiert auf der folgenden verallgemeinerten Oxidations-Reduktions-Reaktion:



dabei ist H₂ molekularer Wasserstoff, C ist Kohlenstoff, Cl ist Chlor und H ist Wasserstoff. Bei dieser Reaktion ist H₂ der Elektronendonator und das chlorierte Lösungsmittel ist der Elektronenakzeptor. Die reine Stöchiometrie der reduktiven Entchlorung ist 1 Mol H₂ für jedes entfernte Mol Chlor.

PCE erfährt eine mikrobielle Reduktion, bei der ein Chloratom fortlaufend durch Wasserstoff ersetzt wird, was zu der Bildung von Trichlorethen (TCE), Dichlorethen (hauptsächlich dem cis-1,2-Dichlorethen [cis-DCE] Isomer) und Vinylchlorid (VC) als Zwischenprodukten führt (Abbildung 1-1). Der erste und der zweite Abbauschritt von PCE zu TCE und von TCE zu cis-DCE, verlaufen relativ schnell und erfolgen unter nahezu vollständig anaeroben Bedingungen. Die folgenden Abbauschritte von cis-DCE zu VC und VC zu Ethen verlaufen relativ träge unter anaeroben Bedingungen und beide Verbindungen können auch unter aeroben Bedingungen abgebaut werden.

Man ist der Meinung, dass die Halorespiration den Großteil des Abbaus von chlorierten Lösungsmitteln ausmacht, wenn eine natürliche Schwächung vorliegt (Wiedemeier et al., 1999). Damit die Halorespiration von chlorierten Lösungsmitteln erfolgt, müssen zwei zusammenhängende Bedingungen erfüllt sein: (1) geringes Oxidations-Reduktions-Potential (reduktive Entchlorung wird nur energetisch begünstigt, wenn Sauerstoff, Stickstoff und Eisen im Aquifer abgereichert sind) und (2) eine ausreichende Versorgung mit fermentierbaren Substraten muss vorliegen (z.B. Fettsäuren aus CAP18™) für die Produktion von aufgelöstem Wasserstoff (Wasserstoff ist der wichtigste Elektronendonator für die Halorespiration). Die reduktive Entchlorung ist am günstigsten bei Wasserstoffkonzentrationen > 1 Nanomol (nM). Damit ist die Grundvoraussetzung für die Biostimulation das Hinzufügen von ausreichend fermentierbarem Substrat, so dass der Hintergrundwasserstoffbedarf erfüllt wird und die stark reduzierenden Bedingungen, die von den Mikroben benötigt werden, die für die Dehalorespiration verantwortlich sind, geschaffen werden, und diese Bedingungen beizubehalten, damit der Abbau der chlorierten Zielwasserstoffe erreicht wird.

1.2 Hintergrundwasserstoffbedarf

Wiedemeier et al. (1999) geben an, dass die folgende Ereigniskette wahrscheinlich an den meisten Standorten auftritt, an denen Halorespiration erfolgt:

- (1) Aerobe Bakterien verbrauchen unchlorierte Substrate bis der Sauerstoff abgereichert ist.

- (2) Nitratreduzierende Bakterien verbrauchen unchlorierte Substrate bis der Stickstoff abgereichert ist.
- (3) Eisenreduzierende Bakterien verbrauchen unchlorierte Substrate bis das Eisen(III) (Fe^{+3}) abgereichert ist.
- (4) Fermentationsreaktionen verbrauchen unchlorierte Substrate und erzeugen Wasserstoff, der von Halorespiratoren umgewandelt wird, um Lösungsmittel zu entchlorieren; konkurrierende Reaktionen beinhalten sulfatreduzierende Bakterien, die unchlorierte Substrate verbrauchen und Sulfat wird abgereichert und Methanogene, die Wasserstoff verbrauchen, um Methan zu erzeugen.

