Die Wasserstoffkonzentration als Parameter zur Identifizierung des natürlichen Abbaus von leichtflüchtigen Chlorkohlenwasserstoffen (LCKW) im Grundwasser

vorgelegt von
Diplom-Ingenieur
Marcus Daniel Alter

Von der Fakultät III – Prozesswissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Ingenieurwissenschaften
– Dr.-Ing. –

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender:	Prof. Dr.-Ing Felix Ziegler
Berichter:	Prof. Dr. med. Henning Rüden
	Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Rotard

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 17.08.2006

Berlin, Juni 2006
D 83

Kurzfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wasserstoffkonzentration als Parameter zum Nachweis von natürlichen Abbauprozessen (NA) bei LCKW-Schadensfällen im Grundwasser untersucht. Die bekannte H_2-Probenahmemethode („bubble strip method“) wurde optimiert und eine Methode zur Aufbewahrung von H_2-Proben entwickelt. In Laborversuchen mit Reinkulturen und einer dechlorierenden Mischkultur wurde die H_2-Konzentration bei konkurrierenden Redoxprozessen untersucht.

Zur Optimierung der Extraktion von Wasserstoff aus dem Grundwasser wurde der Eintrittsdurchmesser der hierfür üblicherweise verwendeten Gasmäuse verringert. Mit einem Gasblasenvolumen von 10 ml und Volumenströmen von 50 bis 140 ml/min stellte sich das Extraktionsgleichgewicht mit annähernd optimalem, theoretisch berechnetem Verlauf ein. Bei Volumenströmen > 100 ml/min wurde in 20 min ein 98 %iges Gleichgewicht erreicht. Die H_2-Probenahme kann somit schneller und reproduzierbarer durchgeführt werden als bisher. Es wurde gezeigt, dass H_2-Proben statt der bisher angenommenen zwei Stunden 1-3 Tage aufbewahrt werden können, was eine Analyse der Proben im Labor ermöglicht.

Für die Dechlorierung von PCE wurden mit einer vorhandenen dechlorierenden Mischkultur und mit zwei untersuchten Reinkulturen (*Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei*) H_2-Schwellwerte von 1-2 nM ermittelt. Unterhalb dieser Konzentrationen findet keine Dechlorierung mehr statt. Das trifft in der dechlorierenden Mischkultur auch für die sukzessiven Abbauschritte bis zur Bildung von Ethen zu. Die H_2-Schwellwerte für die Denitrifikation mit der Mischkultur lagen unterhalb der Nachweisgrenze von 0,2 nM. Für die Sulfatreduktion wurden als Schwellwertkonzentrationen 3,1-3,5 nM H_2 und für die hydrogenotrophe Methanogenese 7-9 nM H_2 ermittelt. Die Dechlorierung ist damit gegenüber konkurrierenden Prozessen wie Sulfatreduktion und Methanogenese eindeutig im Vorteil. Die bei Reinkulturen gefundenen H_2-Schwellwertkonzentrationen liegen deutlich über den H_2-Schwellwerten der gleichen Redoxprozesse in Mischkulturen. Es ist möglich, dass in der Mischkultur andere als die untersuchten Reinkulturen die H_2-Konzentration bestimmen. Zur Klärung der Diskrepanz der H_2-Schwellwerte können sowohl H_2-Messungen bei Versuchen mit Reinkulturen als auch weitere Untersuchungen der Interaktion verschiedener Organismen in Mischkulturen beitragen.

Für die Praxis ist festzuhalten, dass die Ermittlung von Dechlorierungszonen mit Hilfe der Wasserstoff-Konzentration relevanter ist, als die Identifizierung der dominierenden Redoxprozesse. Wasserstoff wird in unmittelbarer Nähe der Produktion wieder verbraucht und reflektiert die tatsächlichen kleinskaligen Milieubedingungen am Ort der Messung, während Methan oder gelöstes Eisen durch einen möglichen Transport nicht zwingend die Gegebenheiten direkt am Ort der Messung widerspiegeln. Theoretisch ist auch eine Dechlorierung innerhalb von Biofilmen, wo höhere H_2-Konzentrationen vorliegen, denkbar. Um die Verwendung der Wasserstoffkonzentration als Monitoring-Parameter bei NA-Prozessen zu etablieren, sind weitere Felduntersuchungen bei LCKW-Schadensfällen notwendig. Für diese wiederum ist eine Ausstattung mit der entsprechenden Messtechnik nötig. Unter diesen Voraussetzungen und unter Berücksichtigung künftiger, weitergehender und ergänzender Laboruntersuchungen kann die H_2-Konzentration auch unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten einen alternativen Parameter für ein Langzeit-Monitoring zur Beobachtung von Dechlorierungsprozessen in Schadstofffahnen darstellen.

Abstract

In this study, the hydrogen concentration as parameter to identify natural attenuation processes of volatile chlorinated hydrocarbons was investigated. The currently accepted and recommended bubble strip method for hydrogen sampling was optimized, and a storage method for hydrogen samples was developed. Furthermore batch experiments with a dechlorinating mixed culture and pure cultures were carried out to study H_2-concentrations of competing redox processes.

The extraction of hydrogen from ground water was optimized by a reduced inlet diameter of the usually applied gas sampling bulbs, allowing a maximal turbulent flow and gas transfer. With a gas volume of 10 ml and flow rates of 50 to 140 ml/min, the course of extraction almost followed the theoretical course of equilibration. At flow rates > 100 ml/min a equilibrium of 98 % was achieved within 20 min. Until recently it was generally accepted that hydrogen samples can be stored only for 2 hours and therefore have to be analyzed immediately in the field. Here, it was shown that field samples can be stored for 1-3 days until analysis.

For the dechlorination of tetrachloroethene (PCE), a hydrogen threshold concentration of 1-2 nM was found with the dechlorinating mixed culture as well as with a pure culture of *Sulfurospirillum multivorans* in combination with another pure culture *Methanosarcina mazei*. No dechlorination was detectable below this concentration. With the dechlorinating mixed culture, this finding is valid for all successive dechlorination steps until ethene. The hydrogen threshold concentration for denitrification were below the detection limit of 0,2 nM with the dechlorinating mixed culture. A threshold concentration of 3,1-3,5 nM was found for sulphate reduction and a threshold of 7-9 nM H_2 for hydrogenotrophic methanogenesis. This implies that the natural dechlorination at contaminated sites is preferred to competing processes like sulphate reduction and methanogenesis.

The threshold concentrations using pure cultures were significantly higher than that found for the same redox processes in mixed cultures. It appears that in the dechlorinating mixed culture other organisms control the hydrogen concentration than the investigated ones. Further research should therefore be focussed on other pure culture studies as well as on interactions of microorganisms in mixed cultures. For practical purposes it can be stated that identification of dechlorination zones by means of H_2-concentration is far more relevant at chlorinated solvent sites than the characterization of the dominant electron accepting processes in general by dissolved hydrogen. Other redox parameters like methane or dissolved iron do not necessarily reflect the actual conditions since they can have been transported from somewhere else to the monitoring well. Due to the immediate reuse of hydrogen near the place of production the hydrogen concentration is much more suitable for this purpose. Theoretically, there is also the possibility of dechlorination inside of biofilms even if the bulk hydrogen concentration shows values below the threshold concentration.

In order to establish the dissolved hydrogen concentration as a usual monitoring parameter at natural attenuation on chlorinated solvent sites, more field research has to be done. This requires the adequate equipment, i.e. reduction gas analyzer. Under these preconditions and regarding complementing laboratory experiments, the dissolved hydrogen concentration has the potential to serve as a cost efficient long-term monitoring parameter.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis v

Tabellenverzeichnis ix

Abkürzungsverzeichnis xi

1 Einleitung und Zielsetzung 1

2 Theorie 3

2.1 LCKW – Herkunft, Verwendung und Eigenschaften . . . 3

2.2 Sanierung von LCKW-Schadensfällen . . . 7

2.3 Natural Attenuation . . . 7
2.3.1 Definition. . . . 7
2.3.2 Anwendung von NA . . . 9

2.4 Dechlorierung von chlorierten Ethenen . . . 11
2.4.1 Reduktive Dechlorierung . . . 12
2.4.2 Dechlorierende Organismen . . . 12

2.5 Konkurrierende Redoxprozesse zur Dechlorierung . . . 14

2.6 Wasserstoff als Elektronendonator . . . 16
2.6.1 Das Element Wasserstoff . . . 16
2.6.2 Wasserstoff im Boden . . . 17
2.6.3 Interspecies Hydrogen Transfer . . . 18
2.6.4 Organischer Kohlenstoff im Grundwasser . . . 19
2.6.5 Die H_2-Konzentration als Redoxindikator . . . 20
2.6.5.1 Redoxindikatoren . . . 20
2.6.5.2 H_2-Schwellwertkonzentrationen und Redoxzonierung . . . 21

2.7 Wasserstoffprobenahme aus dem Grundwasser . . . 26
2.7.1 Bubble Strip Methode . . . 26
2.7.2 Randbedingungen bei der H_2-Probenahme . . . 27
2.7.3 Diffusionssammler . . . 28
2.7.4 Extraktion von H_2 in einem PVC-Beutel . . . 28

2.8 Alternative Methoden zur Abschätzung von NA . . . 29
2.8.1 Isotopenfraktionierung . . . 29
2.8.2 Einsatz von Tracern . . . 30

3 Material und Methoden 31

3.1 Chemikalien und Gase . . . 31

3.2 Mikroorganismen und Kultivierung . . . 31
3.2.1 Kultivierung der dechlorierenden Mischkultur . . . 31
3.2.2 Verwendete Reinkulturen . . . 32
3.2.2.1 *Desulfovibrio desulfuricans* . . . 32
3.2.2.2 *Methanosarcina mazei* . . . 33
3.2.2.3 *Methanospirillum hungatei* . . . 33
3.2.2.4 *Sulfurospirillum multivorans* . . . 33

3.3 Analytik . . . 34
3.3.1 pH-Wert . . . 34
3.3.2 Gelöstes Eisen . . . 34
3.3.3 Biochemischer Sauerstoffbedarf . . . 34
3.3.4 Gasförmiger und gelöster Wasserstoff . . . 34
3.3.5 Chlorierte Kohlenwasserstoffe und Gase . . . 35
3.3.5.1 Gasstandards . . . 36
3.3.5.2 LCKW-Standards . . . 36
3.3.6 Acetat, Lactat, Pyruvat, Nitrat, Nitrit und Sulfat . . . 36
3.3.7 Gelöster organischen Kohlenstoffs (DOC) . . . 37
3.3.8 Redoxpotenzial . . . 38

3.4 Batchversuche . . . 38
3.4.1 Verwendete Medien und Lösungen . . . 38
3.4.2 Herstellung der Medien . . . 38
3.4.3 Herstellung der Batchansätze . . . 39
3.4.4 Übersicht über die Batchversuche . . . 40

3.5 DOC-Nutzung in einem kontaminierten Grundwasser . . . 41
3.5.1 Entnahme des Grundwassers . . . 41
3.5.2 DOC-Batchansätze . . . 41

3.6 Probenahme von gelöstem Wasserstoff . . . 42
3.6.1 Simulation der Wasserstoff-Probenahme im Labor . . . 42
3.6.1.1 Aufbau der Anlage zur Simulation der H_2-Probenahme . . . 43
3.6.1.2 Ablauf einer simulierten Probenahme . . . 43
3.6.2 Berechnungen zur Probenahme . . . 44
3.6.3 Aufbewahrung von Wasserstoff-Proben . . . 45
3.6.4 H_2-Probenahme am Standort Hannover-Südstadt . . . 46
3.6.4.1 Durchführung der Wasserstoff-Probenahme . . . 47
3.6.4.2 Minidruckpumpen-H_2-Test . . . 47

4 Ergebnisse und Diskussion 49

4.1 Probenahme von gelöstem Wasserstoff 49
4.1.1 Simulation der Wasserstoff-Probenahme 49
4.1.1.1 EPA-Methode 50
4.1.1.2 Methodenvergleich 50
4.1.1.3 Einfluss der Gasblasengröße 52
4.1.1.4 Schlussfolgerungen für die H_2-Extraktion 54
4.1.1.5 Verwendung von Umgebungsluft oder Gas mit höherer Ausgangskonzentration 57
4.1.2 Aufbewahrung von H_2-Proben 58
4.1.2.1 Weitere Aspekte zur Probenaufbewahrung 59
4.1.2.2 Schlussfolgerungen für die Aufbewahrung von H_2-Proben 60
4.1.3 H_2-Probenahme am Standort Hannover-Südstadt 61
4.1.3.1 Ergebnisse der H_2-Messungen 61
4.1.3.2 Weitere Analysendaten der Messstellen in Hannover-Südstadt 63
4.1.3.3 Bewertung der Ergebnisse am Standort Hannover-Südstadt 63
4.1.4 Zusammenfassung zur Wasserstoff-Probenahme 65

4.2 Konkurrierende Redoxprozesse 67
4.2.1 Redoxprozesse bei Verwendung von Reinkulturen 67
4.2.1.1 *Sulfurospirillum multivorans* 67
4.2.1.2 *Methanosarcina mazei* 75
4.2.1.3 *Desulfovibrio desulfuricans* 77
4.2.1.4 *Sulfurospirillum multivorans & Methanosarcina mazei* 81
4.2.2 H_2-Schwellwerte für Reinkulturen und Kombinationen von Reinkulturen . . 88
4.2.3 Redoxprozesse in einer dechlorierenden Mischkultur 90
4.2.3.1 Dechlorierung von PCE in Konkurrenz zu Denitrifikation und Sulfatreduktion 90
4.2.3.2 Konkurrierende Dechlorierung von PCE, cDCE und VC 93
4.2.3.3 H_2-Konzentrationen bei der Dechlorierung von PCE in 37 ml-Batchsystemen 94
4.2.3.4 Konkurrenz von cDCE-Dechlorierung und Sulfatreduktion 96
4.2.3.5 Dechlorierung von cDCE und Sulfatreduktion bei Hemmung von Methanogenese und Acetogenese 99
4.2.3.6 Sulfatreduktion bei Hemmung von Methanogenese und Acetogenese 102
4.2.3.7 Dechlorierung und Methanogenese im Langzeitversuch 103
4.2.3.8 Temperatureinfluss auf Dechlorierung und H_2-Konzentration 113
4.2.3.9 Dechlorierung mit verschiedenen Elektronendonatoren 116
4.2.3.10 Acetat als Kohlenstoffquelle bei der Dechlorierung von PCE 118
4.2.3.11 Hemmung der Dechlorierung durch Ethin 120
4.2.3.12 Einfluss der Lagerung von Batchansätzen auf die Dechlorierung 122
4.2.4 H_2-Schwellwerte in einer dechlorierenden Mischkultur 123

4.3 Rolle des DOC für den natürlichen Abbau von LCKW 125
4.3.1 Aerobes Nutzungspotenzial des DOC 125
4.3.2 Anaerobe DOC-Nutzung 125

4.4 Bemerkungen zur Versuchsgestaltung 129

4.5 Schlussfolgerungen . . . 131
4.5.1 Wasserstoff als zentrales Stoffwechselprodukt . . . 131
4.5.2 Ort des Schadstoffabbaus und Transportprozesse . . . 132
4.5.3 Verfügbarkeit von Elektronendonatoren, Enhanced Natural Attenuation . . . 135
4.5.4 Wachstum und Bioaugmentation . . . 136
4.5.5 Bedeutung der Wasserstoffkonzentration für NA-Prozesse bei LCKW-Kontaminationen und Ausblick . . . 138

5 Zusammenfassung 141

Literaturverzeichnis 143

Anhang I

A Analytik I

A.1 Gaschromatographie . . . I

A.2 Ionenchromatographie . . . IV

A.3 DOC-Bestimmung . . . IV

B Zusammensetzung der Nährmedien V

Abbildungsverzeichnis

2.1 Verbrauch und Regulation von PER und TRI in Deutschland 4
2.2 Bereitstellung von Elektronendonatoren durch den Abbau organischen Materials und Konkurrenz verschiedener Redoxprozesse um die Elektronendonatoren 14
2.3 Idealisierte Darstellung einer Redoxzonierung mit H_2-Konzentrationen 23
2.4 Schema zur Ermittlung dominierender TEAP in Grundwasser 25

3.1 OC-Signal des LC-OCD eines typischen Oberflächenwassers 38
3.2 Übersicht über die Aspekte, die bei den Batchversuchen betrachtet wurden . . 40
3.3 Versuchsaufbau zur Simulation der Probenahme von Wasserstoff im Grundwasser 43
3.4 Einfluss der Minidruckpumpen auf die Wasserstoffentwicklung 48

4.1 Extraktion von Wasserstoff mit einer 20 ml Gasblase bei verschiedenen Volumenströmen, ermittelt mit der EPA-Methode und 2 ppmv Wasserstoff 51
4.2 Extraktion von Wasserstoff mit einer 10 ml Gasblase bei verschiedenen Volumenströmen, ermittelt mit der EPA-Methode und 2 ppmv Wasserstoff 51
4.3 Extraktion von Wasserstoff mit einer 10 ml Gasblase bei verschiedenen Volumenströmen mit einem reduzierten Eintrittsdurchmesser von 0,6 mm und 2 ppmv Wasserstoff 52
4.4 Gasmaus mit 20 ml Helium bei 100 ml/min und 600 ml/min mit normaler Extraktion (EPA), Eintrittsdurchmesser 2,3 mm 53
4.5 Gasmaus mit 20 ml Helium bei 100 ml/min und 125 ml/min mit einem Eintrittsdurchmesser von 0,6 mm 53
4.6 Extraktion von Wasserstoff bei 2 und 5 ppmv mit 10 ml Gasblasenvolumen bei einem Volumenstrom von 100 ml/min 54
4.7 Extraktion von Wasserstoff unter Verwendung der EPA- und der optimierten Methode für 2 ppmv mit 10 ml Gasblasenvolumen, aufgetragen über das Durchflussvolumen bei unterschiedlichen Volumenströmen 55
4.8 Extraktion von Wasserstoff bei 2 ppmv mit unterschiedlichen Gasblasengrößen bei einem Volumenstrom von 100 ml/min bezogen auf das Durchflussvolumen . 56
4.9 Verbesserte Extraktion von Wasserstoff bei 5 ppmv mit 10 ml Umgebungsluft . 57
4.10 Extraktion von Wasserstoff bei 2 ppmv mit 10 ml Gasblase bei höherer Startkonzentration (3,8 ppmv) 58
4.11 Aufbewahrung von Wasserstoffproben, 10 ml Referenzgas mit 5 ppmv H_2 in 12,5 ml Vials kopfüber in Wasser 59
4.12 H_2-Konzentrationen an ausgewählten Messstellen in Hannover-Südstadt 62
4.13 Überblick über die Versuche zur Konkurrenz bei verschiedenen Redoxprozessen 67
4.14 Verlauf der H_2-Konzentration bei der Acetogenese durch *Sulfurospirillum multivorans* in DSMZ-Medium 120 mit 5 ml H_2 68
4.15 Denitrifikation mit *Sulfurospirillum multivorans* bei einfacher und doppelter Dosierung von 1 ml H_2 69

4.16 Verlauf der H_2-Konzentration bei der Dechlorierung von PCE zu cDCE durch *Sulfurospirillum multivorans* beim Einsatz von 1 und 5 ml H_2 71
4.17 Dechlorierung von PCE durch *Sulfurospirillum multivorans* mit 1 ml H_2 71
4.18 Dechlorierung von PCE durch *Sulfurospirillum multivorans* mit 5 ml H_2 in DSMZ-Medium 120 72
4.19 Dechlorierung von PCE durch *Sulfurospirillum multivorans* mit 2,5 ml H_2 in MH-Medium 73
4.20 Dechlorierung von PCE durch *Sulfurospirillum multivorans* mit Pyruvat 74
4.21 Methanogenese durch *Methanosarcina mazei* mit 5 ml H_2 in Batchansätzen mit PCE 75
4.22 Acetotrophe Methanogenese von *Methanosarcina mazei* 76
4.23 Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* 78
4.24 Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* mit unterschiedlichen H_2-Dargebot (0-10 ml) 79
4.25 Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* mit unterschiedlichen H_2-Dargebot (0-5 ml) 80
4.26 Fortsetzung der Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* unter Zugabe von H_2, PCE und Mischkultur II 81
4.27 Dechlorierung von PCE und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit 5 ml H_2, wiederholte PCE-Zugabe 82
4.28 Dechlorierung von PCE und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit 5 ml H_2, doppelte PCE-Menge 83
4.29 Acetogenese und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit Methanol 84
4.30 Dechlorierung und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit Methanol 85
4.31 Dechlorierung und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit Methanol in einem ausgewählten Versuchsansatz 86
4.32 Dechlorierung und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* bei unterschiedlichen Temperaturen 87
4.33 Anteile der Redoxprozesse am H_2-Verbrauch in der dechlorierenden Mischkultur nach 13 Tagen beim Einsatz von 2,5 ml H_2 (100 μmol) 91
4.34 Zeitlicher Verlauf der H_2-Konzentration in Batchansätzen mit PCE, cDCE und VC als e^--Akzeptoren 93
4.35 Stand der Dechlorierung nach 3 Wochen in Batchansätzen mit PCE, cDCE und VC als e^--Akzeptoren 94
4.36 H_2-Konzentrationen für verschiedene Phasen der Dechlorierung von PCE in 37 ml Batchansätzen 95
4.37 Anteile verschiedener Redoxprozesse am H_2-Verbrauch in Batchansätzen mit cDCE und Sulfat beim Einsatz von 2 ml H_2 (83,4 μmol) 97
4.38 Anteile verschiedener Redoxprozesse am H_2-Verbrauch in Batchansätzen mit cDCE und Sulfat beim Einsatz von 1 ml H_2 (41,7 μmol) zu Versuchsende (Tag 56) 100

4.39 Verlauf der H_2-Konzentration bei der Dechlorierung von cDCE und Sulfatreduktion unter Verwendung von Vancomycin und BES beim Einsatz von 1 ml H_2 . . . 100
4.40 Sulfatreduktion und Methanogenese beim Einsatz verschiedener H_2-Mengen und unter Verwendung der Hemmstoffe BES und Vancomycin . . . 102
4.41 Dechlorierung und Methanogenese in einer dechlorierenden Mischkultur unter wiederholter Zugabe von cDCE und Lactat . . . 104
4.42 Verlauf der LCKW- und H_2-Konzentrationen in einem sterilen Kontroll-Triplett mit PCE und cDCE . . . 105
4.43 Dechlorierung von PCE und Methanogenese bei Verwendung von Lactat als e^--Donator . . . 105
4.44 Dechlorierung von PCE und Methanogenese bei Verwendung von Pyruvat als e^--Donator . . . 106
4.45 Verlauf der H_2-Konzentration bei der Dechlorierung von PCE und Methanogenese mit Pyruvat als e^--Donator . . . 106
4.46 Dechlorierung von cDCE und Methanogenese mit Lactat als e^--Donator . . . 107
4.47 Dechlorierung von cDCE und Methanogenese mit Lactat als e^--Donator und zweiter cDCE-Dosierung . . . 109
4.48 Dechlorierung von cDCE und Methanogenese mit Pyruvat als e^--Donator (mehrfache Zugabe) . . . 110
4.49 Methanogenese mit Lactat als e^--Donator . . . 110
4.50 Methanogenese mit Pyruvat als e^--Donator (mehrfache Zugabe) . . . 111
4.51 Wechsel zur cDCE-Dechlorierung in bisher methanogenen Ansätzen mit Pyruvat als e^--Donator . . . 112
4.52 Verläufe der H_2-Konzentration für die Dechlorierung von PCE bei verschiedenen Temperaturen . . . 113
4.53 Dechlorierung von PCE bei unterschiedlichen Temperaturen . . . 114
4.54 H_2-Konzentrationen bei der Dechlorierung von PCE mit 5 ml H_2, Lactat und Propionat (jeweils 1mM), Ti(III)-NTA als Reduktionsmittel . . . 117
4.55 Verlauf der H_2-Konzentration in Batchansätzen mit phosphatgepuffertem Medium bei der Dechlorierung von PCE mit und ohne Acetat sowie nur mit Acetat 118
4.56 Dechlorierung von PCE und Methanogenese in Batchansätzen mit phosphatgepuffertem Medium mit und ohne Acetat . . . 119
4.57 Verläufe der H_2-Konzentration bei der Dechlorierung von PCE und cDCE unter Zugabe von Ethen bzw. Ethin und unterschiedlichem H_2-Einsatz . . . 121
4.58 Stand der Dechlorierung nach 3 Wochen in Batchansätzen mit PCE und cDCE unter Zugabe von Ethen bzw. Ethin und unterschiedlichem H_2-Einsatz . . . 121
4.59 Dechlorierung in Batchansätzen mit cDCE und 2,5 ml H_2 unter Zugabe von Ethen 122
4.60 BSB-Bestimmung in kontaminiertem Grundwasser der Messstellen 36442 und 180928 in Hannover-Südstadt . . . 126
4.61 Verlauf der H_2-Konzentration, des DOC und Nitrat in Versuchsansätzen mit Grundwasser der Messstellen 36442 (oben) und 180928 (unten) vom Standort Hannover-Südstadt. . . . 127
4.62 LC-OCD-Chromatogramme vor Beginn des Versuches und nach 49 Tagen in den Ansätzen ohne und mit zusätzlicher Mischkultur . . . 128

Tabellenverzeichnis

2.1 Ausgewählte Stoffdaten der LCKW und ihrer Metabolite 5
2.2 Redoxreaktionen, die in Konkurrenz um H_2 als e^--Donator stehen und dazugehörige freie Gibbs'sche Energien 15
2.3 H_2-Konzentrationen, die im Feld und Labor ermittelt wurden 22
2.4 Parameter zur H_2-Probenahme mittels „Bubble strip"-Methode 28

3.2 Überblick über die Versuche der dechlorierenden Mischkultur 40
3.1 Überblick über die Versuche mit Reinkulturen 41
3.3 Grundwasserparameter bei der Probenahme für DOC-Untersuchungen 42
3.4 Messstellenauswahl am Standort Hannover-Südstadt 46

4.1 Empfehlung zur Aufbewahrung von H_2-Proben 61
4.2 H_2-Messwerte an ausgewählten Messstellen in Hannover-Südstadt 61
4.3 H_2-Standards für den Standort Hannover-Südstadt 62
4.4 Weitere Analysendaten der Probenahme in Hannover-Südstadt 64
4.5 Stoffmengenbilanz bei der Sulfatreduktion mit 0-10 ml H_2 79
4.6 Stoffmengenbilanz bei der Sulfatreduktion mit 0-5 ml H_2 80
4.7 H_2-Konzentrationen bei Dechlorierung von cDCE und Sulfatreduktion 97
4.8 Dechlorierung bei stehenden und geschüttelten Ansätzen 123
4.9 Wasserstoff-Schwellwerte für unterschiedliche Redoxprozesse mit der dechlorierenden Mischkultur 124

A.1 Daten zur H_2-Messung für hohe Konzentrationen I
A.2 Daten zur H_2-Messung für Konzentrationen im nanomolaren Bereich II
A.3 Daten zur LCKW-Messung, PE 8700 III
A.4 Daten zur LCKW-Messung, PE 8500 III
A.5 Daten zur Ionenchromatographie IV
A.6 Daten zur DOC-Bestimmung IV

B.1 Medium für die dechlorierende Mischkultur (Stamm-Medium) V
B.2 Abweichende Medienzusammensetzung mit Phosphatpuffer VI
B.3 Medium für *Desulfovibrio desulfuricans* (DSMZ-Medium 63) VI
B.4 Methanosarcina Medium (DSMZ-Medium 120) VII
B.5 Medium für Konkurrenzversuche mit *Sulfurospirillum multivorans*, *Desulfovibrio desulfuricans* und *Methanospirillum hungatei* (MH-Medium) VIII

Abkürzungsverzeichnis

BBodSchG	Bundesbodenschutzgesetz
BES	Bromethansulfonat
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BTEX	Benzol, Toluol, Ethylbenzol, Xylol
cDCE	1,2-cis-Dichlorethen
1,1-DCE	1,1-Dichlorethen
DNAPL	Dense Non Aqueous Phase Liquids
DOC	Dissolved Organic Carbon (gelöster organischer Kohlenstoff)
DSMZ	Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen
ENA	Enhanced Natural Attenuation
EPA	Environmental Protection Agency (auch U.S. EPA)
FID	Flammen-Ionisations-Detektor
GC	Gaschromatograph
KORA	BMBF-Förderschwerpunkt ”Kontrollierter natürlicher Rückhalt und Abbau von Schadstoffen bei der Sanierung kontaminierter Grundwässer und Böden“
LCKW	leichtflüchtige Chlorkohlenwasserstoffe
LHKW	leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe
LC-OCD	Liquid Chromatography - Organic Carbon Detector
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MKW	Mineralölkohlenwasserstoffe
MNA	Monitored Natural Attenuation
MTBE	Methyltertiärbutylether
NA	Natural Attenuation
NPOC	Non-Purgeable Organic Carbon
PCE	Tetrachlorethen, Trivialname: Per(chlorethen)
PDID	Pulsed Discharge Ionization Detector

RGA	Reduction Gas Analyzer
RGD	Reduction Gas Detector
TCE	Trichlorethen, Trivialname: Tri
TEAP	Terminal Electron Accepting Process
tDCE	1,2-trans-Dichlorethen
VC	Vinylchlorid

1 Einleitung und Zielsetzung

Zur Sanierung von Kontaminationen im Grundwasser und Boden wurden in den vergangenen Jahrzehnten vor allem aktive Maßnahmen eingesetzt. Diese reichen vom Auskoffern des betroffenen Bodens über „pump & treat"-Maßnahmen zum Entfernen gelöster Schadstoffe bis zu Reaktiven Wänden, bei denen durch Abbau oder Adsorption der Schadstoffe in der Wand der nachfolgende Teil des Grundwasserleiters vor Kontaminationen geschützt werden soll. Trotz dieser Maßnahmen ist die Anzahl der Altlasten und Altlastverdachtsflächen in den vergangenen Jahren unverändert hoch geblieben. In der Antwort der Bundesregierung auf eine kleine Anfrage [BUNDESREGIERUNG 2004, Drucksache 15/3743] wurden für 2004 insgesamt 10.595 Altlasten sowie 232.558 Altlastverdachtsflächen bundesweit genannt. Unter den häufigsten Kontaminationen befinden sich hierbei halogenierte Kohlenwasserstoffe.

In vielen Altlastenfällen ist die Abnahme der Schadstofffracht bzw. -konzentration beobachtet worden, ohne dass Sanierungsmaßnahmen stattgefunden haben. Dieses Verhalten deutet auf natürliche Selbstreinigungsprozesse hin, die im englischsprachigen Raum mit dem Begriff Natural Attenuation (NA) zusammengefasst werden. Wenn natürliche Reinigungsprozesse in die Sanierungsstrategien einbezogen werden, kann das auf Seiten der Verursacher bzw. Verantwortlichen einerseits zu einer finanziellen Entlastung und aus ökologischer Sicht zu einer Entlastung der Umwelt führen, da Eingriffe in das Ökosystem minimiert werden. Zur Untersuchung der NA-Prozesse ist aus diesem Grund vom BMBF der Förderschwerpunkt „Kontrollierter natürlicher Rückhalt und Abbau von Schadstoffen bei der Sanierung kontaminierter Grundwässer und Böden - KORA" (2002 bis 2007) aufgelegt worden. 2004 hat auch der Rat von Sachverständigen für Umweltfragen empfohlen, natürliche Selbstreinigungsprozesse wissenschaftlich weiter und gründlicher zu untersuchen und Kriterien für die Anwendung in der Praxis zu erarbeiten [KOCH ET AL. 2004].

Zur Einschätzung von NA-Prozessen ist neben der Erfassung hydrogeologischer Daten die Erkundung einer Vielzahl geochemischer Parameter erforderlich. Für biologische Abbauprozesse spielt das Redoxmilieu eine große Rolle. Der Abbau von leichtflüchtigen chlorierten Kohlenwasserstoffen findet hierbei vorrangig unter reduzierenden Bedingungen statt. In der Vergangenheit wurde das Redoxmilieu vielfach durch das Redoxpotenzial charakterisiert. Als Alternative kann die Wasserstoffkonzentration gemessen werden [CHAPELLE ET AL. 1996]. Der Vorteil gegenüber dem Redoxpotenzial liegt darin, dass Wasserstoff als unmittelbarer Reaktionspartner für mikrobiologische Stoffwechselvorgänge auftritt. Zwischen gärenden Organismen, die H_2 produzieren und respiratorischen Organismen, die H_2 verbrauchen wird Wasserstoff ausgetauscht. Dieser Prozess wird auch Interspecies Hydrogen Transfer genannt [ACHTNICH ET AL. 1995b; CORD-RUWISCH ET AL. 1988; THIELE & ZEIKUS 1988; MORKIN ET AL. 2000]. In der Regel bestimmen die H_2-verbrauchenden Organismen die H_2-Konzentration. Das bedeutet, in der umgebenden Wasserphase wird die H_2-Konzentration gemessen, unterhalb derer eine Nutzung thermodyna-

misch nicht mehr möglich ist. Für unterschiedliche Redoxreaktionen existieren abgestufte H_2-Schwellwertkonzentrationen, die LOVLEY & GOODWIN [1988] erstmalig im Feld nachgewiesen haben. Die Affinität der Mikroorganismen zu Wasserstoff steigt dabei in folgender Reihenfolge der Reaktionen: Methanogenese > Sulfatreduktion > Eisen(III)-Reduktion > Mangan(IV)-Reduktion > Nitratreduktion > aerobe Atmung. Die reduktive Dechlorierung ist bezüglich der H_2-Schwellwertkonzentration im Bereich der Sulfatreduktion bzw. Methanogenese einzuordnen. In Laborversuchen ermittelten YANG & MCCARTY [1998] mit Tetrachlorethen (PCE) und 1,2-cis-Dichlorethen (cDCE) H_2-Konzentrationen von ca. 2 nM. LÖFFLER ET AL. [1999] gibt einen H_2-Schwellwert von $< 0{,}3$ nM für die respiratorische Dechlorierung an. Danach sollte eine Dechlorierung unter sulfatreduzierenden bzw. methanogenen Bedingungen möglich sein [WIEDEMEIER ET AL. 1998]. CHAPELLE ET AL. [1996] fanden 1-4 nM H_2 unter sulfatreduzierenden Bedingungen im Untergrund und > 11 nM unter methanogenen Bedingungen.

Die Probenahme von Wasserstoff erfolgt im Feld mit Hilfe der „Bubble strip method“, bei der das Grundwasser an die Oberfläche gepumpt wird und dort eine Gasmaus durchfließt [CHAPELLE & MCMAHON 1991]. In dieser befindet sich eine Gasblase mit definiertem Volumen. Es wird so lange gepumpt, bis sich die Konzentrationen in Gas- und Flüssigphase im Gleichgewicht befinden. Bisher wird in der Fachliteratur davon ausgegangen, dass Wasserstoffproben unmittelbar vor Ort gemessen werden müssen und höchstens 2 Stunden [LOVLEY ET AL. 1994] aufbewahrt werden können. Neuere Studien zeigen, dass Proben auch länger aufbewahrt werden können und somit spätere Analysen im Labor möglich sind [HEIMANN ET AL. 2003; ALTER & STEIOF 2005b].

Ziel dieser Arbeit war es, die H_2-Konzentration als Parameter zur Einschätzung von NA-Prozessen, insbesondere im Bereich von LCKW-Schadensfällen näher zu untersuchen. Dazu wurden folgende Aspekte betrachtet:

Probenahme. Die bisher angewandte Methode der Probenahme wurde optimiert. Eine Methode zur begrenzten Aufbewahrung der H_2-Proben wird vorgestellt.

Feldmessungen. Am Standort Hannover-Südstadt, einem LCKW-Schadensfall, der im Rahmen des BMBF-Schwerpunktes KORA näher untersucht wird, wurden H_2-Proben aus kontaminiertem Grundwasser entnommen und analysiert.

Konkurrierende Redoxprozesse. Mit einer vorhandenen dechlorierenden Mischkultur sowie verschiedenen Reinkulturen wurden Batchversuche durchgeführt, um die Dechlorierung als konkurrierenden Redoxprozess um Wasserstoff näher einordnen zu können und Rückschlüsse auf mögliche Probleme bei natürlichen NA-Prozessen ziehen zu können.

DOC (gelöster organischer Kohlenstoff). Bei der Frage der Nachhaltigkeit von Dechlorierungsprozessen muss untersucht werden, in welchem Maße im Grundwasser Elektronendonatoren aus natürlichen Quellen vorliegen, die als Wasserstoffdonator dienen. Hierzu wurde Grundwasser vom Standort Hannover-Südstadt entnommen und die Verwertung des vorhandenen DOC für die Denitrifikation bzw. reduktive Dechlorierung untersucht. Parallel dazu wurde die H_2-Konzentration beobachtet.

2 Theorie

Die theoretischen Grundlagen dieser Arbeit umfassen zum einen die Herkunft und Wirkung der leichtflüchtigen Chlorkohlenwasserstoffe (LCKW). Zur Sanierung der durch unsachgemäße Anwendung entstandenen Boden- und Grundwasserkontaminationen werden verschiedene Verfahren verwendet, auf die kurz eingegangen wird. Das Hauptaugenmerk liegt hierbei auf den natürlichen Selbstreinigungsprozessen (Natural Attenuation), die in den letzten Jahren verstärkt Aufmerksamkeit erlangt haben. Zum anderen werden die biologischen Abbauprozesse der LCKW und konkurrierende Redoxprozesse beschrieben. Dabei kommt Wasserstoff als dominierendem Intermediärprodukt biologischer Stoffwechselvorgänge eine besondere Bedeutung zu. Dem organischen Kohlenstoff im Boden, der bei den biologischen Prozessen als Wasserstoff-Donator dient, ist ein weiterer Abschnitt gewidmet. Der Zusammenhang zwischen der Wasserstoffkonzentration und den Redoxprozessen sowie die Ermittlung von H_2-Konzentrationen aus dem Grundwasser werden ebenfalls dargestellt. Zum Schluss werden kurz weitere aktuelle Untersuchungsmethoden zum Nachweis der natürlichen Dechlorierung, die Isotopenfraktionierung und der Einsatz von Tracern angesprochen.

2.1 LCKW – Herkunft, Verwendung und Eigenschaften

Zu den leichtflüchtigen chlorierten Kohlenwasserstoffen gehören chlorsubstituierte Methane, Ethane und Ethene und höher chlorierte Aliphaten mit Siedepunkten bis 150°C. Die hochchlorierten Ethene Tetrachlorethen (PCE) und Trichlorethen (TCE), auch unter den Trivialnamen PER und TRI bekannt, haben aufgrund ihrer fehlenden Entflammbarkeit und geringen akuten Toxizität als Lösungsmittel in vielen technischen Prozessen Anwendung gefunden. PCE wird hauptsächlich in chemischen Reinigungen verwendet, TCE zur Metallentfettung [DEKANT & VAMVAKAS 1994]. Auch in Lacken, Farben und Klebstoffen sowie in der Elektro-, Textil-, Papier- und Zellstoffindustrie werden LCKW eingesetzt [BLUME 1990]. Bereits seit den 1930er Jahren dient z. B. Vinylchlorid (VC) als Ausgangsstoff zur Herstellung von Polyvinylchlorid (PVC) [BOLT 1997].

Die erste anthropogene Produktion von PCE fand 1821 statt, als Faraday PCE durch thermische Zersetzung von Hexachlorethan herstellte [HICKMANN 1993]. In Deutschland begann die Produktion von PCE 1918. Etwas später setzte die Synthese von TCE ein. Ab 1930 wurden beide Stoffe über den Chemikalienhandel vertrieben [STUPP 2005]. In den 90er Jahren wurden weltweit jährlich 1 Mio t PCE verbraucht [FENT 1998]. Der Verbrauch an chlorierten Lösungsmitteln ging in Deutschland von weit über 100.000 t im Jahr 1986 auf etwa 30.000 t im Jahr 2000 zurück [UMWELTBUNDESAMT 2000]. Abbildung 2.1 zeigt die Entwicklung des Verbrauchs für Per- und Trichlorethen von 1964-1995. Aufgrund der Novellierung der 2. BImSchV [BUNDESTAG 2004b] dürfen seit 1994 in Deutschland nur noch

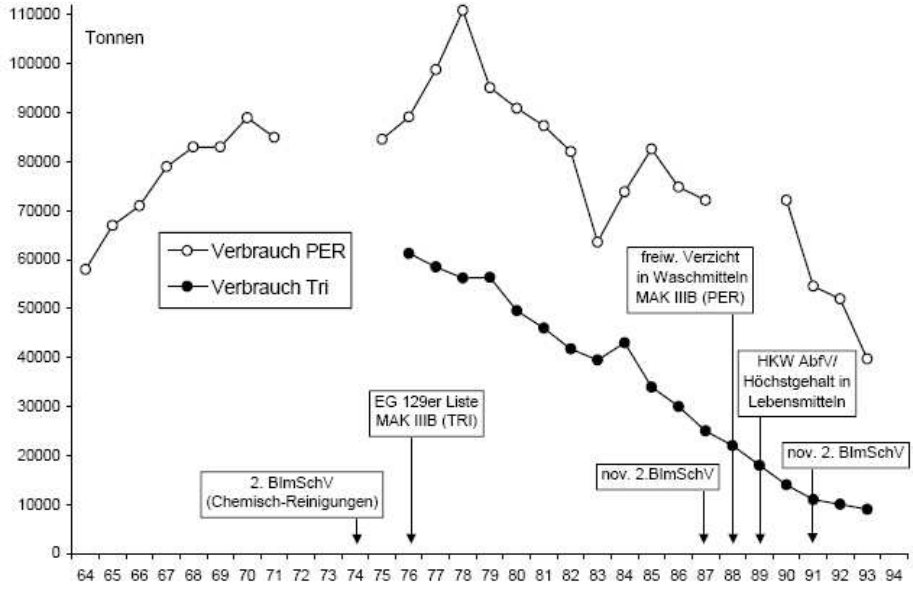


Abbildung 2.1: Verbrauch und Regulation von PER und TRI in Deutschland (1964-1995) [JACOB 1999]

die Chlorkohlenwasserstoffe Dichlormethan, Tetrachlorethen und Trichlorethen eingesetzt werden. Außerdem wurden mit dieser Verordnung geschlossene Kreisläufe vorgeschrieben [SONNENSCHEIN ET AL. 2003], so dass die anwendungsbedingte Freisetzungsrate Mitte der 1990er Jahre auf etwa 50 % sank [UMWELTBUNDESAMT 2000]. Für 1997 werden hier noch Emissionen von 400 t/a PCE und 750 t/a TCE genannt. Zuvor konnten die Emissionen dem Einsatz annähernd gleichgesetzt werden. Weiterführende Informationen zu diesem Thema gibt THELOKE [2005]. Nach Angaben des Hauptverbandes der gewerblichen Berufsgenossenschaften von 2003 haben sich deutsche Hersteller aus der Produktion von PER und TRI zurückgezogen und der einzige Hersteller ist DOW [SONNENSCHEIN ET AL. 2003].

In den vergangenen Jahrzehnten sind aufgrund des unachtsamen und teilweise sorglosen Umgangs mit den chlorierten Lösungsmitteln und infolge von Unfällen große Mengen dieser Stoffe überwiegend in die Atmosphäre emittiert, aber auch in den Untergrund eingetragen worden. Durch den vielfältigen Einsatz lassen sich LCKW-Kontaminationen an vielen Orten finden. Typische Standorte sind Militärliegenschaften, metallverarbeitende Betriebe, Chemikalienhandlungen, chemische Wäschereien sowie auch Deponien mit Ablagerungen aus diesen Bereichen. Bedingt durch die große Persistenz der chlorierten Ethene stellen diese auch heute noch ein großes Problem für die Schutzgüter Boden und Grundwasser dar. In Tabelle 2.1 sind einige physikalische und chemische Eigenschaften der LCKW und ihrer Abbauprodukte aufgeführt, die auch deren Verhalten im Untergrund beeinflussen.

PCE, TCE und die dichlorierten Ethene gehören zu den DNAPL (dense non aqueous phase liquids) und sinken aufgrund ihrer höheren Dichte auf die Sohle des Grundwasserleiters. Die geringen Wasserlöslichkeiten verhindern zunächst eine stärkere Ausbreitung im Aquifer. Bedingt durch eine niedrige Viskosität dringen die LCKW schnell in Porenräume ein und weisen ein hohes vertikales Migrationspotenzial auf. Die dynamische Viskosität, ein

Tabelle 2.1: Ausgewählte Stoffdaten der LCKW und ihrer Metabolite, nach RIPPEN [2005] und *GOSSETT [1987]

Stoff	Molekulargewicht	Wasserlöslichkeit	Henry-Koeffizient bei 25°C, 1013 mbar	Siedepunkt bei 1013 mbar	Dichte bei 20°C
	[g/mol]	[g/l]	[-]	[°C]	[g/ml]
PCE	165,83	0,14 (0-30°C)	0,723*	121,1	1,62
TCE	131,39	1,11 (10-25°C)	0,392*	86,6	1,46
cDCE	96,94	5,1 (10-25°C)	0,167*	60,0	1,28
tDCE	96,94	6,3 (25°C)	0,384*	48,0	1,26
VC	62,50	1,6 (20-25°C)	1,137*	−13,7	0,91
Ethen	28,05	0,13 (25°C)	8,7	−103,7	1,26

Maß für die Zähigkeit einer Flüssigkeit, liegt bei den LCKW zwischen 0,4 und 0,6 Pa·s, die von Wasser beträgt 1 Pa·s [STUPP 2005]. Ein hoher Oktanol-Wasser-Koeffizient begünstigt die Sorption an der organischen Bodenmatrix. Infolge dieser Eigenschaften und des daraus resultierenden Verhaltens kommt es zur Ausbildung langer Schadstofffahnen, in denen die LCKW-Konzentrationen zwar relativ gering sind, die tolerierbaren Konzentrationen aber erheblich überschritten werden. Da der biologische Abbau nur in gelöster Form möglich ist, verschlechtert das Vorliegen von LCKW in Phase die Chancen einer natürlichen Sanierung. Auf die Sanierungsmöglichkeiten wird im folgenden Abschnitt 2.2 näher eingegangen.