Daher liegt in Aquiferen ein hoher Wasserstoffbedarf (chemisch und biochemisch) vor, zusätzlich zu dem Bedarf an Halorespiratoren zum Entchlorieren von Lösungsmitteln. Der Hauptbedarf liegt bei aufgelöstem Sauerstoff, Nitrat, Eisen(III), Sulfat und unter bestimmten Bedingungen Kohlendioxid. Zu dem Bedarf des Aquifers kommen die Fettsäuren hinzu, die aus CAP18™ hydrolysiert sind, diese können durch Reaktion mit Kalzium und Magnesium als Oleate ausgefällt werden. Jeder einzelne Bedarf muss bei der Auswertung, wieviel CAP18™ benötigt wird, berücksichtigt werden, und jeder der verbundenen Analyte kann gemessen werden, um den allgemeinen Redoxzustand des Aquifers auszuwerten. Dieser Hintergrundbedarf wird unten beschrieben.

1.2.1 Gelöster Sauerstoff

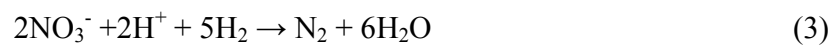
Gelöster Sauerstoff (GS) ist der beliebteste Elektronenakzeptor, der für den mikrobiellen Abbau von organischem Kohlenstoff eingesetzt wird. Halorespiratoren sind anaerobe Bakterien, die i. a. nicht bei GS-Konzentrationen eingesetzt werden können, die größer als ca. 0.5 mg/L sind. Die aerobe Respiration (die i.a. nicht wirksam für chlorierte Lösungsmittel ist) herrscht bei höheren GS-Konzentrationen vor. GS reagiert mit Wasserstoff wie folgt:



dabei ist O₂ molekularer Sauerstoff und H₂O ist Wasser. Somit werden 2 Mole H₂ für die Reduktion von 1 Mol O₂ verbraucht.

1.2.2 Nitrat

Nach Abreicherung von GS verwenden die Mikroben Nitrat (NO₃⁻) als Elektronenakzeptor für den anaeroben biologischen Abbau. Die Nitratreduktion ist energetisch günstiger als die reduktive Entchlorung. Damit die reduktive Entchlorung auftritt, müssen die NO₃⁻Konzentrationen typischerweise geringer als ca. 1 mg/L sein. NO₃⁻ reagiert mit Wasserstoff wie folgt:



dabei ist N₂ molekularer Stickstoff. Somit werden 5 Mole H₂ für die Reduktion von 2 Molen NO₃⁻ verbraucht.

1.2.3 Eisen

Nachdem NO₃⁻ verbraucht ist, ist die nächstgünstige Reaktion die Reduktion von Fe⁺³ zu Eisen(II) (Fe⁺²). Obgleich die Eisenreduktion unter ähnlichen thermodynamischen Bedingungen wie die reduktive Entchlorung auftritt, sind eisenreduzierende Bakterien vergleichsweise effizienter als Halorespiratoren. Daher verwenden Eisenreduktionsmittel schnell den vorhandenen Wasserstoff und verhindern eine reduktive Entchlorung, wobei der vorhandene Wasserstoff ungeachtet der Geschwindigkeit mit der Wasserstoff produziert wird, verbraucht wird. Die stöchiometrische Reaktion für die Eisenreduktion lautet wie folgt:

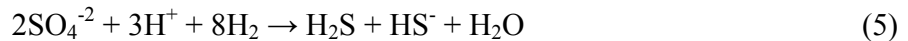


somit wird 1 Mol H₂ verbraucht, um jeweils 2 Mole Fe⁺³ zu reduzieren.

1.2.4 Sulfat

Sulfat (SO₄⁻²) ist der nächstgünstige Elektronenakzeptor. Die Sulfatreduktion ist thermodynamisch ungünstiger als die reduktive Entchlorung. Die SO₄⁻² Reduktion ist jedoch ein

sehr stark konkurrierender Verbraucher für Wasserstoff, wegen der hohen Konzentration in Hinblick auf die Konzentration an chloriertem Lösungsmittel, die typischerweise an kontaminierten Standorten auftritt. Die SO_4^{-2} Reduktionsreaktion mit Wasserstoff lautet wie folgt:



dabei ist H_2S Wasserstoffsulfid und HS^- ist Wasserstoffsulfition. Somit werden 4 Mole H_2 verbraucht, um jeweils 1 Mol SO_4^{-2} zu reduzieren.

1.2.5 Methanbildung

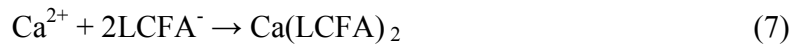
Kohlendioxid (CO_2) ist der letzte Elektronenakzeptor, der von den Bakterien verwendet wird, um Methan (CH_4) zu bilden (dieser Prozess nennt sich Methanbildung). Obgleich die Halorespiration thermodynamisch ungünstiger ist als die Methanbildung, kann unter methanogenen Bedingungen eine reduktive Entchlorung auftreten. Die stöchiometrische Reaktion für die Methanbildung lautet wie folgt:



Somit werden 4 Mole H_2 verbraucht, um jeweils 1 Mol CO_2 zu reduzieren.

1.2.6 Oleatfällung

Kalzium und Magnesium können mit langkettigen Fettsäuren reagieren, so wie denen, die aus CAP18™ hydrolysiert werden, um Oleat zu fällen, das ein relativ unlösliches Substrat ist. Dieser Prozess ist identisch mit der Seifenschaumbildung aus hartem Wasser, hartes Wasser hat hohe Konzentrationen an Kalzium und Magnesium, die mit langkettigen Fettsäuren aus der Seife reagieren und Seifenschaum bilden. Oleate können sich langsam auflösen, um Fettsäuren freizusetzen und den biologischen Abbau zu stimulieren (Yang & McCarty, 2002), obgleich dieser Prozess nicht in Aquiferen gezeigt wurde. Die stöchiometrische Reaktion für die Oleatfällung lautet wie folgt:



dabei ist Ca^{2+} das Kalziumion, LCFA^- ist eine langkettige Fettsäure und $\text{Ca}(\text{LCFA})_2$ ist Kalziumoleat. Somit kann 1 Mol Ca 2 Mole LCFA fällen. Magnesium kann sich auf die gleiche Art und Weise wie Kalzium verhalten. Der zusätzliche Fällungsbedarf muss in die Reagensanforderungen von CAP18™ aufgenommen werden.

1.3 CAP18™ Substrat

CAP18™ ist eine Rezeptur aus lebensmitteltauglichen, langkettigen Fettsäuren, die aus natürlichen pflanzlichen Ölen raffiniert werden und für Umweltsanierungslösungen verwendet werden. Der Einsatz von pflanzlichen Ölen zur Stimulierung des anaeroben Abbaus wurde als erstes von Hunter und Follett (1994) vorgestellt, um Nitrat im Grundwasser zu behandeln. In jüngerer Zeit haben Prüfanlagen (Lee et al., 2000; Zenker et al., 2000) und Betriebsversuche (Boulicault et al., 2000; Lee et al., 2001; Wiedemeier, 2002) gezeigt, dass pflanzliche Öle sehr wirksam für die Stimulierung der reduktiven Entchlorung von chlorierten Lösungsmitteln sind, und das U.S. Air Force Center for Environmental Excellence hat ein offizielles Protokoll für Anwendungen von pflanzlichem Öl entwickelt (Wiedemeier et al., 2001). In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie pflanzliche Öle und die Fettsäuren, die pflanzliche Öle enthalten, den natürlichen Abbau von chlorierten Lösungsmitteln in Grundwasser stimulieren.

1.3.1 Zusammensetzung und mikrobielle Verwendung

Wie die pflanzlichen Öle, aus denen es gewonnen wird, ist CAP18™ eine Mischung aus Verbindungen, die als Triacylglycerine bekannt sind. Triacylglycerine sind Verbindungen, die aus drei Fettsäuremolekülen bestehen, die durch eine Glycerin-Wirbelsäule gebunden werden (Abbildung 1-2). Nach Injektion in einen Aquifer hydrolysieren die Triacylglycerine langsam und setzen die Fettsäuren, wie Ölsäure, frei (Abbildung 1-3). Die Hydrolysereaktionen verlaufen relativ träge und führen zu einer anhaltenden Produktion von Fettsäuren über einen sehr langen Zeitraum (Jahre). Wenn die Mikroben einmal freigesetzt sind, digerieren sie langkettige Fettsäuren, gewinnen somit Energie und produzieren Elektronen für die reduktive Entchlorung