Die toxikologischen Wirkungen der LCKW werden ebenfalls durch die genannten Stoffeigenschaften bestimmt. LCKW sind lipophil und werden schnell über die Haut, im Atmungs- oder Verdauungstrakt resorbiert [KOCH 1991]. Langfristig können sie Leber- und Nierenschäden hervorrufen. In hohen Konzentrationen sind auch Auswirkungen auf das Zentralnervensystem möglich [GELLER 1998]. Dabei kann es laut BOLT [1997] zu narkotischen Effekten kommen. Die narkotische Wirkung lipophiler Verbindungen ist jedoch ein rein physikalischer Effekt. Früher wurde z. B. TCE auch klinisch als Inhalationsnarkotikum eingesetzt, heute werden nur noch Chlorfluoralkane benutzt [DEKANT & VAMVAKAS 1994; HENSCHLER 1994].

Da Tri- und Tetrachlorethen als Lösungsmittel sowie Vinylchlorid als Monomer von PVC unter den chlororganischen Verbindungen die weiteste Verbreitung gefunden haben, sind chlorierte Ethenderivate toxikologisch am intensivsten untersucht worden. Ethen selbst wirkt bereits zentraldepressorisch. Mit der Einführung von Chloratomen steigt die Wirkung in Abhängigkeit von der Zahl der Chlorreste. HENSCHLER [1994] differenziert die Wirkungen nach akuter und chronischer Toxizität, gentoxischen, kanzerogenen und reproduktionstoxischen Wirkungen. Die akute Inhalationstoxizität nimmt danach, mit Ausnahme von Vinylidenchlorid (1,1-DCE) mit steigender Anzahl der Chloratome zu. Bei intraperitonealer[1] Zufuhr ist eine deutlich höhere Toxizität von TCE gegenüber PCE beobachtet worden. Für die chronische Toxizität konnte kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Wirkung und der Anzahl der Chlorreste festgestellt werden, was auf unterschiedliche

[1] intraperitoneal: in den Bauchraum injiziert

Wirkmechanismen zurückgeführt wurde. Die gentoxische Wirkung von VC und 1,1-DCE ist eindeutig, während die Ergebnisse bzgl. der 1,2-Dichlorethene keine Aussage zulassen und für TCE und PCE unter den gewählten Bedingungen keine Gentoxizität nachzuweisen ist. Vinylchlorid hat sich auch als kanzerogen erwiesen, was bei 1,1-DCE noch unklar ist. Die kanzerogene Potenz von TCE und PCE wird als gering eingestuft. Beide Stoffe erzeugen an Ratten Nierenzelltumore. Reproduktionstoxische Wirkungen wurden in bisherigen Untersuchungen weder bei VC, noch bei 1,1-DCE, TCE und PCE festgestellt [HENSCHLER 1994].

Die hauptsächliche Wirkung der LCKW im Körper beruht auf den gebildeten Metaboliten, toxischen Epoxiden [BOLT 1997; GELLER 1998]. In der Regel werden die chlorierten Ethenderivate durch P450-abhängige Monooxygenasen oxidativ aktiviert. Es entstehen hoch elektrophile Intermediate, Oxirane, die direkt essentielle Makromoleküle wie z. B. die DNA alkylieren können. Sie werden auch zu chlorierten Aldehyden oder Säuren, wie beispielsweise Trichloracetaldehyd oder Trichloressigsäure umgelagert. Diese Umlagerungsprodukte haben zwar gegenüber den chlorierten Oxiranen eine verminderte Reaktivität, sind aber auch zur Acylierung bzw. Alkylierung in der Lage. PCE und TCE können auch durch eine enzymatische Kopplung an Glutathion aktiviert werden. Nach weiteren enzymatischen Umsetzungen entstehen Intermediate, die ebenfalls DNA alkylieren können [HENSCHLER 1994]. Nach BOLT [1997] hat dieser Nebenweg eine in quantitativer Hinsicht untergeordnete Bedeutung. Allerdings führt dieser Weg zum Ausscheidungsprodukt S-Trichlorethenyl-Mercaptursäure über das Enzym Beta-Lyase in der Niere zu toxischen Metaboliten, die selektiv kanzerogene Effekte an den Nierentubuli entfalten können [HENSCHLER 1994; BOLT 1997].

Das Gefährdungspotenzial der LCKW hat seinen Niederschlag sowohl in der wiederholten Senkung von MAK-Werten als auch in strengen Grenzwerten im Trinkwasser gefunden. Die MAK-Werte für PCE wurden von 200 ml/m^3 1958 zwei Jahre später auf 100 ml/m^3 und 1982 auf 50 ml/m^3 gesenkt. 1993 wurde PCE in die Kategorie 3 der krebserzeugenden Stoffe eingestuft [SONNENSCHEIN ET AL. 2003]. Die Trinkwasserverordnung von 1990 enthielt einen summarischen Grenzwert von 0,01 mg/l für organische Chlorverbindungen (1,1,1-Trichlorethan, Trichlorethen, Tetrachlorethen und Dichlormethan) [BUNDESTAG 1990]. Für Tetrachlormethan galt ein Wert von 0,003 mg/l. In der Trinkwasserverordnung von 2001 gilt der summarische Grenzwert von 0,01 mg/l jetzt für PCE und TCE. Für VC wird ein Grenzwert von 0,0005 mg/l angegeben [BUNDESTAG 2001, Anlage 2 zu § 6 Teil I/II]. Die amerikanische Umweltbehörde EPA weist für alle chlorierten Ethene einzelne Grenzwerte aus. Diese liegen für VC bei 0,002 mg/l, für 1,1-DCE bei 0,007 mg/l, für 1,2-cis-DCE bei 0,07 mg/l, für 1,2-trans-DCE bei 0,1 mg/l und für TCE und PCE bei jeweils 0,005 mg/l [UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (U.S. EPA) 2003]. In der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung [BUNDESTAG 2004a] wird in Anhang 2 für den Wirkungspfad Boden-Grundwasser ein Prüfwert von 0,01 mg/l für die Summe der halogenierten C_1- und C_2-Verbindungen genannt. Diese gelten für das Sickerwasser im Übergangsbereich von der ungesättigten zur gesättigten Bodenzone. Innerhalb dieser erfolgt die Beurteilung nach wasserrechtlichen Vorschriften.

2.2 Sanierung von LCKW-Schadensfällen

LCKW-Kontaminationen wurden in der Vergangenheit häufig mittels „pump & treat"-Verfahren behandelt. Das kontaminierte Grundwasser wurde oberirdisch gereinigt und wieder infiltriert. Bedingt durch die geringe Wasserlöslichkeit und abhängig von der Sorptionsfähigkeit des Bodens wurden hierbei jedoch in den meisten Fällen unbefriedigende Ergebnisse erzielt. Zum einen wurden in einigen Fällen Jahre nach einer scheinbar erfolgreichen Sanierung erneut erhöhte Schadstoffkonzentrationen nachgewiesen [MACKAY & CHERRY 1989], zum anderen werden auch häufig nicht die gewünschten Sanierungszielwerte erreicht. In der Folge dieser unwirtschaftlichen Sanierungen sind alternative Konzepte entstanden. Dazu gehören reaktive Wände, in denen die chlorierten Kohlenwasserstoffe chemisch an Fe^0 reduziert werden und eine Verfahrensvariante „Funnel and Gate", wo die Behandlung des fließenden Grundwassers auf einen bestimmten Raum eingeengt wird. Der Vorteil dieser Verfahren liegt darin, dass die Sanierung direkt im Aquifer und ohne größeren Energieeintrag von außen stattfindet [DAHMKE 1997]. Weitere Verfahren, die in der jüngsten Vergangenheit zur Sanierung von LCKW-Kontaminationen eingesetzt werden, sind das Methanbiostimulationsverfahren und das ISCO-Verfahren (*in situ* chemical oxidation) [ZITTWITZ ET AL. 2003; LI & SCHWARTZ 2004].

Die genannten Verfahren befinden sich alle noch im Stadium der Erprobung und werden bisher in erster Linie in geförderten Projekten eingesetzt. Bei den reaktiven Wänden ist das in Deutschland der Forschungsverbund RUBIN (Reaktionswände und -barrieren im Netzwerkverbund), der zur Zeit Projekte an fünf Standorten beinhaltet [BURMEIER & BIRKE 2005]. BURMEIER & BIRKE [2005] nennen zwei Gründe für die Zurückhaltung beim Einsatz reaktiver Wände. Die Kenntnisse über das Langzeitverhalten sind aufgrund fehlender Langzeitstudien ungenügend. Weiterhin ist die Wirtschaftlichkeit dieses Verfahrens noch nicht nachgewiesen.

Infolge der großen Anzahl an Grundwasserschadensfällen und den begrenzten finanziellen Mitteln, die zu deren Beseitigung zur Verfügung stehen, sind viele Kontaminationen zwar erfasst aber noch nicht saniert worden. Dabei hat sich im Rahmen von Monitoringprogrammen herausgestellt, dass im Boden/Grundwasser ein gewisses Selbstreinigungspotenzial, wie es auch aus Fließgewässern bekannt ist, vorhanden ist. Dieses wird im englischen Sprachraum mit dem Begriff Natural Attenuation (NA) bezeichnet und im folgenden Abschnitt allgemein und für LCKW-Schadensfälle spezieller beschrieben.

2.3 Natural Attenuation

2.3.1 Definition.

Der Begriff Natural Attenuation (NA) umfasst alle Prozesse im Untergrund, die der Verringerung der Masse, Toxizität, Mobilität, des Volumens und der Konzentration von Schadstoffen im Boden dienen [AGARIUS ET AL. 2004]. Hierzu gehören:

- biologische Prozesse wie Mineralisierung, Humifizierung und cometabolischer Abbau,

- chemische Prozesse wie Fällung,
- physiko-chemische Zersetzung wie radioaktiver Zerfall, Oxidation an Eisen und
- physikalische Prozesse wie
  - Adsorption, Absorption,
  - Verdünnung (Dispersion, Diffusion) und
  - Verflüchtigung (Verdunstung, Sublimation).

Die Definition ist angelehnt an die amerikanische OSWER Directive von 1997 [UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (U.S. EPA) 1999], in der der Begriff Monitored Natural Attenuation wie folgt beschrieben wird.

> The term „monitored natural attenuation," as used in this Directive, refers to the reliance on natural attenuation processes (within the context of a carefully controlled and monitored clean-up approach) to achieve site-specific remedial objectives within a time frame that is reasonable compared to other methods. The „natural attenuation processes" that are at work in such a remediation approach include a variety of physical, chemical, or biological processes that, under favorable conditions, act without human intervention to reduce the mass, toxicity, mobility, volume, or concentration of contaminants in soil and ground water. These in-situ processes include, biodegradation, dispersion, dilution, sorption, volatilization, and chemical or biological stabilization, transformation, or destruction of contaminants.

Neben den vom Menschen im wesentlichen unbeeinflussten Prozessen, die unter Natural Attenuation subsummiert werden, wird die Beobachtung bzw. Einflussnahme auf die natürlichen Reinigungsprozesse mit den Begriffen Monitored Natural Attenuation (MNA) bzw. Enhanced Natural Attenuation (ENA) beschrieben. Letzteres kann im Grunde genommen auch den bisher bekannten *in situ* Sanierungs-Maßnahmen zugeordnet werden, da hier ein direkter Eingriff in die Verhältnisse im Boden bzw. Grundwasser erfolgt.

Mit der rechtlichen Einordnung von Natural Attenuation haben sich verschiedene Autoren befasst [PINTHER 2000; MÜLLER & RINDFLEISCH 2004; AGARIUS ET AL. 2004]. Eine Implementierung in die Gesetzgebung bezüglich der Schutzgüter Boden und Grundwasser hat bisher noch nicht stattgefunden. Natural Attenuation und Monitored Natural Attenuation wird bei VERSTEYL & SONDERMANN [2002] als administrativer Ordnungsrahmen verstanden, bei STEINER & STRUCK [2003] nur als Untersuchungsmaßnahme. Die Autoren der ITVA-Arbeitshilfe definieren Natural Attenuation als Standortgegebenheit, lassen die Einordnung von Monitored Natural Attenuation in Sanierungs-, Schutz- bzw. Beschränkungs- oder Überwachungsmaßnahme offen und qualifizieren Enhanced Natural Attenuation als Sanierungsmaßnahme im Sinne von § 2 Abs.7 BBodSchG [AGARIUS ET AL. 2004]. EU-rechtlich wird ein großräumiger Bewirtschaftungsansatz verfolgt, der sich an Flusseinzugsgebieten und Grundwasserkörpern orientiert [EUROPÄISCHES PARLAMENT 2000, Art. 4 Abs. 1 b]. Die europäische Wasserrahmenrichtlinie (EG-WRRL) verpflichtet die Mitgliedsstaaten der EU zu bestimmten Grundwasser-Umweltzielen. Dazu gehören Maßnahmen, die eine Verschlechterung des Grundwasserzustandes verhindern, der Schutz, die Verbesserung und Sanierung der Grundwasserkörper, um einen guten mengenmäßigen

und chemischen Zustand zu erreichen, sowie die Umkehr von Trends bei zunehmenden Schadstoffkonzentrationen. Von den ITVA-Autoren [AGARIUS ET AL. 2004] wird festgestellt, „dass weder das deutsche Wasserrecht noch die wasserrechtlichen Vorgaben der EU die Berücksichtigung von NA-Prozessen ausschließen."

Eine weitere Schwierigkeit bei der Anwendung von Monitored Natural Attenuation bildet die Haftung bei Nichterreichen der Sanierungszielwerte. Hier fehlen Erfahrungen zur Absicherung des Restrisikos, gleichfalls gibt es bisher keine Bewertungsmaßstäbe hinsichtlich Kosten und Nutzen. Da sich die NA-Verfahren und Methoden noch im Forschungsstadium befinden, werden Entscheidungen der Behörden erschwert, die überwiegend auf dem Stand der Technik getroffen werden [AGARIUS ET AL. 2004; MÜLLER & RINDFLEISCH 2004]. Zieht man jedoch die gerade für LCKW-Schadensfälle unbefriedigenden Ergebnisse mit bekannten Sanierungsverfahren heran, so wird dies sicher zu einer breiteren Erprobung und Praxis von MNA und ENA führen. Eine Schwierigkeit entsteht hier bei den zeitlichen Rahmenbedingungen, wenn zum einen die Umsetzung von MNA Folgenutzungen der betroffenen Flächen verhindert [AGARIUS ET AL. 2004], zum anderen ein Zeitpunkt bis zum Erreichen der Sanierungsziele gesetzt werden soll. In den Niederlanden beträgt der zeitliche Rahmen 25-30 Jahre, wobei dort nicht explizit MNA erwähnt wird, sondern allgemein auf innovative Verfahren gesetzt wird [MÜLLER & RINDFLEISCH 2004].

Die Diskussion verdeutlicht den Bedarf nach Regelungen und Handlungsanleitungen für die beteiligten Behörden und betroffenen Sanierungspflichtigen. Dem wird zur Zeit durch die Einsetzung einer Arbeitsgruppe „Recht" im Rahmen des BMBF-Förderschwerpunktes „Kontrollierter natürlicher Rückhalt und Abbau von Schadstoffen bei der Sanierung kontaminierter Grundwässer und Böden - KORA" (2002 bis 2007) Rechnung getragen (siehe auch www.natural-attenuation.de). Es bleibt die Hoffnung, dass durch die angestrebte Erstellung eines Umweltgesetzbuches die bodenschutzrechtlichen und wasserrechtlichen Vorgaben für die Sanierung von Altlasten, die von SALZWEDEL [1999] kritisch gegenübergestellt werden, im Sinne einer leichteren Bearbeitung von Sanierungsfällen harmonisiert werden.

2.3.2 Anwendung von NA

Die „Anwendung" von Natural Attenuation als „Sanierungsmethode" wird in Fachkreisen allgemein unter folgenden drei Bedingungen akzeptiert, die auch als „Three Lines of Evidence" bezeichnet werden. [z. B. MURRAY ET AL. 1999; UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (U.S. EPA) 1999; WITT ET AL. 2002].

1. Historische Daten zeigen einen klaren und eindeutigen Trend von abnehmender Masse bzw. Konzentration.

2. Es liegen hydrogeologische und geochemische Daten vor, die benutzt werden können, um indirekt den Typ und die Geschwindigkeit der NA-Prozesse zu demonstrieren, die an diesem Standort stattfinden.

3. Daten aus Laborstudien (Mikrokosmen), bei denen kontaminiertes Material vom Standort benutzt wird, weisen direkt einen biologischen Abbau nach.

In der Regel wird von einer Fahnensanierung ausgegangen, deren eigentlicher Schadensherd schon saniert bzw. durch Sicherungsmaßnahmen abgetrennt ist. Gleichzeitig wird Natural Attenuation nicht als alleinige Methode zur Grundwassersanierung angesehen, wie es bereits in der OSWER Directive U.S.EPA zum Ausdruck kommt:

> Monitored natural attenuation is appropriate as a remedial approach only when it can be demonstrated capable of achieving a site's remedial objectives within a time frame that is reasonable compared to that offered by other methods and where it meets the applicable remedy selection program for a particular OSWER program. EPA, therefore, expects that monitored natural attenuation typically will be used in conjunction with active remediation measures (e.g., source control), or as a follow-up to active remediation measures that have already been implemented [UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (U.S. EPA) 1999].

In Deutschland ist dieses Thema auf den jährlich von der DECHEMA (e.V.) organisierten Konferenzen aufgegriffen und diskutiert worden [z. B. WOLF 2003; TEUTSCH & WABBELS 2003; MCKNIGHT ET AL. 2005]. Hier wird ebenfalls davon ausgegangen, dass in der Regel zunächst eine Sanierung der Schadensquelle erfolgt und entweder ausschließlich MNA oder MNA in Kombination mit anderen Verfahren zum Tragen kommt.

Bei den Verantwortlichen hat Natural Attenuation das Interesse geweckt, da sich hiermit unter Umständen ingenieurtechnisch aufwendige und damit teure Verfahren vermeiden lassen. Um zu verhindern, dass dieses Herangehen auf ein „Nichtstun“ hinausläuft, wird vielfach darauf hingewiesen, dass die Entscheidung für NA auf Informationen und Wissen basieren sollte, was auch ein umfangreiches Monitoring sowie die Dokumentation des Verlaufs beinhaltet. Das europäische Netzwerk CLARINET (Contaminated Land Rehabilitation Network for Environmental Technologies in Europe) hat hierfür drei Schlüsselelemente formuliert [nach SMETS ET AL. 2002]:

1. Die Prozesse müssen auf die Sicherung des Standortes und der Umgebung abzielen.
2. Es muss transparente Vereinbarungen über die finanziellen Verantwortlichkeiten geben, insbesondere für den Fall, das die Ziele nicht erreicht werden oder unvorhergesehene Ereignisse passieren.
3. Die Folgen von Natural Attenuation für die Standortnutzung und den erforderlichen Platz für das Monitoring müssen beurteilt werden.

Als erstes soll dabei ein konzeptionelles Modell entwickelt werden, was die Immobilisierungs- und Abbauprozesse am Standort beschreibt. Insbesondere sollen hierbei die thermodynamischen Voraussetzungen als wichtigste Nebenbedingung für mikrobiologische Prozesse ermittelt werden. In einem zweiten Schritt sollen Messungen am Standort Klarheit über die dort ablaufenden Immobilisierungs- und Abbauprozesse schaffen. Hier können Konzentrationsunterschiede und andere Merkmale biogeochemischer Prozesse herangezogen werden. Der dritte Schritt besteht in einem Langzeit-Monitoring-Programm, bei dem überprüft wird, inwiefern die Prozesse nachhaltig stattfinden und mit der erwarteten Reduktion der Schadstoffe einhergehen.

Das U.S. NATIONAL RESEARCH COUNCIL [2000] zielt mit seinen Betrachtungen auf die Sicherung einer anhaltenden Schadstoffreduktion, d.h. ob genügend e^--Akzeptoren oder e^--Donatoren verfügbar sind, um die metabolischen Prozesse aufrechtzuerhalten. Dabei stellt sich auch die Frage, ob die biologischen Prozesse überhaupt die gleichen bleiben. Beim Abbau von chlorierten Stoffen in Klärschlamm wurde z. B. beobachtet, dass sich die Zusammensetzung der Bakterien veränderte, was mit einem reduzierten Schadstoffabbau nach zwei Monaten einherging [SMETS ET AL. 2002]. Umso mehr Aufmerksamkeit ist geboten, wenn NA-Prozesse über Jahrzehnte betrachtet werden. Es stellt sich die Frage, ob die biochemischen Prozesse über lange Zeiträume dominant bleiben. Die Veränderungen, die möglicherweise auftreten, können in beide Richtungen wirken, den Abbau beschleunigen oder auch verzögern. VAN DER MEER ET AL. [1998] konnten zum Beispiel die Entwicklung eines neuen Abbauweges für Chlorbenzol in einem kontaminierten Aquifer nachweisen. FERIS ET AL. [2004] beobachteten bei einem BTEX/MTBE-Schadensfall eine starke Veränderung der Mikrobiologie im Untergrund. Dies konnte über verschiedene Verfahren wie Denaturierende Gradienten Gel-Elektrophorese (DGGE), Klonierung und Sequenzierung, Intergenischer Transkriptionslücken-Analyse (IST) und mit Hilfe phylogenetischer Vergleiche der 16S rDNA-Sequenzen nachgewiesen werden. SMETS ET AL. [2002] vermuten, dass die Evolutionsraten in NA-Gebieten wahrscheinlich höher sind. So kann es auch zu einem Wechsel vom cometabolischen zum metabolischen Abbau kommen [SANFORD ET AL. 2002]. Das würde sich positiv auf NA auswirken. Wird hingegen ein anderer Elektronenakzeptor bevorzugt (z. B. Huminsäuren), könnte die gewünschte Aktivität aufhören [SMETS ET AL. 2002].

Ein Beispiel für einen umfangreich untersuchten Fall von Natural Attenuation ist der Standort Area 6, Dover Air Force Base. Dort wurden deutliche Anzeichen von Natural Attenuation gefunden, PCE- und TCE-Konzentrationen nahmen im Untergrund ab, parallel stiegen die Konzentrationen der Abbauprodukte cDCE, VC und Ethen. Im Übergangsbereich zum aeroben Milieu sanken die Konzentrationen von cDCE und VC unter die Nachweisgrenze, was als Zeichen eines kombinierten anaeroben/aeroben Abbaus gewertet wird. Die H_2-Konzentrationen im kontaminierten Bereich lagen zwischen 13 und 39 nM, weiter entfernt dann bei 5 nM. Diese Werte korrelieren mit den Analysen weiterer Redoxspezies. Im Zentrum des Bereichs wurde kein Nitrat mehr gefunden, die Sulfat-Konzentrationen waren mit 1-3 mg/l allgemein sehr gering und Fe(II) trat in Konzentrationen $>$5 mg/l auf. Die CH_4-Konzentration lag im anaeroben Bereich bei 1300 μg/l, im Übergangsbereich zum Aeroben sank sie auf 470 μg/l [WITT ET AL. 2002].

2.4 Dechlorierung von chlorierten Ethenen

Höher chlorierte Ethene werden in der Umwelt biologisch hauptsächlich durch die reduktive Dechlorierung abgebaut. Andere Abbaumechanismen, wie die hydrolytische oder thiolytische Dechlorierung bzw. die oxidative Dechlorierung spielen eher eine untergeordnete Rolle bzw. treten bei den geringer chlorierten Ethenen auf und sind nicht Gegenstand dieser Arbeit.

Es gibt einige Hinweise darauf, dass abseits der gezielten abiotischen Dechlorierung in reaktiven Wänden mit Fe^0 auch im Boden selbst abiotische Abbauprozesse auftreten, die

vor dem Hintergrund der natürlichen Reinigungsprozesse hier kurz erwähnt werden sollen. FERREY ET AL. [2004] untersuchten einen ungeklärten Abbau von cDCE in einem kontaminierten Aquifer. In Mikrokosmen mit dem Aquifermaterial wurden gleiche Abbauraten für cDCE und 1,1-DCE wie im Feld ermittelt. Am abiotischen Abbau war offensichtlich Magnetit beteiligt. Auch LEE & BATCHELOR [2002] berichten von einer abiotischen Dechlorierung von PCE, TCE, cDCE und VC in Anwesenheit von Magnetit und Pyrit, die 60-120 mal schneller verläuft als die biologische reduktive Dechlorierung.

2.4.1 Reduktive Dechlorierung

Die reduktive Dechlorierung lässt sich in die cometabolische und die respiratorische Dechlorierung unterteilen. Bei der cometabolischen Dechlorierung werden eher zufällig, in Nebenreaktionen, Reduktionsäquivalente übertragen, was eine geringe Dechlorierungsrate zur Folge hat [FATHEPURE ET AL. 1987; FATHEPURE & BOYD 1988; TERZENBACH & BLAUT 1994; LÖFFLER ET AL. 1999]. Die respiratorische Dechlorierung hingegen findet unter Engergiegewinn bei gezielter Nutzung der LCKW als terminalen e^--Akzeptoren statt. Dabei treten wesentlich höhere Dechlorierungsraten auf [DISTEFANO ET AL. 1991; TANDOI ET AL. 1994]. Die Prozesse sind exergon und es wird Energie in Form von ATP gewonnen [EL FANTROUSSI ET AL. 1998]. Der Prozess der respiratorischen Dechlorierung wird auch Dehalorespiration genannt.

2.4.2 Dechlorierende Organismen

Mischkulturen, die PCE dechlorieren, sind schon vor gut 20 Jahren beschrieben worden [BOUWER & MCCARTY 1983; VOGEL & MCCARTY 1985; FREEDMAN 1989; DISTEFANO ET AL. 1991; DE BRUIN ET AL. 1992]. Nach DAMBORSKY [1999] sind unterdessen mindestens 15 Spezies aus verschiedenen metabolischen Gruppen bekannt, die PCE teilweise oder vollständig dechlorieren.

1993 isolierten HOLLIGER ET AL. [1993] eine Reinkultur (*Dehalobacter restrictus*), die in der Lage ist, mit PCE als einzigem e^--Akzeptor zu wachsen. *Dehalobacter restrictus* nutzt H_2 als e^--Donator und verwendet neben PCE keine anderen e^--Akzeptoren wie Sauerstoff, Nitrat, Sulfat oder Kohlendioxid [HOLLIGER ET AL. 1993; HOLLIGER & SCHUMACHER 1994; SCHOLZ-MURAMATSU ET AL. 1995]. Ein weiterer Stamm, der respiratorisch PCE zu cDCE dechlorieren kann, weist demgegenüber ein breiteres Substratspektrum auf. Dieser, zunächst unter dem Namen *Dehalospirillum multivorans* bekannt gewordene Organismus, wurde von NEUMANN ET AL. [1994] isoliert. In neueren Veröffentlichungen [LUIJTEN ET AL. 2004] und auch bei der DSMZ[2] ist dieser Stamm unter dem Namen *Sulfurospirillum multivorans* zu finden. *Sulfurospirillum multivorans* wurde aus Belebtschlamm angereichert, der vorher noch keinen chlorierten Ethenen ausgesetzt war. Seine Verdopplungsrate beträgt 2,5 h bei 30°C und das pH-Optimum liegt bei 7-7,5. Bei pH-Werten von 6,0 bzw. 8,5 wurde nahezu keine Dechlorierung mehr beobachtet. *Sulfurospirillum multivorans* wuchs im Flüssigmedium bei 15-33°C mit einem Optimum bei 30°C. Bei 37°C fand

[2] Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen

kein Wachstum und bei 42°C keine Dechlorierung mehr statt [NEUMANN ET AL. 1994; SCHOLZ-MURAMATSU ET AL. 1995]. Als e^--Donatoren kann *Sulfurospirillum multivorans* Ethanol, Formiat, Glycerol, Wasserstoff, Lactat und Pyruvat verwerten. Acetat, Fructose, Glucose, Glucitol und Mannitol werden nicht verwendet. PCE und Fumarat dienen als e^--Akzeptoren. Acetat wird als C-Quelle benötigt, wenn die Kultur mit H_2 bzw. Formiat und PCE wächst.

Als Hauptabbauprodukt bei der Dechlorierung von PCE entsteht in der Regel cDCE, 1,1-DCE und tDCE treten nur in Spuren auf. MILLER ET AL. [2005] untersuchten die PCB[3]-dechlorierende Kultur DF-1, die PCE und TCE abbauen kann. Als Hauptprodukte entstanden tDCE und cDCE, wobei die tDCE/cDCE-Rate bei 1,2 bis 1,7 lag. Dieser hohe Anteil an tDCE bei der Dechlorierung ist bisher noch nicht beobachtet worden.

Einer der wenigen Stämme, die PCE bis zu Ethen dechlorieren können, *Dehalococcoides ethenogenes* Stamm 195, wurde von MAYMO-GATELL ET AL. [1997] beschrieben. Die Dechlorierung von PCE durch *Dehalococcoides ethenogenes* Stamm 195 ist konstitutiv. Das gilt auch für cDCE, 1,1-DCE und TCE, wo keine lag-Phase beim Abbau existiert [MAYMO-GATELL ET AL. 1999]. Stamm 195 enthält eine PCE-Dehalogenase, die PCE zu TCE dechloriert und eine TCE-Dehalogenase, die TCE, cDCE, 1,1-DCE zu VC und VC langsam zu Ethen dechloriert [MAGNUSON ET AL. 1998]. Es wird allerdings vermutet, dass der letzte Schritt der Dechlorierung von VC zu Ethen ein cometabolischer Prozess ist [CUPPLES ET AL. 2004]. Dagegen koppelt *Dehalococcoides ethenogenes* Stamm VS die TCE-, DCE- und VC-Reduktion mit Wachstum, womit das erste Mal von einem Organismus berichtet wird, der von jedem Dechlorierungsschritt vom TCE bis zum Ethen Energie für das Wachstum gewinnen kann. Eine Übersicht über die reduktive Dechlorierung von PCE mit bakteriellen Reinkulturen gibt ROSENTHAL [2004].

Dass viele dechlorierende Kulturen nur zwei Dechlorierungsschritte vom PCE zum cDCE ausführen, ist bekannt. HE ET AL. [2003] berichten jedoch über eine Anreicherungskultur, die nur noch zur Dechlorierung der zweifach chlorierten Ethene in der Lage war. Die Mischkultur, die zuvor PCE zu Ethen dechlorierte, wurde durch 40-faches Übertragen in neues Medium mit VC angereichert. Sie konnte danach weder PCE noch TCE als e^--Akzeptoren verwerten. Eine Nutzung in Anwesenheit von VC passierte wahrscheinlich cometabolisch. TCE wurde nur umgesetzt, wenn VC vorhanden war, aber erst im Anschluss an die VC-Dechlorierung. Mit Lactat oder Pyruvat als e^--Donatoren wurde VC zu Ethen mit Raten von 54 μmol/(l*d) dechloriert, cDCE mit 50% dieser Rate. Die Anreicherungskultur konnte sowohl cDCE, als auch tDCE und 1,1-DCE dechlorieren, erstere mit Pyruvat im Medium, letzteres mit Acetat und Formiat. Basierend auf der 16 S rRNA-Identifizierung handelte es sich um eine *Dehalococcoides* Population. Somit gibt es *Dehalococcoides* Populationen, die cDCE und VC, nicht aber PCE und TCE als e-Akzeptoren für den Stoffwechsel nutzen können. Die reduktive TCE-Dechlorinase wurde in der Anreicherungskultur auch nicht nachgewiesen. HE ET AL. [2003] vermuten, dass verschiedene *Dehalococcoides* Populationen unterschiedliche Substratspezifitäten haben und der komplette Dechlorierungsprozess nur von mehreren gemeinsam ausgeführt wird.

Einige dechlorierende Organismen benötigen Cofaktoren zum Wachstum. Vitaminlösungen, Hefeextrakt oder der Überstand aus anderen Bioreaktoren können diese Faktoren lie-

[3] PCB: Polychlorbiphenyl

fern. Die Variabilität bezüglich der Substrate ist sehr unterschiedlich. Während *Dehalobacter restrictus* mit H_2-PCE ein sehr enges Substratspektrum aufweist, können andere (*Sulfurospirillum multivorans*, *Desulfitobacterium* spp.) eine ganze Bandbreite an e^--Akzeptoren und e^--Donatoren nutzen. Es wird angenommen, dass das Fehlen spezieller Elektronendonatoren im Untergrund eine Ursache für eine eingeschränkte Dechlorierung darstellen könnte und eine Bereitstellung dieser Elektronendonatoren deshalb eine mögliche *in situ*-Sanierungsstrategie darstellen kann [DAMBORSKY 1999].

2.5 Konkurrierende Redoxprozesse zur Dechlorierung

Voraussetzung für eine reduktive Dechlorierung im Aquifer sind strikt anaerobe Bedingungen. Hierbei steht der Abbauprozess von PCE oder TCE in Konkurrenz zu anderen, im Grundwasser und Boden typischen Redoxprozessen (siehe Abbildung 2.2). Dazu gehören die Denitrifikation, die Reduktion von Fe(III) und Mn(IV), die Sulfatreduktion und die Methanogenese. Die Gleichungen in Tabelle 2.2 verdeutlichen die Konkurrenz der Redoxprozesse um H_2 als Elektronendonator.

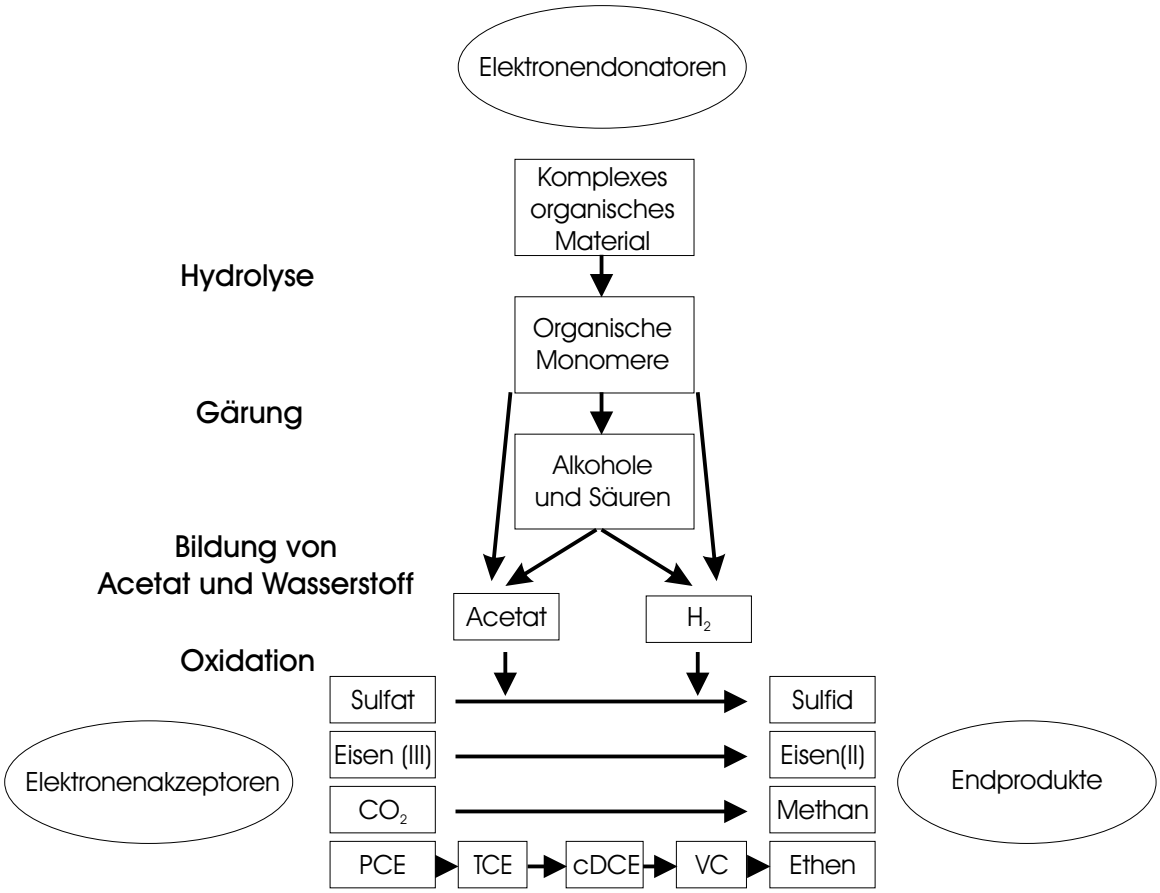
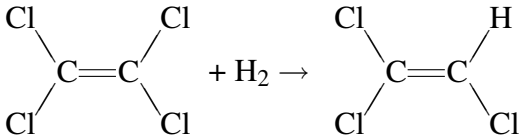
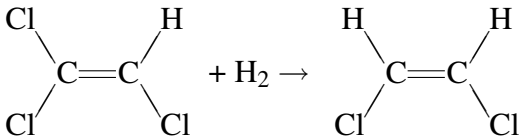
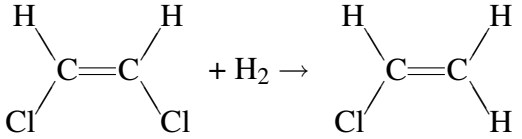
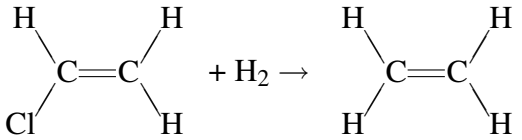


Abbildung 2.2: Bereitstellung von Elektronendonatoren durch den Abbau organischen Materials und Konkurrenz verschiedener Redoxprozesse um die Elektronendonatoren [Schema nach MCCARTY 1997]

Tabelle 2.2: Redoxreaktionen, die in Konkurrenz um H_2 als e^--Donator stehen und dazugehörige freie Gibbs'sche Energien (für Normalbedingungen bei 25°C und Konzentrationen der Reaktanden von 1 M bzw. 1 bar, bei pH 7)

Redoxreaktion	Freie Gibbs'sche Energie	
$2\,NO_3^- + 5\,H_2 + 2\,H^+ \rightarrow N_2 + 6\,H_2O$	$\triangle G^{0'} = -1120\,\frac{kJ}{mol}$ [a]	(2.1)
$Fe^{3+} + \frac{1}{2}\,H_2 \rightarrow Fe^{2+} + H^+$	$\triangle G^{0'} = -114\,\frac{kJ}{mol}$ [b]	(2.2)
$MnO_2 + H_2 + 2\,H^+ \rightarrow Mn^{2+} + 2\,H_2O$	$\triangle G^{0'} = -194\,\frac{kJ}{mol}$ [b]	(2.3)
$SO_4^{2-} + 4\,H_2 + H^+ \rightarrow HS^- + 4\,H_2O$	$\triangle G^{0'} = -151\,\frac{kJ}{mol}$ [c]	(2.4)
$HCO_3^- + 4\,H_2 + H^+ \rightarrow CH_4 + 3\,H_2O$	$\triangle G^{0'} = -136\,\frac{kJ}{mol}$ [c]	(2.5)
$2\,HCO_3^- + 4\,H_2 + H^+ \rightarrow CH_3COOH^- + 4\,H_2O$	$\triangle G^{0'} = -105\,\frac{kJ}{mol}$ [c]	(2.6)
	$\triangle G^{0'} = -166\,\frac{kJ}{mol}$ [b]	(2.7)
	$\triangle G^{0'} = -163\,\frac{kJ}{mol}$ [b]	(2.8)
	$\triangle G^{0'} = -143\,\frac{kJ}{mol}$ [b]	(2.9)
	$\triangle G^{0'} = -157\,\frac{kJ}{mol}$ [b]	(2.10)
$C_2Cl_4 + 4\,H_2 \rightarrow C_2H_4 + 4\,HCl$		(2.11)

[a] LOVLEY & GOODWIN [1988]
[b] nach WIEDEMEIER ET AL. [1999] berechnet
[c] MADIGAN ET AL. [2001]

Die Organismen, die diese Reaktionen katalysieren, weisen dabei eine unterschiedliche Affinität zu Wasserstoff auf. Diese sinkt in folgender Reihenfolge: Denitrifikation > Fe/Mn-

Reduktion > Sulfatreduktion > Methanogenese. Die Dechlorierung lässt sich dabei in den Bereich der Sulfatreduktion und Methanogenese einordnen. Auf die dazugehörigen H_2-Schwellwertkonzentrationen wird in Abschnitt 2.6.5 eingegangen.

Die H_2-Schwellwertkonzentration stellt ein Äquivalent zu $\triangle G^{0'}$, der Gibbs'schen freien Energie dar [CONRAD 1996]. $\triangle G^{0'}$ steigt mit steigendem Redoxpotenzial der energieliefernden Reaktion. Gleichzeitig sinkt die H_2-Schwellwertkonzentration [CORD-RUWISCH ET AL. 1988]. CONRAD [1996] hat Literaturdaten für H_2-Schwellwerte theoretischen Berechnungen gegenüber gestellt und herausgefunden, dass die Homoacetogenen die effizientesten H_2-Nutzer sind, die den kleinsten Teil der freien Energie (in Form von H_2) ungenutzt lassen. Dagegen sind die H_2-Schwellwertkonzentrationen der H_2-Oxidationen mit hohen negativen freien Gibbs'schen Energien (Fe(III), Nitrat, O_2 als Oxidationsmittel) alle sehr ähnlich und sehr viel höher als thermodynamisch notwendig. CONRAD [1996] postuliert, dass die H_2-Konzentration offensichtlich nicht eine Funktion der Reaktionsenergetik ist, sondern anderer, bisher unbekannter Mechanismen. Diese hier beschriebene Effizienz bezüglich der Nutzung von Wasserstoff als Elektronendonator ändert jedoch nichts daran, dass die H_2-Schwellwertkonzentrationen für die Acetogenese weit über denen der anderen Redoxprozesse liegen. Der Wasserstoff wird lediglich besser genutzt.

2.6 Wasserstoff als Elektronendonator

2.6.1 Das Element Wasserstoff

Wasserstoff wurde 1766 von Cavendish als einzelne Substanz erkannt und von Lavoisier benannt (Gr. *hydro*: Wasser, *genes*: bildend). Es ist das am häufigsten vorkommende Element im Universum. Es wird geschätzt, dass 75% der Gesamtmasse des Universums H_2 ist. Wasserstoff schmilzt bei -259,14°C und siedet bei -252,87°C. Die Dichte von H_2 beträgt 0,08988 g/l (gasförmig). Wasserstoff kommt in verschiedenen Isotopen vor. Neben ^{1}H, dem gewöhnlichen Wasserstoff, treten ^{2}H (Deuterium) und ^{3}H (Tritium) auf. Deuterium ist ein stabiles Isotop, Tritium hat eine Halbwertszeit von 12,5 Jahren. Unter 6000 H-Atomen befindet sich ein Deuterium-Atom, Tritium ist noch seltener [WEAST ET AL. 1985]. Aufgrund der bestehenden Isotopenverteilung ist auch versucht worden, mikrobiologische Prozesse über eine Isotopenfraktionierung bei H_2 abzubilden [LANDMEYER ET AL. 2000; KUDER ET AL. 2005].

Das kleinste Element der Erde findet heute große Beachtung, da seine Bedeutung als möglicher Energieträger der Zukunft zunimmt. Große Hoffnungen werden auf die Brennstoffzelle gesetzt. Schon lange vor der technischen Nutzung des Wasserstoffs hatte er eine große Bedeutung für den mikrobiologischen Stoffwechsel [MORKIN ET AL. 2000]. Dies betrifft hauptsächlich das anaerobe Milieu, da unter aeroben Bedingungen wasserstoffoxidierende Bakterien die Konzentration bis unter die derzeitige Nachweisgrenze von 10 ppbv [z. B. VROBLESKY ET AL. 1997; LÖFFLER ET AL. 1999] absinken lassen. Im anaeroben Milieu wird Wasserstoff durch gärende Organismen produziert und von verschiedenen respiratorischen Organismen verbraucht. Zu letzterer Gruppe gehören hauptsächlich Fe(III)- und

Mn(IV)-Reduzierer, Denitrifikanten, Sulfatreduzierer und Methanogene, aber auch dechlorierende Bakterien, die für den Abbau von chlorierten leichtflüchtigen Kohlenwasserstoffen (LCKW) verantwortlich sind.

Wasserstoff kommt auf der Erde hauptsächlich im Wasser vor und kann durch Elektrolyse daraus abgespalten werden. Mikroorganismen produzieren Wasserstoff, indem sie freie Reduktionsäquivalente (Elektronen) auf Wasserstoff-Ionen übertragen. In der Atmosphäre an der Erdoberfläche ist Wasserstoff nur in Spuren, in Konzentrationen von ca. 500 ppbv vorhanden, da das Molekül aufgrund seiner geringen Dichte in die obere Atmosphäre diffundiert [BLÜTHGEN & WEISCHET 1980]. Quellen für diesen Wasserstoff sind sowohl biologische als auch abiotische Prozesse. Zu ersteren gehören die schon genannten Gärprozesse, die im Wasser, Boden, aber auch in höheren Organismen, wie Tieren oder Menschen stattfinden. Zu den abiotischen Quellen gehören Gaslagerstätten und Vulkane sowie unter Umständen Basaltgesteine [MORITA 1999; STEVENS & MCKINLEY 2000]. Die mögliche biologische Nutzung von H_2 aus Reaktionen von Basalt mit Wasser wird von ANDERSON ET AL. [2001] stark angezweifelt. STEVENS & MCKINLEY [2001] untermauerten ihre Behauptung jedoch durch den Nachweis einer Anreicherung von ^{13}C im DIC. Das würde zeigen, dass dort CO_2 mikrobiologisch durch H_2 reduziert wird und zur Methanogenese beiträgt.

2.6.2 Wasserstoff im Boden

Der Boden stellt nach CONRAD [1996] zu 5 % eine Quelle, zu 95 % eine Senke von atmosphärischen Wasserstoff dar. Die Produktion findet im ungesättigten Bereich hauptsächlich durch N_2-fixierende Bakterien, im gesättigten Bereich durch fermentierende Bakterien statt. Im ungesättigten Bereich wird H_2 durch abiotische Boden-Hydrogenasen (z. B. freie extrazelluläre Enzyme oder Enzyme aus toten Zellen) verbraucht. In der gesättigten Zone tragen Methanogene, Sulfatreduzierer, Fe(III)-Reduzierer und in aeroben Nischen Knallgasbakterien zum Verbrauch bei [CONRAD 1996; MORITA 1999].