durch einen Prozess, der als Beta-Oxidation bekannt ist. Die Beta-Oxidation ist eine vierstufige, enzymvermittelte Abfolge von Oxidation, Hydrolyse und Thiolysereaktionen, die in allen Mikroben, Tieren und auch Menschen auftreten (Abbildung 1-4; Novak & Carlson, 1970; Stryer, 1988; Lalman & Bagley, 2000, 2001). Während der Beta-Oxidation wird das Fettsäuremolekül gespalten, um Essigsäure und Wasserstoff zu bilden, und die verwandte Fettsäure wird durch eine doppelte Kohlenstoffsequenz gekürzt. Das gekürzte Fettsäuremolekül wiederholt diesem Zyklus, produziert eine Reihe von kurzkettigen Fettsäuren und produziert letztendlich entweder Essigsäure oder Propionsäure. In jedem Zyklus entstehen zwei bis vier Wasserstoffatome, die dann für die Reduktion von organischen chemischen Stoffen (CS) die Anlaß zur Besorgnis geben zur Verfügung stehen. So produziert beispielsweise die Beta-Oxidation von Linolensäure, einer C18 Fettsäure und Bestandteil von CAP18™, 9 Essigsäuremoleküle und 15 H₂-Moleküle (Abbildung 1-5). Das Wasserstoffausbringen liegt ungefähr bei 1 kg H₂ pro 9.7 kg CAP18™.

1.3.2 Verhinderung der Methanbildung

Eine der hauptsächlichen Beschränkungen bei der Substratzugabe zur Stimulierung der reduktiven Entchlorung besteht darin, dass der Aquifer so anaerob wird, dass Mikroben, die als methanogen bekannt sind, wirksamer als die Dehalorespiratoren um Wasserstoff konkurrieren. Unter methanogenen Bedingungen verwenden die Mikroben einen Großteil des Wasserstoffs, der produziert wurde, um Methan (CH₄) zu erzeugen, anstatt die Ziel-CSs zu zerstören, damit wird die Wirksamkeit der Zerstörung von CS deutlich reduziert. Ungesättigte C18 Fettsäuren, die hauptsächlich aus CAP18™ bestehen, sind bekannt als Inhibitoren von acetoklastischen Methanogenen, was zu einer deutlich geringeren Produktion von Methan führt (Galbraith et al., 1971; Hanaki et al., 1981; Koster & Cramer, 1987; Rinzema et al., 1994; Lalman & Bagley, 2000, 2001). Das Ergebnis der verhinderten Methanbildung ist ein wesentlich wirksamerer Einsatz von Wasserstoff für die Zerstörung der Ziel-CSs. Die Verhinderung der Methanbildung schadet nicht den Dehalorespiratoren oder anderen Mikroben, die die Ziel-CSs reduzieren, und ist ein eindeutiges Attribut von ungesättigten C18 Fettsäuren, die in CAP18™ festgestellt werden.

1.4 Anwendbare Verbindungen

Chlorierte Lösungsmittel, wie Tetrachlorethen (PCE), Trichlorethen (TCE), Trichlorethan (TCA) und ihre natürlichen Analyseprodukte, wie Dichlorethen (DCE); Nitrat; Perchlorat; Explosivstoffe; sechswertiges Chrom.

Anhang 1:

Reduktive Entchlorung

Abbildung 1-1 : *PCE reduktive Entchlorung*

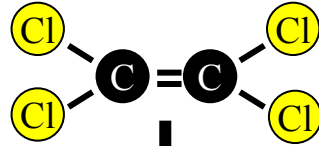
Abbildung 1-2 : *Triacylglycerinstruktur*

Abbildung 1-3 : *Struktur der repräsentativen C18 ungesättigten Fettsäure*

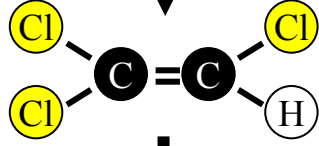
Abbildung 1-4 : *Der Beta-Oxidationskreislauf für Fettsäuren*