Im Boden können zwei verschiedene Arten der H_2-Bildung unterschieden werden:

- Im anoxischen methanogenen Milieu ist die H_2-Konzentration gewöhnlich im Gleichgewicht mit dem H_2-Verbrauch durch die methanogenen Bakterien. Die Lebensdauer von H_2 beträgt Minuten und bewirkt eine Gleichgewichtskonzentration, typischerweise im nM-Bereich. Die Konzentration ist oft nur geringfügig höher als die Schwellwertkonzentration für die Methanogenese. Deshalb sind diese Bereiche als Quelle für H_2 vernachlässigbar.

- Wenn aerobe Böden überschwemmt werden, kommt es zu einer Phase der H_2-Bildung, die der Methanogenese vorgelagert ist. Übergangsweise wird durch die Fermentation von Substraten (z. B. Zuckern), bei denen keine thermodynamische Restriktion besteht, eine hohe Wasserstoffkonzentration hervorgerufen, die bis in den %-Bereich reicht. Solche Übergangsstadien kann es auch in Mikronischen in sonst aeroben Böden geben.

2.6.3 Interspecies Hydrogen Transfer

Zwischen Organismen, die H_2 produzieren bzw. verbrauchen kommt es häufig zu einer Vergesellschaftung. Die unmittelbare Übertragung von Wasserstoff wird hierbei als „Interspezies Hydrogen Transfer“ bezeichnet [CONRAD 1996; CORD-RUWISCH ET AL. 1988; MORITA 1999]. Dieser Austausch von Wasserstoff, gelegentlich auch von Formiat oder Acetat, bildet die Grundlage für syntrophe Organismen, die auf die Erhaltung niedriger Konzentrationen dieser Ausscheidungsprodukte angewiesen sind. Hierfür ist eine räumliche Nähe in Flocken oder Aggregaten erforderlich.

In der Literatur werden verschiedene Beispiele für die Syntrophie genannt. Sulfatreduzierer können als syntrophe Organismen fungieren, wenn sie Lactat oder Ethanol zu Acetat und H_2 in Anwesenheit von H_2-verbrauchenden Methanogenen umwandeln [MCINERNEY & BRYANT 1981]. Das heißt, dass die Sulfatreduzierer H_2 bereitstellen, solange sie anderes Substrat fermentieren, damit jedoch aufhören, sobald Sulfat zur Verfügung steht. Sie konkurrieren dann mit den Methanogenen um den von anderen Organismen bereitgestellten Wasserstoff [CONRAD 1996]. ACHTNICH ET AL. [1995a,b] beschreiben Untersuchungen, in denen Methanogene nicht nur Methan sondern auch H_2 produzieren, unter anderem aus Acetat. Dieser Wasserstoff wird an H_2-verbrauchende Sulfatreduzierer abgegeben. Letztere können Acetat nicht direkt nutzen. Anderes gilt dagegen für Eisen(III)-reduzierer. Sie verwerten Acetat und konkurrieren damit erfolgreich gegen Methanogene, sobald Fe(III) vorhanden ist. SCHINK [1997] beschreibt auch Varianten des Interspecies Formiat und Acetat Transfer. Nach SCHINK [1997] ist die Syntrophie ein spezieller Fall der symbiontischen Kooperation zwischen zwei metabolisch unterschiedlichen Bakterienarten, die beim Abbau von bestimmten Substraten aus thermodynamischen Gründen voneinander abhängig sind. Der Term „Syntrophie“ wurde kreiert, um die enge Beziehung zwischen gärenden Bakterien und H_2-nutzenden Methanogenen zu beschreiben. Der Pool des wechselnden Zwischenproduktes muss dabei klein gehalten werden, um eine effiziente Kooperation für beide Partner zu erlauben. SCHINK [1997] ist der Auffassung, dass der Term „Syntrophie“ dabei auf Beziehungen beschränkt sein sollte, bei der die Partner direkt voneinander abhängen und die nicht durch Zugabe eines weiteren Substrates gelöst werden kann. Als Beispiel wird hier die früher fälschlich als ein Bakterium angesehene Kultur *„Methanobacterium omelianski“* genannt. Hierbei wird Ethanol zu Acetat vergoren und es findet ein Interspecies Hydrogen Transfer zu der methanogenen Spezies statt.

Wenn keine Kontaminationen vorliegen, so sind Methanogenese und Acetogenese die natürlichen H_2-verbrauchenden Prozesse im Boden. Dabei wird Methan zu ca. einem Drittel durch eine hydrogenotrophe Methanogenese gebildet, zum größeren Teil aber aus Acetat. Diese Anteile sind temperaturabhängig. Eine Untersuchung methanogener Reisfelder zeigte, dass der Anteil der H_2-abhängigen Methanogenese mit sinkender Temperatur fällt und Methan dann hauptsächlich aus Acetat gebildet wird [CONRAD 1999]. Bei höheren Temperaturen findet eher eine syntrophe H_2-Produktion und H_2-abhängige Methanogenese statt [CONRAD 1996]. Zu gleichen Ergebnissen kommen GLISSMANN ET AL. [2004] bei Untersuchungen von Seesedimenten. Hier wird bei tieferen Temperaturen (4°C) mehr Acetat für die Methanogenese verwendet, bei höheren (30°C) mehr H_2.

Interspecies Hydrogen Transfer spielt mit großer Sicherheit auch beim Abbau der leichtflüchtigen Chlorkohlenwasserstoffe eine Rolle. In mehreren Veröffentlichungen wird ange-

nommen, dass die reduktive Dechlorierung vom Vorhandensein von H_2 als eigentlichem e^--Donator abhängt. Dabei ist dieser entweder direkt verfügbar oder wird durch die Fermentation anderer Substrate gewonnen [DiStefano et al. 1992; Gibson & Sewell 1992; Komatsu et al. 1994; Smatlak & Gossett 1996]. Auch ist Wasserstoff ein wichtiger Elektronendonator für bakterielle Reinkulturen, die PCE dechlorieren [Scholz-Muramatsu et al. 1995; Gerritse et al. 1996; Maymo-Gatell et al. 1997; Miller et al. 1997; Holliger et al. 1998]. In neueren Untersuchungen von He et al. [2002] wurden jedoch auch dechlorierende Mischkulturen aus einem Aquifer angereichert, die nicht in der Lage waren, H_2 zu verwerten, sondern ausschließlich Acetat als Elektronendonator zur Dechlorierung verwendeten. In diesem Fall ist es eher zu einem Acetat Transfer gekommen, da die Dechlorierung in Ansätzen mit H_2 erst nach einer lag-Phase mit Acetatbildung einsetzte. Da H_2-produzierende Mikroorganismen auf niedrige H_2-Konzentrationen in ihrer Umgebung angewiesen sind, ist es sehr wahrscheinlich, dass bei LCKW-Kontaminationen auch dechlorierende Organismen am Interspecies Hydrogen Transfer beteiligt sind.

2.6.4 Organischer Kohlenstoff im Grundwasser

Die Quellen des Wasserstoffs im Grundwasser sind in der Regel biologische Prozesse, bei denen heterotrophe Mikroorganismen den vorhandenen organischen Kohlenstoff nutzen. Die Hintergrund-Konzentration des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) im Grundwasser ist sehr gering. Leenheer et al. [1974] ermittelten in über 100 Proben in den USA eine durchschnittliche DOC-Konzentration von 1,2 mg/l. In einem aktuelleren Artikel [Leenheer & Croue 2003] wird eine Bandbreite von 0,1 bis 50 mg/l für natürliche Wässer angegeben. Letztere höhere Werte beziehen sich dabei auf Sümpfe. In Flüssen wie Rhein und Elbe werden Konzentrationen von 2,5 bzw. 5,5 mg/l genannt [Ziegler 2001], wobei diese Werte nicht nur den natürlich vorhandenen DOC beinhalten. Bei der Diskussion um die H_2-Quelle des CRB-Aquifer (CRB: Columbia River Basalt) geben Anderson et al. [2001] 2-5 mg/l DOC an, der von heterotrophen Organismen genutzt werden kann. Sie widersprechen damit Stevens & McKinley [2000], die behaupten, der Wasserstoff entstünde abiotisch durch die Reaktion des Wassers mit Basalt.

Der DOC kann in biologisch abbaubaren DOC (BDOC) sowie refraktionären DOC (RDOC) eingeteilt werden. Bei der Bodenpassage wird ein großer Teil des BDOC abgebaut, weshalb der DOC im Grundwasser hauptsächlich aus schwer abbaubaren Substanzen besteht [Griebler & Mösslacher 2003]. Gelöster organischer Kohlenstoff setzt sich aus hochmolekularen Fraktionen wie Huminsäuren, Fulvinsäuren und Proteine sowie niedermolekularen Fraktionen wie organischen Säuren, Aminosäuren, Kohlenhydraten, Aldehyden, Ketonen u.a. zusammen. Nach Qualls [2005] erfolgt der Abbau in folgender Reihenfolge: phenolische Substanzen, neutrale hydrophile Substanzen, Huminsäuren, Fulvinsäuren und hydrophile Säuren.

In kontaminierten Grundwässern beinhaltet der DOC auch den gelösten Anteil an organischen Schadstoffen. Ein Beispiel hierfür geben Langwaldt & Puhakka [2005]. Der DOC bestand hier aus 98 % Chlorphenolen, 1,7 % niedermolekularen Säuren und 0,2 %

gelösten freien Aminosäuren. Als natürliches Substrat wurden L-Alanin, L-Isoleucin, L-Leucin, L-Serin, L-Threonine, L-Tyrosin, L-Valin, L-Aspartin, Acetat, Citrat, Formiat, Lactat, Malat und Oxalat identifiziert. Der labile Anteil des DOC diente als sekundärer Substratpool neben den Chlorphenolen und wurde hydrolysiert, aufgenommen und verwertet.

Dass die Menge des DOC eine entscheidende Rolle für den Schadstoffabbau spielt, zeigten LEAHY & SHREVE [2000] in Mikrokosmen mit Deponiesickerwässern. Das Ausmaß der Dechlorierung von PCE korrelierte mit dem verfügbaren organischen Kohlenstoff (gemessen als BSB) und war mit frischem, C-reichem Sickerwasser aus jüngeren Ablagerungen größer als mit C-armem Sickerwasser aus älteren Ablagerungen. Setzte man letzterem zusätzliche C-Quellen zu, so konnte eine Aktivitätssteigerung erreicht werden, was in dem jüngeren Sickerwasser nicht der Fall war. Obwohl zuvor keine LCKW-Kontaminationen auf der Deponie aufgetreten waren, war eine Dechlorierungsaktivität vorhanden. In jüngerem Sickerwasser akkumulierte jedoch cDCE.

2.6.5 Die H_2-Konzentration als Redoxindikator

2.6.5.1 Redoxindikatoren

Für den Abbau organischer Schadstoffe sind Kenntnisse über die Milieubedingungen im Aquifer von großer Bedeutung. Deshalb spielt deren Identifizierung im Rahmen von Monitored Natural Attenuation eine große Rolle. Zur Ermittlung der Milieubedingungen können verschiedene Parameter und Untersuchungen herangezogen werden. Dazu gehören:

- das Redoxpotenzial
- die Grundwasserchemie
- die Wasserstoffkonzentration
- die Konzentration gelöster Fettsäuren
- die Charakterisierung des Aquifermaterials sowie
- mikrobielle Untersuchungen.

Diese, von CHRISTENSEN ET AL. [2000] in einem Review intensiv diskutierten Parameter eignen sich in unterschiedlicher Weise für die Charakterisierung des Redoxmilieus. Zum Beispiel muss die chemische Charakterisierung des Grundwassers nicht unbedingt die Redoxbedingungen am Probenahmepunkt widerspiegeln. Hier können Untersuchungen des Aquifermaterials, die Aufschluss über eine Abnahme der Eisenoxide/hydroxide oder eine Ausfällung von Sulfiden geben, genauere Informationen liefern, sind aber auch mit höherem Aufwand verbunden. Die Konzentration der Fettsäuren wird von VROBLESKY ET AL. [1997] und CHRISTENSEN ET AL. [2000] als wenig aussagekräftig angesehen. Allenfalls Formiat und Acetat könnten hier als mikrobielle Intermediate eine gewisse Rolle spielen (siehe Abschnitt 2.6.3). VROBLESKY ET AL. [1997] fanden beispielsweise keine Korrelation zwischen den Konzentrationen der niedermolekularen Fettsäuren und H_2-Konzentrationen.

Messungen oder Berechnungen des Redoxpotenzials bilden die TEAP[4] unzureichend ab, da keine einheitlichen Beziehungen zwischen dem Redoxpotenzial und den vorherrschenden TEAP vorhanden sind [CHAPELLE ET AL. 1996]. Problematisch bei der Messung des Redoxpotenzials ist, dass nicht in jedem Fall ein Redox-Gleichgewicht vorliegt. Auch sind die Redox-Paare, die an der Elektrode aktiv sind und ein elektrochemisches Signal geben, nicht immer identisch mit den vorherrschenden Redox-Paaren in der Lösung. Analysen dieser Redox-Spezies-Konzentrationen geben daher einen besseren Aufschluss über die tatsächlich vorherrschenden Redoxbedingungen [SCHÜRING ET AL. 2000]. Eine alternative Methode ist die Bestimmung der H_2-Konzentrationen, die den dominierenden TEAP relativ gut charakterisieren. So konnte zum Beispiel für einen mineralölkontaminierten Aquifer die Übereinstimmung der H_2-Konzentration mit den Redoxprozessen vor Ort, die über geochemische Parameter ermittelt wurden, nachgewiesen werden, während ein klarer Zusammenhang mit dem Redoxpotenzial nicht gegeben war [LOVLEY ET AL. 1994].

2.6.5.2 H_2-Schwellwertkonzentrationen und Redoxzonierung

In den vergangenen Jahren sind in einigen Fällen bei Sanierungsuntersuchungen die H_2-Konzentrationen mit erfasst worden. In Kombination mit weiteren Ergebnissen aus Analysen des Grundwassers bzw. des Aquifermaterials wurden diese Konzentrationen bestimmten vorherrschenden Redoxprozessen zugeordnet. Tabelle 2.3 zeigt eine Auswahl von Untersuchungen und die dabei ermittelten H_2-Konzentrationen. Messungen im ungesättigten Bereich ergaben nach CONRAD [1996] H_2-Schwellwertkonzentrationen von $< 0{,}01$ nM. Für aerobe H_2-Oxidierer wird ein Wert von $> 0{,}35$ nM genannt. Der für die gesättigte Zone angegebene Bereich von 10-180 nM entspricht den Ergebnissen anderer Untersuchungen recht gut, auch wenn CONRAD [1996] annimmt, dass die tatsächlichen Schwellwerte geringer sind und die Ergebnisse von der H_2-Produktion stark beeinflusst wurden und somit noch kein Gleichgewicht vorlag.

Anhand der H_2-Schwellwertkonzentrationen ist zu erwarten, dass die Organismen, die durch Redoxprozesse die H_2-Konzentration auf eine geringeren Wert senken können, erfolgreich gegenüber anderen konkurrieren. Die H_2-Konzentration muss niedrig genug sein, um die exergone H_2-Produktion durch die Fermentierung von Alkoholen und Fettsäuren zu ermöglichen und sie muss hoch genug sein, um den exergonen H_2-Verbrauch durch Methanogene oder andere H_2-Verwerter zu ermöglichen [KRAEMER & CONRAD 1993]. Dabei bestimmt die steady-state-H_2-Konzentration[5] die Energie, die zwischen den Produzenten und Konsumenten geteilt wird. Sowohl in Bakterienkulturen als auch in anoxischen Milieus scheint die H_2-Konzentration in erster Linie vom dominierenden H_2-verbrauchenden Prozess abzuhängen. Daher sinkt die Wasserstoff-Konzentration mit ansteigendem Redoxpotenzial des dominanten Elektronenakzeptors, von Methanogenese (CO_2) über Sulfatreduktion bis hin zur Fe(III)-Reduktion.

[4] TEAP: terminal electron accepting processes
[5] H_2-Konzentration bei thermodynamischem Gleichgewicht

Tabelle 2.3: H_2-Konzentrationen [nM], die bei Untersuchungen im Feld und Labor ermittelt wurden

Redoxprozess	Denitrifikation Mn(IV)-Reduktion	Fe(III)-Reduktion	Sulfatreduktion	Methanogenese	Dechlorierung
Felduntersuchungen					
LOVLEY & GOODWIN [1988]	$< 0{,}05$	0,2	1-1,5	7-10	
VROBLESKY & CHAPELLE [1994]		0,3-0,7	< 4	4-12	
CHAPELLE ET AL. [1996]		0,1-0,8	1-4	~ 7	
CONRAD [1996]				10-70	
ANDERSON & LOVLEY [1997]	$< 0{,}1$	0,1-0,4	1-2	7-10	
YAGER ET AL. [1997][a]		0,26-,056	1,4	7,4	
MCMAHON & BRUCE [1997]		0,3-0,7	1,2-4,6	5,1-9,7	
JAKOBSEN ET AL. [1998]		0,2			
COZZARELLI ET AL. [2000]	$< 0{,}1$	0,1-0,8	1,0-4,0	> 4	
LOLLAR ET AL. [2001][b]				> 10	> 10
CHAPELLE ET AL. [2002]			< 2-4	4-20	
DINICOLA ET AL. [2002]			< 1		
RYU ET AL. [2004]			$< 0{,}5$-4,6	5,8-7,8	
Laboruntersuchungen					
SMATLAK & GOSSETT [1996]					< 2
YANG & MCCARTY [1998]				$10{,}9 \pm 3{,}3$	$2{,}6 \pm 0{,}7$ (PCE) $2{,}2 \pm 0{,}9$ (cDCE)
LÖFFLER ET AL. [1999]					$< 0{,}3$[c]
LU ET AL. [2001]	0,1-0,4[d] 0,1-0,2[e]	0,1-0,4	1,5-4,5	2,5-24	0,6-0,9 (PCE/TCE) 0,1-2,5 (cDCE) 2-24 (VC)
MAZUR & JONES [2001]			0,8		0,5
CUPPLES ET AL. [2004]					$< 0{,}9$[f](cDCE, VC)
KASSENGA ET AL. [2004]				38[g]	2,5[h](cDCE)
LUIJTEN ET AL. [2004]					0,05-0,08[i]
HEIMANN ET AL. [2005]			0,6-5,2		0,5-1,4 (TCE)

[a] Für die Sulfatreduktion und Methanogenese wurde jeweils nur ein Wert angegeben.
[b] Bei diesen Konzentrationen wurde Dechlorierung und Methanogenese beobachtet.
[c] Reinkulturen (*Desulfitobacterium chlororespirans*, *Desulfitobacterium* sp. Stamm Viet1) mit PCE und mit dechlorierenden Mischkulturen auch für cDCE und VC
[d] Denitrifikation
[e] Mn(IV)-Reduktion
[f] Mischkultur, die die Reinkultur *Dehalococcoides* Stamm VS enthält
[g] Schwellwert bei vermuteter cometabolischer Reduktion von 1,2-Dichlorethan, parallele Methanogenese
[h] Mischkultur aus Grundwasser, die *Dehalococcoides ethenogenes* enthielt
[i] Reinkulturen: *Sulfurospirillum halorespirans*, *Sulfurospirillum multivorans*, *Dehalobacter restrictus*

Wasserstoff und Acetat spielen als zentrale Zwischenprodukte im organischen Metabolismus in anaeroben Milieus eine wichtige Rolle [ANDERSON & LOVLEY 1997]. Die Bil-

dung von Methan wird zum Beispiel in Gegenwart von Sulfat bei Konzentrationen größer 30 μmol in Frischwasserumgebungen gehemmt, da die Sulfatreduzierer eine größere Affinität zu Wasserstoff und Acetat haben als die Methanogenen [LOVLEY & PHILLIPS 1986]. CHAPELLE ET AL. [2002] stellten einen Zusammenhang zwischen Sulfat- und H_2-Konzentration fest. Im Bereich von 0-2 nM H_2 findet danach eine Sulfatreduktion statt. Bei Sulfatkonzentrationen < 4 mg/l treten H_2-Konzentrationen > 2 nM H_2 auf, die die Methanogenese ermöglichen. Die Hemmung der Fe(III)-Reduktion, Sulfatreduktion und Methanogenese in Nitrat- und Mn(IV)-reduzierenden Zonen kann – zumindest teilweise – damit erklärt werden, dass die H_2- und wahrscheinlich auch Acetat-Konzentrationen hier noch niedriger sind als in Fe(III)-reduzierenden Bereichen [LOVLEY & GOODWIN 1988]. Einige Fe(III)-Reduzierer [WIDDEL 1988] und Sulfatreduzierer [LOVLEY & CHAPELLE 1995] sind auch in der Lage, Nitrat zu reduzieren und bevorzugen diesen Elektronenakzeptor, wenn er vorhanden ist .

STUMM & MORGAN [1996] gehen davon aus, dass sich die Zonierung aufgrund thermodynamischer Bedingungen ergibt, so dass zunächst die Elektronenakzeptoren verwendet werden, die die höchste Energieausbeute liefern. Theoretisch sollten aber auch Reaktionen stattfinden können, die energetisch nicht so günstig sind. Besser erklärt werden kann die Separierung der Prozesse, wenn von einer Konkurrenz der Organismen um Elektronendonatoren ausgegangen wird. Idealisiert ist die Ausbildung der Redoxzonen bei einer Kontamination im Grundwasserleiter in Abbildung 2.3 dargestellt.

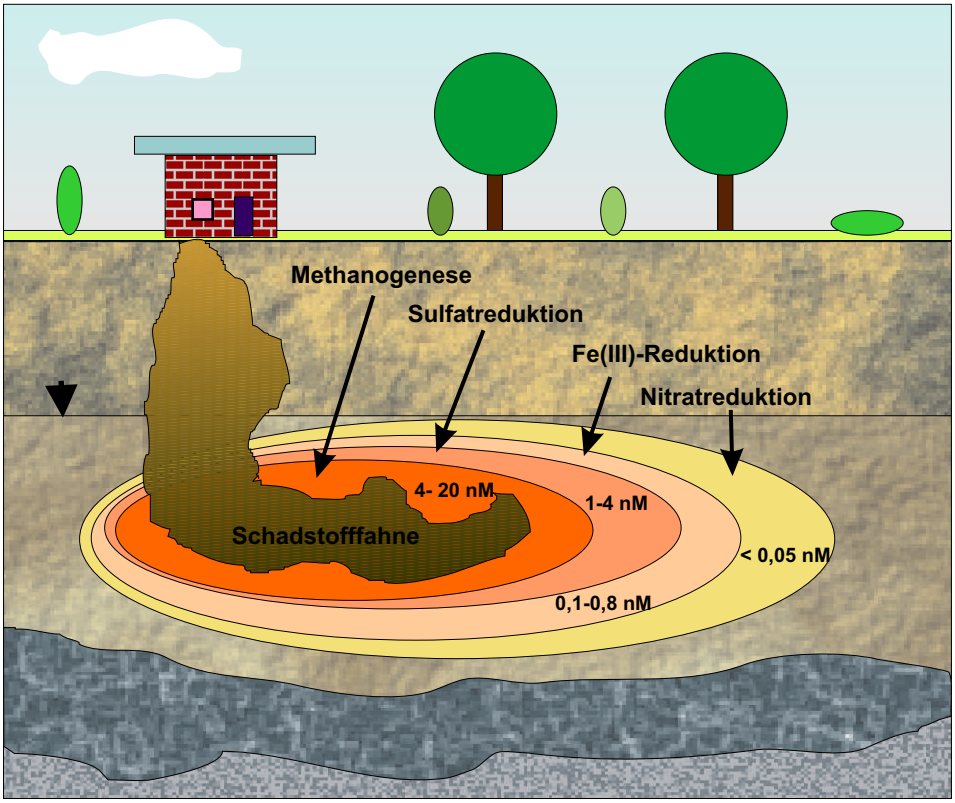


Abbildung 2.3: Idealisierte Darstellung einer Redoxzonierung mit zugehörigen H_2-Konzentrationen, wie sie bei einer MKW-, BTEX- bzw. einer Mischkontamination, an der auch LCKW beteiligt sind, auftreten kann

Zur Identifizierung der Redoxzonen wurde von CHAPELLE ET AL. [1995, 2002] ein hierarchisches Vorgehen vorgeschlagen. Es beruht in erster Linie auf der Ermittlung der H_2-Konzentrationen. Als Kriterien werden aber auch die Konzentrationen der typischen Elektronenakzeptoren und die Konzentrationen von Produkten der Redoxprozesse herangezogen (siehe Abbildung 2.4). Das Konzept, die Redoxzonierung anhand der H_2-Konzentration festzustellen, wird in der Literatur auch kritisch betrachtet. JAKOBSEN ET AL. [1998] weisen beispielsweise darauf hin, dass auch Überlappungen der Zonen auftreten. Sie fanden in einem von Deponiesickerwasser beeinflussten Aquifer bei typischen H_2-Konzentrationen für die Fe(III)-Reduktion auch Hinweise auf eine gleichzeitige Sulfatreduktion und Methanogenese. Als mögliche Ursachen vermuten die Autoren, dass das System sich nicht im Gleichgewicht befindet oder andere intrinsische Gründe vorliegen. Offen bleibt hier allerdings, inwiefern die Methanogenese oder Sulfatreduktion im untersuchten Bereich stattfinden oder Sulfid und Methan mit dem Grundwasserstrom herantransportiert werden. Ähnliche Überlegungen bezüglich des Transportes von Fe(II) und Methan sind auch von LOVLEY ET AL. [1994] angestellt worden. Mehr Klarheit könnte hier eine Untersuchung des Aquifermaterials bringen, das nicht untersucht wurde. Nach ANDERSON & LOVLEY [1997] können reduzierte Endprodukte erhalten bleiben und Unschärfen an den Rändern der Redoxzonen entstehen. Zum Beispiel wird Methan unter anoxischen Bedingungen kaum oxidiert und kann daher in Bereiche vordringen, in denen keine Methanogenese stattfindet. Eine andere Erklärungsmöglichkeit sind Mikronischen, in denen verwertbares organisches Material zur Verfügung steht und wo durch Fermentation höhere H_2-Konzentrationen vorkommen können als im übrigen Aquifer [HANSEN ET AL. 2001]. LOVLEY & GOODWIN [1988] vermuten, dass solche Mikrozonen durch Aquiferheterogenitäten entstehen. Sie nehmen außerdem an, dass Grundwasserbewegungen zu Überlappungen führen.

In anderen Fällen decken sich die mit Hilfe der H_2-Konzentration ermittelten Redoxzonen mit den geochemischen Verhältnissen im Boden. Das konnte bei Untersuchungen über lange Zeiträume z. B. von VROBLESKY ET AL. [1997] und CHAPELLE ET AL. [2002] in einem mit Mineralöl kontaminierten Aquifer nachgewiesen werden. Beobachtet wurde hier der Verbrauch des gelösten Sauerstoff in unmittelbarer Nähe der Schadstoffquelle, gefolgt von einer Reduktion von Fe(III) aus Eisenoxiden und -hydroxiden der Festphase und gelöstem Sulfat. In diesem Zeitraum von ca. 4 Jahren fand keine Methanogenese statt und die H_2-Konzentration war sehr gering (2 nM). Nachdem die biologisch verfügbaren Mengen an Fe(III) nahezu erschöpft waren und die Sulfatkonzentration abgenommen hatte, setzte die Methanogenese ein, was mit H_2-Konzentrationen > 10 nM korrelierte. Die Infiltration bzw. der laterale Transport von Sulfat verursachte zeitweise einen Wechsel des dominierenden TEAP, verbunden mit sinkender H_2-Konzentration. Wurde Sulfat verbraucht und erfolgte kein Neueintrag, so stieg die H_2-Konzentration wieder an. Vereinzelt wurden hohe Methankonzentrationen auch in der Phase der Sulfatreduktion und Fe(III)-Reduktion gemessen. Dafür können Transportprozesse aus anderen Bereichen verantwortlich sein. Methan im Grundwasser ist daher nicht unbedingt ein Parameter für die vorherrschenden Redoxbedingungen. Auf der anderen Seite ist die H_2-Konzentration hier als Indikator für die lokale mikrobiologische Aktivität sehr gut geeignet, da Wasserstoff schnell umgesetzt und daher im Gegensatz zu Methan gerade nicht weit transportiert wird [VROBLESKY ET AL. 1997].

Veränderungen des Grundwassermilieus finden auch bei Niederschlägen statt. Wenn durch Regen Sauerstoff eingetragen wird, kommt es zur Oxidation von Fe(II). Im Anschluss daran kann Fe(III) wieder mikrobiologisch reduziert werden und für einige Zeit ist dies der

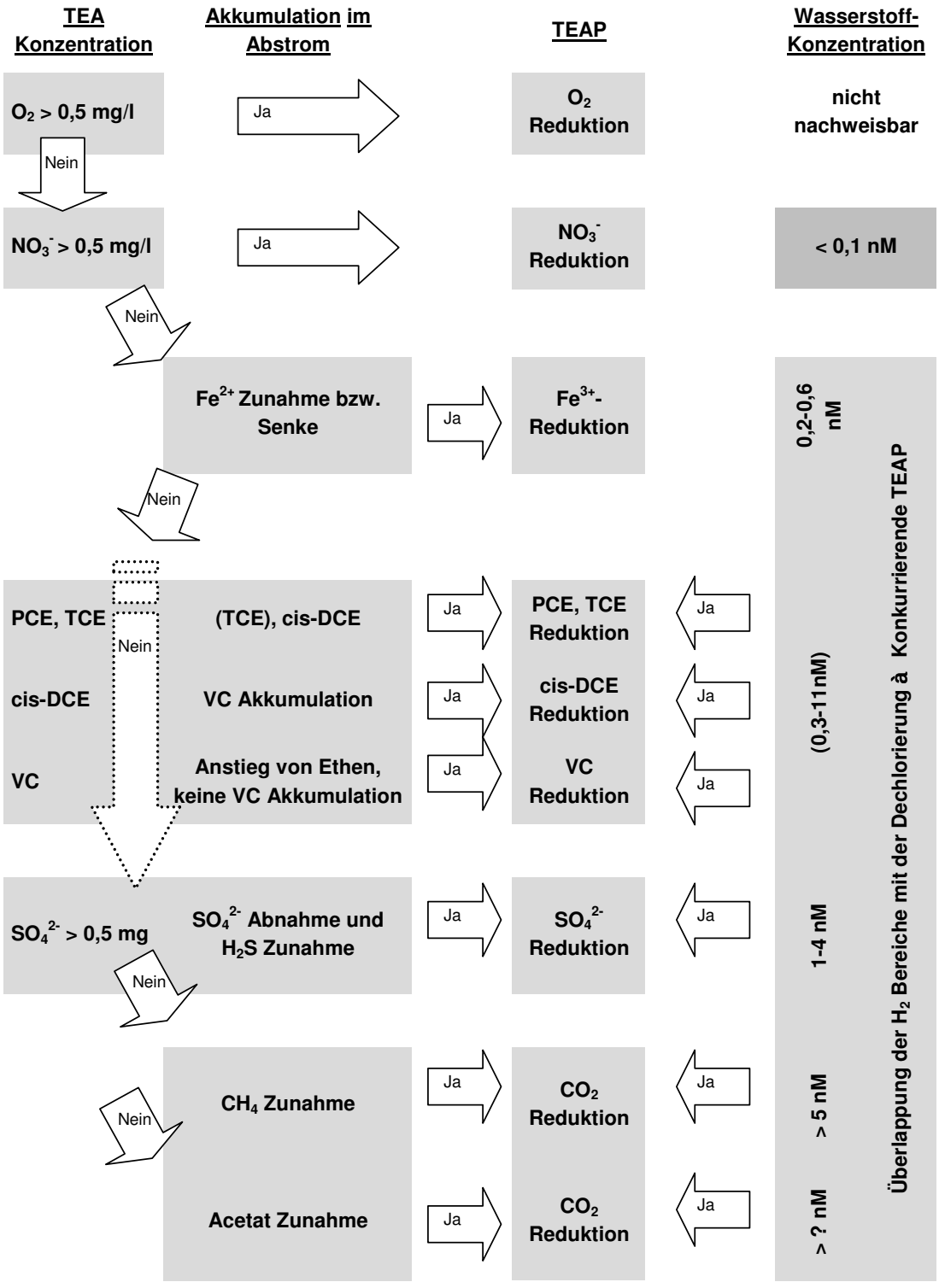


Abbildung 2.4: Hierarchisches Schema zur Ermittlung dominierender bzw. konkurrierender TEAP in Grundwasser (modifiziert nach CHAPELLE ET AL. [1995], Dechlorierung ergänzt)

vorherrschende Redoxprozess [VROBLESKY & CHAPELLE 2002]. COZZARELLI ET AL. [2000] berichten von ähnlichen Ergebnissen im Zusammenhang mit der Sulfatreduktion. So führt sauerstoffhaltiges Deponiesickerwasser zur Oxidation des bereits reduzierten Schwefels. Bereiche im Boden/Grundwasser unterliegen damit Schwankungen der Redoxmilieus, was in diesem Fall durch starke Unterschiede der Sulfatkonzentrationen deutlich wurde. Der Einfluss von Niederschlägen wurde auch in einer dreijährigen Studie von MCGUIRE ET AL. [2000] festgestellt. Bei H_2-Messungen nach Niederschlägen waren die Konzentrationen niedriger als üblich. Ähnlich wie von CHAPELLE ET AL. [2002] beschrieben, korrelierten auch hier H_2-Konzentrationen mit den anderen Redoxparametern. Ebenso wurden bei sinkenden H_2-Konzentrationen in einigen Fällen weiterhin hohe Methankonzentrationen gemessen.

COZZARELLI ET AL. [2000] schlagen vor, das Konzept der Identifizierung der Redoxzonen nicht auf geochemische Parameter zu begrenzen und einen integrierten Ansatz zu verfolgen, der mikrobiologische Methoden (Mikrokosmen-Untersuchungen) einschließt. Durch letztere konnten in einer Deponiesickerwasserfahne parallel stattfindende Prozesse der Sulfatreduktion und Methanogenese nachgewiesen werden. Mit Mikrokosmen wurde gleichfalls gezeigt, dass trotz hoher Konzentrationen an gelöstem Eisen und dazu passenden H_2-Konzentrationen im Aquifer eine Fe(III)-Reduktion nur an den Rändern der Schadstofffahne stattfand, wo Sulfat bereits verbraucht war. Es wird vermutet, dass im Zentrum der Fahne aufgrund der Stabilität der vorliegenden Eisenoxide deren Reduktion limitiert wird und deshalb die Sulfatreduktion begünstigt wird.

Im Wesentlichen wurden H_2-Konzentrationen bisher im Zusammenhang mit Kontaminationen veröffentlicht, bei denen organische Schadstoffe als Elektronendonatoren auftreten und das Grundwassermilieu reduziert wird (siehe Tabelle 2.3). Sehr wenige Aussagen gibt es für LCKW-Schadensfälle, wo die Schadstoffe als konkurrierende e^--Akzeptoren auftreten. LOLLAR ET AL. [2001] beschreiben die Dechlorierung am Standort Area 6, Dover Air Force Base, wo der gelöste Wasserstoff gemessen und auch eine Isotopenfraktionierung vorgenommen wurde (siehe Abschnitt 2.8.1). In der anaeroben Zone korrelierte eine erhöhte Chlorid-Konzentration mit verringerten Konzentrationen der chlorierten Ethene. Gleichzeitig wurden bei hohen H_2-Konzentrationen (> 10 nM) hohe Konzentrationen an gelöstem CH_4 sowie geringe O_2-Konzentrationen (< 1 mg/l) gemessen. Die H_2-Konzentrationen ermöglichen die Dechlorierung, stellen aber nicht unbedingt einen Schwellwert dar, was auch die parallele Methanogenese belegt. Offensichtlich befindet sich die H_2-Konzentration nicht in einem Gleichgewichtszustand oder es gibt andere Gründe, die beide Redoxprozesse zulassen.

2.7 Wasserstoffprobenahme aus dem Grundwasser

2.7.1 Bubble Strip Methode

Die derzeit favorisierte Probenahme zur Wasserstoffbestimmung wird mit Hilfe der „Bubble strip“-Methode durchgeführt [LOVLEY ET AL. 1994]. Zwei andere Methoden (Downholesampler und Diffusionsampler) haben sich in Untersuchungen von CHAPELLE ET AL. [1997] als zu aufwendig bzw. auch ungenauer erwiesen. Bei der erstgenannten Methode

wird das Grundwasser über einen Schlauch aus dem Aquifer gefördert und durch eine Gasmaus geleitet. Dabei macht man sich das Verteilungsgleichgewicht zwischen flüssiger und gasförmiger Phase (hoher Henrykoeffizient) von Wasserstoff zunutze. Nach einer Ausgleichszeit wird in die wassergefüllte Gasmaus ein bestimmtes Volumen Inertgas (z. B. N_2 oder He), das möglichst wasserstofffrei sein sollte, eingebracht. In die so gebildete Gasblase kann der Wasserstoff beim Durchströmen ausgasen bis ein Gleichgewichtszustand zwischen Gas- und Wasserphase erreicht ist. Das Grundwasser durchströmt die Gasmaus mindestens 20 Minuten lang. Danach werden im Abstand von 5 min zweimal 3-5 ml aus der Gasphase zur Analyse entnommen, bis die Differenz der Werte $< 10\,\%$ beträgt [WIEDEMEIER ET AL. 1998]. Unter Einhaltung dieser Empfehlungen dauert eine Probenahme mindestens 30-35 Minuten.

Eine alternative Methode, bei der die H_2-Analytik nicht im Feld erfolgt, benutzten HEIMANN ET AL. [2003]. Das Grundwasser wurde mit einem Volumenstrom von 270 ml/min für 45 Minuten durch eine Gasmaus gepumpt, die eine 25 ml-Gasblase N_2 enthielt. Die Probe wurde in evakuierte Glas-Vials in drei Schritten überführt. Nach der ersten und zweiten Überführung der Probe wurde das Vial jeweils wieder evakuiert. Die Werte für die Volumenströme, das Gasblasenvolumen und die Dauer der Gleichgewichtseinstellung variieren bei verschiedenen Autoren zum Teil beträchtlich und sind in Tabelle 2.4 dargestellt.

Die Proben müssen derzeit unverzüglich [innerhalb von 2 Stunden; LOVLEY ET AL. 1994] vor Ort gemessen werden. In der Regel wird dafür ein Gaschromatograph, der mit einem speziellen Detektor (RGA: Reduction Gas Analyser, Fa. Trace Analytical, Menlo Park, CA, USA) ausgestattet ist, verwendet. In Deutschland wird diese Methode bisher noch nicht angewendet [HELD 1999]. Eine Alternative zur Messung vor Ort stellt der Transport in ein Labor dar, wo alle Proben unter gleichen Bedingungen gemessen werden können. In USA bietet die Firma MICROSEEPS INC. [2006] (Pittsburgh, PA, USA) eine kommerzielle Möglichkeit der Wasserstoffprobenahme an. Die befüllten Vials werden nach der Probenahme an die Firma gesendet. Es gibt bisher jedoch keine Literatur, in der die Übereinstimmung von Ergebnissen, die mit dieser Methode gewonnen wurden, durch Messungen vor Ort nachgewiesen wurde. In Deutschland wurden Proben in einem Fall mehrere Tage aufbewahrt und später im Labor mit einem RGA analysiert [HEIMANN ET AL. 2003].

2.7.2 Randbedingungen bei der H_2-Probenahme

Bei der Probenahme von Wasserstoff aus dem Grundwasser sind bestimmte Randbedingungen zu berücksichtigen. BJERG ET AL. [1997] nennen folgende vier relevante Punkte.

Eisen: Das für den Brunnenbau verwendete Material sollte in keinem Fall Teile aus Eisen enthalten. Eine mögliche Korrosion kann zur Verfälschung der Messergebnisse führen.

Material: PVC, Teflon und ggf. Edelstahl sind als Materialien für den Brunnenausbau geeignet.

Ruhezeit: Zwischen dem Bau des Brunnens und der ersten H_2-Probenahme sollte eine gewisse Ruhezeit liegen. Hierfür werden 3 Monate vorgeschlagen.

Tabelle 2.4: Parameter zur H_2-Probenahme mittels „Bubble strip"-Methode

Literaturquelle	Volumenstrom [ml/min]	Volumen der Gasblase [ml]	Probenahme nach [min]
WIEDEMEIER ET AL. [1998]	300 oder 400-700	20	min. 20+5[a]
CHAPELLE & MCMAHON [1991]	600-1000	20	20-30
BJERG ET AL. [1997]	100	4	20+5[a]
TER MEER ET AL. [2000]	>500	20	25+5[a]
MICROSEEPS INC. [2006], USA	100 / 350	20	30 / 10
HEIMANN ET AL. [2003]	270	25	45
MRAVIK ET AL. [2003]	250-300	20	10+10[b]
GONSOULIN ET AL. [2004]	400-700	20	30

[a] wiederholte Probenahmen aus der Gasmaus

[b] Probenahmen alle 10 min bis die Differenz $< 10\%$ betrug

Untergrundarbeiten: Hydraulische Veränderungen im Untergrund können sich auf die H_2-Konzentration auswirken. Um bei der H_2-Messung die Normalsituation zu erfassen, sollte der Brunnenbau und andere Arbeiten in der Umgebung wie z. B. Pumpversuche abgeschlossen sein.

2.7.3 Diffusionssammler

Eine alternative Methode zur H_2-Probenahme ist die Verwendung eines Diffusionssammlers. KRAEMER & CONRAD [1993] setzten einen Edelstahlbehälter, der zum Korrosionsschutz mit Plastik ummantelt ist, ein. Im Behälter befindet sich eine Kammer mit 6 Öffnungen, die mit einer Silikon-Membran versehen sind, um die Diffusion von H_2 oder auch CH_4 zu ermöglichen. An der Kammer befindet sich eine Zu- und Ableitung mit Ventil, durch die gereinigter Stickstoff strömt. Für eine gewisse Zeit, z. B. 1 min, wird dieser Gasstrom unterbrochen und H_2 kann in das Gefäß diffundieren. Mit dem anschließenden Gasstrom wird die Probe in einen RGA befördert, wo H_2 analysiert wird. Die Nachweisgrenze lag hier bei 5 ppbv. Unter methanogenen Bedingungen wurden 10-100 nM H_2 gemessen. Ein Problem ergab sich bei längeren Standzeiten. Die Silikonmembran wurde im anaeroben Milieu mikrobiell besiedelt und die gemessenen H_2-Konzentrationen waren dann wesentlich höher.

2.7.4 Extraktion von H_2 in einem PVC-Beutel

Eine weitere Methode zur H_2-Probenahme nutzten RYU ET AL. [2004]. Hierbei wurde das Grundwasser in einen 400 ml-PVC-Beutel gefüllt. Über ein zweites Ventil wurden 10 ml

gereinigter N_2 injiziert. Nach mindestens 10 min, in denen sich ein Gleichgewicht einstellen konnte, wurden 5 ml Probe entnommen und in 10 ml-Vacutainer (evakuierte Vials) überführt, die vorher mit dem gereinigten Stickstoff gespült wurden. Die Analyse erfolgte im Labor mit einem RGA3. Die Nachweisgrenze für H_2, bezogen auf die wässrige Probe, betrug 0,2 nM. Gleichzeitig konnte im Gas die CH_4-Konzentration bestimmt werden (GC mit FID). Zur Kontrolle wurden Feldproben gemessen, die nur mit dem gereinigten Stickstoff gefüllt waren. Gasstandards wurden ebenfalls in den Vacutainern hergestellt. Offen bleibt bei der Anwendung dieser Methode, inwiefern über die Zeit Veränderungen des Grundwassers im Beutel auftreten. Es könnten mikrobiologische Prozesse auftreten, die die H_2-Konzentration erhöhen oder senken. Die Diffusion durch PVC bildet eine weitere mögliche Fehlerquelle. Diese Fehler sind aber vermutlich zu vernachlässigen, wenn die Probe unmittelbar nach der Gleichgewichtseinstellung in kurzem zeitlichen Abstand zur eigentlichen Grundwasser-Probenahme entnommen wird. Entscheidend ist eher, ob beim Transport der Vacutainer Verluste auftreten. RYU ET AL. [2004] gingen darauf nicht ein, die ermittelten Werte (siehe auch Tabelle 2.3) erschienen aber im Zusammenhang mit anderen Grundwasserparametern plausibel.

2.8 Alternative Methoden zur Abschätzung von Natural Attenuation bei LCKW-Schadensfällen

Wenn an kontaminierten Standorten durch Messungen bereits Tochterprodukte von PCE oder TCE entdeckt werden, bleibt in der Regel offen, wann und wo die natürlichen Abbauprozesse stattgefunden haben. Um diese Fragestellungen zu klären, wurden Methoden wie die Isotopenfraktionierung eingesetzt und Tracer verwendet.

2.8.1 Isotopenfraktionierung

Die Dechlorierung in einem Aquifer auf Basis der Isotopenfraktionierung von Kohlenstoff wurde als erstes von LOLLAR ET AL. [2001] nachgewiesen. Dabei wird davon ausgegangen, dass die LCKW mit dem leichteren Isotop ^{12}C gegenüber denen mit dem schwereren Isotop ^{13}C biologisch bevorzugt abgebaut werden. In der Restkontamination kommt es daher zu einer Anreicherung des schwereren Isotops. LOLLAR ET AL. [2001] leiteten aus der starken Fraktionierung in einem Abstrombrunnen einen mehr als 40 %igen biologischen TCE-Abbau ab, was mit hohen Konzentrationen der Tochterprodukte cDCE, VC und Ethen in diesem Brunnen korrelierte. Parallel dazu wurden auch erhöhte Chloridkonzentrationen in anaeroben Bereichen bei gleichzeitig verringerten LCKW-Konzentrationen festgestellt.

Auch beim aeroben Abbau von TCE konnte eine Fraktionierung der Kohlenstoffisotope nachgewiesen werden. BARTH ET AL. [2002] beobachteten in Experimenten mit der Reinkultur *Burkholderia cepacia* G4 eine Korrelation der eingestellten optischen Dichte mit den Abbauraten und einer entsprechenden C-Fraktionierung. CHU ET AL. [2004] untersuchten ebenfalls den aeroben Abbau von LCKW mit Reinkulturen sowie VC-Anreicherungskulturen. Die Isotopenfraktionierung fiel nicht so stark aus wie im aeroben

Milieu. Außerdem war sie beim cometabolischen Abbau von TCE, cDCE und VC geringer als beim metabolischen Abbau von VC. Die Autoren ziehen daraus den Schluss, dass anhand dieser Unterschiede die jeweiligen Abbauprozesse ermittelt werden könnten.