Abbildung 1-5 : *Fettsäurenabbausequenz während der Beta-Oxidation*

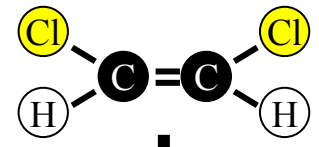
Perchlorethen



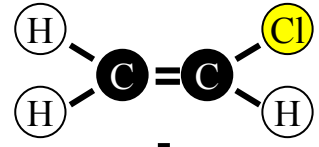
Trichlorethen



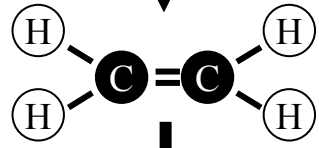
Cis-1,2-Dichlorethen



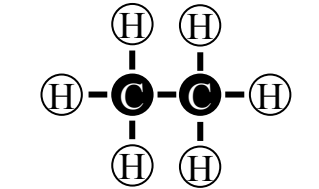
Vinylchlorid



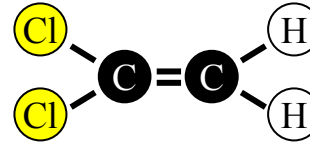
Ethen



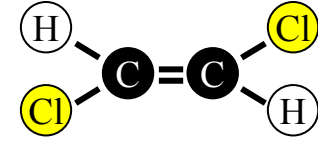
Ethan



Eingeschränkte biologische Reaktion



1,1-Dichlorethen



Trans-1,2-Dichlorethen

ABBILDUNG 1-1
PCE REDUKTIVER
ENTCHLORUNGSPRO-
ZESS

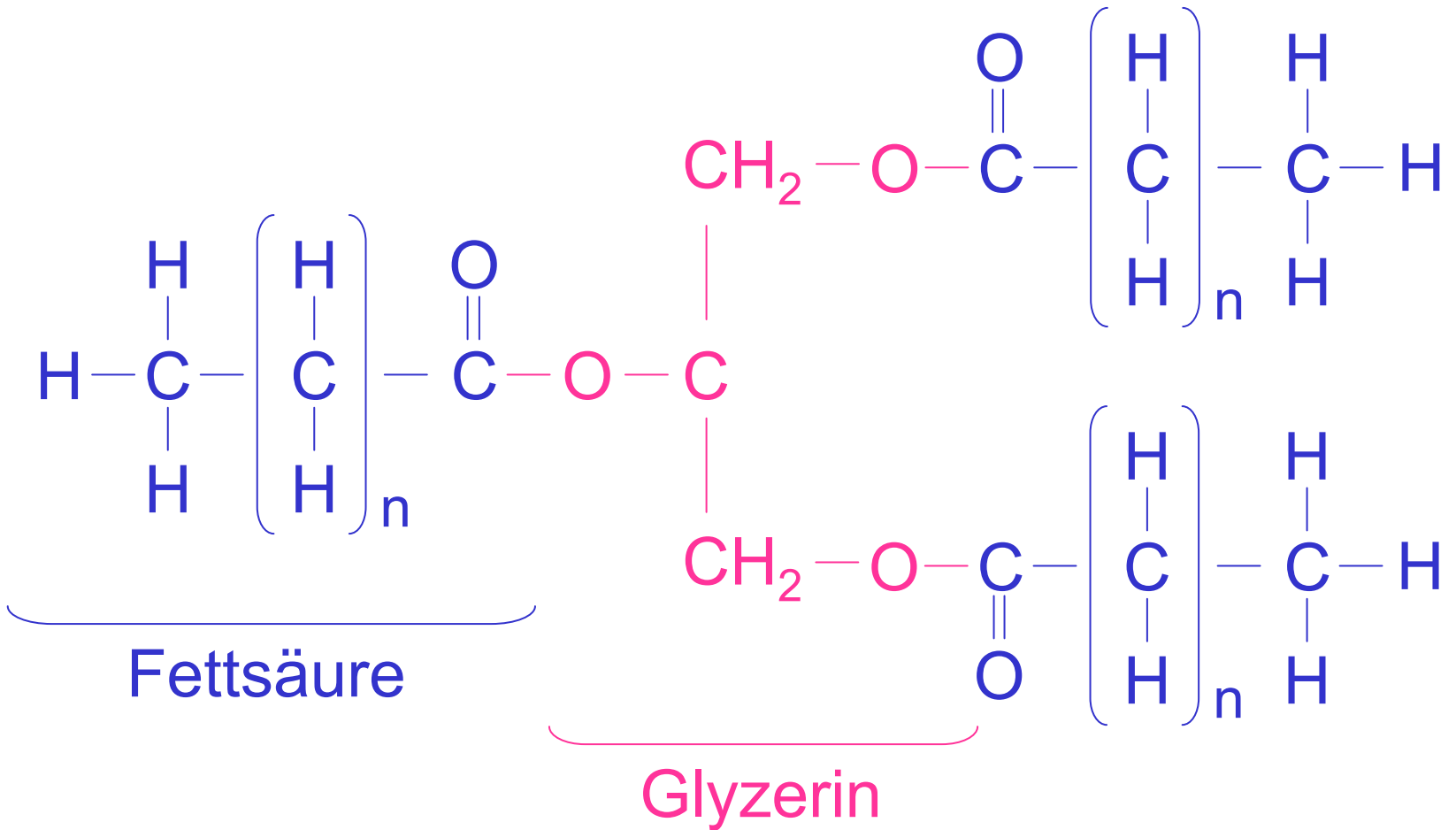
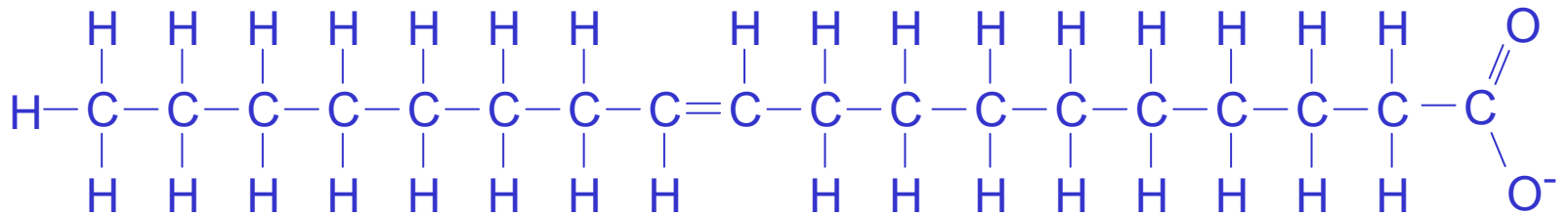