CHARTRAND ET AL. [2005] bestätigen den Unterschied der Isotopenfraktionierung beim aeroben und anaeroben Abbau von VC. Diese ist beim anaeroben Abbau stärker. Das stimmt mit der Theorie überein, dass stärkere Fraktionierungen erwartet werden, wenn in die Reaktion schwerere Atome involviert sind. Das ist bei der anaeroben Spaltung der C-Cl-Bindung im Vergleich zur aeroben Epoxidbildung an C=C der Fall.

HUNKELER ET AL. [2005] überprüften mit Hilfe der Methode der stabilen Isotopen Abbauwege von chlorierten Methanen, Ethanen und Ethenen. TCE, von dem zuvor angenommen wurde, aus einer TCE-Quelle oder dem Abbau von PCE zu stammen, konnte damit der Dehydrochlorierung von 1,1,2,2-Tetrachlorethan zugeordnet werden. Weiterhin wurde herausgefunden, dass VC und Ethen im Grundwasser der Dichloreliminierung von 1,1,2-Trichlorethan und 1,2-Dichlorethan entstammen und nicht der Dechlorierung von chlorierten Ethenen. Diese Ergebnisse verdeutlichen die Möglichkeiten der Isotopencharakterisierung und machen zugleich die Schwierigkeiten bei der Identifikation von Abbauprozessen im Boden bewusst.

2.8.2 Einsatz von Tracern

Der Abbau von TCFE (Trichlorfluorethen) zu CFE (1,1-Chlorfluorethen) kann im Untergrund als Tracer benutzt werden, um den Abbau von TCE zu VC zu quantifizieren [VANCHEESWARAN & SEMPRINI 1999]. Mit Push-and-Pull Tests konnte damit z. B. eine verbesserte Dechlorierungsaktivität im Aquifer nachgewiesen werden [VANCHEESWARAN ET AL. 2000]. In Experimenten wurden ähnliche Halbsättigungskonstanten für die Reaktionen von TCE und TCFE zu cDCE und cis-TCFE sowie ähnliche Verbrauchsraten gefunden. Auch wurden beide Reaktionen durch Ethin gehemmt. Dabei kam eine Mischkultur eines kontaminierten Standortes zum Einsatz, die TCE bis zum Ethen dechloriert und TCFE zu Fluorethen [PON & SEMPRINI 2004].

Ebenso könnte Vinylbromid (VB) eingesetzt werden, um schneller Aussagen über das Dechlorierungspotenzial im Grundwasser zu erhalten. In Experimenten mit einer methanogenen dechlorierenden Mischkultur, die von *Dehalococcoides* Spezien dominiert wird, verlief der Abbau von Vinylbromid zu Ethen um ein Vielfaches schneller als mit Vinylchlorid. Die Halbgeschwindigkeitskonstante lag für VC bei $240 \pm 150\,\mu$M, für Vinylbromid bei $21 \pm 8\,\mu$M. Die Affinität zu VB ist offensichtlich größer. Außerdem wird die Dehalogenierung beider Stoffe vermutlich durch das gleiche Enzym katalysiert, was Versuche ergaben, bei denen der Abbau von VC mit dem Abbau von VB konkurrierte [GU ET AL. 2003].

3 Material und Methoden

3.1 Chemikalien und Gase

Für diese Arbeit wurden Chemikalien der Firmen Merck (Darmstadt), Aldrich (Steinhofen) und Fluka (Buchs, Schweiz) verwendet. Diese hatten p.A.-Qualität. Das Antibiotikum Vancomycin und der Hemmstoff 2-Bromethansulfonat (BES) wurden von der Firma Sigma (Deisenhofen) bezogen. In allen Versuchen wurde aufbereitetes Leitungswasser eingesetzt. Die Aufbereitung erfolgte über einen Partikelfilter, Aktivkohle sowie Anionen- und Kationenaustauscher, denen eine Umkehrosmoseanlage vorgeschaltet war. In der weiteren Arbeit wird dieses Wasser nach dem Hersteller der Anlage (Fa. Millipore, Eschborn) Millipore® genannt.

In der Gaschromatographie wurde Helium 5.0, Stickstoff 5.0, Wasserstoff 5.0 sowie synthetische Luft (Fa. Air Liquide, Düsseldorf) eingesetzt. Bei der Vorbereitung der Batchversuche wurde Alligal, ein Gasgemisch aus 80 % N_2 und 20 % CO_2 und CO_2 4.5 (ebenfalls Air Liquide) verwendet. Für die Herstellung von Standards wurde Methan 4.5 (Air Liquide), Ethen 2.8 und ein Spezialprüfgas mit 491 $\pm$2 ppmv H_2 in Stickstoff (beide Fa. Linde, Unterschleißheim) genutzt.

3.2 Mikroorganismen und Kultivierung

Für die in dieser Arbeit beschriebenen Batchversuche wurde eine dechlorierende Mischkultur sowie Reinkulturen verwendet, die im Folgenden beschrieben werden.

3.2.1 Kultivierung der dechlorierenden Mischkultur

Dem Fachgebiet Hygiene wurde vom Institute of Environmental Science and Engineering der Rice University (Houston, Texas, USA) eine PCE-dechlorierende Mischkultur zur Verfügung gestellt. Das sogenannte AGS (anaerobic granular sludge) erhielt dieses Institut von der Shell Development, Westhollow Research Center in Houston. Aus dieser, an Ethylglykol adaptierten Kultur konnte eine reduktiv dechlorierende Mischkultur angereichert werden. Aus den beobachteten Abbauraten wurde auf eine respiratorische Dechlorierung geschlossen [KUHLMANN 1998]. Die Überführung der Kultur und die Stammhaltung in Batchsystemen am Fachgebiet Hygiene sind ausführlich bei KUHLMANN [1998] beschrieben.

Um eine vollständige Dechlorierung zu Ethen zu erreichen, veränderte ROSENTHAL [2004] die Zusammensetzung des Substrates. Methanol als einziger e^--Donator wurde

zum Großteil durch Wasserstoff ersetzt. Mit dieser Veränderung wurde PCE (1,55 mmol) in 48 Stunden zu cDCE/VC umgesetzt und innerhalb einer Woche vollständig zu Ethen abgebaut [ROSENTHAL 2004]. Ab Mitte 2003 wurde in einer weiteren 5 l-Schottflasche unter sonst gleichen Bedingungen eine Mischkultur II kultiviert, die an Stelle von PCE cDCE als e^--Akzeptor erhielt (115 μl jede zweite Woche, entsprechen 1,52 mmol). cDCE wurde hier in der Regel in 14 Tagen vollständig zu Ethen dechloriert.

3.2.2 Verwendete Reinkulturen

Zur Untersuchung der Konkurrenz typischer Redoxprozesse in kontaminiertem Grundwasser wurden exemplarisch vier Reinkulturen ausgewählt. Die Gattungen *Methanosarcina* und *Desulfovibrio* wurden im Zusammenhang mit der H_2-Nutzung im Boden erwähnt [CONRAD 1996]. *Methanospirillum* sp., die ebenfalls H_2 nutzen können, wurden im Schlamm von Gewässern gefunden [STANLEY ET AL. 1989] und *Sulfurospirillum multivorans* ist eine gut untersuchte Reinkultur, die zur Dechlorierung H_2 verwendet (siehe Abschnitt 2.4.2). Die Reinkulturen für die Batchversuche wurden von der DSMZ bezogen und entsprechend den angegebenen Medien kultiviert. Die Kultivierung erfolgte in 318 ml-Erlenmeyerkolben, die bei 25°C mit 125 Umin^{-1} geschüttelt wurden.

3.2.2.1 *Desulfovibrio desulfuricans*

Desulfovibrio desulfuricans gehört zu den strikt anaeroben, dissimilatorisch sulfat- und schwefelreduzierenden Bakterien. Es ist chemoorganotroph, gram negativ, enthält Desulfovidrin und bildet keine Sporen. Die einfach begeißelten gekrümmten Stäbchen sind 3-5 μm lang und haben einen Durchmesser von 0,5-1 μm. Ein optimales Wachstum erfolgt bei Temperaturen von 34-37°C und pH-Werten von 6,6-7,5. *Desulfovibrio desulfuricans* wurde in Süßwasser und Meerwasser gefunden, besonders in verschmutzten Gewässern und Böden mit einem hohen Anteil an organischem Kohlenstoff, wo Sulfidausfällungen auftraten. Als e^--Donatoren dienen H_2, Lactat, Pyruvat, Malat, Formiat, Cholin, primäre Alkohole wie Methanol und Ethanol sowie bestimmte Fettsäuren. Acetat, Butyrat, Oxalat, Propionat und Palmitat werden nicht als Elektronendonatoren verwendet [KRIEG & HOLT 1984; BALOWS ET AL. 1992]. *Desulfovibrio desulfuricans* fungiert sowohl als Sulfatreduzierer, aber auch als Denitrifizierer und Fe(III)-Reduzierer und als syntropher Organismus mit Methanogenen [CONRAD 1996]. Bei der Reduktion von Sulfat wird in der Regel als Endprodukt Schwefelwasserstoff gebildet, es treten aber auch Thiosulfat und Sulfit als Nebenprodukte auf. Auch O_2 kann als e^--Akzeptor verwendet werden, womit die Reduktion anderer e^--Akzeptoren unterbunden wird, wie KREKELER & CYPIONKA [1995] herausfanden. Die gleichen Autoren beobachteten eine weitere Besonderheit des Stoffwechsels. *Desulfovibrio desulfuricans* kann die Oxidation von Thiosulfat oder Sulfit mit der Reduktion von Nitrat zu Ammonium koppeln. Die Kultivierung von *Desulfovibrio desulfuricans* (DSM 642) erfolgte in DSMZ-Medium 63, dessen Bestandteile im Anhang in Tabelle B.3 aufgeführt sind.

3.2.2.2 *Methanosarcina mazei*

Methanosarcina mazei zählt zu den methanbildenden Archaea. Die Gattung der *Methanosarcina* lebt streng anaerob. Die Zellen haben ein kugelähnliches Aussehen und einen Durchmesser von 0,8-2,5 μm. *Methanosarcina mazei* tritt in einzelnen Zellen und kleineren bis größeren Aggregaten auf. Unregelmäßige Kokken von 1-3 μm Durchmesser bilden dabei unregelmäßige Gebilde von 20-100 μm Größe. Das Gramverhalten der Gattung *Methanosarcina* ist sehr unterschiedlich, *Methanosarcina mazei* ist gram negativ. Typisch für *Methanosarcina mazei* ist eine Zystenbildung. Die Zysten von *Methanosarcina mazei* enthalten zehntausende Zellen und sind 100-1000 μm groß. Das Bakterium ist in vielen anaeroben Umgebungen zu finden, wo Acetat oder Methylamine verfügbar sind, eingeschlossen aquatische Sedimente, Faultürme und Pansen von Tieren. *Methanosarcina mazei* ist auch aus Gartenerde, verfaulendem Laub und verschiedenen Abwässern isoliert worden. Alle Spezies der *Methanosarcina* nutzen Methanol und Methylamine als katabolisches Substrat. Die meisten Spezies können auch H_2 und CO_2 sowie Acetat nutzen. Wenn beide Möglichkeiten gegeben sind, wird die hydrogenotrophe gegenüber der acetotrophen Methanogenese bevorzugt. In Anwesenheit von Hefe-Extrakt werden die methanogenen Substrate von *Methanosarcina mazei* als einzige Energiequelle verwendet. Das Wachstumsoptimum wird bei pH-Werten von 7,0-7,2 (pH 5,5-8,0 tolerierbar) und 30-40°C erreicht. Die Verdopplungszeit beträgt mit H_2-CO_2 9 h und mit Acetat 17 h. Nicht alle Stämme sind jedoch zu diesem schnellen Wachstum in der Lage [STANLEY ET AL. 1989]. *Methanosarcina mazei* (DSM 2053) wurde in DSMZ-Medium 120 (Tabelle B.4 im Anhang) kultiviert.

3.2.2.3 *Methanospirillum hungatei*

Methanospirillum hungatei zählt ebenfalls zu den methanbildenden Archaea. Das Bakterium ist obligat anaerob, chemolitotroph, gram negativ und nicht sporenbildend. Die Spirillen von 7-10 μm Länge und einem Durchmesser von 0,5 μm sind polar begeißelt. Das Wachstumsoptimum von *Methanospirillum hungatei* liegt zwischen 30°C und 37°C und pH-Werten von 6,6-7,4. Die Verdopplungszeit beträgt ca. 17 Stunden. *Methanospirillum hungatei* ist weit verbreitet und wurde z. B. aus Klärschlamm, aus dem Pansen von Rindern und Schlammablagerungen in Gewässern isoliert. Das Bakterium verwendet Formiat, H_2 und CO_2 zum Wachstum und zur Methanogenese. Eine acetotrophe Methanogenese ist nicht möglich. *Methanospirillum hungatei* ist nicht in der Lage, Acetat, Pyruvat, Methanol, Ethanol oder Benzoat als e^--Donatoren zu nutzen [FERRY ET AL. 1974; FERRY & WOLFE 1977; STANLEY ET AL. 1989]. Für die Kultivierung des Bakteriums (DSM 864) diente eine leicht modifizierte Variante des von ZEIKUS & BOWEN [1975] beschriebenen phosphatgepufferten Mineralmediums (siehe Tabelle B.5 im Anhang).

3.2.2.4 *Sulfurospirillum multivorans*

Auf den Organismus *Sulfurospirillum multivorans* wird an dieser Stelle nicht weiter eingegangen, da er in Abschnitt 2.4.2 bereits ausreichend beschrieben worden ist. Zur Kultivierung von *Sulfurospirillum multivorans*, der unter der Nummer DSM 12446 bezogen wurde,

wurde das gleiche Medium verwendet, wie für die vorhandene dechlorierende Mischkultur. Die Zusammensetzung ist der Tabelle B.1 im Anhang zu entnehmen.

3.3 Analytik

3.3.1 pH-Wert

Der pH-Wert wurde mit einem Digital pH-Meter (Fa. Knick, Berlin) unter Verwendung einer pH-Einstabmesskette (HI 2020 S, Fa. Hanna Instruments, Karlsruhe) bestimmt. Kalibriert wurde über einen pH-Bereich von 4 bis 9. Jeweils 1 ml Flüssigkeit wurde in ein 2 ml Reaktionsgefäß (Fa. Eppendorf, Hamburg) überführt.

3.3.2 Gelöstes Eisen

Die Proben aus Hannover-Südstadt wurden mit konzentrierter Salpetersäure konserviert. Zur Ermittlung der Konzentration an gelöstem Eisen wurde das Reagenz Fe-AN (Spectroquant 1.14761.0001, Merck, Darmstadt) verwendet. Die Extinktion des gebildeten Farbkomplexes wurde bei 565 nm photometrisch mit einem Photometer (Typ SQ 118 Fa. Merck) bestimmt.

3.3.3 Biochemischer Sauerstoffbedarf

Der BSB für Grundwasserproben aus Hannover-Südstadt wurde als BSB_∞ bestimmt. Je Messstelle wurde dafür ein Triplett Winkler-Flaschen verwendet, die bei 20°C aufbewahrt wurden. Die Flüssigkeit wurde durch Schütteln mit Sauerstoff gesättigt. Anders als bei der üblichen BSB-Bestimmung wurden keine Organismen aus Belebtschlamm zugesetzt, da durch diese selbst eine Verfälschung des BSB zu erwarten gewesen wäre. Als Kontrollen dienten Flaschen mit Millipore.

Die Sauerstoffmessung erfolgte mit einer Sauerstoffelektrode (CellOx 325, Fa. WTW, Weilheim) und dazugehörigem Messgerät (OXI 330 Fa. WTW). Hiermit wurde auch parallel zur H_2-Probenahme in Hannover-Südstadt in einem Durchflussgefäß (WTW) die O_2-Konzentration bestimmt.

3.3.4 Gasförmiger und gelöster Wasserstoff

In hohen Konzentrationen (%-Bereich) wurde Wasserstoff mit einem Gaschromatograph (Modell 14A, Fa. Shimadzu Co., Japan) mit Hilfe eines Wärmeleitfähigkeitsdetektors gemessen. Die Gerätespezifikation kann dem Anhang (Tabelle A.1) entnommen werden. Die Probenahme und Injektion erfolgte mit einer gasdichten Spritze mit Ventil (Pressure-Lok A-2, Fa. VICI Precision Sampling, Inc., Baton Rouge, LA, USA). Nach dem Spülen mit

dem Probegas wurden 100 μl injiziert. Die Nachweisgrenze für Wasserstoff betrug mit diesem System 0,3 %.

Die Kalibrierung für den hohen Konzentrationsbereich erfolgte mit 1-, 5- und 10- %igen Standards. Diese wurden in 1 l-Serumflaschen hergestellt.

Bei geringen Konzentrationen im nM-Bereich wurde Wasserstoff als gasförmige Probe mit einem Gaschromatograph (Modell 14B, Shimadzu), ausgestattet mit einem Pulsed Discharge Ionisations-Detektor (PDID, Fa. VICI Valco Instruments Co. Inc., Schweiz), analysiert (siehe Anhang Tabelle A.1). Dabei wurde die von KILTZ [2003] beschriebene Methode modifiziert. Die Rückspülzeit wurde auf 1,32 min verkürzt. Das ermöglichte die Injektion von Proben mit höheren N_2-Gehalten und reduzierte die Methodenzeit. Sauerstoff konnte hiermit nicht mehr detektiert werden.

In der Regel wurden 3 Kalibrierbereiche verwendet, für geringe Konzentrationen die Bereiche von 120 bis 4300 ppbv und von 4300 ppbv bis 20 ppmv (jeweils mit 1 ml Probenvolumen) sowie für höhere Konzentrationen der Bereich von 5 bis 1000 ppmv (0,2 ml Probenvolumen). Die Nachweisgrenze für 1 ml-Gasproben betrug 200 ppbv. Das entspricht 0,16 nM in der Flüssigphase.

Zur Berechnung der wässrigen Konzentrationen wurde die allgemeine Gasgleichung unter Einbeziehung des Henry-Koeffizienten verwendet. Die Temperatur und der Druck in den jeweiligen Proben wurden dazu parallel gemessen.

Referenz. Der Gaschromatograph für die Messungen im nM-Bereich wies tägliche Schwankungen auf. Es war jedoch vom zeitlichen Aufwand nicht möglich, täglich eine Kalibrierung durchzuführen. Deshalb wurde parallel zu den Proben ein Standard im unteren Konzentrationsbereich mitgemessen. Dieser Standard, im folgenden Referenz genannt, wurde in einer 10 l-Flasche hergestellt und aufbewahrt. Sie enthielt 6 l einer Tri-Natriumphosphat-Dodecahydrat-Lösung (4,7 g/l Millipore). Das verbleibende Volumen von 6 l Headspace wurde mit Helium gefüllt. 62,5 ml des 491 ppmv Prüfgases wurden injiziert, so dass die H_2-Konzentration in der Gasphase 5 ppmv betrug, was 3,9 nM in der Flüssigphase entspricht. Da eine Kalibrierung sehr aufwendig ist und nachgewiesen werden konnte, dass eine Änderung über die Zeit sehr gering ist, wurde gleichzeitig mit jeder Kalibrierung ein Mittelwert über mehrere Referenzgas-Analysen ermittelt. Zur Berechnung von Konzentrationen in Proben wurde dann ein entsprechender Faktor herangezogen, der aus dem Tagesmittel der Referenz-Analysen und dem Mittelwert zum Zeitpunkt der Kalibrierung berechnet wurde.

3.3.5 Chlorierte Kohlenwasserstoffe und Gase

Die LCKW und Gase wurden in der Regel aus flüssigen Proben bestimmt. Dafür wurde den 2-Phasen-Batchansätzen jeweils 1 ml Flüssigkeit entnommen. Bei einigen Versuchen wurden auch 1 ml gasförmige Proben aus dem Headspace entnommen. Die Proben wurden in Headspace-Vials überführt und in Gaschromatographen der Firma Perkin Elmer (Überlingen), PE 8700 und PE 8500 (Daten im Anhang, Tabellen A.3 und A.4) analysiert. Die

Auswertung erfolgte mit der Chromatographie-Software PeakNet der Firma Dionex (Idstein). In allen Batchansätzen wurden die Stoffmengen je Batchansatz berechnet und hierfür dimensionslose Henry-Koeffizienten (siehe Tabelle 2.1) verwendet.

Die Grundwasserproben aus Hannover-Südstadt wurden mit beiden Gaschromatographen parallel bestimmt. Für die Bestimmung mit dem GC PE 8500 wurde mit einer Aufsalzmethode gearbeitet. Dazu wurden jeweils 3 g Na_2SO_4 und anschließend 10 ml Probe in die Headspace-Vials gegeben.

3.3.5.1 Gasstandards

Für die Kalibrierung von Methan und Ethen wurden 0,1- und 1-%ige Gasstandards in 1 l-Serumflaschen hergestellt. Aus diesen wurden abgestuft 10 bis 100 μl mittels gasdichter Spritze in Headspace-Vials (22 ml, Fa. Perkin Elmer) injiziert, die 1 ml Millipore enthielten. Der Kalibrierbereich lag zwischen 0,37 und 41,7 μM.

3.3.5.2 LCKW-Standards

Für die Kalibrierung der chlorierten Ethene wurde zum einen ein kommerzieller Standard (Haloethanes Mixture, DWM-520, Fa. Ultra Scientific Inc., North Kingstown, RI USA) verwendet, der unter anderem PCE, TCE, cDCE, tDCE, 1,1-DCE und VC in Konzentrationen von 200 mg/l in Methanol enthielt. Eigene Standards wurden hergestellt, indem je 9 μl PCE, TCE und cDCE in 10 ml Methanol verdünnt wurden (Standard I) und 0,5 ml dieser Lösung ebenfalls mit Methanol auf 10 ml aufgefüllt wurden (Standard II). Die zu messenden Standards wurden hergestellt, indem verschiedene Mengen der käuflichen bzw. selbst hergestellten Standards in Headspace-Vials injiziert wurden. Die Differenz zu 1 ml Flüssigvolumen wurde dabei mit Millipore aufgefüllt.

Die Konzentrationen der Standards lagen zwischen 4,4 und 176,2 μM (0,6-150,8 μM) für PCE, zwischen 5,0 und 200,6 μM (0,76-190,3 μM) für TCE, zwischen 5,8 und 233,0 μM (1,03-256,0 μM) für cDCE sowie 8,0 und 120,0 μM (1,6-400,0 μM) für VC. Die Werte in Klammern gelten für die Benutzung der Haloethan Mixture. Die höchste und niedrigste Konzentration wurden dabei 10-fach, neun dazwischen eingestellte Konzentrationen doppelt bestimmt. Die Kalibrierung mit den selbst hergestellten Standards erfolgte in der Regel mit einer Fünf-Punkt-Kalibrierung, ebenso die Kalibrierung für VC aus einem kommerziellen Standard (HC-290, Fa. Ultra Scientific Inc.).

3.3.6 Acetat, Lactat, Pyruvat, Nitrat, Nitrit und Sulfat

Die Anionen wurden mit einem Ionenchromatograph der Firma Dionex (Sunnyvale, Kalifornien, USA) analysiert (siehe Tabelle A.5 im Anhang). Acetat, Lactat, Nitrat, Nitrit und Sulfat wurden hierbei über die Leitfähigkeit, Pyruvat mit Hilfe eines nachgeschalteten UV-Detektors gemessen. Da Lactat und Acetat die gleiche Retentionszeit aufwiesen, konnte bei Versuchen mit Lactat nur eine Startkonzentration gemessen werden. Für Pyruvat erfolgte

eine qualitative Auswertung. In Versuchen mit Pyruvat als e^--Donator konnte der Zeitpunkt des vollständigen Verbrauchs festgestellt werden.

Für die Analyse wurden den Batchansätzen Flüssigproben entnommen, die mit 0,2 μm-Filterhaltern (Fa. Sartorius, Göttingen) sterilfiltriert wurden. Die Probemenge richtete sich nach der zu erwartenden Verdünnung. Die Proben wurden in 2 ml-Reaktionsgefäßen (Fa. Eppendorf, Hamburg) aufbewahrt und zur Analyse in 5 ml-Vials (Fa. Dionex) mit Millipore verdünnt.

Für Nitrat, Sulfat und Acetat wurde eine Kalibrierung von 1 bis 10 ppm verwendet, für Nitrit von 0,1 bis 1 ppm. Die Lactat-Kalibrierung reichte von 1 bis 14 ppm.

3.3.7 Gelöster organischen Kohlenstoffs (DOC)

Die quantitative DOC-Analytik erfolgte mit einem Hochtemperatur-TOC-Analysator liquiTOC® (Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau). Die das Messgerät betreffenden Parameter sind im Anhang A.6 aufgeführt. Zur Analyse des DOC wurden 20 ml Flüssigkeit aus den Versuchsansätzen genommen und mit einem 0,2 μm Einwegfilter (Fa. Sartorius, Göttingen) gefiltert. Die ermittelten DOC-Werte wurden als NPOC gemessen und enthalten damit nur die nichtflüchtigen Bestandteile der Probe.

Zur Kalibrierung wurde eine 1000 ppm-Stammlösung (2,125 g/l Kaliumhydrogenphtalat) verwendet. Als Kalibrierbereich wurde 20 ppm eingestellt. Hierfür wurde die Stammlösung entsprechend verdünnt. Das System wählt automatisch 10 unterschiedliche Einspritzvolumina über etwa eine Größenordnung von 0,1-1 ml. Dies ist möglich, da das Probenvolumen aufgrund der Verwendung eines Mass-Flow-Controllers keinen Einfluss auf die Signalgröße hat. Diese hängt nur von dem C-Gehalt ab.

Für die qualitative DOC-Bestimmung wurde ein LC-OCD-Gerät[1] (Fa. DOC-Labor Dr. Huber, Karlsruhe) eingesetzt. Die Trennung erfolgt mittels Size Exclusion Chromatography in einer 250 mm langen Säule mit 20 mm Durchmesser. Diese enthält Kugeln mit einer hydrophilen Oberfläche und Porengrößen von 300 Å. Parallel dazu findet eine HIC (Hydrophobic Interaction Chromatography) und IC (Ion Interaction Chromatography) statt [HUBER & FRIMMEL 1996]. Die Durchflussrate beträgt 1 ml/min. Als Laufmittel wird ein Phosphatpuffer (0,18 mol/l) mit einem pH-Wert von 6,6 verwendet. Bei der Analyse wird ein UV- und ein OC-Signal parallel aufgezeichnet. Das OC-Signal stammt von einem IR-Detektor, der Kohlendioxid misst, was bei der Oxidation des DOC mit UV-Licht bei 185 nm im Vakuum entsteht. Die Funktionsweise des LC-OCD wird von LAABS [2004] bzw. HUBER [2005] genauer erläutert. Für die qualitative DOC-Bestimmung wurden 5 ml filtrierte Probe in einer 1:2-Verdünnung mit Millipore eingesetzt.

Abbildung 3.1 zeigt ein typisches Chromatogramm eines LC-OCD für ein Oberflächenwasser. Polysaccharide, die am geringsten zurückgehalten werden, erscheinen zuerst, im Anschluss daran Huminstoffe, die kaum löslich in Wasser sind, dann Huminsäuren und Fulvinsäuren. Es folgen die sogenannten “Building Blocks”. Sie sind saurer als Fulvinsäuren und Zwischenprodukte im Abbauprozess Fulvinsäuren-Building Blocks- niedrigmolekulare organische Säuren.

[1] Liquid Chromatography - Organic Carbon Detection

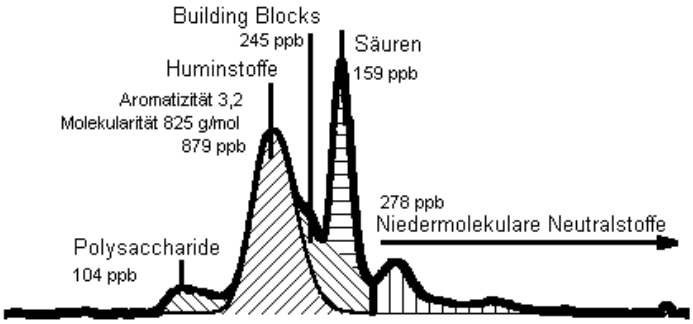


Abbildung 3.1: OC-Signal des LC-OCD eines typischen Oberflächenwassers [HUBER 2005]

3.3.8 Redoxpotenzial

Bei der Probenahme in Hannover-Südstadt wurde das Redoxpotential gemessen. Eine Redoxelektrode der Fa. Ingold (PT 4805 - S7/120 combination redox, Steinbach/Ts.) wurde dafür in ein Durchflussgefäß (Fa. Ochs, Bovenden) eingesetzt. Als Messgerät diente ein Knick pH-mV-Meter (Fa. Knick, Berlin).

3.4 Batchversuche

3.4.1 Verwendete Medien und Lösungen

Für die Batchversuche wurden verschiedene Medien eingesetzt. Versuche mit der dechlorierenden Mischkultur wurden in einem chloridarmen Medium mit Cabonatpuffer [ROSENTHAL 2004; ADRIAN 1999] durchgeführt (siehe Anhang, Tabelle B.1). Für einen Versuch wurde der Carbonatpuffer durch einen Phosphatpuffer ersetzt (Tabelle B.2 im Anhang). In einigen Versuchen wurde Natriumsulfid (1 mM) als Reduktionsmittel eingesetzt.

Die Versuche mit Reinkulturen wurden zum Teil mit dem oben genannten Medium, Versuche mit *Methanosarcina mazei* in DSMZ-Medium 120, Versuche mit *Desulfovibrio desulfuricans* in DSMZ-Medium 63 durchgeführt. Für Versuche, in denen *Sulfurospirillum multivorans*, *Desulfovibrio desulfuricans* und *Methanospirillum hungatei* einzeln und in Kombination untersucht wurden, wurde die Zusammensetzung eines von ZEIKUS & BOWEN [1975] beschriebenen Mediums, im Folgenden MH-Medium genannt, für *Methanospirillum hungatei* modifiziert [BALKE & GRAF 2005].

Die Zusammensetzung der Nährmedien kann dem Anhang B entnommen werden.

3.4.2 Herstellung der Medien

Die Basallösung wurde in einem 3 l-Widdelkolben zwei Stunden autoklaviert, ebenso 80 ml Pufferlösung sowie 25 ml Phosphatlösung. Nach dem Abkühlen im Autoklaven auf 80°C

wurde der Widdelkolben im Wasser/Eis-Bad unter einer N_2/CO_2-Atmosphäre (80 /20 , Alligal) weiter abgekühlt. Die Carbonatpufferlösung wurde nach dem Autoklavieren mit CO_2 begast. Später erfolgte die Zugabe der Puffer-, Phosphat-, Vitamin-, Spurenelemente- und Fe-Lösung sowie Resazurin (2 mg/l). Der pH-Wert wurde ggf. mit 2 M HCl eingestellt.

Die Spurenelemente-Lösung und die Fe-Lösung wurden in 1000-facher Konzentration separat autoklaviert. Die Vitamin- und Vitamin B_{12}-Lösung wurden in 2000- bzw. 1000-facher Konzentration steril filtriert und kühl gelagert. Ebenso wurden die Stammlösungen mit e^--Akzeptoren (Nitrat: 8,15 g KNO_3 auf 50 ml Millipore; Sulfat: 7,39 g Na_2SO_4 auf 50 ml Millipore) und die Lösungen mit e^--Donatoren (Milchsäure, Pyruvat und Propionsäure, alle 1 M) sowie eine 1000-fach konzentrierte Acetatlösung (50 g/l) und Vancomycin (25 mg/5 ml) steril filtriert.

Das Medium wurde unter N_2/CO_2-Atmosphäre (80 /20 , Alligal) in verschließbare 318 ml-Kolben überführt. Für Versuche zur Dechlorierung wurde PCE bzw. cDCE dem Medium eine Woche vor Versuchsbeginn zugesetzt (10 μl auf 318 ml, ca. 250 μmol/l) und die Medienflaschen bei 125 $Umin^{-1}$ geschüttelt.

3.4.3 Herstellung der Batchansätze

Im Folgenden wird die generelle Vorgehensweise bei der Herstellung der Versuchsansätze beschrieben. Abweichungen hiervon werden bei der Beschreibung der Teilversuche erläutert. Für die Batchansätze wurden Injektionsflaschen mit einem Volumen von 118 ml autoklaviert und getrocknet. Verschlossen wurden diese mit Bördelkappen und teflonbeschichteten Butyl-Septen (R20-L/CS-Chromatographie Service, Langerwehe). Ebenfalls autoklaviert wurden die Dispensette und der Verteilerrechen zur Befüllung und Begasung der Injektionsflaschen.

Mit der Dispensette wurden jeweils 50 ml Medium aus den 318 ml-Medienflaschen in die Injektionsflaschen gefüllt und diese anschließend mit Crimpzange und Bördelkappe verschlossen. Danach wurde der Headspace der Ansätze (max. 6 gleichzeitig) mit Hilfe einer Begasungsanlage durch eine N_2/CO_2-Atmosphäre (Alligal) ersetzt [ADRIAN 1999]. Das Begasen erfolgte in zwei Schritten, bei denen jeweils 6 Spülrhythmen (abwechselnd Vakuum und Begasung mit Alligal) vorgenommen wurden. Hiermit war ein definierter und vollständiger Austausch der Gasphase möglich. Für einen Versuch, in dem der Carbonatpuffer durch einen Phosphatpuffer ersetzt wurde, erfolgte die Begasung mit N_2.

Nach dem Befüllen der Batchansätze wurde allgemein wie folgt vorgegangen:

1. ggf. Zugabe von anderen e^--Akzeptoren (Nitrat: Endkonzentration 50 mg/l, Sulfat: Endkonzentration: 120 mg/l)
2. Dosierung von Wasserstoff bzw. alternativen e^--Donatoren (Propionat, Pyruvat, Lactat, Endkonzentration jeweils 1 mM)
3. Nullmessung zur Ermittlung der Wasserstoff-Konzentration
4. Injektion von 1 ml Inokulum (Mischkultur bzw. Reinkulturen)
5. Nullmessung der LCKW und Anionen

Wenn in den Teilversuchen nicht anders angegeben, wurden die Batchansätze bei 24 °C mit 125 Umin^{-1} geschüttelt. Sofern Reduktionsmittel verwendet wurden, wird dies bei der Darstellung der Versuche explizit angegeben.

3.4.4 Übersicht über die Batchversuche

Die folgende Abbildung 3.2 veranschaulicht die durchgeführten Versuche hinsichtlich verschiedener Aspekte, die bei der Konkurrenz um Wasserstoff eine Rolle spielen bzw. für die Versuchsdurchführung an sich von Bedeutung sind.

Abbildung 3.2: Übersicht über die Aspekte, die bei den Batchversuchen betrachtet wurden

Die mit Reinkulturen durchgeführten Versuche sind in Tabelle 3.1 zusammengestellt. Tabelle 3.2 gibt einen Überblick über die Versuche, bei denen die dechlorierende Mischkultur eingesetzt wurde.

Tabelle 3.2: Überblick über die Versuche der dechlorierenden Mischkultur

Redoxprozesse	H_2 [ml]	Lactat	Pyruvat	Propionat	PCE	cDCE	VC	Nitrat	Sulfat	Abschnitt	Abbildung/ Tabelle**
Konkurrierende TEAP	2,5				±			±	±	4.2.3.1	4.33
Dechlorierung	0,5				±	±	±			4.2.3.2	4.34, 4.35
Dechlorierung (kleine Ansätze)	0,1/0,5				X					4.2.3.3	4.36
Dechlorierung und Sulfatreduktion	2					±			±	4.2.3.4	4.37, 4.7**
Dechlorierung und Sulfatreduktion[a]	1					X			±	4.2.3.5	4.39, 4.38
Sulfatreduktion[a]	1-3								X	4.2.3.6	4.40
Langzeitversuche		X			±	X					4.41
PCE-Dechlorierung		X			X						4.42, 4.43
			X		X						4.44, 4.45
cDCE-Dechlorierung		X				X				4.2.3.7	4.46, 4.47
			X			X					4.48
Methanogenese		X									4.49
			X								4.50
Dechlorierung:											
Temperatureinfluss (5-30°C)	1				X					4.2.3.8	4.52, 4.53
Variation der e^--Donatoren	5	X		X	X					4.2.3.9	4.54
Acetat als C-Quelle	0/1				±					4.2.3.10	4.55, 4.56
Hemmung durch Ethin/Ethen	0,5/2,5				±	±				4.2.3.11	4.57, 4.58, 4.59
Lagerung	0,1-0,5				X					4.2.3.12	4.8**

[a] Hemmung von Acetogenese und Methanogenese durch Einsatz von BES und Vancomycin

Tabelle 3.1: Überblick über die Versuche mit Reinkulturen

Reinkulturen	Medium	H_2 [ml]	Methanol	Lactat	Pyruvat	Acetat	Carbonat	PCE	Nitrat	Sulfat	Bildung von ...	Abbildung/ Abschnitt*
Sulfurospirillum multivorans	Stamm	5									Acetat	4.2.1.1*
	Stamm	5						X			cDCE	4.16
	Stamm	1						X			cDCE	4.17
	Stamm				X						H_2/Acetat	4.2.1.1*
	Stamm				X			X			cDCE/H_2	4.20
	M 120	5									Acetat	4.14
	M 120	5						X			cDCE, Acetat	4.18
	Stamm	1/2							X		Nitrit, (Acetat)	4.15
	MH-Med	2,5+2						X			cDCE, Acetat	4.19
Methanosarcina mazei	M 120		X								H_2, CO_2, CH_4	4.2.1.2*
	M 120	5					X				CH_4	4.2.1.2*
	M 120	5				X					CH_4	4.2.1.2*
	M 120					X					CH_4	4.22
	M 120	5						X			CH_4	4.21
Desulfovibrio desulfuricans	M 63	5		X						X	SO_4^{2-}-Red.	4.23
	M 63	0-10		X						X	SO_4^{2-}-Red.	4.24
	M 63	0-5		X						X	SO_4^{2-}-Red.	4.25
	M 63	+10	+PCE, Fortsetzung mit/ohne cDCE-Kultur								cDCE, SO_4^{2-}-Red.	4.26
	MH-Med	2,5+2								X	SO_4^{2-}-Red.	4.2.2*
Sulfurospirillum multivorans & *Methanosarcina mazei*	Stamm	5						X			CH_4, cDCE	4.2.1.4*
	M 120		X					X			CH_4, H_2, cDCE	4.31
	M 120	5						X			CH_4, cDCE	4.27
	M 120		X					X			CH_4, H_2, cDCE	4.30
	M 120		X								CH_4, H_2, Acetat	4.29
	M 120	5						X			cDCE, CH_4, Acetat	4.28
10, 15, 20°C	M 120		X					X			CH_4, H_2, cDCE, Ace	4.32

3.5 DOC-Nutzung in einem kontaminierten Grundwasser

Am Standort Hannover Südstadt (siehe Abschnitt 3.6.4) wurde an den Messstellen 63442 und 180928 (siehe Tabelle 3.4) kontaminiertes Grundwasser entnommen. Damit sollte die Verfügbarkeit des enthaltenen DOC als e^--Donator für den weitergehenden biologischen Abbau der LCKW untersucht werden.

3.5.1 Entnahme des Grundwassers

An den Messstellen wurde das Grundwasser zunächst für 30 min abgepumpt. Parallel dazu wurde die O_2-Konzentration, das Redoxpotenzial, Temperatur, pH-Wert und Leitfähigkeit gemessen. Die Endwerte dieser Messungen vor der Entnahme des Grundwassers sind in Tabelle 3.3 dargestellt. Zur Probenahme wurden 1 l-Flaschen verwendet. Das Wasser wurde mehrere Minuten überlaufen gelassen. Nach dem Verschließen wurden 100 μl des Redoxindikators Resazurin sowie 3,5 ml Na_2S-Lösung als Reduktionsmittel zugegeben.

3.5.2 DOC-Batchansätze

Das Grundwasser der Messstellen wurde wie in Abschnitt 3.4.4 beschrieben in 118 ml-Flaschen überführt. Je Teilversuch wurden fünf Tripletts eingesetzt, um diese nach der

Tabelle 3.3: Grundwasserparameter bei der Probenahme für DOC-Untersuchungen

Messstelle	36442	180928
O_2-Gehalt [mg/l]	n.b.	n.b.
Temperatur [°C]	13,2	12,6
pH-Wert	6,89	6,92
Leitfähigkeit [μS/cm]	1303	1373
Redoxpotenzial [mV]	134	157
DOC [mg/l]	7,51	7,71
Fe gesamt [mg/l]	5,2	5,6

n.b.: nicht bestimmbar, $< 0{,}1$ mg/l

DOC-Probenahme (20-25 ml) verwerfen zu können. Mit dem Grundwasser der Messstellen 36442 und 180928 wurden folgende Teilversuche angesetzt:

a) Kontrolle: steril filtriertes Grundwasser

b) autochthoner Ansatz: Grundwasser direkt

c) auto- und allochthoner Ansatz: Zugabe von je 1 ml dechlorierender Mischkultur.

Zusätzlich wurde ein Teilversuch (allochthon) nur mit der dechlorierenden Mischkultur und filtriertem Grundwasser der Messstelle 180928 durchgeführt. Mit dem gleichen Grundwasser wurde ein Teilversuch („ENA“[2], mit Pyruvat) angesetzt, dem 50 μl einer 1 M Pyruvat-Lösung (1 mM im Ansatz) sowie 5 μl einer Vitamin-B_{12}-Lösung zugegeben wurden. Alle Ansätze wurden bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt.

3.6 Probenahme von gelöstem Wasserstoff

3.6.1 Simulation der Wasserstoff-Probenahme im Labor

Voraussetzung für Feldmessungen von Wasserstoff ist eine entsprechende Probenahme und Analytik. Ausgehend von bekannten Methoden und Untersuchungen zur Probenahme (siehe Abschnitt 2.7) sollte zunächst die Extraktion des Wasserstoff verbessert werden, um später mit hinreichender Genauigkeit und in angemessener Zeit eine Probenahme durchführen zu können. Maßgebliche Parameter bei dieser Untersuchung waren:

- Größe der Gasblase
- Volumenstrom
- Konzentration
- Extraktionsdauer
- Verwendetes Gas

[2] Enhanced Natural Attenuation

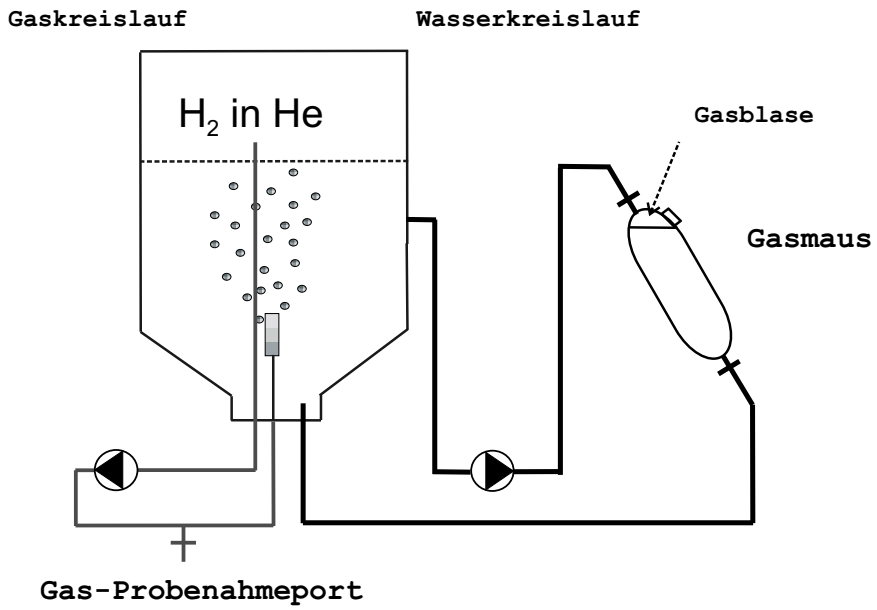


Abbildung 3.3: Versuchsaufbau zur Simulation der Probenahme von Wasserstoff im Grundwasser

- Durchmesser der Eintrittsöffnung in die Gasmaus

3.6.1.1 Aufbau der Anlage zur Simulation der H_2-Probenahme

Dafür wurde ein Versuchsaufbau ähnlich dem von MCINNES & KAMPBELL [2000] beschriebenen gewählt, der in Abbildung 3.3 dargestellt ist. Er bestand aus einem Gaskreislauf, der das Gleichgewicht der Konzentrationen in Gas- und Wasserphase im Reservoir sicherstellte und einem Kreislauf der Flüssigkeit, welcher der Simulation der Grundwasser-Probenahme diente. Beide Kreisläufe wurden mit Schlauchpumpen (Fa. Ismatec, Wertheim) betrieben. Für den Gaskreislauf wurden No-Ox-Schläuche (VICI, Valco Instruments Co. Inc., Switzerland) und für den Flüssigkreislauf Vitonschläuche (Fa. Ismatec) eingesetzt. Die Pumpenschläuche bestanden aus Tygon (F-4040-A, Fa. Ismatec, ID = 6,4 mm, AD = 11,2 mm).

Um stabile H_2-Konzentrationen für die Dauer der Untersuchungen zu gewährleisten, wurde das Reservoir, eine 10 l-Duranglasflasche (Fa. Schott, Mainz), mit 7,56 l Millipore gefüllt, welches 4,7 g/l Trinatriumphosphat-Dodecahydrat enthielt. Der verbleibende Headspace von 4,45 l wurde mit Helium gefüllt. Das gesamte Flüssigvolumen im System betrug ca. 8 l. Ein Wasserstoff-Prüfgas (491 ppmv in N_2, Fa. Linde, Leuna) wurde zu dem Headspace gegeben, um eine gasförmige Konzentration von 2 bzw. 5 ppmv zu erhalten. Das entspricht einer Flüssigkonzentration von 1,6 bzw. 3,9 nM bei 20°C und 1013 hPa.

3.6.1.2 Ablauf einer simulierten Probenahme

In die Gasmaus (250 ml, Fa. Ochs, Bovenden) wurde eine definiertes Volumen Helium 5.0, was über eine Getterpatrone (VICI, Valco Instruments Co. Inc., Schweiz) noch weiter ge-

reinigt wurde, (z. B. 10 ml) injiziert. Anschließend begann die Extraktion bei vorgegebenem Volumenstrom (z. B. 100 ml/min). Nach beabsichtigter Extraktionsdauer (z. B. 10 bzw. 15 min) wurde die Extraktion beendet und 1 ml gasförmige Probe zur Analyse im Gaschromatographen genommen. Die verwendeten Bereiche für die Parameter sind nachfolgend angegeben:

Größe der Gasblase: 5, 10, 20 ml

Volumenstrom: 50-500 ml/min

Konzentration: 1,6 und 3,9 nM

Extraktionsdauer: 5-60 min

Verwendetes Gas: Helium 5.0 (purified), Umgebungsluft

Zulaufdurchmesser: 2,3 mm (normal), 0,6 mm (Bohrung durch Teflonküken aus Vollmaterial)

3.6.2 Berechnungen zur Probenahme

Die Extraktion von Wasserstoff mittels Bubble Strip Methode verläuft asymptotisch (n in mol, c in mol/l, $\dot{V}$ in mL/min.):

$$\frac{dn}{dt} = (c_{in} \times \dot{V}) - (c_{out} \times \dot{V}) \tag{3.1}$$

Unter der Annahme eines unmittelbaren Stoffübergangs von Wasserstoff kann c_{out} aus der Gleichung (3.2) mit der dimensionslosen Henry-Konstante h_c (51.53 bei 20°C, berechnet aus atm-Werten in: McInnes & Kampbell 2000) und V_{gas} in ml Headspace-Volumen (Größe der Gasblase) ermittelt werden.

$$c_{out} = \frac{n}{V_{gas} \times h_c} \tag{3.2}$$

Durch Einsetzen von Gleichung (3.2) in Gleichung (3.1) erhält man:

$$\frac{dn}{dt} = (c_{in} - \frac{n}{V_{gas} \times h_c}) \times \dot{V} \tag{3.3}$$

und nach Integration:

$$n = h_c \times V_{gas} \times c_{in} - (h_c \times V_{gas} \times c_{in} - n_0) \times e^{-\frac{\dot{V} \times t}{h_c \times V_{gas}}} \tag{3.4}$$

Diese Gleichung beschreibt die Zunahme der Stoffmenge an Wasserstoff bzw. die H_2-Konzentration (bei Bezug zur Größe der Gasblase) über die Zeit. Wenn gereinigtes Helium oder Stickstoff als Extraktionsgas eingesetzt wird, setzt man $n_0 = 0$ und erhält:

$$n = h_c \times V_{gas} \times c_{in} \times (1 - e^{-\frac{\dot{V} \times t}{h_c \times V_{gas}}}) \tag{3.5}$$

Wenn anstelle gereinigter Inertgase Umgebungsluft zur Extraktion benutzt wird, muss n_0 berücksichtigt werden. Die Gleichungen (3.4) und (3.5) wurden verwendet, um die theoretischen Extraktionsraten zu berechnen, die beim Vergleich mit den Ergebnissen herangezogen werden.

3.6.3 Aufbewahrung von Wasserstoff-Proben

Es ist bisher ein großer Nachteil, H_2-Analysen im nanomolaren Konzentrationsbereich nicht im Labor durchführen zu können. Teure und anfällige Geräte müssen ins Feld transportiert werden und werden nicht effektiv genutzt. Probenehmer müssen zusätzlich fachlich geschult sein, was die Messungen ebenfalls verteuert. Ein sicherlich nicht zu vernachlässigender Aspekt sind unterschiedliche Witterungsbedingungen, bei denen die Messung erfolgt. Ein Labor bietet hier zumindest relativ konstante Bedingungen hinsichtlich der Temperatur. Ziel dieses Teilversuches war es daher, verschiedene Methoden auf ihre Brauchbarkeit zu überprüfen und zu ermitteln, bis zu welcher maximalen Aufbewahrungszeit eine Lagerung ohne bzw. mit nur sehr geringen Verlusten möglich ist. Folgende Parameter wurden untersucht und ggf. verändert:

- Probevolumen und Probengefäß
- Flüssigkeit im Gefäß
- Abdichtung
- Aufbewahrungsdauer
- Lagerung unter Wasser

Grundsätzlich wurden alle Proben mittels Verdrängungsprinzip abgefüllt. Die Vials wurden in einer kleinen Wanne mit Millipore befüllt. Die Gasprobe wurde mit einer Spritze und Kanüle in das umgekehrte Vial überführt und diese anschließend mit einem grauen Gummiseptum inklusive Aluminiumkappe (R 20B-L/Hs-hg, CS-Chromatographie Service, Langerwehe) verschlossen. Die Vials wurden mit dem Deckel nach unten gelagert, da die wässrige Phase eine zusätzliche Diffusions-Sperrschicht darstellt. Die Proben wurden im Dunkeln aufbewahrt.

Nach verschiedenen Lagerungszeiten wurde zur Analyse von H_2 aus der Gasphase wie folgt vorgegangen:

1. Druckmessung im Vial[3]
2. bei Überdruck Druckausgleich mit Umgebungsluft
3. Injektion von 1 ml Millipore[4] in das Vial (über Kopf)
4. parallel dazu Probenahme mit 1 ml-Spritze (Fa. VICI)

[3] In der Regel ist durch das Abfüllen unter Wasser ein leichter Überdruck zu erwarten, der einen Anhaltspunkt für die Dichtheit des Vials liefert.

[4] Millipore im Gleichgewicht mit der H_2-Konzentration in der Umgebungsluft (geschüttelt oder länger gestanden)

5. Injektion der Probe in den GC
6. Druckmessung zur Kontrolle

Vor und nach den Messungen wurden insgesamt mindestens 3 Proben aus dem Referenzgefäß gemessen. Da die Gasproben für diesen Versuch auch dem Referenzgefäß entnommen wurden, konnte damit eine unmittelbare Vergleichbarkeit der Werte gewährleisten werden.

3.6.4 H_2-Probenahme am Standort Hannover-Südstadt

Für die Untersuchung eines realen kontaminierten Grundwassers wurden am Standort Hannover-Südstadt 5 Messstellen ausgewählt, die folgende Kriterien erfüllten:

Grundwasserchemie: reduziertes Milieu, charakterisiert durch:

- Nitratkonzentration $< 1 \frac{mg}{l}$
- Konzentration an gelöstem $Fe^{2+} > 1 \frac{mg}{l}$

Schadstoffmenge: hohe Konzentrationen an cis-DCE und VC

Pegeldurchmesser: einheitlich 50 mm, um die gleichen Entnahmesysteme einsetzen zu können.

Anhand der oben genannten Kriterien wurden die in Tabelle 3.4 aufgeführten Messstellen beprobt.

Tabelle 3.4: Messstellenauswahl (Angaben unter Pegeloberkante)

	ID	Verfilterung	Pumptiefen	GW-Spiegel
Lutherstr. 32a	180928	11-14,8 m	12,5 u. 14 m	4,02 m
Sallstr./Nazarethkirche	36442	16-18 m	16,5 u. 17,5 m	2,68 m
Oesterleyplatz (T)	47338	12,59-14,59 m	13 u. 14 m	3,09 m
Oesterleyplatz (M)	47337	7,26-9,26 m	7,7 u. 8,7 m	2,95 m
Wilhelmstr. 2-4	30476	7,1-9,1 m	7,5 u. 8,5 m	3,55 m

Beim Schadensfall Hannover-Südstadt handelt es sich um einen seit 1976 bekannten Schadensfall, wo auf dem Betriebsgelände der ehemaligen Firma „Kertess-Chemie“ neben LCKW auch aromatische und aliphatische Kohlenwasserstoffe sowie verschiedene Säuren in den Untergrund gelangt sind. Das Betriebsgelände selbst wurde durch den Zustandsstörer Deutsche Bahn AG gesichert und saniert. Von 1990 bis 1995 wurde durch die Landeshauptstadt Hannover versucht, die unter dem Stadtgebiet befindliche Kontaminationsfahne hydraulisch zu sanieren. Nach hohen Kosten und geringen Erfolgen wird die Kontaminationsfahne nun im Rahmen des BMBF-Förderschwerpunktes KORA auf die Möglichkeit einer natürlichen Selbstreinigung (Natural Attenuation) hin untersucht [NIEDERSÄCHSISCHES LANDESAMT FÜR BODENFORSCHUNG 2005].

3.6.4.1 Durchführung der Wasserstoff-Probenahme

Die Probenahme in Hannover erfolgte in 2 Schritten an zwei aufeinanderfolgenden Tagen. Am ersten Tag wurden die Probenahmesysteme in die Messstellen eingebracht. Damit sollte die Einstellung der normalen Milieubedingungen bis zum Folgetag sichergestellt werden, da durch das Einbringen die Grundwasserverhältnisse erheblich gestört werden können. Ober- und unterhalb sowie zwischen den Minidruckpumpen, die in den oben genannten Tiefen befestigt waren, befanden sich zur Abdichtung Gummimanschetten. Am zweiten Tag wurden die Messstellen in der gleichen Reihenfolge beprobt. Mit Hilfe einer elektronischen Pumpensteuerung (Fa. IM Weiß, Tübingen) wurde zunächst der größtmögliche Volumenstrom der einzelnen Pumpsysteme eingestellt. Aufgrund des geringen Volumenstromes wurden mit Ausnahme der Messstelle 47338 jeweils die Volumenströme der beiden tiefenorientierten Pumpsysteme zusammengefasst. Der O_2-Gehalt und das Redoxpotenzial wurden gemessen. Zusätzlich zu den H_2-Proben wurden Proben für die Bestimmung von Anionen, Fe-gesamt, DOC und LCKW (einschließlich Gase) genommen. Am dritten Tag wurden die H_2-, LCKW- und DOC-Proben in Berlin gemessen. Die Analyse der Anionen und von Gesamteisen erfolgte später.

Probenahme von Wasserstoff. Das zu untersuchende Grundwasser wurde durch Minidruckpumpen aus dem Untergrund an die Oberfläche gefördert. Um einen möglichst einheitlichen Volumenstrom für die Extraktion des Wasserstoff zu erzielen, wurde eine Orsat-Blase (Fa. Ochs, Bovenden) als Puffer eingesetzt und das Wasser aus diesem mittels Schlauchpumpe (Fa. Ismatec, Wertheim) in eine Gasmaus befördert. Nach der Bestimmung des Volumenstromes sowie der O_2-Konzentration und des Redoxpotenzials wurden jeweils 5 ml H_2-freies Helium in die Gasmaus injiziert. Anschließend wurde für 15 bzw. 20 Minuten mit einem Volumenstrom von ca. 150 ml/min gepumpt. Für die Extraktionsausbeute (asymptotische Einstellung des Konzentrationsgleichgewichtes zwischen Gas- und Flüssigphase) sind die Parameter Volumenstrom, Größe der Gasblase sowie die Extraktionsdauer bestimmend. Diese Werte wurden später für die Berechnung der H_2-Konzentration verwendet. Zu bemerken ist hier, dass die Gasblase am Ende stets größer war, weshalb die ursprünglich vorgesehene Einspritzmenge von 10 ml auf 5 ml Helium reduziert wurde.

Mit Ausnahme der Messstellen 47337/47338 wurde die Extraktion von Wasserstoff jeweils zweimal durchgeführt. Je nach Gasblasengröße am Ende der Extraktion wurden daraus 1-2 Proben genommen und mittels Verdrängungsprinzip in ein Headspace-Vial überführt. Die Headspace-Vials waren zuvor vollständig mit Millipore gefüllt und grauen Gummisepten inklusive Alukappe (R 20B-L/Hs-hg, CS-Chromatographie) verschlossen worden.

3.6.4.2 Minidruckpumpen-H_2-Test

Vor dem Einsatz der Minidruckpumpen im Feld wurde im Labor untersucht, inwiefern die Pumpen selbst durch mögliche Korrosion des Materials (Messing) Wasserstoff produzieren. Aus Abbildung 3.4 ist ersichtlich, dass der Einfluss auf die Wasserstoff-Konzentration sehr gering ist. In 318 ml-Batchansätzen mit 150 ml Phosphatlösung, wie sie auch im Reservoir für die Untersuchung der Probenahme (siehe Abschnitt 3.6.1.1) eingesetzt wurde, und einer Helium-Atmosphäre wurden hier in 7 Tagen im Mittel 2,82 nmol und in 14 Tagen

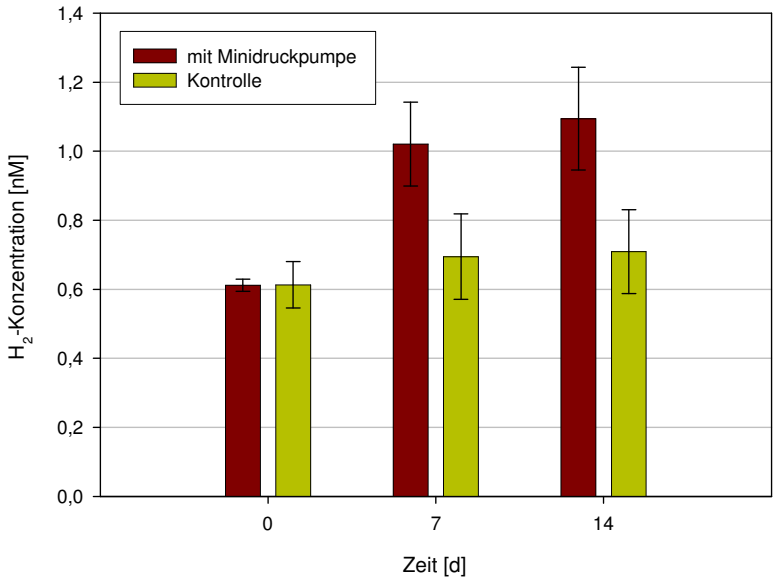


Abbildung 3.4: Einfluss der Minidruckpumpen auf die Wasserstoffentwicklung

3,25 nmol H_2 gebildet. Bezogen auf eine Aufenthaltszeit von nur 24 Stunden in einer Messstelle und einem größeren Flüssigkeitsvolumen ist der Einfluss der Minidruckpumpen auf die H_2-Messung im Feld daher vernachlässigbar. In einem weiteren Test, der mit sterilem Medium der Mischkultur durchgeführt wurde ergaben tägliche Messungen keinen nennenswerten Anstieg. Die Konzentration blieb über 7 Tage stabil bei ca. 0,5 nM. Vermutlich hat hier auch schon eine Konditionierung durch den vorangegangenen Versuch stattgefunden. Wenn das der Fall ist, ist die Wahrscheinlichkeit einer Beeinflussung der Feldmessungen nach einer Konditionierung noch geringer.

4 Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse dieser Arbeit unterteilen sich in drei Bereiche. Als erstes wird das Thema der Wasserstoff-Probenahme dargestellt, was die Optimierung der Extraktion von H_2 aus dem Grundwasser, eine Methode zur Aufbewahrung von H_2-Proben und die praktische Anwendung dieser Methoden im Feld beinhaltet. Es folgt die Beschreibung der Versuche zur Konkurrenz der Redoxprozesse um Wasserstoff, die mit Reinkulturen und einer dechlorierenden Mischkultur durchgeführt wurden. Den dritten Abschnitt bildet eine Versuchsreihe zum DOC, dessen Verfügbarkeit als Wasserstoffdonator in einem realen Grundwasser untersucht wurde. Die Ergebnisse werden in den einzelnen Abschnitten diskutiert und zusammengefasst.

4.1 Probenahme von gelöstem Wasserstoff

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Wasserstoffproben an einem LCKW-kontaminierten Standort (Hannover-Südstadt, Abschnitt 3.6.4) entnommen und analysiert. Dafür war es zunächst erforderlich, die Methode zur H_2-Probenahme zu optimieren und eine Methode zur Aufbewahrung der Proben bis zur Messung im Labor zu entwickeln. In den folgenden Abschnitten werden die Entwicklung dieser Methoden sowie die Ergebnisse einer realen Probenahme dargestellt.

4.1.1 Simulation der Wasserstoff-Probenahme

Ziel der simulierten H_2-Probenahme im Labor war die Optimierung der Probenahme im Feld. Dafür wurden die in Abschnitt 3.6.1.2 aufgeführten Parameter variiert und deren Einfluss auf die Probenahme untersucht.

Zuerst werden die Ergebnisse dargestellt, die mit der von der EPA[1] empfohlenen Vorgehensweise (siehe Abschnitt 2.7) ermittelt wurden. Anschließend wird gezeigt, wie eine Probenahme mit der optimierten Methode den zeitlichen Verlauf der Extraktion verändert. In den Abbildungen wird zum Vergleich jeweils der theoretische Verlauf der Extraktion bei Annahme vollständiger Turbulenz und unmittelbaren Stoffübergangs (siehe Abschnitt 3.6.2) herangezogen. Zusätzlich werden weitere Einflüsse auf die Probenahme, durch unterschiedliche Gasblasengröße bzw. die Verwendung von Luft statt Helium als Extraktionsgas gezeigt.

[1] U.S. Environmental Protection Agency

4.1.1.1 EPA-Methode

Die Ergebnisse der simulierten Probenahme mit der EPA-Methode sind in Abbildung 4.1 dargestellt. Sie beruhen auf einer dreifachen Durchführung der jeweiligen Extraktion. Ein Anstieg des Volumenstromes erhöhte die Ausbeute der Extraktion. Mit 20 ml Gasblasenvolumen, wie von der EPA vorgeschlagen, wurde jedoch bei einem Volumenstrom von 300 ml/min erst nach 60 min eine nahezu vollständige Extraktion erzielt. Theoretisch ist das Gleichgewicht auch mit geringeren Volumenströmen in kürzerer Zeit erreichbar. Durch eine kleinere Gasblase mit 10 ml Helium konnte die Dauer bis zur Gleichgewichtseinstellung verkürzt werden (Abbildung 4.2). Mit 300 ml/min wurde das Equilibrium hier schon nach 30 min erreicht.

An einigen Standorten ist eine Probenahme mit großen Volumenströmen aufgrund der hydrogeologischen Gegebenheiten nicht möglich. Große Volumenströme bergen zudem das Risiko einer Reduktion des Gasvolumens der Gasblase in sich, da ein Mitreißen kleiner Bläschen nahezu unvermeidbar ist [McInnes & Kampbell 2000]. Zur Verbesserung der Extraktion bei geringeren Volumenströmen wurde deshalb der Eintrittsdurchmesser für das Wasser in die Gasmaus verringert. Damit erhöhte sich die Turbulenz in der Gasmaus, der Stoffaustausch zwischen Wasser- und Gasphase wurde erheblich verbessert und der Verlauf der Extraktion näherte sich den theoretischen Verläufen an, wie aus Abbildung 4.3 zu erkennen ist. Der maximale Volumenstrom betrug hier 140 ml/min. Bei größeren Volumenströmen verursachte der steigende Druck Havarien an den Verbindungen. Gut zu erkennen ist der Unterschied in der Turbulenz auch in den Abbildungen 4.4 und 4.5. Im Gegensatz zur normalen Eintrittsöffnung in die Gasmaus von 2,3 mm wird durch die Verengung auf 0,6 mm ein Wasserstrahl erzeugt, der die Bildung sehr kleiner Gasbläschen zur Folge hat. Diese Blasen verteilen sich über die halbe Länge der Gasmaus. Diese vollständig durchmischte Zone entsteht bereits wenige Sekunden nach dem Start der Extraktion. Sie ist die Voraussetzung für eine effiziente Probenahme und Basis der für die theoretischen Berechnungen getroffenen Annahme.

4.1.1.2 Methodenvergleich

Den Verlauf der Extraktion bei 2 ppmv und 5 ppmv Wasserstoff beschreibt Abbildung 4.6. Sehr deutlich wird hier, dass sich im Bereich geringer Volumenströme (hier 100 ml/min) ein großer Unterschied ergibt, wenn die Durchmischung in der Gasmaus durch die reduzierte Eintrittsöffnung verbessert wird. Das Gleichgewicht wurde nach 20 bis 30 min erreicht, während es mit der normalen Eintrittsöffnung auch nach 60 min noch nicht erreicht war. Die Unterschiede der Extraktion mit der EPA-Methode bei 2 und 5 ppmv waren auch bei 140, 200 und 300 ml/min dem hier gezeigten Verlauf ähnlich. Es ist anzunehmen, dass die Ursache der Abhängigkeit der Extraktionsrate von der Konzentration in der unvollständigen Mischung von Gas- und Wasserphase liegt. Der Stofftransfer ist begrenzt, weshalb die Extraktionsrate mit steigender Konzentration abnimmt. Bei einer nahezu vollständigen Durchmischung, wie sie mit der optimierten Methode (Eintrittsdurchmesser 0,6 mm) gegeben ist, ist die Extraktionsrate dagegen unabhängig von der Konzentration.

In Abbildung 4.7 sind die Ergebnisse verschiedener Extraktionsversuche zusammengefasst, die mit einer 10 ml Gasblase und einer H_2-Konzentration von 2 ppmv bei verschiedenen

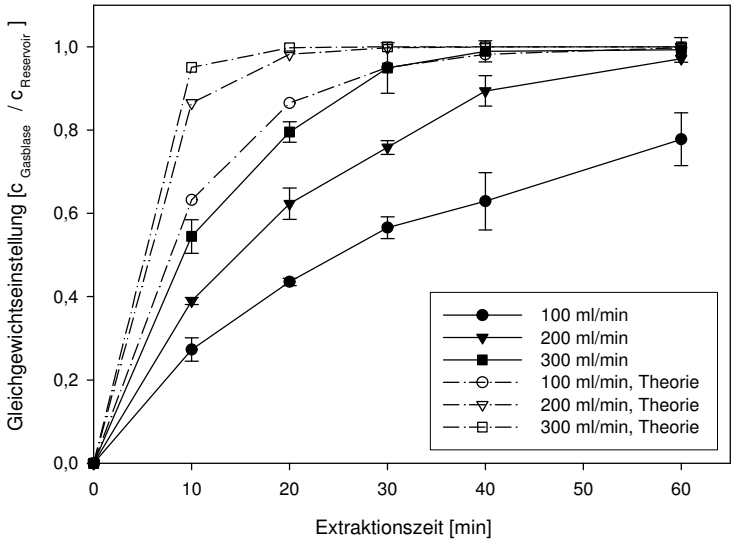


Abbildung 4.1: Extraktion von Wasserstoff mit einer 20 ml Gasblase bei verschiedenen Volumenströmen, ermittelt mit der EPA-Methode und 2 ppmv Wasserstoff. Die theoretischen Werte wurden unter Verwendung von Gleichung 3.5 (Seite 44) berechnet. [ALTER & STEIOF 2005b]

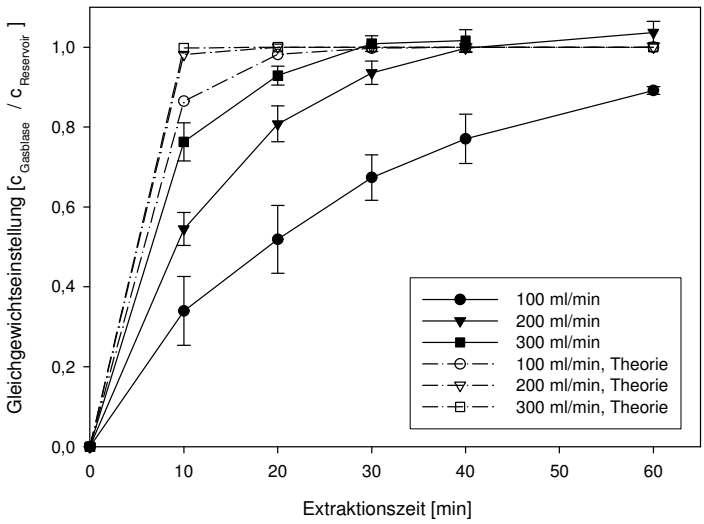


Abbildung 4.2: Extraktion von Wasserstoff mit einer 10 ml Gasblase bei verschiedenen Volumenströmen, ermittelt mit der EPA-Methode und 2 ppmv Wasserstoff. Die theoretischen Werte wurden unter Verwendung von Gleichung 3.5 berechnet. [ALTER & STEIOF 2005b]

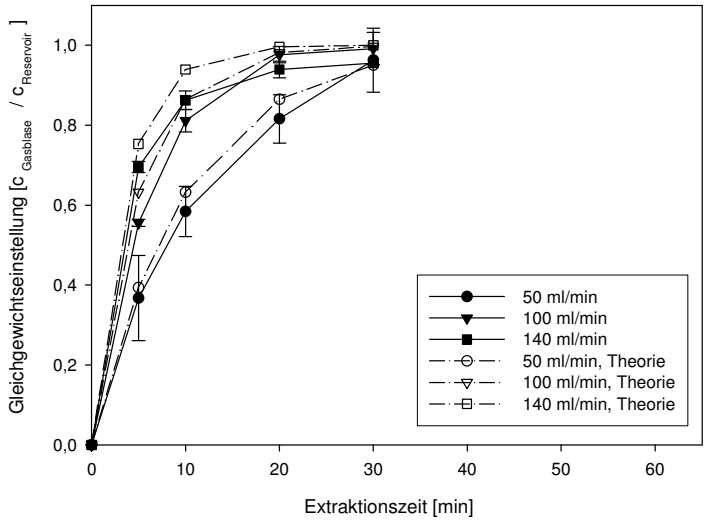


Abbildung 4.3: Extraktion von Wasserstoff mit einer 10 ml Gasblase bei verschiedenen Volumenströmen mit einem reduzierten Eintrittsdurchmesser von 0,6 mm und 2 ppmv Wasserstoff. Die theoretischen Werte wurden unter Verwendung von Gleichung (3.5) berechnet. [ALTER & STEIOF 2005b]

Volumenströmen durchgeführt wurden. Genauer betrachtet, ist das Wasservolumen, was die Gasblase durchflossen hat (Produkt aus $\dot{V} \times t$, siehe Gleichung 3.5), der bestimmende Faktor für die Extraktionsleistung. Das Ausmaß der Gleichgewichtseinstellung wurde daher über das jeweilige durchgeflossene Volumen aufgetragen. Die Ergebnisse der Versuche mit der reduzierten Eintrittsöffnung stimmen sehr gut mit den theoretischen Werten überein. Die „normale“ Extraktion (EPA-Methode) wies dagegen geringere Extraktionsausbeuten bei gleichen Durchflussvolumina auf.

4.1.1.3 Einfluss der Gasblasengröße

Wie bereits bei Betrachtung der Abbildungen 4.1 und 4.2 ersichtlich, spielt auch das Volumen der Gasblase für die Dauer und das Ausmaß der Extraktion eine Rolle. Abbildung 4.8 zeigt den Einfluss der Gasblasengröße auf die Gleichgewichtseinstellung unter Verwendung der Gasmaus mit reduziertem Eintrittsdurchmesser. Die Referenzkonzentration im Reservoir betrug hier 2 ppmv. Alle Extraktionen wurden mit einem Volumenstrom von 100 ml/min durchgeführt. Die Qualität der Extraktion variierte in Abhängigkeit vom Gasblasenvolumen. Dieses Verhalten ließ sich auch aus Beobachtungen während der Extraktion ableiten. Mit zunehmender Gasblasengröße veränderte sich die Turbulenz in der Gasmaus. Die 5 ml-Gasblase verwandelte sich beim Pumpen vollständig in eine schäumende Zone am Eintritt, während mit 10 ml ein sehr kleiner Gas-Bereich nahe der Eintrittsöffnung zu erkennen war. Dieser Bereich war mit 20 ml Gasblase wesentlich größer, wie in Abbildung 4.5 zu sehen ist. Das heißt, ein Teil des Gases ist nicht in der Weise am Stofftransport beteiligt, wie bei der theoretischen Berechnung angenommen. Die Gleichgewichtseinstellung verläuft langsamer und Gleichung 3.5 kann nicht angewendet werden.

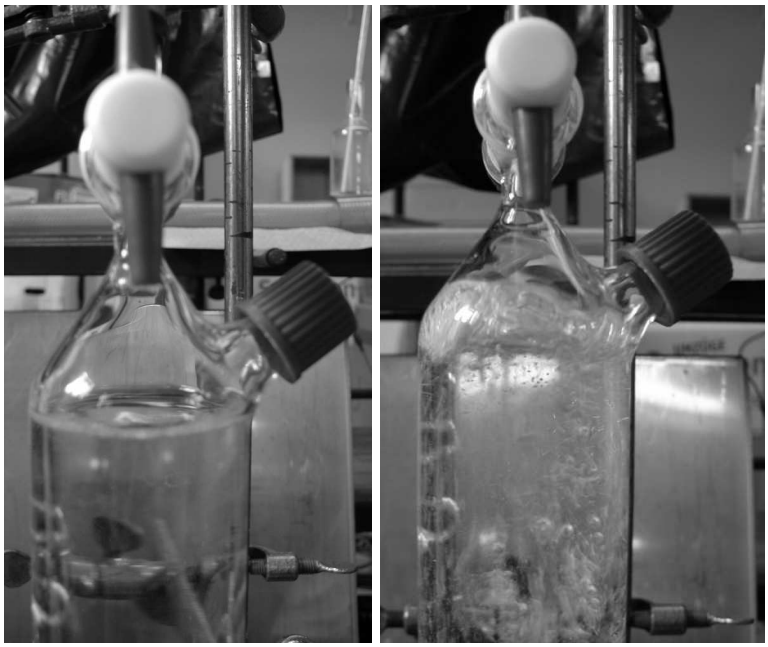


Abbildung 4.4: Gasmaus mit 20 ml Helium bei 100 ml/min und 600 ml/min mit normaler Extraktion (EPA), Eintrittsdurchmesser 2,3 mm

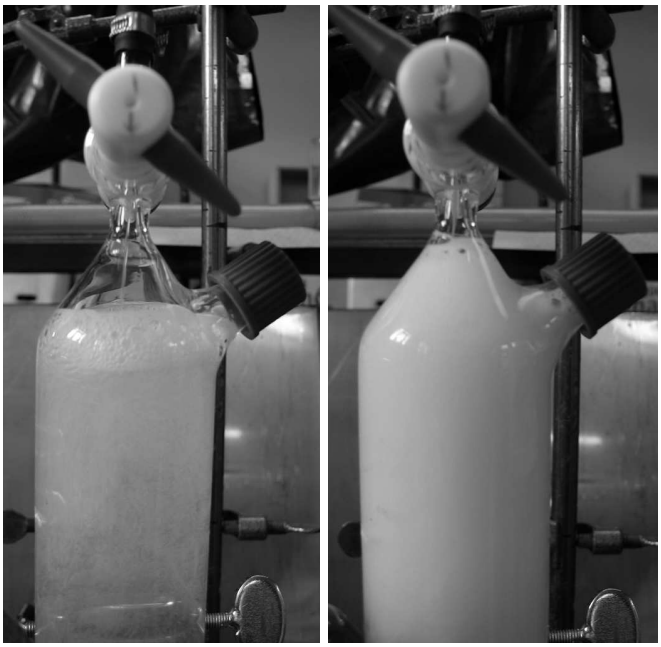


Abbildung 4.5: Gasmaus mit 20 ml Helium bei 100 ml/min und 125 ml/min mit einem Eintrittsdurchmesser von 0,6 mm

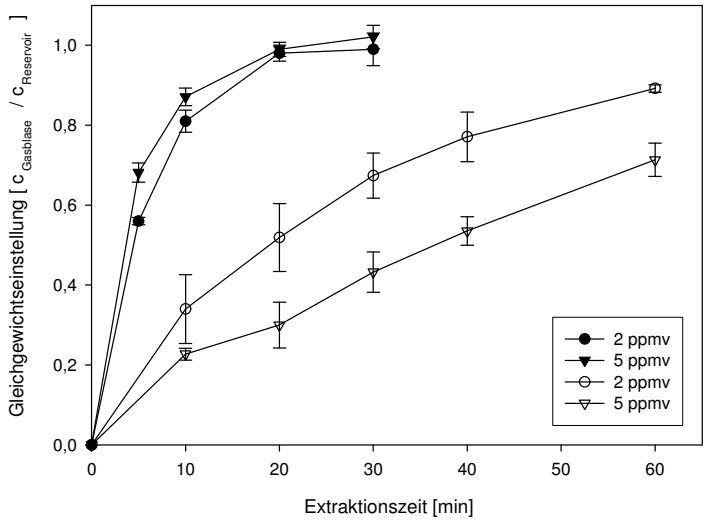


Abbildung 4.6: Extraktion von Wasserstoff bei 2 und 5 ppmv mit 10 ml Gasblasenvolumen bei einem Volumenstrom von 100 ml/min (Die gefüllten Symbole stehen für die optimierte Methode mit einem reduzierten Eintrittsdurchmesser von 0,6 mm. Leere Symbole bezeichnen die Extraktion mit unverändertem Durchmesser von 2,3 mm, EPA-Methode). [ALTER & STEIOF 2005b]

Die Ergebnisse mit 10 ml Gasblasenvolumen stimmen am besten mit den theoretischen Berechnungen überein. Es ist zunächst anzunehmen, dass die Extraktion mit 5 ml mindestens vergleichbare oder sogar bessere Ergebnisse liefert. Das war nicht der Fall. Es wird vermutet, dass hier ein weiterer Faktor die Güte der Extraktion beeinflusst. Ein Volumen von 5 ml Gas stellt auch bei feinster Verteilung möglicherweise nicht ausreichend Oberfläche zur Verfügung, um den Stofftransfer von Wasserstoff aus dem gesamten vorbeiströmenden Wasser zu ermöglichen. Das Wasser passiert die Mischzone teilweise ohne Kontakt (geringere Kontaktzeit bzw. zu großer räumlicher Abstand) zu den Gasbläschen, wodurch sich das Gleichgewicht langsamer als nach Gleichung 3.5 berechnet einstellt. Inwiefern sich durch eine andere Form der Gasmaus oder ein anderes Extraktionsgefäß Verbesserungen erzielen lassen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Für diesen Typ einer Gasmaus und Volumenströmen von 50 bis 140 ml/min erhält man die besten Ergebnisse mit einem Gasblasenvolumen von 10 ml.

4.1.1.4 Schlussfolgerungen für die H_2-Extraktion

Die theoretischen Überlegungen zeigen, dass die Extraktion mit einem kleineren Gasblasenvolumen verkürzt werden kann (Abbildung 4.8). Würde man die Eintrittsöffnung etwas größer als 0,6 mm gestalten, so könnte je Zeiteinheit mehr Wasserstoff in die Gasmaus transportiert werden, als das bei maximal 140 ml/min der Fall ist, und die Extraktionsdauer weiter verkürzt werden. Bei einem Volumenstrom von 200 ml/min, 10 ml Gasblasenvolumen und optimaler Durchmischung würde das Gleichgewicht (98,2 % bzw. 99.8 %) nach 10 bis 15 min theoretisch erreicht sein. Für die praktische Anwendung im Feld wurde ein Hahn

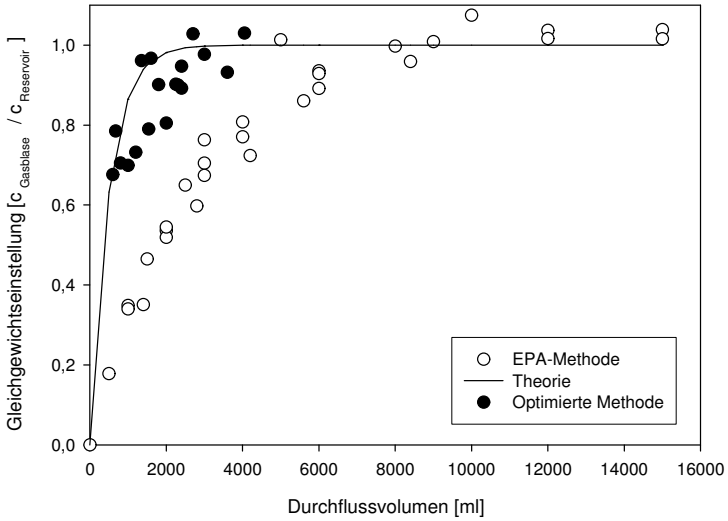


Abbildung 4.7: Extraktion von Wasserstoff unter Verwendung der EPA- und der optimierten Methode für 2 ppmv mit 10 ml Gasblasenvolumen, aufgetragen über das Durchflussvolumen bei unterschiedlichen Volumenströmen (theoretische Werte zum Vergleich). Die Volumenströme liegen im Bereich von 50-500 ml/min (EPA) und von 50-140 ml/min (optimierte Methode). [ALTER & STEIOF 2005b]

mit einer Eintrittsöffnung von 0,7 mm gewählt, was einen Volumenstrom von 150 ml/min ermöglichte.

Folgt man den EPA-Kriterien [WIEDEMEIER ET AL. 1998], so ist die Probenahme beendet, wenn die Proben nach 30 bzw. 35 min weniger als 10 % voneinander abweichen. Dieses Kriterium kann bei geringen Volumenströmen (<300 ml/min) zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Wenn zum Beispiel die gemessenen Werte nach 30 bzw. 35 min Probenahme im Bereich von 80 ± 5 % liegen (siehe Abbildung 4.1) wird zwar das Kriterium erfüllt, die tatsächliche Konzentration aber deutlich unterschätzt.

MCINNES & KAMPBELL [2000] versuchten, die „Bubble strip"-Methode zu verbessern. Sie simulierten die Probenahme von Wasserstoff im Labormaßstab und verglichen hierbei die Extraktion in einer handelsüblichen Gasmaus („Chapelle Cell", 230 ml) mit der Extraktion in der Microseeps Cell, einem 70 ml-Gefäß mit speziell präpariertem Verschluss. Die Untersuchungen wurden bei 4°C und 21°C durchgeführt, die H_2-Konzentrationen lagen zwischen 3 und 45 nM, die Volumenströme betrugen 200-400 ml/min. Die Extraktion in der Microseeps Cell ergab eine schnellere Gleichgewichtseinstellung als in der verwendeten Gasmaus. Den Abbildungen des Artikels ist zu entnehmen, dass bis auf die Versuche mit einem Volumenstrom von 400 ml/min in der Microseeps Cell in allen anderen Fällen selbst nach 60 min nie ein Gleichgewichtszustand erreicht wurde. Beim Volumenstrom von 400 ml/min trat jedoch das Problem auf, dass Teile der Gasblase schon vor Ende der Extraktion ausgetragen wurden. Dieses kann die schnellere Gleichgewichtseinstellung bewirkt haben, reduziert jedoch die verfügbare Probemenge. MCINNES & KAMPBELL [2000] schlugen vor, von einem 85 %-Equilibrium nach 30 min und bei einem Volumenstrom von 300 ml/min auszugehen, da in den überwiegenden Fällen die H_2-Konzentration

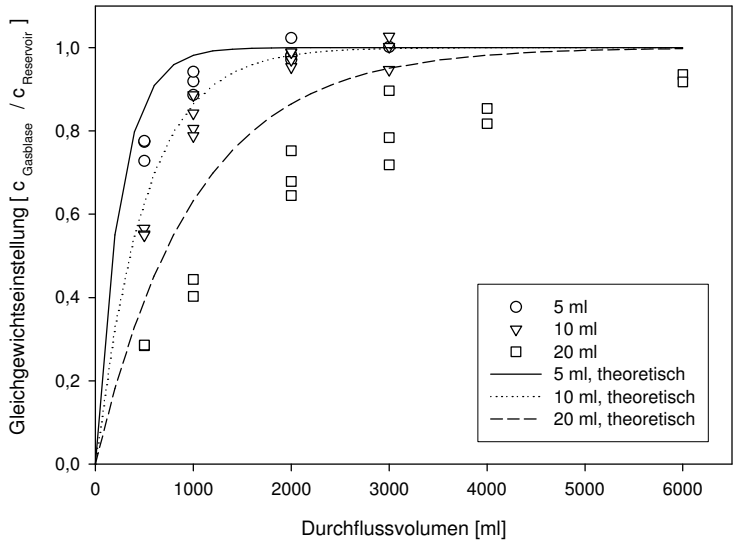


Abbildung 4.8: Extraktion von Wasserstoff bei 2 ppmv mit unterschiedlichen Gasblasengrößen bei einem Volumenstrom von 100 ml/min bezogen auf das Durchflussvolumen. Die theoretischen Werte wurden mit Gleichung 3.5 ermittelt. [ALTER & STEIOF 2005b]

danach nicht mehr anstieg. Diesem Vorschlag sollte nicht gefolgt werden, da das Problem mit großer Sicherheit auf das verwendete Schlauchmaterial zurückzuführen ist. MCINNES & KAMPBELL [2000] untersuchten auch Verluste über die verwendeten Silicon- und Polyethylenschläche. Die H_2-Konzentrationen sanken dabei exponentiell mit der Zeit. Bei 21°C und einem Siliconschlauch von 5 m Länge nahm die H_2-Konzentration innerhalb einer Stunde von 33,2 auf 18,3 nM ab, bei 10 m Polyethylen von 38,3 auf 26,9 nM. Dennoch sind die Autoren der Auffassung, dass unter Feldbedingungen mit typischen Schlauchlängen und Verweilzeiten des Grundwassers in den Schläuchen die Verluste $< 1\%$ betragen. Verluste dieser Art sind in der vorliegenden Arbeit nicht aufgetreten. Es ist daher zu empfehlen, für die H_2-Probenahme ebenfalls Viton- bzw. No-Ox-Schläuche oder ähnliches gasundurchlässiges Material zu verwenden. Die Festlegung eines 85 %-Equilibriums bei einer bestimmten Probenahmedauer und einem definierten Volumenstrom ist nicht praktikabel und reproduzierbar. Sie ist auch nicht nötig, wie die oben dargestellten Ergebnisse zeigen.

BJERG ET AL. [1997] verwendeten eine 40 ml Gasmaus mit 4 ml N_2 als Gasblase bei einem Volumenstrom von 100 ml/min. Die Dauer der Gleichgewichtseinstellung betrug 20 bzw. 25 Minuten. Dabei sollte die Abweichung der Messwerte nicht größer als 5 % sein, um als Endkonzentration zu gelten. Theoretisch kann mit dieser Konfiguration in 10 bzw. 15 min ein Gleichgewicht von 99.3 % oder 99.9 % erzielt werden (Gleichung 3.5, Abschnitt 3.6.2). Mit einer 5 ml Gasblase, einem Volumenstrom von 100 ml/min und dem reduzierten Eintrittsdurchmesser wurden in dieser Arbeit nach 10 min 95.4 ± 7.1 % und nach 15 min 103.3 ± 1.6 % Gleichgewicht ermittelt.

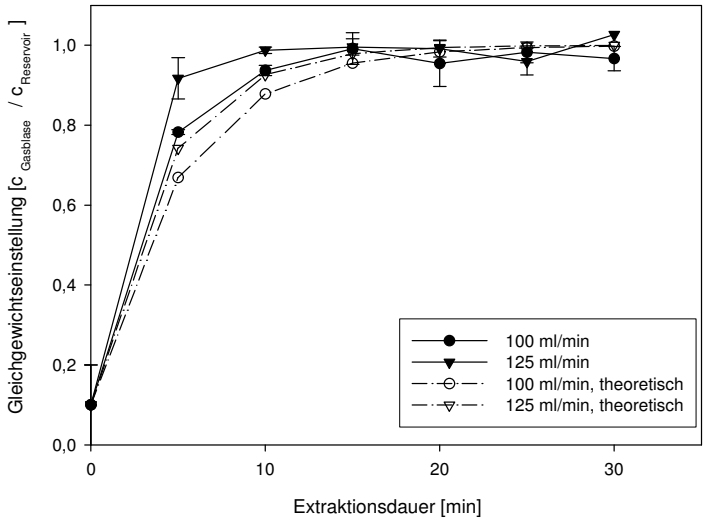


Abbildung 4.9: Verbesserte Extraktion von Wasserstoff bei 5 ppmv mit 10 ml Umgebungsluft (theoretische Werte zum Vergleich) [ALTER & STEIOF 2005b]

4.1.1.5 Verwendung von Umgebungsluft oder Gas mit höherer Ausgangskonzentration

Die Probenahme im Feld kann vereinfacht werden, wenn statt Helium oder Stickstoff Umgebungsluft als Extraktionsgas eingesetzt werden kann. Die H_2-Konzentration in der Luft liegt in der Regel bei 500 ppbv [BLÜTHGEN & WEISCHET 1980]. Diese Konzentration wurde auch im Labor gemessen und wird für die Berechnung des theoretischen Verlaufs der Extraktion nach Gleichung 3.4 berücksichtigt. Sie entspricht ca. 10 % der eingesetzten Referenz-Konzentration von 5 ppmv. In Abbildung 4.9 ist der Verlauf der Extraktion bei zwei unterschiedlichen Volumenströmen zu sehen, der gut mit dem theoretischen Verlauf übereinstimmt. In diesem Fall sind 20 min Extraktion ausreichend, selbst bei niedrigen Volumenströmen von 100 bzw. 125 ml/min. Zu erwarten war, dass die Verläufe knapp unterhalb der theoretischen Verläufe liegen. Sie liegen jedoch darüber. Eine mögliche Erklärung für dieses Verhalten ist, dass N_2 bzw. O_2 aus der Luft im Wasser gelöst wurden und dadurch das Volumen der Gasblase geringer geworden ist, folglich der H_2-Anteil in der Gasblase schneller zunimmt, als angenommen. Da in den vorher beschriebenen Versuchen Helium als Extraktionsgas verwendet wurde und der Wasserkreislauf mit einer Helium-Gasphase im Gleichgewicht steht, spielt dieses Phänomen dort keine Rolle. Bei einer realen Grundwasserprobenahme kann es jedoch durch solche Lösungseffekte zu einer Verringerung des Gasblasenvolumens kommen. Wie gezeigt, würde das die Extraktion aber eher beschleunigen und damit keinen Nachteil darstellen.