ABBILDUNG 1-2
 TRIACYLGLYZERINS
 TRUKTUR



Ölsäure (C18:1)

ABBILDUNG 1-3
STRUKTUR DER
REPRÄSENTATIVEN
C18
UNGESÄTTIGTEN
FETTSÄURE

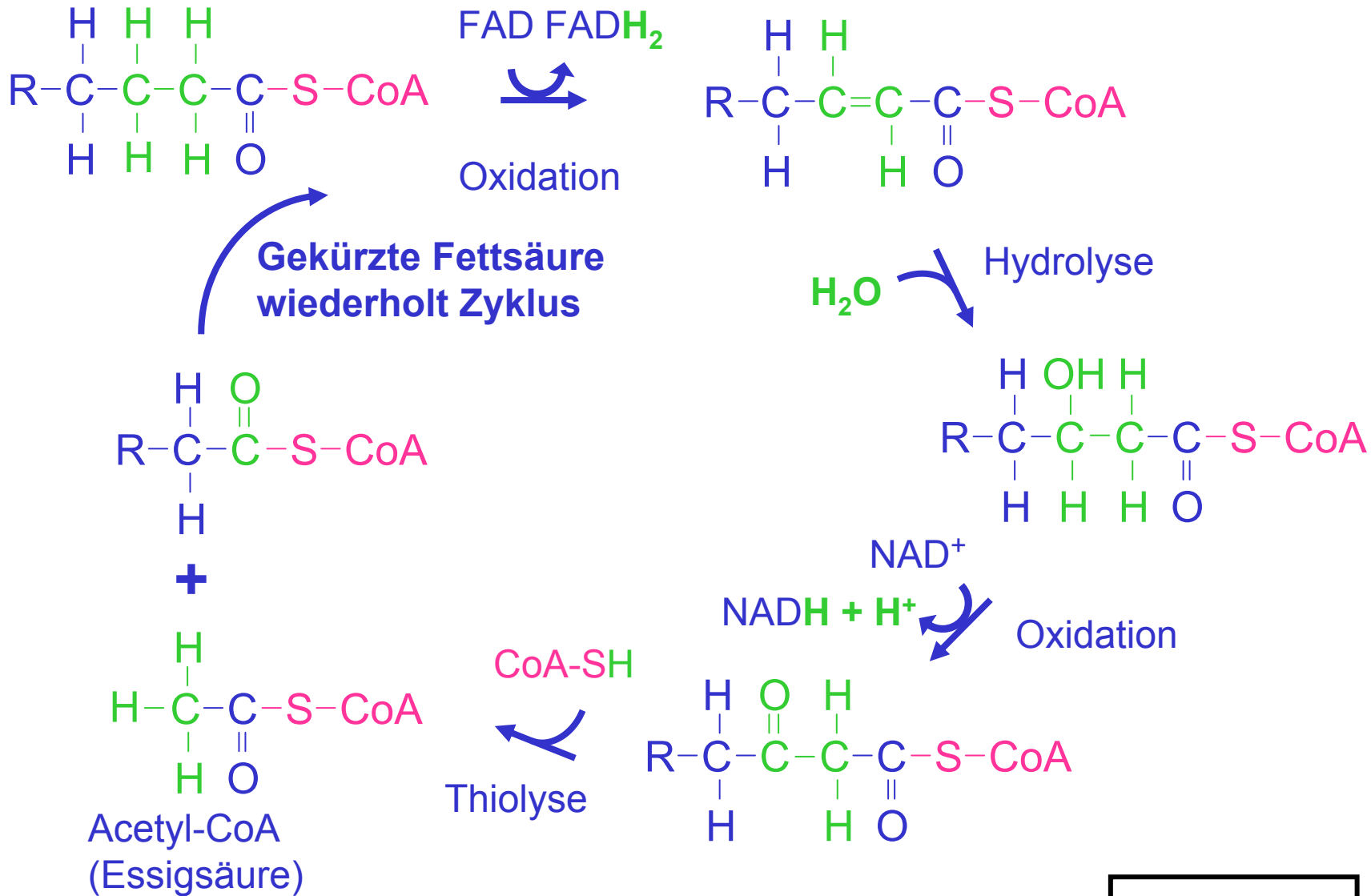
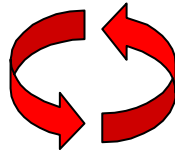
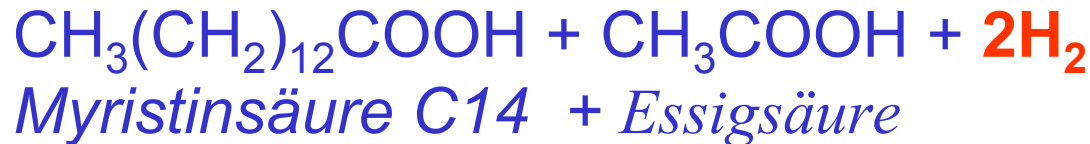
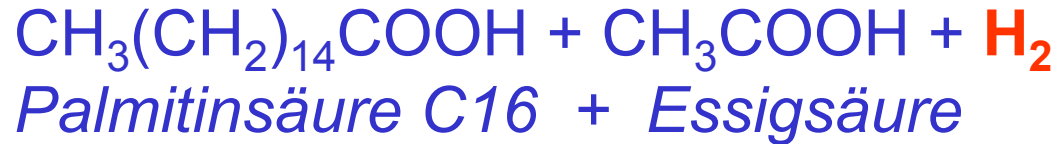
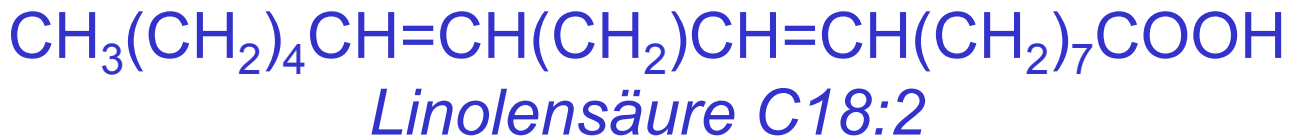


ABBILDUNG 1-4
 DER BETA (β)-
 OXIDATIONSZYKLUS
 FÜR FETTSÄUREN



6 zusätzliche Zyklen



Zum Schluss werden 9 Essigsäuremoleküle

15 **H₂-Moleküle** gebildet