In Vorversuchen wurde auch getestet, welchen Einfluss mögliche höhere H_2-Konzentrationen auf die Probenahme besitzen. Zu diesem Zeitpunkt wurde für die Extraktion noch eine Durchflussmesszelle mit einer düsenähnlichen Eintrittsöffnung benutzt. Ein H_2-Standard mit 3,8 ppmv H_2 wurde mit einem Prüfgas (491 ppmv H_2 in N_2) in einer 1 l-Serumflasche hergestellt und für die Extraktion als Gasblase eingesetzt. Die H_2-Konzentration im Reservoir betrug 2 ppmv. In diesem Fall sank die Konzentration in der

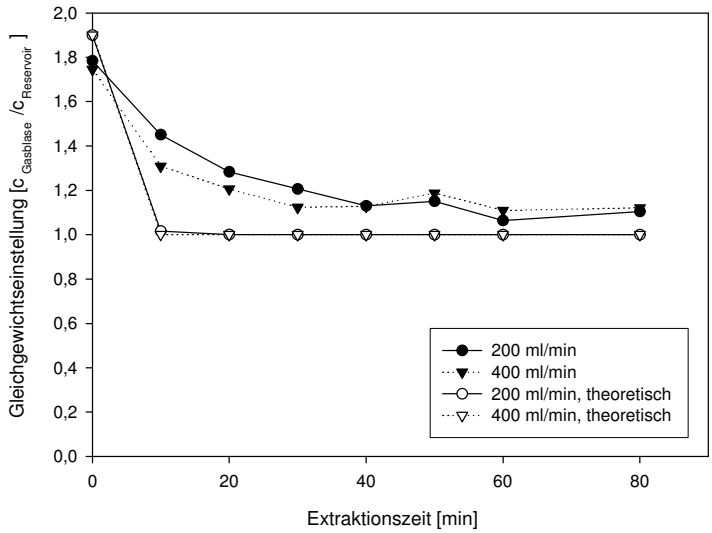


Abbildung 4.10: Extraktion von Wasserstoff bei 2 ppmv mit 10 ml Gasblase bei höherer Startkonzentration (3,8 ppmv), theoretische Werte zum Vergleich

Gasblase und näherte sich der Referenzkonzentration, wie in Abbildung 4.10 zu sehen ist. Das System war zu diesem Zeitpunkt noch nicht ausgereift. Daraus ergibt sich die große Abweichung zum theoretischen Verlauf bei vollständiger Durchmischung. Hier besteht noch Forschungsbedarf für den Fall, dass Wasserstoff an Standorten gemessen werden soll, wo die H_2-Konzentration in der Luft den üblichen Wert übersteigt und der Einfachheit halber Luft zur Extraktion eingesetzt werden soll. Aus den in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnissen ist der Einsatz von Luft möglich, wenn die erwarteten H_2-Konzentrationen im Grundwasser oberhalb einer Gleichgewichtskonzentration von 0,5 ppmv (0,42 nM bei 20°C und 1013 hPa) liegen. Für geringere Konzentrationen ist der Einsatz von gereinigten Inertgasen wie Helium oder Stickstoff zu empfehlen.

4.1.2 Aufbewahrung von H_2-Proben

Wie in Abschnitt 2.7 beschrieben, wird bei H_2-Probenahmen die Analyse bisher fast ausschließlich vor Ort durchgeführt. Dafür wird ein mobiler GC mit einem speziellen Detektor (RGA) verwendet. Um Probenahme und Analyse zu entkoppeln und damit eine breitere Nutzung der H_2-Konzentration als Untersuchungsparameter für NA zu ermöglichen, wurde in dieser Arbeit eine Methode zur Aufbewahrung von H_2-Proben entwickelt, die hier vorgestellt werden soll.

Die Aufbewahrung von Wasserstoffproben wurde über einen Zeitraum von 72 h untersucht. Dafür wurden je 10 ml Gasproben mit 5 ppmv H_2 in 12,5 ml-Vials und 20 ml Gasproben in 22,5 ml-Vials aufbewahrt. Drei Tripletts wurden jeweils nach 24 h beprobt und verworfen. Das Millipore, das bei der Injektion der Gasproben teilweise verdrängt wurde, wies im Gleichgewicht mit der Umgebungsluft (ca. 500 ppbv H_2) eine H_2-Konzentration von 0,4 nM auf. Wegen des hohen Henry-Koeffizienten von H_2 (51.53 bei 20°C) verursacht das in den

Vials verbleibende Wasser bei einem Konzentrationsausgleich maximal eine Konzentrationsabnahme in der Gasphase von 0,5 % in den 12,5 ml-Vials bzw. 2,4 % in den 22,5 ml-Vials. Die besten Ergebnisse wurden bei einem großen Verhältnis Gas zu Flüssigkeit in den 12,5 ml-Vials erzielt. Hier lagen die Wiederfindungsraten bei 95-100 % (Abbildung 4.11). Ein paralleles Triplett, welches nur kopfüber, aber nicht unter Wasser gelagert wurde, ergab eine Wiederfindungsrate von $104 \pm 5{,}3$ % nach 48 h. In 20 ml-Proben, die in 22,5 ml-Vials kopfüber unter Wasser gelagert wurden, wurden nach 24 h 99,5 % und nach 48 h 95,3 % der Ausgangskonzentration gemessen.

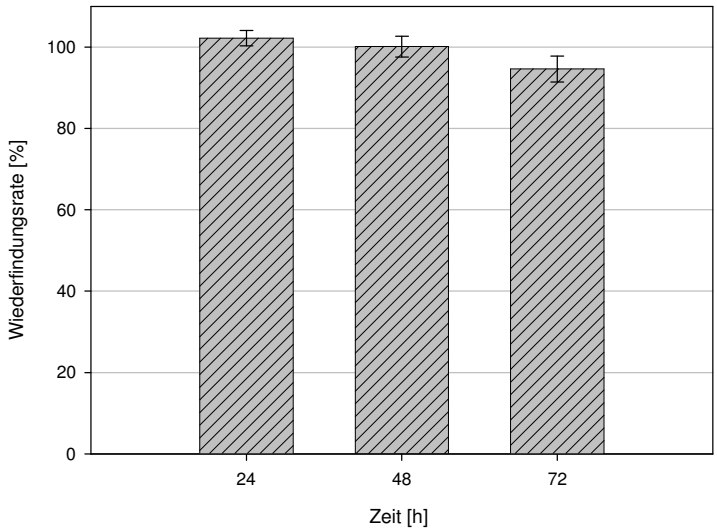


Abbildung 4.11: Aufbewahrung von Wasserstoffproben, 10 ml Referenzgas mit 5 ppmv H_2 in 12,5 ml Vials kopfüber in Wasser [ALTER & STEIOF 2005b]

4.1.2.1 Weitere Aspekte zur Probenaufbewahrung

In Voruntersuchungen wurden neben der Größe der Vials und des Volumens der H_2-Proben einige weitere Aspekte betrachtet, die einen Einfluss auf die Aufbewahrung haben können und die hier kurz diskutiert werden sollen.

Kühlung. Bei vielen Umweltproben ist eine Kühlung erforderlich, sei es, um mikrobielle Aktivität einzuschränken oder das Ausgasen leichtflüchtiger Substanzen zu verhindern. Dieses trifft auf H_2-Proben nicht zu. Eine Kühlung führt hier unter Umständen zu einem Schrumpfen oder einer anderweitigen Formveränderung des Septums, was die Diffusion von Wasserstoff erhöht und ein langsames Angleichen an die Umgebungs-H_2-Konzentration zur Folge hätte. Auch von kommerziellen Anbietern wird in einer Anleitung betont, dass die Proben nicht gekühlt werden sollen [MICROSEEPS INC. 2006].

Abdichtung. Zum Verschließen der HS-Vials wurden Gummisepten (R 20B-L/Hs-hg, CS-Chromatographie Service) verwendet, die im Gegensatz zu den üblichen Butylsepten mit Teflonbeschichtung nicht nur am oberen Glasrand sondern auch am Hals des

HS-Vials abdichten. Somit wird die Diffusionsbarriere für Wasserstoff vergrößert. Es sollte fettfrei gearbeitet werden, da andernfalls eine unbestimmte Zunahme der H_2-Konzentration auftreten kann.

Verdrängungsflüssigkeit im Vial. Es gibt einige Vorteile, die für die Verwendung von Probenwasser (Grundwasser) als Verdrängungsflüssigkeit in den Vials sprechen. Die H_2-Konzentration befindet sich bereits im Gleichgewicht, es findet kein Ausgasen oder Lösen aus bzw. in einer anderen Flüssigkeit statt. Außerdem ist kein Transport anderer Flüssigkeiten nötig. Nachteile bestehen jedoch hinsichtlich chemischer und mikrobiologischer Verunreinigungen, d. h. es kann zu unerwünschten Reaktionen kommen, die die zu messende H_2-Konzentration verändern. Für die Versuche wurde zunächst Flüssigkeit aus dem Referenzgefäß (Millipore mit 4,7 g/l Natriumphosphat-Dodecahydrat) verwendet, die das Wachsen von Mikroorganismen hemmt und sich bereits dadurch ausgezeichnet hatte, keinerlei Einfluss auf die Konzentration in der Gasphase zu haben. Für die Aufbewahrung der H_2-Proben hat sich diese Lösung jedoch als ungeeignet erwiesen. Im Fall eines Tripletts mit 5 ml Gasprobe in einem 22,5 ml-Vial wurde in einem von drei Vials nach 24 Stunden 105 % der Ausgangskonzentration gefunden, nach 48 h im gleichen Vial 136 % sowie in den verbleibenden Vials nach 24 h 175 % und 234 %. Unter Umständen ist es hier zu chemischen Wechselwirkungen der Lösung mit dem Septum gekommen. Deshalb sollte als Verdrängungsflüssigkeit Millipore oder ein vergleichbar gereinigtes Wasser zum Einsatz kommen.

Lagerung kopfüber. Eine Überkopf-Lagerung ergänzt die Diffusionsbarriere durch das Septum durch eine Flüssigkeitsschicht zwischen Septum und Gasphase. Da Wasserstoff einen hohen Henry-Koeffizienten aufweist, ist die Konzentration in der Wasserphase entsprechend gering und eine mögliche Diffusion wird minimiert. Zu diesem Zweck wurden auch die Vials unter Wasser gelagert. Ein Parallelversuch zu dem in Abbildung 4.11 dargestellten Versuch ohne Lagerung unter Wasser ergab jedoch ähnlich gute Ergebnisse. Nach 48 h wurden $104{,}0 \pm 5{,}3$ %, nach 72 h noch $89{,}3 \pm 1{,}8$ % der Ausgangskonzentration gemessen.

4.1.2.2 Schlussfolgerungen für die Aufbewahrung von H_2-Proben

Die vorgestellte Methode löst das Problem der begrenzten Aufbewahrungszeit von H_2-Proben, wie es von LOVLEY ET AL. [1994] dargestellt wurde. Dort mussten die Proben innerhalb von 2 Stunden nach der Probenahme analysiert werden. Erst kürzlich wurde eine weitere Methode zur Lagerung von H_2-Proben vorgestellt HEIMANN ET AL. [2003]. Hier wurden Vials im Feld mehrfach mit Probe gefüllt und wieder evakuiert. Die Proben wurden bei Tageslicht aufbewahrt und über die Zeit stieg die H_2-Konzentration. In der vorliegenden Arbeit wurden die Vials im Dunkeln aufbewahrt, wobei kein Konzentrationsanstieg beobachtet wurde. In der Regel nahm die Konzentration über sehr lange Zeiträume ab.

Für die Praxis wird eine Aufbewahrung unter den in Tabelle 4.1 genannten Bedingungen empfohlen.

Tabelle 4.1: Empfehlung zur Aufbewahrung von H_2-Proben

Temperatur	um 20°C, nicht kühlen!
Druck	Leichter Überdruck beim Abfüllen zur Dichtheitskontrolle
Flüssigkeit zum Verdrängen	Millipore, dest. Wasser
Volumenverhältnis	mehr Gas als Wasser, am besten 10:2 oder 20:2 in Abhängigkeit vom Vial bzw. Probenahme[a]
Probevolumen	Vialgröße Probevolumen 22,5 ml: 20 ml 12,5 ml: 10 ml 9 ml: 7-8 ml
Verschluss	Gummi-Septen mit Alukappe, z. B. R 20B-L/Hs-hg, CS-Chromatographie Service, Langerwehe
Sonstiges	Lagerung über Kopf (in Wasser), dunkel

[a] Geringere Volumina beschleunigen die Gleichgewichtseinstellung. Wenn die entsprechenden Vials vorhanden sind, sind geringe Volumina möglich. Zu berücksichtigen ist jedoch das erforderliche Volumen für Mehrfachbestimmungen.

4.1.3 H_2-Probenahme am Standort Hannover-Südstadt

Am Standort Hannover-Südstadt, einem LCKW-Schadensfall, der auch im Rahmen des KORA-Programms bearbeitet wird, wurden, wie in Abschnitt 3.6.4 beschrieben, H_2-Probenahmen im Feld durchgeführt. Neben den H_2-Proben wurden weitere Grundwasserparameter bestimmt und Proben entnommen, die einen Einblick in die chemische Zusammensetzung des kontaminierten Grundwassers geben.

4.1.3.1 Ergebnisse der H_2-Messungen

Die an den Messstellen ermittelten Wasserstoffkonzentrationen sind in Tabelle 4.2 und Abbildung 4.12 dargestellt. Bei den Werten mit Korrektur ist ein „Extraktionsfaktor“ berücksichtigt worden. Diesen Faktor erhält man unter der Annahme eines optimalen Stoffübergangs sowie einer zu Beginn H_2-freien Gasblase in Abhängigkeit von der Extraktionsdauer, dem Volumen der Gasblase und des Volumenstromes (siehe Abschnitt 3.6.2). Bei den Pro-

Tabelle 4.2: H_2-Messwerte an ausgewählten Messstellen in Hannover-Südstadt [nM]

Datum	02.06.2004		03.06.2004					
Messstelle	47338		47338		47337	36442	180928	30476
	13m	14m	13m	14m				
ohne Korrektur	$8{,}8 \pm 2{,}1$	$3{,}6 \pm 1{,}5$	$7{,}5 \pm 2{,}7$	$3{,}2 \pm 1{,}1$	$3{,}9 \pm 0{,}4$	$2{,}2 \pm 1{,}0$	$2{,}3 \pm 0{,}9$	$95{,}5 \pm 19{,}7$
mit Korrektur	$9{,}6 \pm 2{,}2$	$4{,}4 \pm 1{,}9$	$8{,}0 \pm 2{,}9$	$3{,}7 \pm 1{,}2$	$4{,}4 \pm 0{,}5$	$2{,}5 \pm 1{,}1$	$2{,}8 \pm 1{,}2$	$101{,}9 \pm 22{,}6$

benahmen bewegte sich die Extraktionsausbeute zwischen 81 und 96 %. Hierzu ist anzumerken, dass die Berechnung auf der Basis eines konstanten Gasvolumens beruht. Während der Extraktion vergrößerte sich jedoch das Volumen von 5 ml auf 17-26 ml. Für die Berechnung wurden die Endvolumina eingesetzt. Offen bleibt hierbei, inwiefern das bei der

Probenahme aus dem Grundwasser ausgegaste, zusätzliche Gas bereits Wasserstoff enthält und ob diese Konzentration bereits im Gleichgewicht mit der Wasserphase ist. Wenn das der Fall wäre, ist die tatsächliche Extraktionsausbeute höher und die tatsächliche Konzentration liegt zwischen den genannten Werten mit bzw. ohne Korrektur. Durch eine längere Extraktionsdauer (bei der 2. Extraktion 20 min) verbessert sich theoretisch die Ausbeute, gleichzeitig vergrößert sich aber das ausgegaste Volumen.

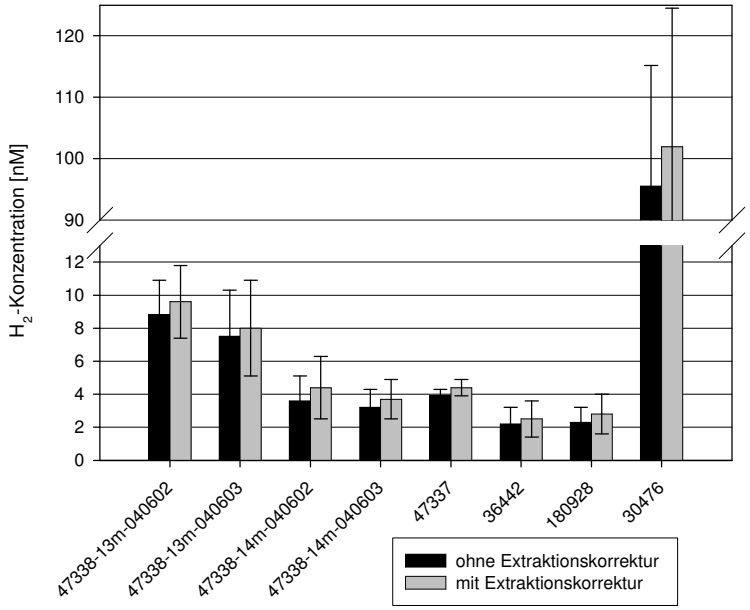


Abbildung 4.12: H_2-Konzentrationen an ausgewählten Messstellen in Hannover-Südstadt

Zur Überprüfung der Aufbewahrung wurden einerseits vier Standards von 2 bis 17 ppm H_2 in Helium benutzt und zusätzlich, parallel zur Extraktion, 10 ml Umgebungsluft und Helium in Vials überführt. Tabelle 4.3 zeigt eine Gegenüberstellung der Standard-Werte einer Messung der Konzentration in den Standardflaschen am Vortag der Feldmessungen und der Werte, die bei der Analyse der in Hannover überführten Standards ermittelt wurden. Abweichungen sind erkennbar, die Werte zeigen jedoch, dass eine Aufbewahrung über ca. 24 h vertretbar ist. Vergleicht man die Werte an der Messstelle 47338 am 02.06. und 03.06.2004 so ist auch hier zu erkennen, das eine längere Lagerung etwas höhere Werte liefert, die Unterschiede aber im akzeptablen Bereich (+17 % für 13 m, +13 % für 14 m) liegen.

Tabelle 4.3: H_2-Standards in ppm

Standard	2,1 ppm	4,3 ppm	8,4 ppm	16,5 ppm
vorher, Berlin	2,0	4,8	8,9	14,8
Proben Hannover	3,0	5,8	7,5	16,0

Schwierig sind die Parallelmessungen für Luft und Helium zu interpretieren. Die an der 2. Messstelle (parallel zu 36442) genommenen Proben ergeben 3,65 nM für Helium und 1,47 nM für Luft; an der letzten Messstelle (parallel zu 30476) 4,77 nM für Helium sowie

3,71 nM für Luft. In Luft sollten maximal ca. 500 ppmv (entsprechen 0,4 nM in der Flüssigphase im Gleichgewicht) zu finden sein, in Helium noch geringere Werte. Im Labor stieg die H_2-Konzentration in Tripletts bei Verwendung der gleichen Methode (Vials, Septen, Direkteinspritzung) in 24 Stunden mit Helium von 0,15 auf 0,78 nM, mit einem Standardgasgemisch von 4,57 auf 5,31 nM (nach 48 h 5,5 nM). Mit 10 ml Luft stiegen die Werte von 0,48 auf 0,82 nM (Überführung durch Verdrängung unter Millipore). Weshalb die Feldwerte davon so stark abweichen, konnte nicht geklärt werden.

4.1.3.2 Weitere Analysendaten der Messstellen in Hannover-Südstadt

Vor und während der Extraktion von H_2 wurden gelöster Sauerstoff und das Redoxpotenzial gemessen. Außerdem wurden jeweils zwei Headspace-Vials für die LCKW-Analytik vollständig gefüllt. Die Analyse erfolgte mit zwei verschiedenen Methoden in Gaschromatographen gleicher Bauart (Abschnitt 3.3). Dabei kann auch die Konzentration der gasförmigen Kohlenwasserstoffe Methan, Ethan und Ethen bestimmt werden. Weiterhin wurden DIC/DOC-Proben genommen und analysiert, Fe_{gesamt} mittels Schnelltest bestimmt und die Konzentration der Anionen Chlorid, Nitrat und Sulfat mittels Ionenchromatographie gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.4 dargestellt.

4.1.3.3 Bewertung der Untersuchungsergebnisse am Standort Hannover-Südstadt

Die H_2-Konzentrationen in den Messstellen 180928 und 36442 liegen mit 2-3 nM im Bereich bekannter Schwellwertkonzentrationen für die Dechlorierung. YANG & MCCARTY [1998] geben für die Dechlorierung von cis-DCE einen Schwellwert von 2 nM an. Ähnliche Schwellwerte wie für die Dechlorierung von cis-DCE werden für die Sulfatreduktion angegeben (2-4 nM, Abschnitt 2.6.5). Sulfat ist im Grundwasser offensichtlich reichlich vorhanden (Tabelle 4.4). H_2S-Geruch ist bei der Probenahme jedoch nicht wahrnehmbar gewesen. Interessant wäre hier die Untersuchung auf Sulfidausfällungen in Feststoffproben. Gegebenenfalls könnten über den zeitlichen Verlauf der Sulfatkonzentration Aussagen über diesen konkurrierenden Redoxprozess gemacht werden.

An den Produkten Ethen und Ethan an der Messstelle 36442 ist eine deutliche mikrobiologische Dechlorierungsaktivität ablesbar. Da dort ebenfalls sehr hohe Methankonzentrationen anzutreffen sind, könnte es sich hier auch um Produkte von Reaktionen handeln, die nicht an der Messstelle direkt, sondern im Zulaufbereich stattfinden. Bekannte H_2-Schwellwerte für die Methanogenese [7-10 nM, LOVLEY & GOODWIN 1988] liegen über den gefundenen Konzentrationen. Die Konzentration an gelöstem Eisen ist vermutlich auch auf Transportprozesse zurückzuführen, da hier als H_2-Schwellwertkonzentrationen in der Literatur Werte $> 0{,}8$ nM genannt werden (vergleiche Tabelle 2.3).

Die Messstellen 47337 und 47338 (gleicher Standort, unterschiedliche Tiefe der Verfilterung) weisen höhere H_2-Konzentrationen zwischen 3,8 und 8 nM auf, wobei es in der Messstelle 47338 eine deutliche Tiefendifferenzierung (13 m: 7,5-9,6 nM, 14 m: 3,2-4,4 nM) gibt, die hier auch durch zwei zeitlich unabhängige Messungen bestätigt wurde. Über die Ursachen kann nur spekuliert werden, da die weiteren Ergebnisse keine nennenswerten Unterschiede aufweisen. Ausgehend von dem Schwellwertkonzept könnten Sulfatreduktion

Tabelle 4.4: Weitere Analysendaten der Probenahme in Hannover-Südstadt

Messstelle		180928	36442	47338		47337	30476
Parameter	Einheit	12,5/14 m	16,5/17,5 m	13 m	14 m	7,7/8,7 m	7,5/8,5 m
O_2-Gehalt	mg/l	0,7	0,8	0,1		0,2	0,7
Redox[a]	mV	181	164	158		274	119
Anionen		DX 120 Ion Chromatograph, Fa. Dionex					
Cl	ppm	116	1154		96	94	124
NO3	ppm	7,5	$< 0{,}5$		$< 0{,}5$	$< 0{,}5$	$< 0{,}5$
SO4	ppm	262	162		254	255	304
C gelöst, org./anorg.		LiquiTOC, Fa. elementar Analysensysteme GmbH					
DOC	ppm	8,65	8,51	7,42	8,83	8,28	8,79
DIC	ppm	94,50	80,81	98,09	98,77	98,61	104,37
Eisen gesamt		Spectroquant 1.14761.0001, Fa. Merck					
Fe, ges.	ppm	0,1	1,4	0,0	0,2	0,2	3,6
LCKW, gelöste Gase		Headspacetechnik mit 1 ml Probe, GC: PE 8700					
PCE	μg/l	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
TCE	μg/l	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
cDCE	μg/l	935	715	437	371	91	465
VC	μg/l	< 100	1115	< 100	< 100	< 100	169
Ethen	μg/l	< 10	73	< 10	< 10	< 10	< 10
Ethan	μg/l	< 11	*n.b.*[b]	< 11	< 11	< 11	< 11
Methan	μg/l	43	475	60	64	< 6	32
LCKW, gelöste Gase		Headspacetechnik mit Aufsalzung und 10 ml Probe, GC: PE 8500					
PCE	μg/l	10,8	< 1	< 1	8,0	< 1	< 1
TCE	μg/l	28,4	72,4	23,2	12,9	65,5	15,0
cDCE	μg/l	821,1	595,2	428,9	406,0	173,1	468,8
VC	μg/l	41,9	888,0	17,1	27,6	< 1	144,4
Ethen	μg/l	< 10	73,4	< 10	< 10	< 10	$< 11{,}8$
Ethan	μg/l	< 11	14,8	< 11	< 11	< 11	< 11
Methan	μg/l	52,3	673,2	72,8	80,9	$< 6{,}7$	37,0

[a] bezogen auf die Standard-Wasserstoffelektrode, ausgehend von einem Ag/AgCl-System bei 10°C

[b] nicht bestimmbar (Peak vorhanden, aber nicht quantifizierbar)

und ggf. Methanogenese die bestimmenden Redoxprozesse sein. In der tieferen Messstelle (47338) ist Methan in den Proben vorhanden. Es kann dort jedoch auch aus anderen Bereichen antransportiert worden sein. Dass cis-DCE vorhanden ist, die H_2-Konzentration jedoch oberhalb der bekannten Schwellwerte liegt, könnte darauf hindeuten, dass eine mikrobiologische Dechlorierung an dieser Stelle nicht stattfindet, weil die dazu fähigen Organismen nicht vorhanden sind. Folglich könnte cis-DCE ebenfalls antransportiert worden sein. Dazu passen auch die geringeren Konzentrationen an Vinylchlorid, die in den beiden oben diskutierten Messstellen zum Teil deutlich höher liegen.

Die H_2-Konzentrationen in der Messstelle 30476 sind ungewöhnlich hoch. Eine mögliche Ursache für solche hohen Werte wäre der Abbau von fermentierbarem Substrat durch andere Mikroorganismen. Dieser Prozess bildet zwar die Grundlage für die Bereitstellung des Wasserstoffs, in der Regel wird jedoch davon ausgegangen, dass die H_2-Konzentration durch die verbrauchenden Prozesse bestimmt ist. Ein deutliches Anzeichen für eine Dechlorierungsaktivität ist das Vorhandensein von Ethen als Abbauprodukt, auch die VC-Konzentration ist nennenswert. Bei der gemessenen Konzentration ist jedoch ein gleichzeitiger Ablauf verschiedener Redoxprozesse denkbar, gleichfalls können die Abbauprozesse

auch schon im Zustrom stattgefunden haben.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass im kontaminierten Grundwasser eine Dechlorierungsaktivität vorhanden ist, die auch bis zum Endprodukt der reduktiven Dechlorierung Ethen reicht. Anhand der gemessenen H_2-Konzentration lassen sich jedoch räumliche Unterschiede feststellen. Es ist zu vermuten, dass in der Fahne Teilbereiche existieren, in denen keine vollständige Dechlorierung zum Ethen stattfindet. Der Zusammenhang, dass eine vollständige Dechlorierung geringe H_2-Konzentrationen (2-3 nM) im Grundwasser bewirkt bzw. höhere H_2-Konzentrationen auf fehlende Dechlorierungsaktivität und das Vorhandensein anderer Redoxprozesse hinweisen, lässt sich auf der Grundlage der wenigen vorliegenden Daten nicht bestätigen. Hierzu wäre eine breitere Datenbasis vonnöten.

Die Probenahmetechnik mit den Minidruckpumpen hat gut funktioniert, lieferte jedoch nicht in jedem Fall die erwünschten Volumenströme. Die Ursache hierfür ist noch nicht geklärt, sollte doch der maximale Förderstrom im Zusammenhang mit der anstehenden Wassersäule stehen. Das war nicht der Fall. Die Extraktion des Wasserstoff verlief gut, für die Auswertung hinderlich war die Zunahme des Gasvolumens, eine Beobachtung, welche bisher in der Literatur noch nicht dokumentiert wurde. Die Einflüsse auf die Proben während der Aufbewahrung bis zur Analytik sind noch nicht vollständig geklärt. Es gibt deutliche Konzentrationsunterschiede zwischen den Messstellen. Abweichungen bei gleichzeitig an einer Messstelle genommenen Proben sind aber vorhanden (siehe Abbildung 4.12) und schließen zur Zeit noch eine genauere Differenzierung aus. Zur Absicherung wären Parallelmessungen mit einem mobilen GC mit RGD im Feld wünschenswert.

4.1.4 Zusammenfassung zur Wasserstoff-Probenahme

Die Untersuchungen zur H_2-Probenahme haben gezeigt, dass

- eine Optimierung bei der Extraktion von Wasserstoff aus Grundwasser möglich und sinnvoll ist,
- Wasserstoff-Proben auch über 1-3 Tage aufbewahrt werden können und
- diese Methoden einen ersten Praxistest an einem LCKW-kontaminierten Standort bestehen konnten.

Mit der verwendeten Gasmaus mit einem Gasblasenvolumen von 10 ml und Probenflüssigkeits-Volumenströmen von 50 bis 140 ml/min kommt man der theoretisch berechneten Gleichgewichtseinstellung (Gleichung 3.5) am nächsten. Bei Volumenströmen > 100 ml/min wird in 20 min ein 98 %iges Equilibrium erreicht. Der Einsatz von Luft als Gasblase ist möglich. Bei zu erwartenden geringen H_2-Konzentrationen ($< 1{,}0$ nM) sollte jedoch mit Hilfe einer Getterpatrone (siehe Abschnitt 3.6.1.2) gereinigtes Helium 5.0 oder Stickstoff 5.0 verwendet werden.

Im Zusammenhang mit LCKW-Schadensfällen ist bisher in wenigen Fällen die H_2-Konzentration als Parameter berücksichtigt worden. YAGER ET AL. [1997] beobachteten dabei in erster Linie Fe-reduzierende Bedingungen bei H_2-Konzentrationen von 0,26-0,56 nM. Eine Dechlorierungsaktivität war nur im Zentrum der Fahne vorhanden, wo aber

nur zwei Werte (1,4 und 7,4 nM H_2) angegeben werden. LOLLAR ET AL. [2001] konnten die Dechlorierung in einem Aquifer mittels Isotopenfraktionierung nachweisen und geben für das reduzierende Milieu, wo Methanogenese und Dechlorierung offensichtlich gleichzeitig ablaufen, eine H_2-Konzentration von > 10 nM an. DINICOLA ET AL. [2002] unterteilten H_2-Ergebnisse aus einem kontaminierten Aquifer in Werte < 1 nM, wo die Sulfatreduktion der dominierende Redoxprozess war und stärker reduzierende Bereiche mit H_2-Konzentrationen > 1 nM, wo auch eine Dechlorierung stattfinden kann. H_2-Messungen im Grundwasser sind ansonsten überwiegend in anderen Schadensfällen erfolgt, wo Verunreinigungen mit Mineralölkohlenwasserstoffen oder BTEX vorlagen bzw. Deponiesickerwässer untersucht wurden.

Mit der Untersuchung der H_2-Konzentrationen trägt die vorliegende Arbeit zur Erweiterung der Datenbasis bei. Die hier dargestellten und teilweise veröffentlichten Ergebnisse [ALTER & STEIOF 2005b] mit H_2-Konzentrationen > 2 nM (Tabelle 4.2) korrelieren mit der am Standort Hannover nachgewiesenen Dechlorierungsaktivität. Sie stützen das Konzept, mit Hilfe der H_2-Konzentration Natural Attenuation Prozesse von LCKW besser abschätzen zu können.

Die Ergebnisse der H_2-Probenahme am Standort Hannover konnten nicht durch parallele Messungen vor Ort und im Labor mit einem mobilen GC inklusive RGA verifiziert werden. Obwohl sie im Hinblick auf andere Untersuchungen und die zu erwartenden Redoxprozesse plausibel erscheinen, sind Abweichungen möglich. Ein Problem bei der Probenahme stellten Ausgasungen aus dem Grundwasser dar, was zur Vergrößerung der Gasblase führte. In der Literatur ist darüber im Zusammenhang mit H_2-Messungen bisher nicht berichtet worden, obwohl eine Entspannung aufgrund der Druckabnahme zu erwarten ist. In dieser Hinsicht besteht weiterer Forschungsbedarf, um die Vergleichbarkeit von H_2-Daten zu gewährleisten und damit eine weitere Methode zur Identifizierung von Redoxzonen zu etablieren, die das Monitoring von NA-Prozessen unterstützen kann.

4.2 Konkurrierende Redoxprozesse bei der reduktiven Dechlorierung

Zur Untersuchung der Konkurrenzsituation der dechlorierenden Organismen im Grundwasser wurden Reinkulturen und eine vorhandene dechlorierende Mischkultur eingesetzt. Folgende Reinkulturen wurden verwendet:

- *Sulfurospirillum multivorans*, ein dechlorierendes Bakterium
- *Methanosarcina mazei*, ein methanogenes Bakterium
- *Methanospirillum hungatei*, ein methanogener Bakterium
- *Desulfovibrio desulfuricans*, ein Sulfatreduzierer

Die Reinkulturen wurden einzeln und in Kombinationen verschiedenen Redoxbedingungen ausgesetzt, ebenso die Mischkultur. Weiterhin wurde untersucht, welche Veränderungen sich ergeben, wenn die Kultivierung bei grundwasserähnlichen Temperaturen stattfinden. Die folgende Abbildung (4.13) in Form eines Mindmap gibt einen Überblick über die Versuche.

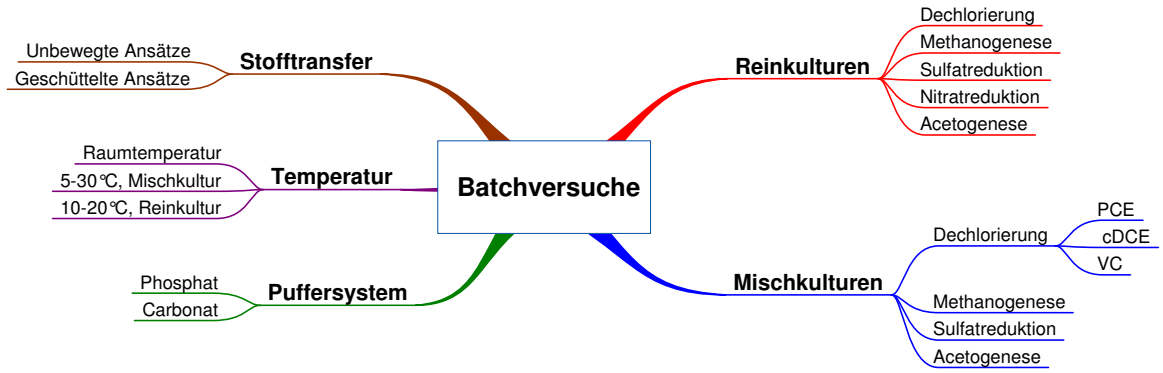


Abbildung 4.13: Überblick über die Versuche zur Konkurrenz bei verschiedenen Redoxprozessen

Sofern nicht anders beschrieben, wurden diese Versuche mit Stammmedium in 118 ml-Batchansätzen mit 50 ml Flüssigphase durchgeführt. Die Batchansätze wurden bei 25°C im Schüttelschrank (125 min^{-1}) aufbewahrt. Alle Batchversuche wurden in Tripletts durchgeführt. Die Standardabweichungen werden mit Fehlerbalken dargestellt. In einigen Abbildungen wurde darauf aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet.

4.2.1 Redoxprozesse bei Verwendung von Reinkulturen

4.2.1.1 *Sulfurospirillum multivorans*

Sulfurospirillum multivorans weist ein breites Substratspektrum auf (siehe Abschnitt 2.4.2) und wurde als dechlorierender Organismus hinsichtlich der H_2-Schwellwertkonzentration bei der Dechlorierung von PCE zu cDCE untersucht.

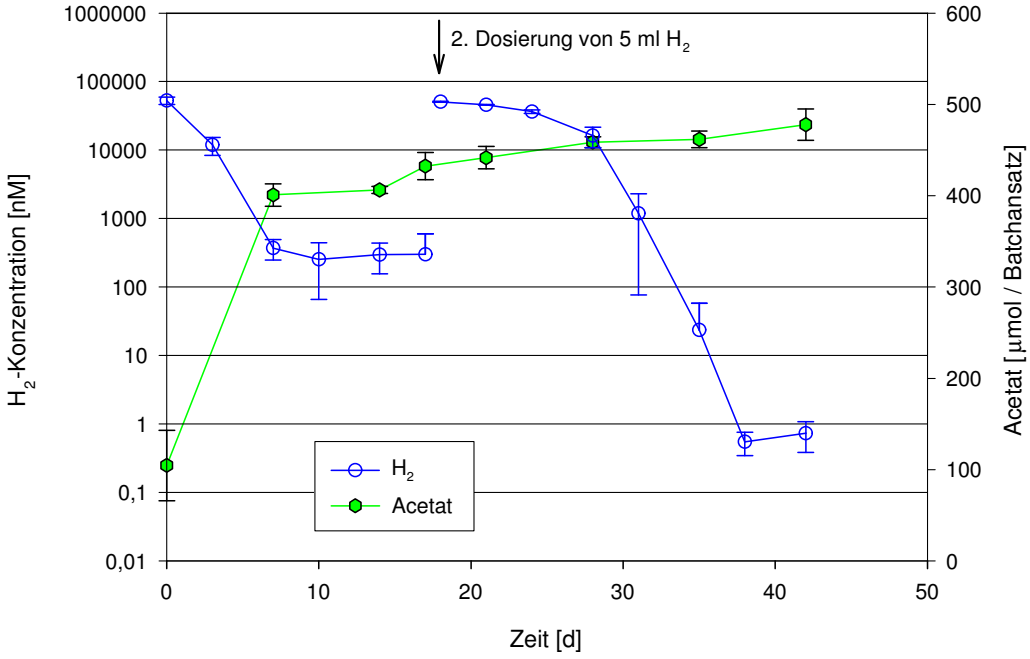


Abbildung 4.14: Verlauf der H_2-Konzentration bei der Acetogenese durch *Sulfurospirillum multivorans* in DSMZ-Medium 120 mit 5 ml H_2

Acetogenese mit Wasserstoff. In einem Medium mit Carbonatpuffer kann *Sulfurospirillum multivorans* mit Hilfe von Wasserstoff Acetat bilden [SCHOLZ-MURAMATSU ET AL. 1995]. Dieses konnte in einem Versuch mit Stammmedium bestätigt werden. Mit 5 ml Wasserstoff (208 μmol) wurden in einem Triplett 120-150 mg/l Acetat (100 bis 125 μmol) gebildet. Nach Gleichung 2.6 werden hierfür 400 bis 500 μmol H_2 benötigt. In einem Parallelversuch mit Medium 120 wurden innerhalb von 2 Wochen ca. 400 μmol Acetat je Batchansatz gebildet (Abbildung 4.14). Dabei stagnierte die H_2-Konzentration auf einem hohen Niveau um 300 nM. Eine erneute H_2-Dosierung von 5 ml (208 μmol) bewirkte eine Zunahme der Acetatmenge um 70 μmol. Nach Gleichung 2.6 könnten 52 μmol gebildet werden. Diese Werte stimmen gut überein, was bedeutet, dass die innerhalb der ersten zwei Wochen zusätzlich gebildeten ca. 350 μmol Acetat nicht aus der hydrogenotrophen Acetogenese stammen. Hierfür sind wahrscheinlich andere Bestandteile des komplexen Nährmediums, wie Hefeextrakt, verwendet worden.

Acetogenese mit Pyruvat. *Sulfurospirillum multivorans* kann Pyruvat als Elektronendonator verwenden [SCHOLZ-MURAMATSU ET AL. 1995]. Dabei setzt *Sulfurospirillum multivorans* selbst H_2 frei. Je 50 μl einer 1 M Pyruvatlösung wurden in 50 ml Medium gegeben. Pyruvat wurde sehr schnell verbraucht, nach 4 Tagen wurde eine H_2-Konzentration von $12{,}1 \pm 3{,}84$ nM gemessen. Nach einer Woche lag die H_2-Konzentration bei 0,3 nM, im Anschluss daran sanken die Werte unter die Bestimmungsgrenze. Im Mittel wurden in dieser Zeit 62,4 μmol Acetat (75 ppm in Lösung) gebildet. Das korreliert mit dem Verbrauch von 50 μmol eingesetztem Pyruvat.

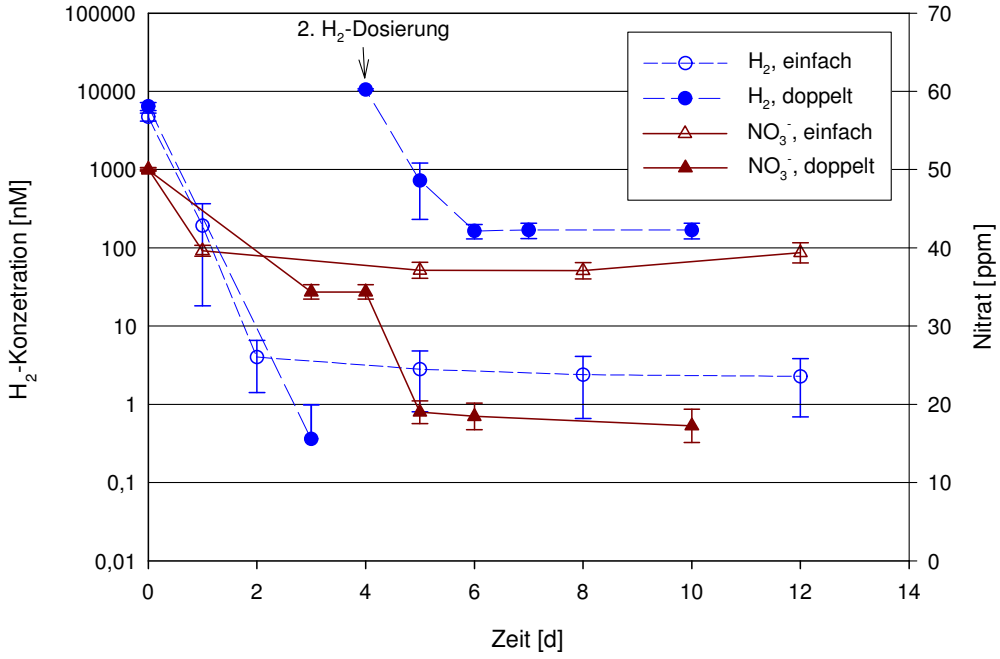


Abbildung 4.15: Denitrifikation mit *Sulfurospirillum multivorans* bei einfacher und doppelter Dosierung von 1 ml H_2

Denitrifikation. *Sulfurospirillum multivorans* ist in der Lage, Nitrat als e^--Akzeptor zu nutzen [SCHOLZ-MURAMATSU ET AL. 1995]. In dieser Arbeit reduzierte *Sulfurospirillum multivorans* Nitrat mit H_2 zu Nitrit. In einem Vorversuch wurde als Nebenprodukt auch Acetat gebildet. Die H_2-Bilanz war unvollständig, von 41,6 μmol wurden 8,5 μmol für die Nitritbildung und ca. 12 μmol für die Acetogenese verbraucht. Die Denitrifikation stagnierte nach 14 Tagen. Von 806 μmol/l Nitrat (50 mg/l) wurden 169 μmol zu Nitrit reduziert. Wasserstoff wurde hierbei in 31 Tagen nicht vollständig verbraucht. Es verblieb eine Stoffmenge von ca. 8 μmol, was einer Konzentration von 2.600 nM in der Flüssigphase entspricht. Dieser Wert liegt jedoch weit über bekannten H_2-Schwellwertkonzentrationen von 0,1-0,4 nM für die Denitrifikation [LU ET AL. 2001]. Möglicherweise ist die Kultur durch den Eintrag von Sauerstoff geschädigt worden. Da keine O_2-verwertenden Organismen vorhanden waren, stagnierten alle Prozesse.

Die Ergebnisse eines zweiten Versuches sind in Abbildung 4.15 dargestellt. Ein Triplett erhielt nur zu Beginn 1 ml H_2 als e^--Donator (41,7 μmol), ein weiteres am 4. Tag erneut 1 ml H_2. Die Reduktion von Nitrat erfolgte innerhalb kurzer Zeit und stagnierte dann aufgrund des geringen H_2-Angebotes. In zwei von drei Ansätzen ohne zweite Dosierung wurden 3-4 nM H_2 gemessen, im dritten 0,5 nM. Im anderen Triplett sank die Konzentration in zwei Ansätzen unter die Nachweisgrenze, im dritten Ansatz wurden am dritten Tag 1,1 nM gemessen. Diese Bandbreite an Werten lässt keine Aussage über einen H_2-Schwellwert bei der Denitrifikation durch *Sulfurospirillum multivorans* zu. Nach der zweiten H_2-Dosierung stagnierte die H_2-Konzentration auf einem hohen Niveau zwischen 100 und 200 nM.

Die Nitratkonzentration ist nach jeder H_2-Zugabe um ca. 16 ppm gesunken, was einer Stoffmenge von 12,9 μmol in den Batchansätzen entspricht. Die Nitritbildung konnte bei diesem

Versuch nur qualitativ bewertet werden. Nimmt man eine 1:1-Umsetzung zu Nitrit und einen Bedarf von 1 mol H_2 je mol Nitrat an, so muss die Differenz zu einer Zugabe von jeweils 41,6 μmol H_2 für andere Prozesse oder eine teilweise weitergehende, nicht nachgewiesene Denitrifikation verwendet worden sein. Acetat wurde, im Gegensatz zum Vorversuch, hier nicht gebildet. Ein mögliches Reaktionsschema für das Stoffmengen-Verhältnis von etwa 3:1 (H_2-Einsatz zu Nitritbildung) könnte folgendermaßen aussehen:

$$4NO_3^- + 6H_2 + 2H^+ \rightarrow 2NO_2^- + N_2O + 7H_2O \tag{4.1}$$

Dechlorierung von Tetrachlorethen mit Wasserstoff als e^--Donator. PCE wird von *Sulfurospirillum multivorans* reduktiv zu cDCE dechloriert. In zwei Versuchen wurden unterschiedliche Mengen H_2 eingesetzt, 1 ml und 5 ml (entsprechend 41,7 bzw. 208 μmol). Abbildung 4.16 zeigt den Verlauf der H_2-Konzentration in den Dreifachansätzen. Die Dechlorierung begann ohne Verzögerung. Innerhalb von vier Tagen wurde PCE vollständig zu cDCE abgebaut. Das Zwischenprodukt TCE war nur bei der Wahl kurzer Messintervalle sichtbar (siehe Abbildung 4.17). Beim Einsatz von 5 ml H_2 sind zusätzlich ca. 25 μmol Acetat je Ansatz gebildet worden. Da nach dem Ende der Dechlorierung noch ausreichend Wasserstoff vorhanden war, ließ sich hier kein Schwellwert für die Dechlorierung ermitteln. Aus dem Verlauf des H_2-Verbrauchs kann man auch nicht auf einen Schwellwert für die Acetogenese schließen. Deshalb wurde beim Versuch mit 1 ml H_2 nach 8 Tagen erneut PCE dosiert (3 μl, entsprechend 29,3 μmol). Ein Abbau fand jedoch nicht mehr statt. Die fehlende Dechlorierung und die Stagnation der H_2-Konzentrationen (Abbildung 4.17) ist wahrscheinlich auf eine Kontamination mit Sauerstoff zurückzuführen. Ab dem 8. Tag wiesen die Ansätze, die Resazurin als Redoxindikator enthielten, eine Rosafärbung auf. Ein dritter Ansatz wurde nach neun Tagen ohne Dechlorierung und H_2-Verbrauch verworfen, daher zeigt Abbildung 4.17 das Mittel von zwei Ansätzen. Die stabilen H_2-Konzentrationen auf verschiedenen Niveaus (30-60 nM und 150-200 nM) verdeutlichen zwei Dinge. Zum einen ist die biologische Aktivität der Reinkultur in den Ansätzen genau an diesem Punkt unterbrochen worden. Es handelt sich daher nicht um H_2-Schwellwertkonzentrationen. Zum anderen sind die Batchsysteme sehr dicht, da eine Diffusion von Wasserstoff in die Umgebungsluft nicht stattfindet. Die Abnahme der PCE-Menge in den Ansätzen nach der zweiten Dosierung ist damit auf Probenahmen sowie in erster Linie auf Adsorption zurückzuführen. Diese fällt offenbar bei PCE wesentlich stärker ins Gewicht als bei cDCE.

Sulfurospirillum multivorans wurde auch in Kombination mit *Methanosarcina mazei* eingesetzt, der aber im Stammmedium nicht kultiviert werden konnte. Deshalb wurde die Dechlorierung durch *Sulfurospirillum multivorans* im DSMZ-Medium 120 untersucht. Hierbei wurde PCE in drei Tagen stöchiometrisch zu cDCE dechloriert (Abbildung 4.18). Da das H_2-Angebot hier höher war als der H_2-Verbrauch, konnte für die Dechlorierung kein Schwellwert ermittelt werden. Parallel zur Dechlorierung fand eine starke Acetogenese statt. Diese stagnierte nach dem 8. Tag, was mit dem Absinken der H_2-Konzentration unter 10 nM erklärt werden kann. Nach 16 Tagen wurden rund 420 μmol Acetat gebildet. Die dosierten 5 ml entsprechen einer Stoffmenge von 208 μmol H_2, wovon für die Dechlorierung 50 μmol verbraucht worden sind. Bei einer reinen Homoacetogenese wären ca. 1600 μmol H_2 erforderlich gewesen, mehr als das 10-fache des verbleibenden Wasserstoffes. Die Differenz lässt sich nur mit der Verwendung anderer e^--Donatoren aus dem

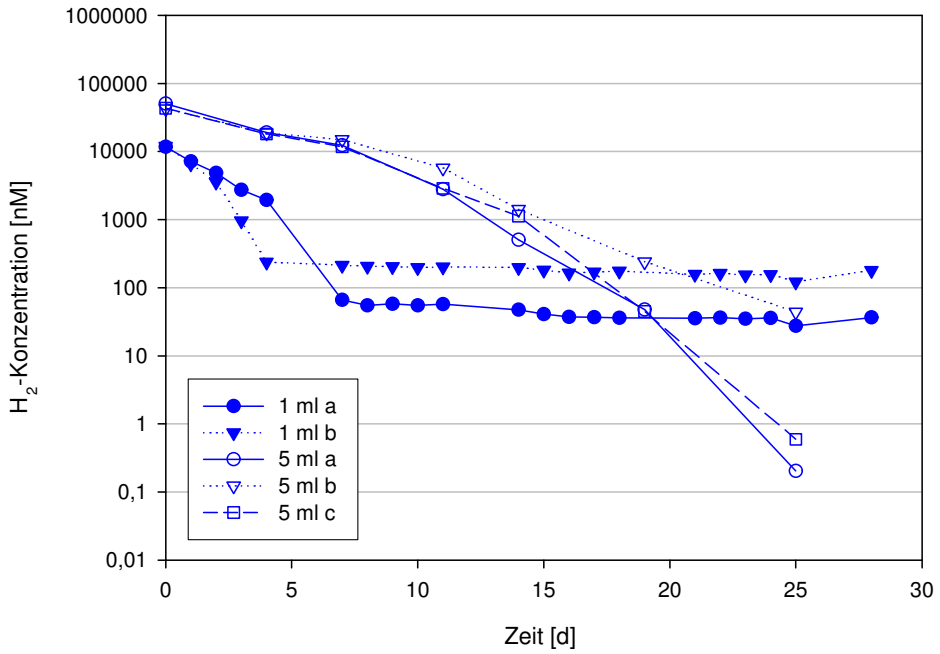


Abbildung 4.16: Verlauf der H_2-Konzentration bei der Dechlorierung von PCE zu cDCE durch *Sulfurospirillum multivorans* beim Einsatz von 1 und 5 ml H_2

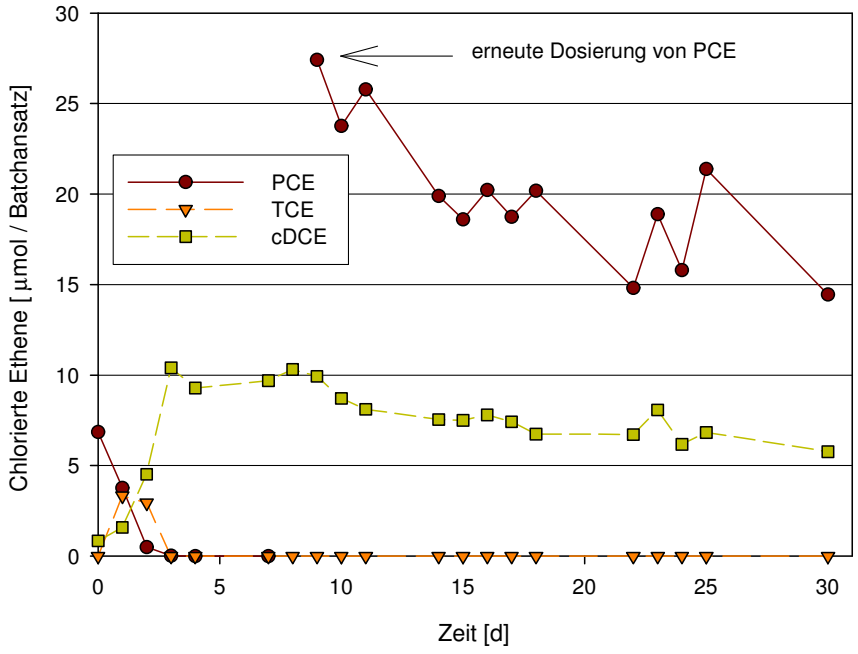


Abbildung 4.17: Dechlorierung von PCE durch *Sulfurospirillum multivorans* mit 1 ml H_2 (Ansätze a und b gemittelt). Der Verlauf der H_2-Konzentration ist oben in Abbildung 4.16 dargestellt.

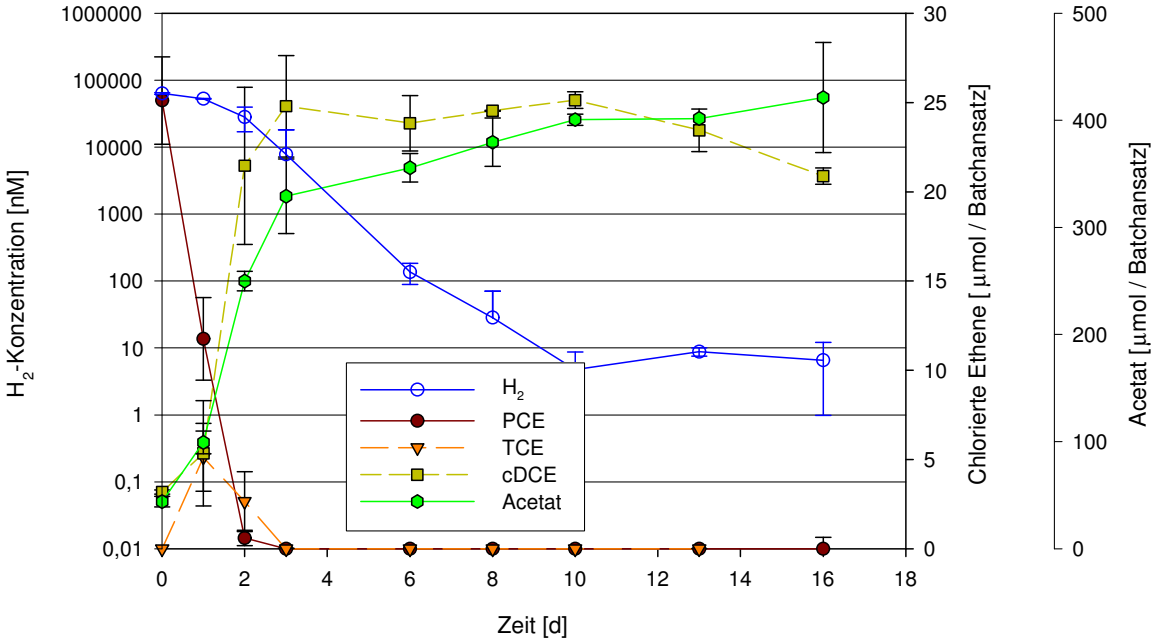


Abbildung 4.18: Dechlorierung von PCE durch *Sulfurospirillum multivorans* mit 5 ml H_2 in DSMZ-Medium 120

Medium erklären, z. B. Hefeextrakt. Ein Vergleich mit Abbildung 4.14, wo keine parallele Dechlorierung stattfand, untermauert diese These. Dort wurde mit dem gleichen Medium eine vergleichbare Menge Acetat (400 μl) gebildet.

Im Rahmen der Versuche zur Konkurrenz zwischen *Sulfurospirillum multivorans*, *Desulfovibrio desulfuricans* und *Methanospirillum hungatei* wurde ein Teilversuch mit *Sulfurospirillum multivorans* in MH-Medium durchgeführt. Hierbei wurden zu Beginn 2,5 ml H_2 (104 μmol) und nach 68 Tagen erneut 2 ml H_2 (83 μmol) dosiert. PCE wurde nach Verbrauch zweimal nachdosiert, um die Dechlorierung als dominierenden Redoxprozess aufrechtzuerhalten. Es wurde mit 9 parallelen Batchansätzen gearbeitet, die gleich behandelt wurden. Die Tripletts wurden jeweils ca. einen Monat beprobt und dann verworfen. Dieses Vorgehen war nötig, um trotz der Volumenreduktion in den Batchansätzen aufgrund von Probenahmen das Verhalten der Dechlorierung und der H_2-Konzentration länger beobachten zu können. Beim Übergang zwischen den Tripletts ergaben sich mit Ausnahme der cDCE-Konzentration nur geringfügige Unterschiede (Abbildung 4.19). Die Dechlorierung verlief zunächst wie in anderen Versuchen sehr schnell. Nach der zweiten PCE-Dosierung am 12. Tag wurde PCE nicht mehr vollständig zu cDCE dechloriert, was auch zu einer Akkumulation von TCE führte. Gleichzeitig wurde der verbliebene Wasserstoff verbraucht und die Konzentration sank auf Werte von 10-30 nM. Ein Ähnliches Niveau trat auch zwischen dem 40. und 67. Tag auf. Die kurzzeitige Erhöhung der H_2-Konzentration auf Werte von ca. 90 nM zwischen dem 30. und 40. Tag könnte auf die Fermentation abgestorbener Zellmasse zurückzuführen sein. Eine nennenswerte Dechlorierung war dadurch jedoch nicht zu erwarten. So lässt sich die Abnahme der PCE- und TCE-Konzentration auch eher mit Verlusten durch Adsorption und Probenahme erklären, da die Stoffmenge an cDCE nicht ansteigt. Nach der 2. PCE-Dosierung am 79. Tag setzte mit einigen Tagen lag-Phase er-

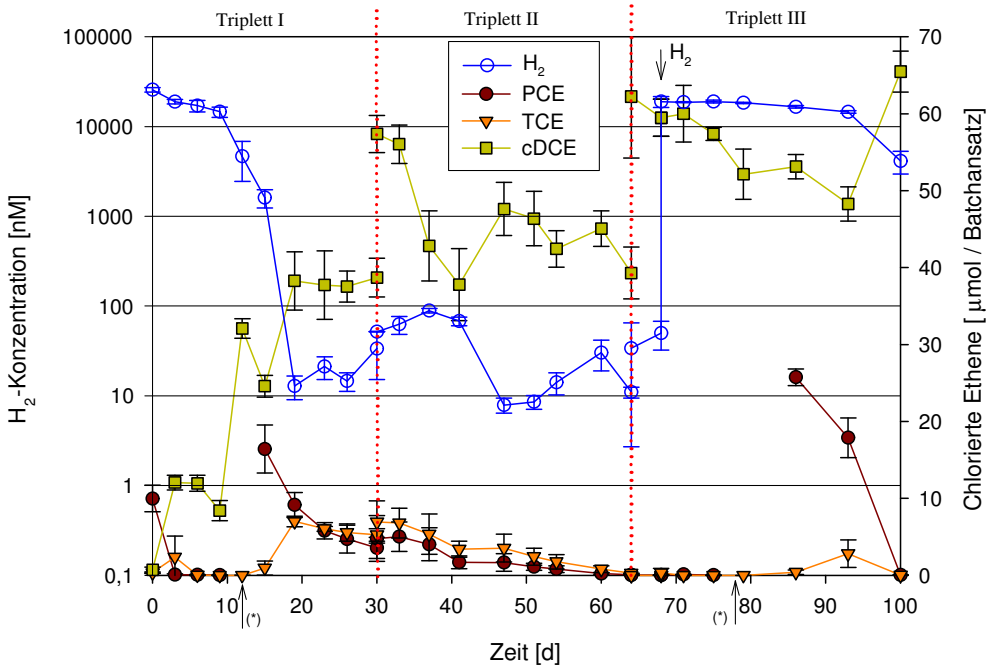


Abbildung 4.19: Dechlorierung von PCE durch *Sulfurospirillum multivorans* mit 2,5 ml H_2 in MH-Medium (*PCE-Dosierungen: 3 µl nach 12 und 79 Tagen, H_2-Dosierung: 2 ml an Tag 68) [Daten aus BALKE & GRAF 2005]

neut eine Dechlorierung ein. Die in 100 Tagen gebildeten 65 µmol cDCE entsprechen der insgesamt eingesetzten PCE-Menge von ca. 70 µmol sehr gut. Den für die Dechlorierung stöchiometrisch benötigten 140 µmol H_2 stehen 187 µmol an zugegebenem Wasserstoff gegenüber.

Dechlorierung von Tetrachlorethen mit Pyruvat als e^--Donator. Alternativ zu H_2 wurde auch Pyruvat als Elektronendonator eingesetzt. Damit bildet *Sulfurospirillum multivorans* selbst Wasserstoff, wie in Abbildung 4.20 zu erkennen ist. PCE wurde innerhalb von drei Tagen zu cDCE umgewandelt. Die H_2-Konzentration war zu diesem Zeitpunkt auf ein Maximum angestiegen. Eine Stagnation zwischen 2 und 4 nM war erst im Anschluss zu beobachten. Parallel wurden ca. 10 µmol Acetat gebildet.

H_2-Schwellwertkonzentrationen für *Sulfurospirillum multivorans* Aus den Versuchsergebnissen mit der Reinkultur *Sulfurospirillum multivorans* lässt sich eine H_2-Schwellwertkonzentration von ca. 10 nM für die Dechlorierung von PCE zu cDCE ableiten. Die H_2-Konzentration bewegte sich in Anwesenheit von PCE bzw. TCE nicht unter diesen Wert. Mit Pyruvat als Elektronendonator sank die H_2-Konzentration zwar unter 10 nM (Abbildung 4.20), zu diesem Zeitpunkt war die Dechlorierung jedoch bereits abgeschlossen und ein anderer, nicht identifizierter Redoxprozess muss für das H_2-Niveau bei 2-4 nM verantwortlich gewesen sein. Vergleichbare Untersuchungen mit *Sulfurospirillum multivorans* haben bisher nur LUIJTEN ET AL. [2004] mit einem ähnlichen Medium [nach HOLLIGER ET AL. 1993] und bei 30°C durchgeführt. Dort wurden in Gegenwart von PCE H_2-Konzentrationen von $0{,}08 \pm 0{,}04$ nM erreicht. Das Medium enthielt wie das MH-Medium

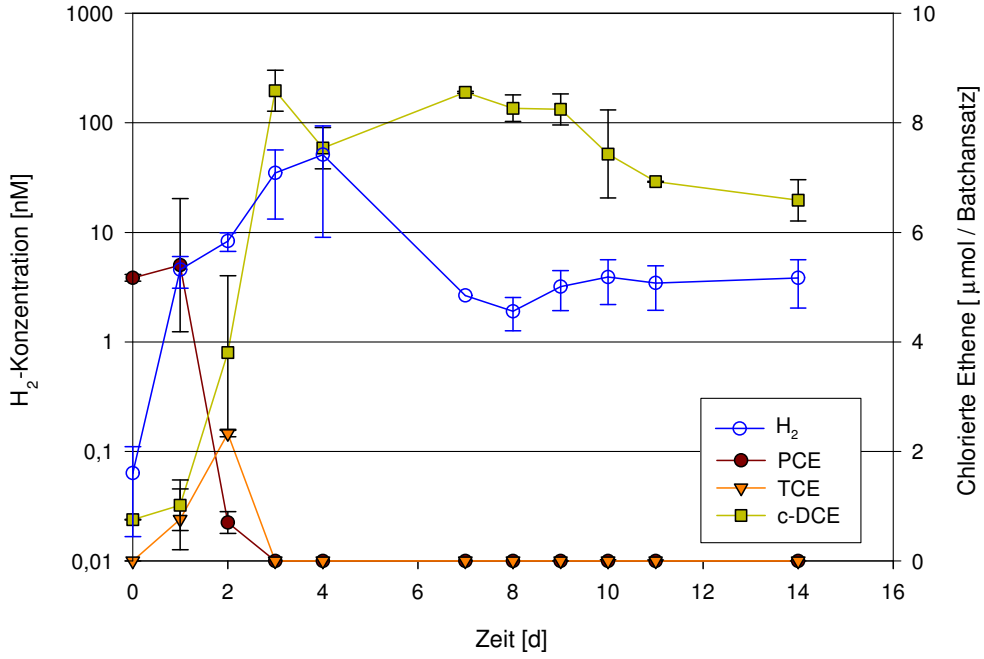


Abbildung 4.20: Dechlorierung von PCE durch *Sulfurospirillum multivorans* mit Pyruvat

ebenfalls Hefeextrakt als weitere mögliche H_2-Quelle. Andere Elektronenakzeptoren als PCE waren nicht enthalten. LÖFFLER ET AL. [1999] ermittelten bei der Dechlorierung von PCE durch die Reinkulturen *Desulfitobacterium chlororespirans* und *Desulfitobacterium* sp. Stamm Viet 1 sowie verschiedenen Anreicherungskulturen ebenfalls sehr geringe H_2-Schwellwertkonzentrationen $< 0{,}3$ nM.

Die große Diskrepanz der Werte sollte Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen sein, um die Datenbasis für H_2-Schwellwerte von dechlorierenden Reinkulturen zu erweitern. Dabei sollten gerade hinsichtlich der Temperatur feldnahe Bedingungen gewählt werden.

Für die Denitrifikation konnte keine H_2-Schwellwertkonzentration ermittelt werden. Obwohl Nitrat noch vorhanden war, sank die H_2-Konzentration nur in zwei Ansätzen unter die Nachweisgrenze von 0,16 nM. Diese geringen Konzentrationen sind für die Denitrifikation zu erwarten. LU ET AL. [2001] ermittelten mit Anreicherungskulturen aus dem Aquifer 0,1-0,4 nM. LUIJTEN ET AL. [2004] erhielten mit *Sulfurospirillum multivorans* als Reinkultur H_2-Schwellwertkonzentrationen von $0{,}06 \pm 0{,}03$ nM für die Denitrifikation. Die Stagnation bei H_2-Niveaus von 2-4 nM bzw. 100-200 nM in Abbildung 4.15 lässt sich mit diesen Aussagen nicht in Übereinstimmung bringen. In Anbetracht der geringen bisher wenigen Untersuchungen mit Reinkulturen und der Durchführung unter optimierten Laborbedingungen (hier: 24°C, 30° bei LUIJTEN ET AL. [2004]) besteht an dieser Stelle weiterer Forschungsbedarf. Dies gilt insbesondere deshalb, weil LUIJTEN ET AL. [2004] auch sehr ähnliche H_2-Schwellwerte für die PCE-Dechlorierung ($0{,}08 \pm 0{,}04$ nM) angeben.

Acetat wird im Aquifer laut CORD-RUWISCH ET AL. [1988] bei H_2-Konzentrationen oberhalb von 350 nM gebildet. Ein Niveau bei 300 nM H_2 ergab sich für *Sulfurospirillum multivorans* in Medium 120 (Abbildung 4.14). In einem parallelen Versuch mit PCE sank die

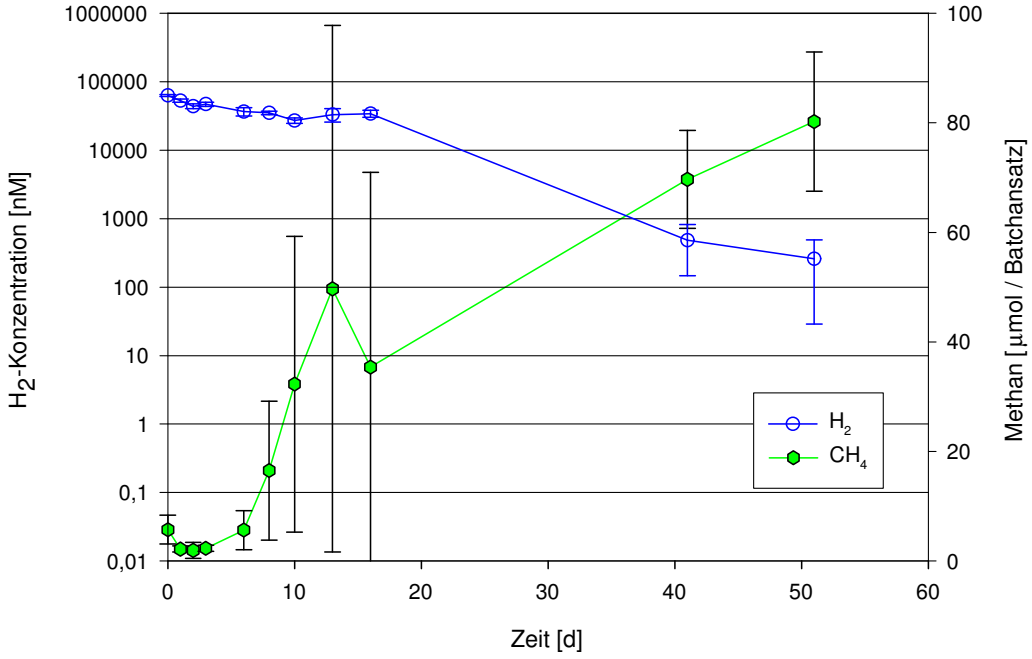


Abbildung 4.21: Methanogenese durch *Methanosarcina mazei* mit 5 ml H_2 in Batchansätzen mit PCE

H_2-Konzentration nach der Dechlorierung dagegen auf Werte um 10 nM (Abbildung 4.18). Die Acetogenese stagnierte mit Erreichen dieser Konzentration. Die hier ermittelten Werte ergeben kein einheitliches Bild. Die Ergebnisse lassen jedoch einen für NA-Prozesse wichtigen Schluss zu: Wenn *Sulfurospirillum multivorans* an LCKW-kontaminierten Standorten vorhanden ist, hat die Dechlorierung von PCE bzw. TCE Vorrang vor einer möglichen Acetogenese. Es ist zu vermuten, das Nitrat sowohl nach Ergebnissen dieser Arbeit als auch nach den Angaben in LUIJTEN ET AL. [2004] mit PCE und TCE als Elektronenakzeptor konkurriert und die Denitrifikation dabei dominiert.

4.2.1.2 *Methanosarcina mazei*

Methanogene Mikroorganismen spielen im Boden unter anaeroben Bedingungen eine große Rolle und stehen in kontaminierten Grundwasserleitern in Konkurrenz zu dechlorierenden Organismen. In dieser Arbeit wurden daher zwei Vertreter bezüglich der H_2-Schwellwerte und der Konkurrenz zu anderen Redoxprozessen näher untersucht. Zur Kultivierung von *Methanosarcina mazei* war ein spezielles Medium erforderlich, was in Abschnitt 3.4 beschrieben ist. Das DSMZ-Medium 120 enthält Methanol als Elektronendonator. Mit Methanol bildet *Methanosarcina mazei* nachweislich selbst Wasserstoff, was in einem Teilversuch gezeigt werden konnte. Hierbei wurden außerdem große Mengen an CH_4 und CO_2 gebildet. Parallel dazu stieg der Druck in den Ansätzen erheblich an. Da in dieser Arbeit natürliche Reinigungsprozesse im Untergrund betrachtet werden sollten und Methanol unter normalen Umständen nicht als Substrat vorliegt, wurde auf diesen Medien-Bestandteil – mit Ausnahme von einigen Versuchen mit mehreren Reinkulturen – verzichtet.

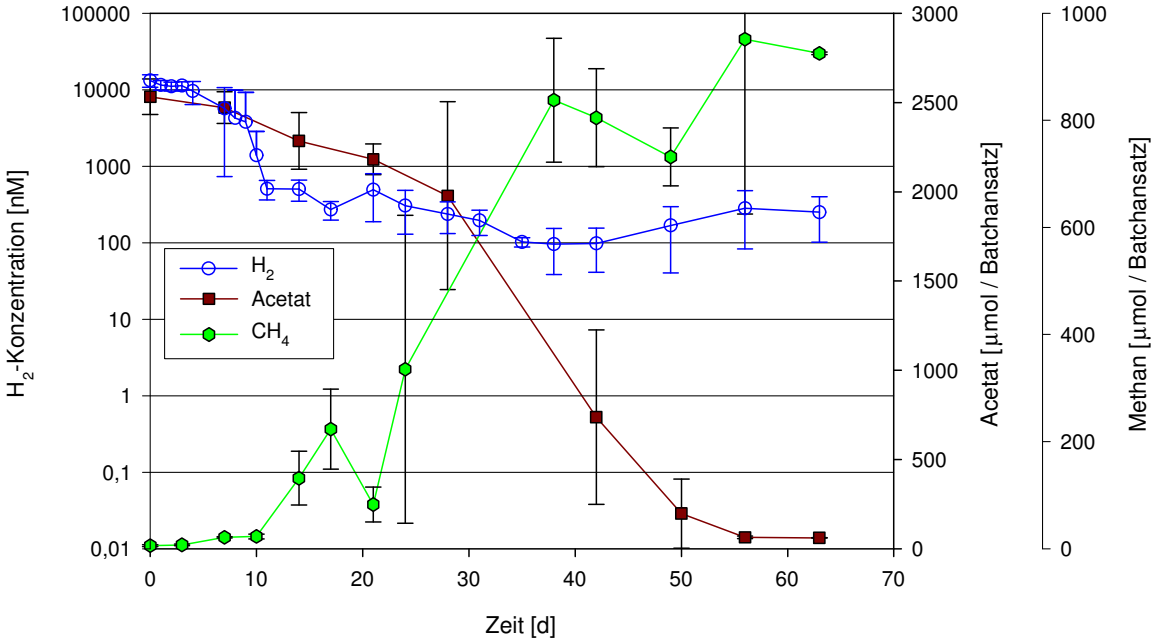


Abbildung 4.22: Acetotrophe Methanogenese von *Methanosarcina mazei* (zwei Batchansätze)

Mit 5 ml Wasserstoff als Elektronendonator und einer erhöhten Carbonatkonzentration (zusätzlich 0,7 g/l $KHCO_3$) wurden in einer Woche 110 $\pm$ 36,4 μmol Methan gebildet. Das entspricht in etwa der doppelten Menge, die nach Gleichung 2.5 zu erwarten war. Auch hier müssen danach, wie schon in Abschnitt 4.2.1.1 beschrieben, weitere e^--Donatoren aus dem Medium verwertet worden sein. Die zwischen 19 und 26 Tagen gemessenen H_2-Konzentrationen lagen zwischen 20 und 130 nM (ein Einzelwert 8 nM). Das lässt eine Aussage über einen H_2-Schwellwert nur bedingt zu. In einem identischen Triplett von Batchansätzen, jedoch ohne erhöhte Carbonatkonzentration und mit PCE, wurde H_2 nur langsam verbraucht und auch weniger Methan gebildet (siehe Abbildung 4.21). In zwei von drei Ansätzen sind in 16 Tagen ca. 2,5 ml H_2 (104 μmol) verbraucht und ca. 75 μmol Methan gebildet worden. Im dritten Ansatz wurde Methan erst nach diesem Zeitpunkt gebildet, zu erkennen ist das an der Veränderung der Standardabweichung. Nach diesen 16 Tagen muss es jedoch zu einer Kontamination mit *Sulfurospirillum multivorans* aus einem parallel laufenden Versuch gekommen sein. Anders ist die vollständige Dechlorierung von zu Beginn 24,8 μmol PCE zu 23,2 μmol cDCE am 41. Tag nicht zu erklären. Bis zum Tag 16 konnte kein cDCE nachgewiesen werden. Die Abnahme der Wasserstoffkonzentration ist ebenfalls mit der Dechlorierung erklärbar. Dass auch eine weitere Methanbildung stattfindet, kann verschiedene Ursachen haben. Zum einen wird durch *Sulfurospirillum multivorans* Acetat produziert, womit eine acetotrophe Methanogenese möglich wird. Zum anderen hat cDCE eventuell einen geringeren Einfluss auf die Methanogenese als PCE, weshalb diese dann weiterhin stattfindet. Wasserstoff ist außerdem bis zum Versuchsende in Konzentrationen oberhalb bekannter Schwellwerte für die Methanogenese (vergleiche Tabelle 2.3) vorhanden.

Die Methanogenese mit 5 ml H_2 und Acetat (50 mg/l) verlief etwas langsamer als mit

erhöhter Carbonatkonzentration. Sie stagnierte nach 11 Tagen bei $123{,}4 \pm 29{,}3\,\mu$mol CH_4. Auch Wasserstoff wurde etwas langsamer verbraucht. Zwischen dem 19. und 26. Tag ergab sich jedoch für die H_2-Konzentrationen ein ähnliches Bild. Sie lagen zwischen 28 und 220 nM. Bei einem zweiten Versuch, in dem die acetotrophe Methanogenese ohne H_2-Zugabe betrachtet werden sollte, wurden schon vor Zugabe des Inokulums im Mittel 1,6 % H_2 im Headspace (entsprechend 1,1 ml bzw. 45 μmol) gemessen. Die Ursachen dieser H_2-Entwicklung sind unbekannt. Die acetotrophe Methanogenese in zwei Parallelansätzen ist in Abbildung 4.22 dargestellt. Der dritte Ansatz wies zwar einen ähnlichen Verlauf der H_2-Konzentration auf, es wurde jedoch kein Acetat verbraucht und es wurden nur geringe Mengen Methan gebildet. In den ersten 11 Tagen könnte die hydrogenotrophe Methanogenese der bestimmende Prozess gewesen sein. Die H_2-Konzentration nahm bis dahin auf ca. 500 nM ab und stagnierte anschließend bei Werten zwischen 150 und 400 nM. Mit etwas Verzögerung wurde Acetat verbraucht, was mit einer verstärkten Methanogenese einherging. Ca. 2,5 mmol Acetat wurden verbraucht und 950 μmol Methan gebildet, wobei dieser Prozess nach 56 Tagen beendet war. In der Hauptphase der acetotrophen Methanogenese lag die H_2-Konzentration zwischen 80 und 100 nM. Dabei sank die Acetatkonzentration auf ca. 72 ppm (60 μmol je Batchansatz), was offenbar eine Art Grenz-Konzentration für Acetat bei der acetotrophen Methanogenese darstellt, da die H_2-Konzentration im Anschluss auf ein Niveau von 150-300 nM ansteigt, ohne dass Acetat weiter genutzt wird. Dieses Verhalten war in den Ansätzen etwas zeitversetzt, aber in gleicher Weise zu beobachten, woraus die Standardabweichungen in Abbildung 4.22 resultieren.

H_2-Schwellwertkonzentrationen für *Methanosarcina mazei* Aus den Versuchsergebnissen lässt sich eine eindeutige H_2-Konzentration, unterhalb derer die Methanogenese nicht stattfindet, nicht ableiten. Dafür verhielten sich die Ansätze der Tripletts zu uneinheitlich. Bis auf einen Messwert lagen die H_2-Konzentrationen bei der hydrogenotrophen Methanogenese oberhalb von 20 nM, bei der acetotrophen Methanogenese über 80 nM. Bei geringeren Konzentrationen im Aquifer würde *Methanosarcina mazei* daher nicht in Konkurrenz zu dechlorierenden Organismen wie *Sulfurospirillum multivorans* stehen. Auf die schlechtere Konkurrenzsituation von *Methanosarcina* Stämmen gegenüber anderen H_2-oxidierenden Methanogenen in Mischkulturen wurde auch von BOONE ET AL. [1987] hingewiesen.

4.2.1.3 *Desulfovibrio desulfuricans*

Die Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* wurde unter Verwendung des DSMZ-Mediums 63 untersucht. Dieses enthielt bereits Lactat (18 mM) als e^--Donator, so dass durch die Zugabe von Wasserstoff nur eine zusätzliche Sulfatreduktion zu erwarten war. In einem Vorversuch wurden 5 ml H_2 innerhalb einer Woche verbraucht und die H_2-Konzentration stagnierte anschließend bei Werten zwischen 40 und 70 nM, sank am Ende auf im Mittel $23{,}2 \pm 8{,}2$ nM (siehe Abbildung 4.23). Parallel dazu wurde Sulfat von 1673 ± 13 mg/l auf im Mittel 483 mg/l reduziert, was einer Differenz von 620 μmol entspricht. Für diese Reduktion werden theoretisch 2480 μmol H_2 benötigt (siehe Gleichung 2.4). 208 μmol Reduktionsäquivalente standen in Form von Wasserstoff zur Verfügung, die Differenz muss daher aus der Verwertung von 893 μmol Lactat je Batchansatz stammen.

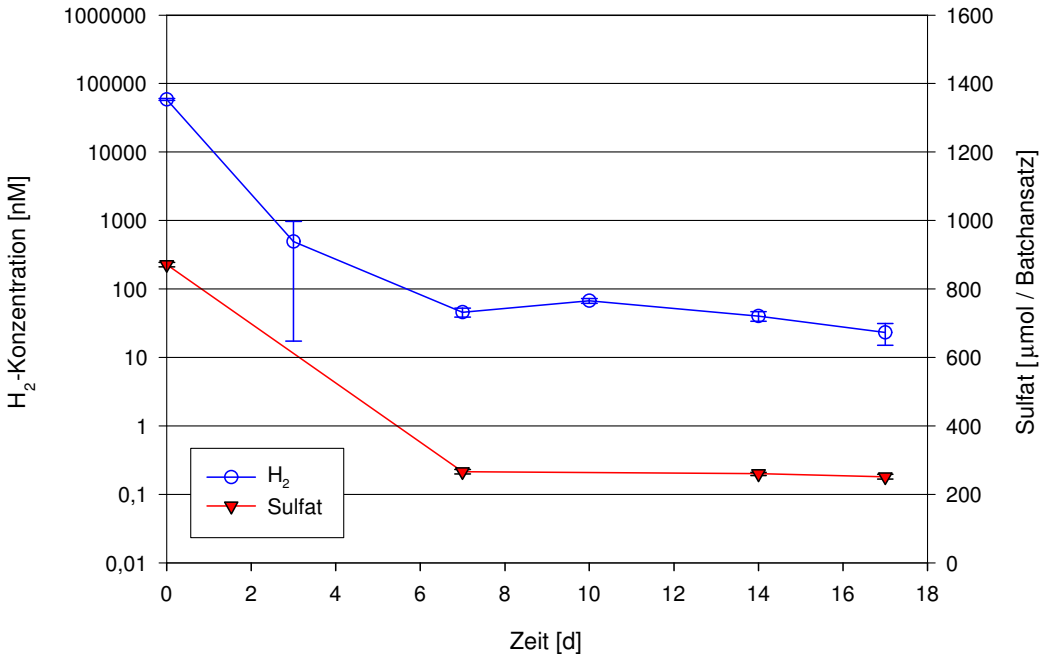


Abbildung 4.23: Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans*

Nach Gleichung 4.2 [nach HE ET AL. 2002] werden je Mol Lactat 2 mol H_2 freigesetzt und 1 mol Acetat gebildet.

$$CH_3\text{-}CHOH\text{-}COO^- + 2\,H_2O \rightarrow CH_3\text{-}COO^- + HCO_3^- + H^+ + 2\,H_2, \triangle G^{0'} = -3,96\,\frac{kJ}{mol} \quad (4.2)$$

Damit standen ca. 1800 μmol H_2 zur für die Sulfatreduktion zur Verfügung, was gut mit der tatsächlichen Sulfatreduktion und auch mit der gebildeten Menge an Acetat korreliert.

Aufbauend auf dem dargestellten Versuch wurde im Folgenden mit unterschiedlichen H_2-Mengen gearbeitet. Abbildung 4.24 zeigt das Ergebnis. Im Triplett ohne Wasserstoff wurde H_2 durch Vergärung von Lactat gebildet. Die Konzentrationen lagen zunächst bei im Mittel 4,9 bis 8,6 nM und stiegen mit beginnender Sulfatreduktion auf im Mittel 54,1 nM an. Danach sank die H_2-Konzentration wie auch in den Tripletts mit 5 und 10 ml H_2 auf Werte nahe der Nachweisgrenze. Während im Triplett mit 10 ml keine H_2-Schwellwert-Konzentration festgestellt werden konnte, trat mit 5 ml H_2 zwischen dem 7. und 9. Tag ein Niveau zwischen im Mittel 18 und 28 nM auf, ähnlich der Endkonzentration im Vorversuch (Abbildung 4.23). Die Stoffmengenbilanz in Tabelle 4.5 verdeutlicht den Einfluss der zusätzlichen H_2-Dosierung. Je mehr H_2 eingesetzt wurde, desto mehr Sulfat wurde zusätzlich reduziert, im Fall von 10 ml H_2 in etwa die stöchiometrisch mögliche Menge von 100 μmol bei 416 μmol eingesetztem H_2 nach Gleichung 2.4.

In einem zweiten Versuch wurden die Probenahmen verschoben, um die aktive Sulfatreduktion besser erfassen zu können. Die Lag-Phase war hier jedoch kürzer und die Sulfatreduk-

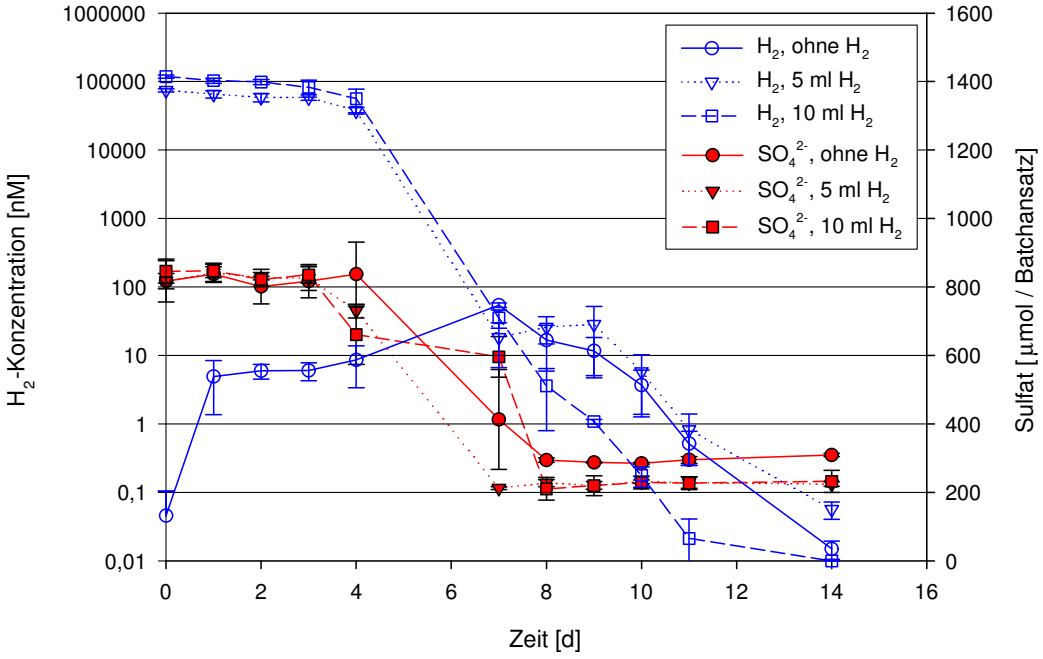


Abbildung 4.24: Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* mit unterschiedlichen H_2-Dargebot (0-10 ml)

tion nach der zweiten Messung schon abgeschlossen (siehe Abbildung 4.25). Im Gegensatz zum ersten Versuch war hier eine Schwellwertkonzentration für *Desulfovibrio desulfuricans* bei der Sulfatreduktion ablesbar, die zwischen 25 und 35 nM lag. Die Bilanz für die Stoffmengen zeigt hier nur beim Einsatz von 2,6 ml H_2, dass genau diese Menge für die zusätzliche Sulfatreduktion verantwortlich war (siehe Tabelle 4.6).

Nach 5 Tagen wurden die gleichen Tripletts für einen weiteren Test benutzt. Alle Ansätze erhielten 10 ml H_2, die bisherigen Ansätze ohne H_2 zusätzlich noch 5 μl PCE und 1 ml Mischkultur II (Kultivierung mit cDCE) und die 5 ml-Ansätze 5 μl PCE. In einer Konzentration von 500 μmol/l hatte PCE keinen Einfluss auf die Sulfatreduktion. Im Mittel erfolgte eine weitere Reduktion um 108 μmol auf $174 \pm 6{,}5$ μmol Sulfat (siehe Abbildung 4.26). Die Reduktion entspricht dem stöchiometrischen Verhältnis bei der Sulfatreduktion (s. Gleichung 2.4) mit einem Einsatz von 416 μmol H_2 sehr gut. Damit wird auch deutlich, dass Lactat aus dem Medium bereits im ersten Versuchsteil vollständig verbraucht war. In den Ansätzen mit PCE wurden nur marginale Mengen cDCE (0,15 μmol) analysiert, die möglicherweise eher aus einer Verunreinigung stammten und nicht durch Abbau entstanden. Am 11. Tag erreichte die H_2-Konzentration in den Ansätzen ohne Mischkultur II ein

Tabelle 4.5: Stoffmengenbilanz bei der Sulfatreduktion mit 0-10 ml H_2 (Angaben in μmol)

H_2-Verbrauch	Lactat-Einsatz	Acetat-Bildung	Sulfatreduktion
0	893	1014	523
208	893	1051	590 (523+67)
416	893	1062	623 (523+100)

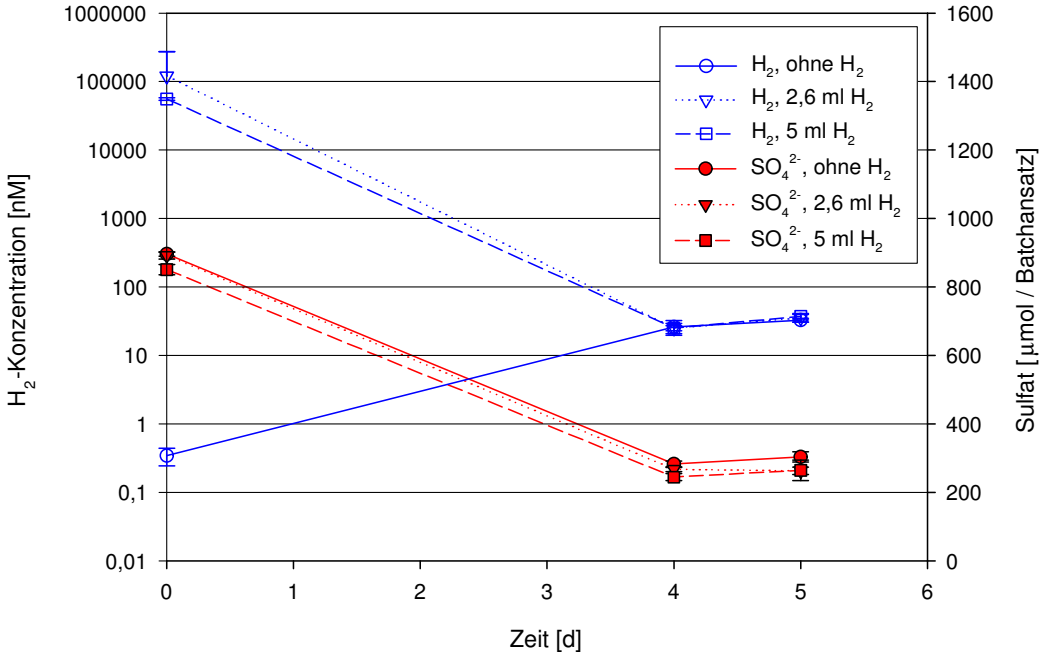


Abbildung 4.25: Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* mit unterschiedlichen H_2-Dargebot (0-5 ml)

Minimum. Dann stagnierte die Sulfatreduktion und die Wasserstoffkonzentration stieg in den Ansätzen mit PCE auf 3700 ± 1000 nM an. Die Ansätze ohne PCE verhielten sich unterschiedlich. Nach 96 Tagen wurden in zwei Ansätzen 11,9 und 8,6 nM H_2 gemessen, im dritten 1260 nM. In zwei Ansätzen mit Mischkultur wurde ebenfalls am 11. Tag ein kurzzeitiges Minimum beobachtet (378 nM und 754 nM). Die H_2-Konzentration dieser Ansätze stieg im Anschluss an und fiel dann stetig, um nach 96 Tagen mit Mischkultur einen Wert von $11{,}1 \pm 0{,}8$ nM zu erreichen. Dieser Wert entspricht der später dargestellten H_2-Konzentrationen bei der Methanogenese sehr gut (siehe Abschnitt 4.2.3.7). Nach Mischkultur- und H_2-Zugabe sind in diesem Triplett auch ca. 2 μmol Methan gebildet worden.

H_2-Schwellwertkonzentrationen für *Desulfovibrio desulfuricans* Die dargestellten Ergebnisse legen einen H_2-Schwellwert größer 8 nM nahe. Teilweise liegt das Niveau der H_2-Konzentration auch oberhalb von 20 nM (Abbildungen 4.23 und 4.25). In einem Versuch sanken die Konzentrationen jedoch auch unter die Nachweisgrenze (Abbildung 4.24). Gleiches beobachteten auch BALKE & GRAF [2005] bei Versuchen, in denen MH-Medium ein-

Tabelle 4.6: Stoffmengenbilanz bei der Sulfatreduktion mit 0-5 ml H_2 (Angaben in μmol)

H_2-Verbrauch	Lactat-Einsatz	Acetat-Bildung	Sulfatreduktion
0	893	1027	603
108	893	995	627 (603+24)
208	893	944	596

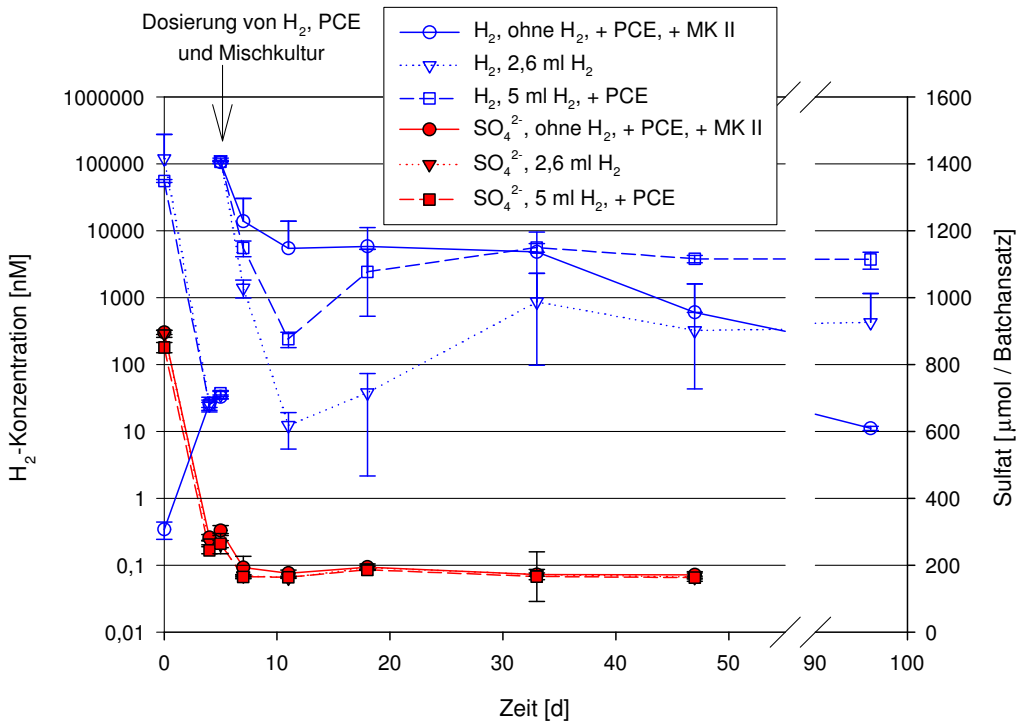


Abbildung 4.26: Fortsetzung der Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* unter Zugabe von 10 ml H_2 in alle Ansätze sowie 5 μl PCE (vorheriger Ansatz ohne H_2 bzw. mit 5 ml H_2) und Mischkultur II (vorheriger Ansatz ohne H_2)

gesetzt wurde. LU ET AL. [2001] ermittelten H_2-Schwellwerte von 1,5-4,5 nM für die Sulfatreduktion mit Anreicherungskulturen aus einem Aquifer. Bei MAZUR & JONES [2001] wird ein Wert von 0,8 nM genannt. Da auch die in kontaminierten Aquiferen gefundenen Konzentrationen im allgemeinen oberhalb von 1 nM liegen (vergleiche Tabelle 2.3), ist das Absinken der H_2-Konzentration unter die Nachweisgrenze von 0,16 nM in dieser Arbeit und bei BALKE & GRAF [2005] ein Sonderfall. In den Ansätzen konnte kein Eintrag von Sauerstoff durch Rosafärbung des Redoxindikators nachgewiesen werden, der diese geringen Konzentrationen erklärt. Auch eine Diffusion von Wasserstoff in die Umgebungsluft ist aufgrund des in den Batchansätzen herrschenden Unterdrucks unwahrscheinlich und würde die H_2-Konzentration der Umgebungsluft von ca. 0,5 ppmv (0,41 nM im Gleichgewicht mit der Flüssigphase) nicht unterschreiten. So bleibt an dieser Stelle offen, ob der H_2-Schwellwert für die Sulfatreduktion von *Desulfovibrio desulfuricans* unter 1 nM oder oberhalb von 8 nM liegt.

4.2.1.4 *Sulfurospirillum multivorans* & *Methanosarcina mazei*

In mehreren Versuchen wurden die Redoxprozesse von *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* zusammen untersucht. Im Stamm-Medium mit 5 ml H_2 und PCE verlief die Dechlorierung, wie auch schon in Absatz 4.2.1.1 beschrieben, sehr schnell. Es wurde jedoch, verglichen mit Ansätzen mit *Methanosarcina mazei* in Medium 120 (siehe Abschnitt 4.2.1.2, Abbildung 4.21), nur sehr wenig Methan ($4{,}6 \pm 1{,}9\,\mu$mol) gebildet.

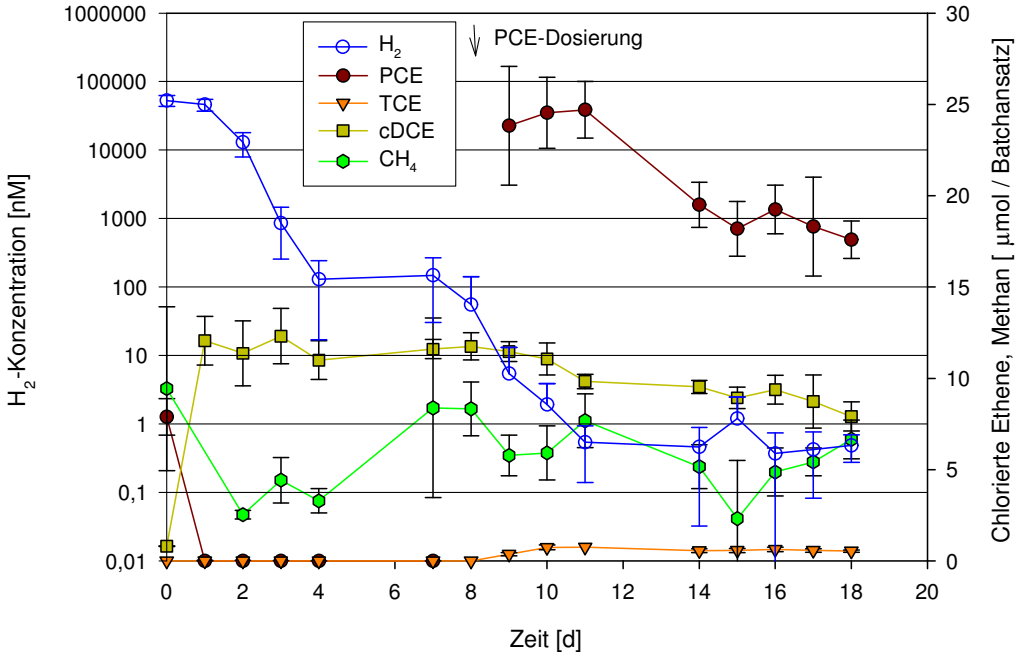


Abbildung 4.27: Dechlorierung von PCE und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit 5 ml H_2, wiederholte PCE-Zugabe

Vorversuche zeigten, dass die Aktivität von *Methanosarcina mazei* in Stamm-Medium sehr gering ist. In drei Wochen wurde in Medium 120 verglichen mit dem Stamm-Medium die 100-fache Menge an Methan gebildet. Der hauptsächliche Unterschied der Medien besteht im Salzgehalt, der bei Medium 120 bereits aufgrund von 2,25 g/l NaCl wesentlich höher ist. Für weitere Versuche mit beiden Kulturen wurde deshalb das DSMZ-Medium 120 verwendet, was aber wegen der notwendigen stärkeren Verdünnung von Proben für die Ionenchromatographie diese unempfindlicher machte.

Zur Untersuchung der Konkurrenz um Wasserstoff wurden in einem Teilexperiment statt Methanol 5 ml H_2 als e^--Donator eingesetzt. PCE wurde dabei innerhalb eines Tages stöchiometrisch zu cDCE abgebaut. Da Wasserstoff im Überschuss vorhanden war, kam es erst nach erneuter Zugabe von PCE zur Einstellung eines H_2-Niveaus knapp unter 1 nM (Abbildung 4.27). Bei doppelter PCE-Menge dauerte der Abbau zu cDCE drei Tage und als Zwischenprodukt wurde TCE gemessen. Es kam zu einer geringen Methanbildung, die ab dem 8. Tag mit einer Stagnation der H_2-Konzentration um 10 nM einherging (Abbildung 4.28). Neben der Dechlorierung scheint die Acetogenese der dominierende Redoxprozess gewesen zu sein. Bis zur Stagnation der H_2-Konzentration wurden ca. 330 μmol Acetat gebildet. Ob daher die H_2-Konzentration um 10 nM charakteristisch für die Acetogenese von *Sulfurospirillum multivorans* oder die Methanogenese von *Methanosarcina mazei* ist, bleibt an dieser Stelle zunächst offen. Es kam jedoch, verglichen mit Ansätzen, die nur *Methanosarcina mazei* enthielten (siehe Abbildung 4.22), offensichtlich nur zu einer sehr geringen acetotrophen Methanogenese. Mittels Analysen aus dem Headspace, die nur am 9. und am 17. Tag genommen wurden, ist eine Methanogenese in diesem Zeit-

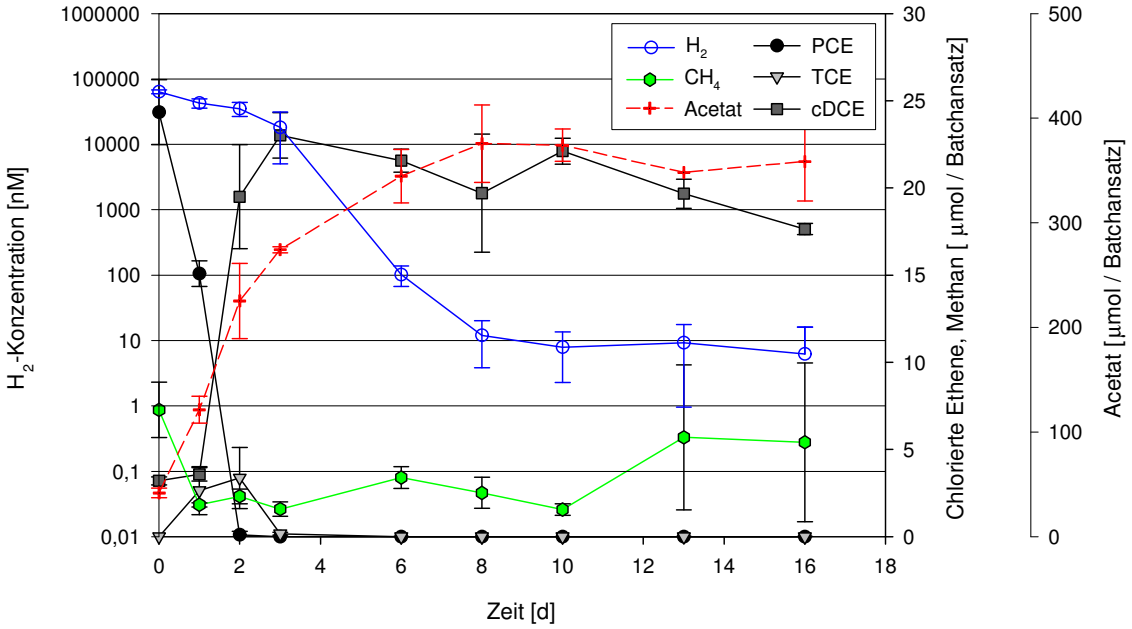


Abbildung 4.28: Dechlorierung von PCE und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit 5 ml H_2, doppelte PCE-Menge

raum nachweisbar. Die Konzentration in der Gasphase verdoppelte sich in zwei von drei Batchansätzen. Vergleicht man diesen Versuch mit dem Parallelversuch, der nur *Sulfurospirillum multivorans* enthielt, so lässt sich daraus ableiten, das H_2-Konzentrationen um 10 nM für die Acetogenese durch *Sulfurospirillum multivorans* unter den gewählten Bedingungen charakteristisch sind.

Die Konkurrenz bzw. Syntrophie von *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* ohne den Einfluss von PCE ist in Abbildung 4.29 dargestellt. Auch hier war es ohne H_2-Zugabe bereits zu einer H_2-Entwicklung vor dem Versuch gekommen wie schon in Abschnitt 4.2.1.2 beschrieben. Da Methanol als Elektronendonator zur Verfügung stand, bildete *Methanosarcina mazei* große Mengen Methan, so dass in den Ansätzen dreimal der Druck abgelassen werden musste, wodurch auch die Stoffmenge an Methan reduziert wurde. Zu Beginn wurde von *Methanosarcina mazei* sehr viel Wasserstoff gebildet und die Konzentration stieg auf das Anderthalbfache an. In der logarithmischen Darstellung fällt dieser Anstieg sehr gering aus. Ab dem 20. Tag bewegte sich die H_2-Konzentration auf einem stabilen Niveau zwischen 100 und 150 nM. Bei H_2-Konzentrationen oberhalb 100 nM fand eine Acetogenese statt, die zu Beginn auf Grund des großen H_2-Angebotes stark war, bei H_2-Werten unter 450 nM ab Tag 7 stagnierte und ab dem 21. Tag bei H_2-Werten > 100 nM wieder stärker einsetzte. Möglicherweise hat dort ein Wechsel der hydrogenotrophen Prozesse stattgefunden. Ob die bestimmende Reaktion für die H_2-Konzentration die Methanogenese durch *Methanosarcina mazei* oder die Acetogenese durch *Sulfurospirillum multivorans* ist, lässt sich hier nicht genau feststellen. Das Fortschreiten der Acetogenese bei Werten oberhalb 100 nM deutet auf letzteres hin. Auch fand die Methanogenese hauptsächlich in der Versuchsphase statt, wo die Acetogenese durch H_2-Konzentrationen

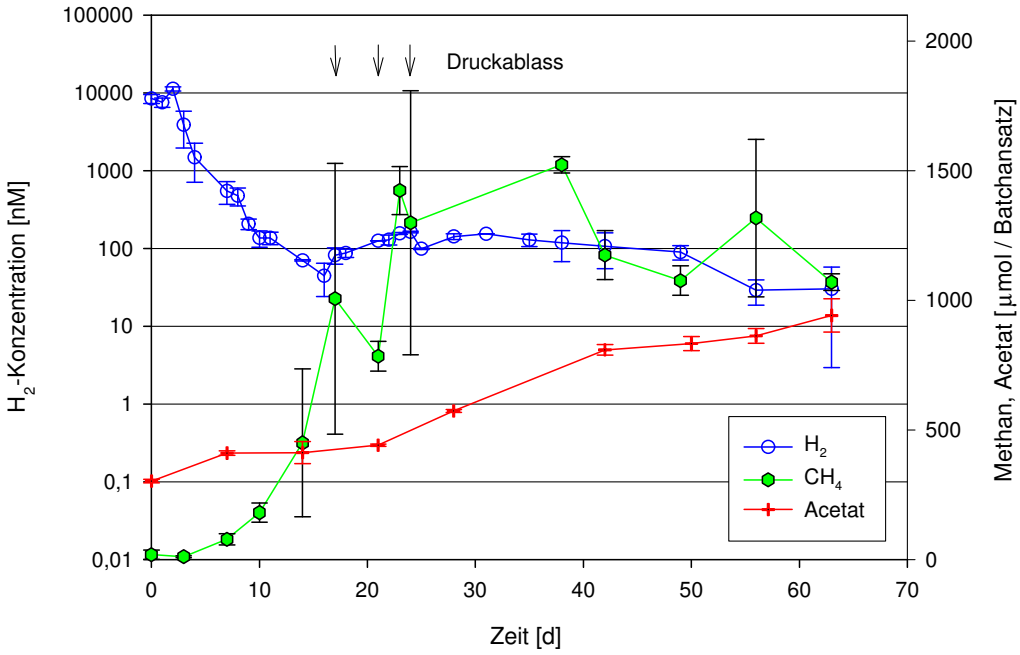


Abbildung 4.29: Acetogenese und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit Methanol (Mittel aus zwei Ansätzen)

unter 100 nM im Nachteil war. Später steht die H_2-Bildung von *Methanosarcina mazei* vermutlich im Gleichgewicht mit der hydrogenotrophen Acetogenese durch *Sulfurospirillum multivorans*. Bezüglich des zuvor beschriebenen Versuches unter Einsatz von H_2 als e^--Donator bleibt offen, weshalb hier nicht ein Wert um 10 nM erreicht wird. Dies ist erst bei der letzten Messung in einem Ansatz der Fall. Möglicherweise spielt die acetotrophe Methanogenese durch *Methanosarcina mazei* eine Rolle. Ohne *Sulfurospirillum multivorans* wurden hier H_2-Schwellwerte von ca. 100 nM beobachtet (vergleiche Abbildung 4.22). In diesem Fall würde eine doppelte Abhängigkeit vorliegen: *Methanosarcina mazei* liefert den Wasserstoff, den *Sulfurospirillum multivorans* benötigt und dieser bildet Acetat, was von *Methanosarcina mazei* genutzt werden kann. Damit würde Acetat in diesem Versuch kein End- sondern nur ein Zwischenprodukt darstellen. Ein solcher Interspecies Acetate Transfer ist nach SCHINK [1997] bei Methanogenen durchaus möglich.

Die Konkurrenz bzw. Syntrophie von *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* bei der Dechlorierung und Methanogenese mit Methanol als e^--Donator ist in Abbildung 4.30 dargestellt. Die Dechlorierung verlief zu Beginn sehr schnell, was durch die starke H_2-Bildung durch *Methanosarcina mazei* ermöglicht wurde. Eine erneute Zugabe von PCE führte nicht zum Absinken der H_2-Konzentration auf ca. 1 nM wie beim Einsatz von H_2 als e^--Donator (vergleiche Abbildung 4.27). Bei der Dechlorierung wurden hier auch signifikante Mengen des Zwischenproduktes TCE gebildet. Nach der Dechlorierung zum cDCE erreichte die H_2-Konzentration ein stabiles Niveau bei ca. 150 nM. Methan wurde während der gesamten Versuchsdauer produziert. Zur Vermeidung von zu großem Überdruck musste mehrmals der Druck ausgeglichen werden, was entsprechende Konzen-

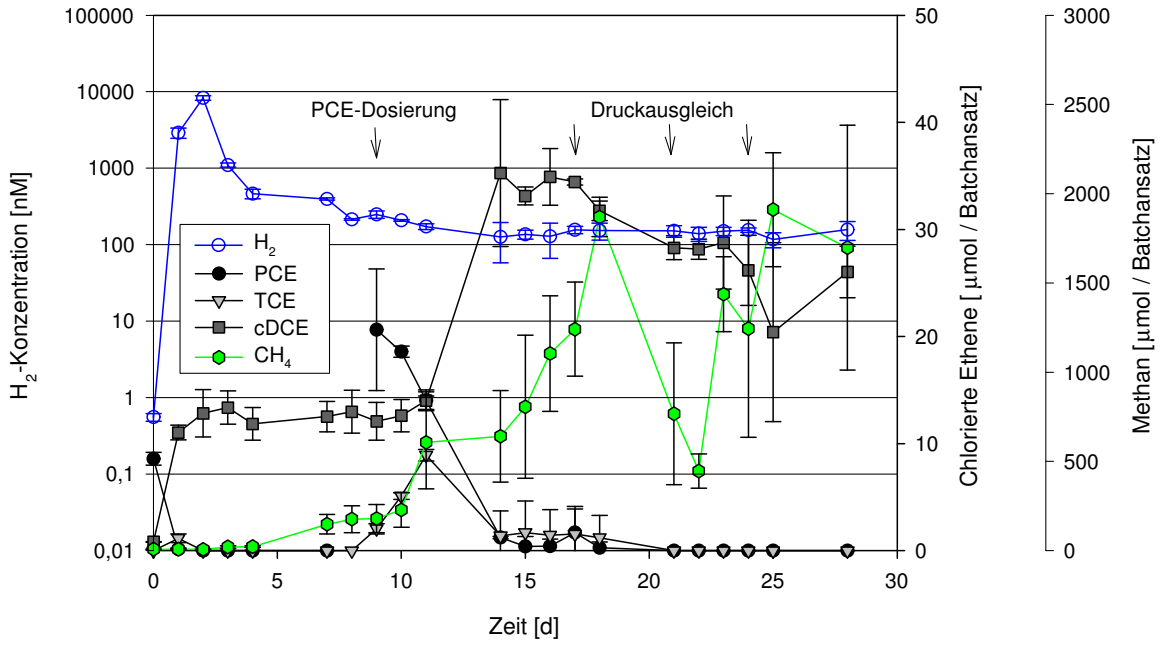


Abbildung 4.30: Dechlorierung und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit Methanol, zweite Dosierung von 29,3 μmol PCE am 9. Tag

trationsabnahmen, insbesondere in der Gasphase, bewirkte. Innerhalb von 28 Tagen wurden im Mittel 206 μmol Acetat gebildet, im Vergleichsansatz ohne PCE (Abbildung 4.29) waren es im gleichen Zeitraum 270 μmol Acetat. Die H_2-Konzentration lag in einem ähnlichen Bereich, was die Annahme einer für die acetotrophe Methanogenese charakteristischen Konzentration bestätigen würde. Wie Abbildung 4.31 zeigt, kommt es bei der Zugabe einer größeren PCE-Menge (48,8 μmol) während der Dechlorierung zum Absinken der H_2-Konzentration auf 1-2 nM. Das war auch beim direkten Einsatz von H_2 als e^--Donator der Fall (siehe Abbildung 4.27). Nach erfolgter Dechlorierung stieg die H_2-Konzentration wieder an und es wurde Methan gebildet.

Einfluss der Temperatur auf die Konkurrenz von *Methanosarcina mazei* und *Sulfurospirillum multivorans*. Im Grundwasser herrschen in der Regel Temperaturen zwischen 10°C und 15°C vor, die zusätzlich geringen jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen sind. Um den Einfluss der Temperatur auf konkurrierende Redoxvorgänge bei der Dechlorierung zu untersuchen, wurden in einem Versuch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* sowie PCE als Elektronenakzeptor und Methanol als Elektronendonator bei 10, 15 und 20°C eingesetzt.

Zwischen den Tripletts war eine deutliche zeitliche Verschiebung der Redoxprozesse zu beobachten (Abbildung 4.32). Die H_2-Entwicklung vollzog sich bei 15 und 20°C annähernd ähnlich wie bei 25°C in geschüttelten Ansätzen (Abbildung 4.30). Bei 10°C hingegen bewegten sich die H_2-Konzentrationen zu Beginn über eine Woche zwischen 10 und maximal 30 nM. Unmittelbar nach dem Ende der Dechlorierung zu cDCE stieg die H_2-Konzentration

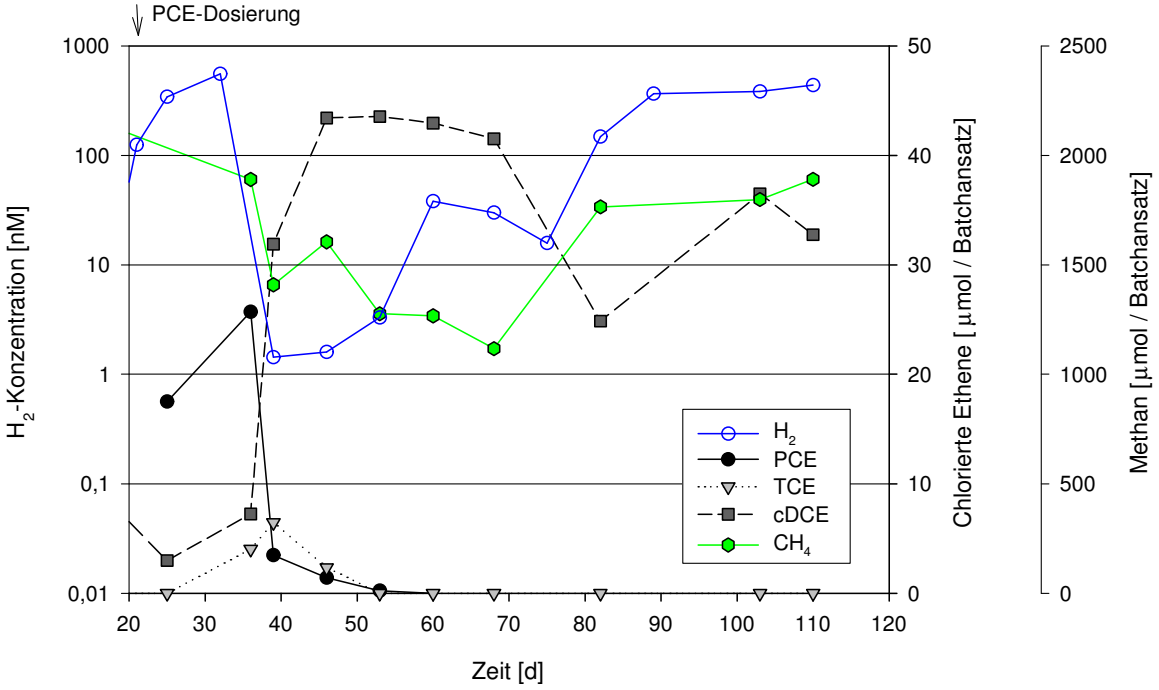


Abbildung 4.31: Dechlorierung und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* mit Methanol in einem ausgewählten Versuchsansatz, Dosierung von 48,8 μmol PCE am 21. Tag

abrupt an. Eine nennenswerte Methanogenese hatte zuvor nicht stattgefunden. Acetat wurde jedoch, wenn auch in geringerem Maße als bei höheren Temperaturen, gebildet. Der Verlauf der H_2-Konzentration impliziert zwei mögliche Schlussfolgerungen. Zum einen könnte eine H_2-Konzentration im Bereich von 10-30 nM einen Schwellwert für die Dechlorierung von PCE zu cDCE durch *Sulfurospirillum multivorans* darstellen, da die H_2-Konzentration direkt nach der Dechlorierung anstieg. Auf der anderen Seite sind ähnliche Konzentrationen auch für die hydrogenotrophe Acetogenese von *Sulfurospirillum multivorans* beobachtet worden (siehe Abbildung 4.18). Übersteigt die Acetatkonzentration einen bestimmten Wert (ca. 70 ppm, entsprechend 58 μmol/Batchansatz), so kann eine acetotrophe Methanogenese durch *Methanosarcina mazei* stattfinden (siehe Abbildung 4.22). Das wiederum könnte eine Aktivitätssteigerung von *Methanosarcina mazei* und damit eine Zunahme der H_2-Bildung bewirkt haben. In den 10°C-Ansätzen sind geringe Mengen Methan gebildet worden. Der Verlauf der – hier nicht dargestellten – CH_4-Konzentration zeigte jedoch keine deutliche Zunahme in der Phase der verstärkten Acetatbildung. Die Acetogenese endete mit der Stagnation der H_2-Konzentration zwischen 400 und 1000 nM.

Eine erneute PCE-Dosierung am 15. Tag bewirkte keine Veränderung der H_2-Konzentrationen in den Tripletts, eine Dechlorierung fand nicht mehr statt. Bei 15 und 20°C war diese aufgrund des geringen H_2-Angebotes nicht zu erwarten, in fünf von 6 Tripletts gab es jedoch eine kurzzeitige Reaktion in Form leicht erhöhter H_2-Konzentrationen zwischen 1 und 3 nM am 17. Tag. In den 15°C-Ansätzen kam es nach der Dechlorierung zu einem leichten Anstieg der CH_4-Menge von im Mittel 3,1 μmol auf 7,6 μmol am 14. Tag, an dem die H_2-Konzentration auf 1,1 nM gesunken ist. Bei 20°C wurde hauptsächlich parallel

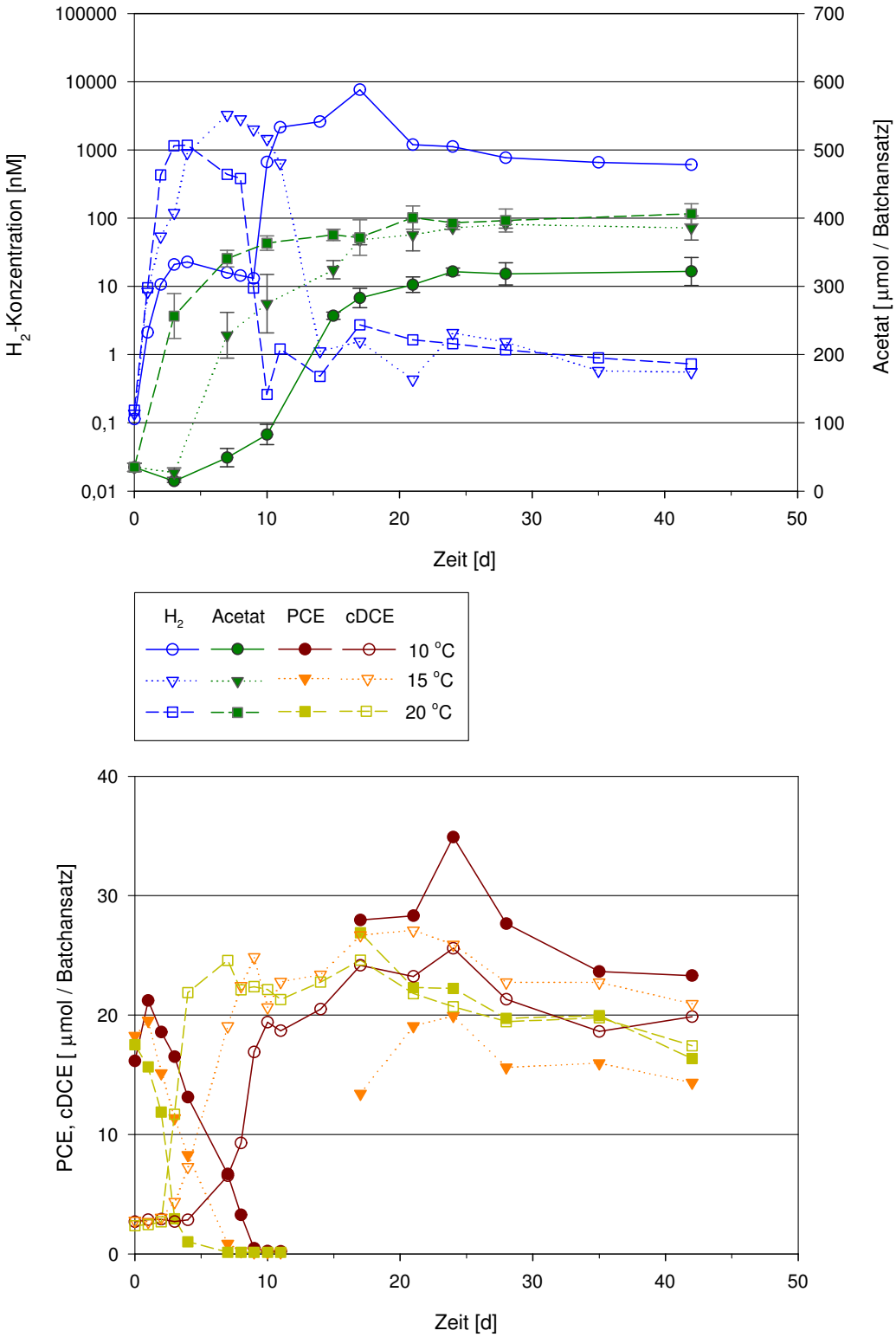


Abbildung 4.32: Dechlorierung und Methanogenese in Medium 120 durch *Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei* bei unterschiedlichen Temperaturen, Dosierung von 29,3 μmol PCE am 15. Tag in alle Ansätze

zur Dechlorierung Methan produziert. Eine acetotrophe Methanogenese, d.h. eine spätere Abnahme von Acetat, war nicht zu beobachten. Ein Grund hierfür kann die zu niedrige H_2-Konzentration gewesen sein.

Schlussfolgerungen: Die Dechlorierung findet bei allen Temperaturen statt, jedoch unterschiedlich schnell. Die Methanogenese könnte von der Temperatur abhängen, sie findet bei 10°C kaum, bei 15°C etwas und bei 20°C verstärkt statt. Die Acetogenese hängt dagegen eher von der H_2-Konzentration als von der Temperatur ab. Die gebildete Menge ist nur bei 10°C etwa 20 % geringer als bei 15 und 20°C.

4.2.2 H_2-Schwellwerte für Reinkulturen und Kombinationen von Reinkulturen

PCE-Dechlorierung. Es konnte gezeigt werden, dass der dechlorierende Organismus *Sulfurospirillum multivorans* in Reinkultur oberhalb von 10 nM H_2 PCE zu cDCE dechlorieren kann bzw. die H_2-Konzentration in Anwesenheit von PCE auf 10 nM gesenkt wird. In Kombination mit dem Sulfatreduzierer *Desulfovibrio desulfuricans* sank die H_2-Konzentration in Gegenwart von PCE auf Werte zwischen 30 und 60 nM [BALKE & GRAF 2005]. In Kombination mit dem Methanogenen *Methanosarcina mazei* ergaben sich beim Einsatz von H_2 als e^--Donator H_2-Konzentrationen < 1 nM und mit Methanol bei 15°C und 20°C Werte zwischen 1 und 2 nM. Letztere Werte entsprechen recht gut den von LÖFFLER ET AL. [1999] bzw. LU ET AL. [2001] veröffentlichten H_2-Schwellwertkonzentrationen von $< 0{,}3$ nM bzw. 0,6-0,9 nM, die in Batchversuchen mit zwei Reinkulturen und verschiedenen Anreicherungskulturen ermittelt wurden. Die Ergebnisse zeigen jedoch, dass zwischen den Werten in Reinkulturen und Mischkulturen deutliche Unterschiede auftreten können. Versuche mit Reinkulturen können daher die Interpretation von H_2-Feldmessungen unterstützen, bedürfen aber in der Regel ergänzender Untersuchungen mit den autochthonen Mikroorganismen.

Sulfatreduktion. In Gegenwart von Sulfat wurden bei Experimenten mit *Desulfovibrio desulfuricans* unterschiedliche Beobachtungen gemacht. Zum einen sank die H_2-Konzentration hierbei unter die Nachweisgrenze von 0,16 nM, in anderen Versuchen stagnierte die H_2-Konzentration bei Werten > 20 nM. In Kombination mit dem dechlorierenden Bakterium *Sulfurospirillum multivorans* traten ebenfalls Konzentrationen > 20 nM auf (30-60 nM) [BALKE & GRAF 2005]. H_2-Schwellwertkonzentrationen von sulfatreduzierenden Reinkulturen sind bisher nicht veröffentlicht worden, Angaben aus Feld- und Laboruntersuchungen schwanken zwischen 0,8 und 5 nM.

Methanogenese. Für die hydrogenotrophe Methanogenese durch *Methanosarcina mazei* kann ein unterer H_2-Schwellwert von 20 nM angenommen werden. Bei der acetotrophen Methanogenese, an der Wasserstoff eigentlich nicht beteiligt ist, traten H_2-Konzentrationen unter 80 nM nicht auf. Die hydrogenotrophe Methanogenese verlief

unter sonst gleichen Bedingungen wesentlich langsamer. In Kombination mit *Sulfurospirillum multivorans* bei 10°C lag die H_2-Konzentration nach erfolgter Dechlorierung oberhalb von 400 nM. Ähnlich hohe Konzentrationen ergaben sich bei Versuchen mit *Methanospirillum hungatei*. BALKE & GRAF [2005] beobachteten hier über einen längeren Zeitraum H_2-Konzentrationen zwischen 400 und 1000 nM, jedoch bei 24°C. In Versuchen, wo *Methanospirillum hungatei* in Kombination mit *Desulfovibrio desulfuricans* bzw. *Sulfurospirillum multivorans* eingesetzt wurde, konnten keine stabilen H_2-Konzentrationen ermittelt werden. In Versuchen mit *Methanospirillum hungatei* wurden auch erhöhte Acetatkonzentrationen festgestellt. In der Regel nutzen methanogene Mikroorganismen Acetat, produzieren es jedoch nicht selbst. *Methanospirillum hungatei* ist zur acetotrophen Methanogenese eigentlich nicht in der Lage (vergleiche Abschnitt 3.2.2). Es gibt jedoch laut MADIGAN ET AL. [2001] Methanogene, die zur CO_2-Fixierung den Acetyl-CoA-Weg verwenden, der üblicherweise von Homoacetogenen zur Produktion von Acetat benutzt wird. GRAHAME ET AL. [2005] konnten bei *Methanosarcina thermophila* durch DNA-Analyse nachweisen, dass nur ein Enzymkomplex ACDS (acetyl-CoA decarbonylase/synthase) existiert und dieser sowohl für die Spaltung als auch die Bildung von Acetat dient. GRAHAME & DEMOLL [1995] vermuteten, dass der H_2-Partialdruck in der Zelle das Verhalten des ACDS-Komplexes bestimmt. Unterhalb von 10^{-3} atm (ca. 1000 ppm, entsprechen 820 nM) würde danach die Acetyl-CoA-Synthese zunehmend im Nachteil sein. Ob *Methanospirillum hungatei* über einen solchen Acetyl-CoA-Weg verfügt, bleibt hier offen. Diese Möglichkeit könnte aber das Verhalten in den Versuchen, für das BALKE & GRAF [2005] eine mikrobielle Kontamination verantwortlich machen, erklären. Die von GRAHAME & DEMOLL [1995] genannten Konzentrationen liegen auch im Bereich der gemessenen H_2-Werte.

Acetogenese *Sulfurospirillum multivorans* ist auch zur Acetogenese befähigt. Hierbei konnte ein H_2-Schwellwert von ca. 300 nM ermittelt werden. Das in Kombination mit *Methanosarcina mazei* bei 10°C beobachtete H_2-Niveau oberhalb 400 nM könnte auch einen Schwellwert für die Acetogenese darstellen. Da PCE hier jedoch nach der zweiten Dosierung noch vorhanden war, ist anzunehmen, dass es sich hierbei eher um eine H_2-Konzentration handelt, die durch die Aktivität von *Methanosarcina mazei* bestimmt ist. Auch andere Autoren [LÖFFLER ET AL. 1999] berichten von H_2-Konzentrationen von 100 bis 400 nM in Versuchen mit Reinkulturen, bei denen Pyruvat als Elektronendonator diente und kein PCE vorhanden war. Im Gegensatz zu den für die Dechlorierung ermittelten H_2-Schwellwerte stimmen die Ergebnisse hier überein.

4.2.3 Redoxprozesse in einer dechlorierenden Mischkultur

Nachfolgend werden die Ergebnisse von Untersuchungen mit einer dechlorierenden Mischkultur vorgestellt. Dabei wird in den ersten Abschnitten die Konkurrenz der Dechlorierung zu anderen Redoxprozessen und innerhalb der Dechlorierungsschritte betrachtet. Dies beinhaltet neben Kurzzeituntersuchungen auch Langzeit-Batchversuche, in denen durch die wiederholte Zugabe von verschiedenen Elektronendonatoren und -akzeptoren die Einstellung von H_2-Schwellwertkonzentrationen verifiziert werden konnte.

Im Anschluss daran werden verschiedene Aspekte näher dargestellt, die für Untersuchungen im Labor bzw. Feld relevant sein können. Dazu gehören der Einfluss der Temperatur, der Einsatz alternativer Elektronendonatoren, die Rolle von Acetat als C-Quelle, hemmende Einflüsse durch Ethin sowie das unterschiedliche Verhalten von Batchansätzen in Abhängigkeit von der Lagerung.

4.2.3.1 Dechlorierung von PCE in Konkurrenz zu Denitrifikation und Sulfatreduktion

In diesem Versuch wurden die konkurrierenden Redoxprozesse Denitrifikation und Sulfatreduktion, die die Dechlorierung im Grundwasser beeinflussen können, untersucht. Die terminalen Elektronenakzeptoren Nitrat, Sulfat und PCE wurden hierzu einzeln und in Kombination eingesetzt. Abbildung 4.33 zeigt die Anteile der einzelnen Redoxprozesse am H_2-Verbrauch. Im Mittel standen in allen Ansätzen 100 μmol Wasserstoff zur Verfügung, die in 13 Tagen vollständig verbraucht wurden. Es ist ein deutlicher Vorrang der Denitrifikation vor den anderen Redoxprozessen zu erkennen. Für die Darstellung wurde von einer vollständigen Denitrifikation zu N_2 mit einem stöchiometrischen Faktor von 2,5 mol H_2/mol NO_3^- ausgegangen. Dieser vollständige Abbau konnte analytisch jedoch nicht nachgewiesen werden, was die fehlende Übereinstimmung des H_2-Dargebotes mit dem H_2-Verbrauch in den Nitrat/Sulfat-Ansätzen erklären kann. Im Folgenden wird kurz auf die einzelnen Tripletts der jeweiligen Kombinationen eingegangen.

Dechlorierung von PCE. Nach 8 Tagen wurde PCE vollständig zu cDCE und VC dechloriert. Nach 13 Tagen war die Dechlorierung von cDCE und VC weiter fortgeschritten und Ethen gebildet worden. Die H_2-Konzentration in den Ansätzen lag zwischen 0,4 und 1,6 nM. Schwellwerte für die Dechlorierung können hier nicht abgeleitet werden, da die Ansätze bei einer nachfolgenden Messung rosa waren (oxidierte Form des Redoxindikators Resazurin) und die H_2-Konzentration unter der Nachweisgrenze lag. Im Gegensatz zu den Ansätzen mit Nitrat und Sulfat ist im Triplett mit PCE auch Methan gebildet worden. Die Differenz in der H_2-Bilanz könnte auf die Acetogenese als weiteren, häufig beobachteten Redoxprozess zurückzuführen sein, der für dieses Triplett jedoch nicht betrachtet und quantifiziert wurde.

Dechlorierung und Denitrifikation. In der Kombination der Elektronenakzeptoren Nitrat und PCE ist ein sehr deutlicher Vorrang der Denitrifikation vor der Dechlorierung zu sehen. Wasserstoff war bereits nach 8 Tagen bis zur Nachweisgrenze aufgebraucht. Nitrat wurde im Gegensatz zu den Tripletts mit Nitrat bzw. Nitrat und Sulfat unvollständig umgesetzt.

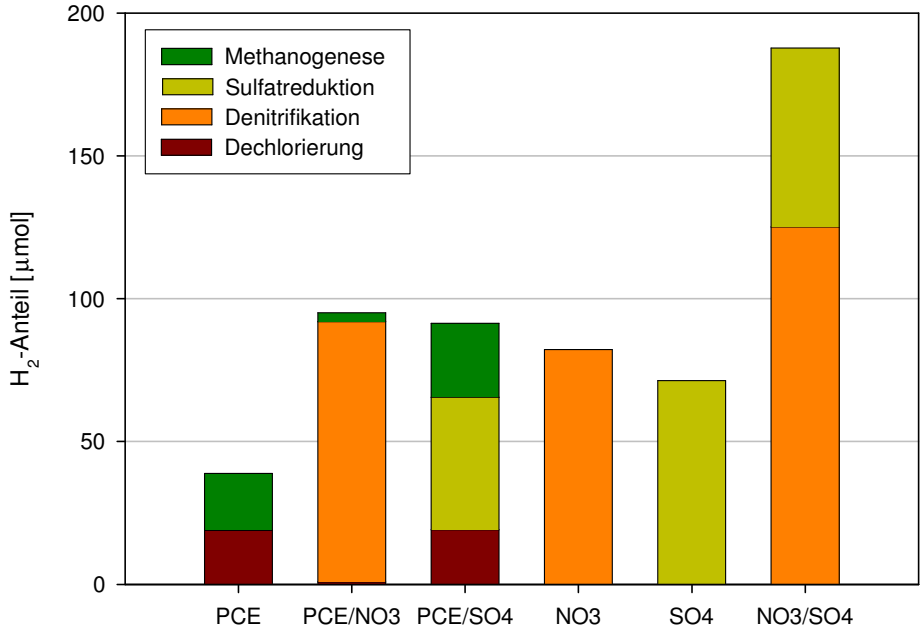


Abbildung 4.33: Anteile der Redoxprozesse am H_2-Verbrauch in der dechlorierenden Mischkultur nach 13 Tagen beim Einsatz von 2,5 ml H_2 (100 μmol)

Die Ursache für einen schnelleren H_2-Verbrauch und die unvollständige Denitrifikation sind in einer minimalen Dechlorierung von PCE zu 0,6 μmol TCE und 0,2 μmol cDCE sowie einer schwache Methanogenese (max. 0,9 μmol CH_4) zu sehen.

Dechlorierung und Sulfatreduktion. In den Ansätzen mit PCE und Sulfat fanden beide Redoxreaktionen gleichzeitig statt. Parallel dazu wurde auch Methan gebildet. Dabei kam es im Gegensatz zu den Ansätzen mit PCE nicht zur Bildung von Ethen. PCE ist am 8. Tag zu cDCE und VC dechloriert worden. Die H_2-Konzentration hatte am 13. Tag noch kein Schwellwertniveau erreicht, am Tag 20 wurden $0{,}47 \pm 0{,}16$ nM gemessen. Ähnliche Werte $> 0{,}4$ nM traten auch nach weiteren H_2-Dosierungen auf. Im Vergleich zu den Ansätzen, die nur Sulfat enthielten, ist hier nach 13 Tagen mit 11,6 μmol etwas weniger Sulfat reduziert worden.

Denitrifikation. In zwei von drei Batchansätzen wurden 32,9 μmol Nitrat innerhalb einer Woche abgebaut. Dabei wurden 57,2 μmol bzw. 85,8 μmol H_2 verbraucht. H_2-Schwellwertkonzentrationen konnten nicht detektiert werden. Die gemessenen Werte lagen am 13. Tag unterhalb der Nachweisgrenze von 0,16 nM.

Sulfatreduktion. Die Ansätze des Tripletts verhielten sich sehr unterschiedlich, was offenbar an Undichtigkeiten lag, die an der Rosafärbung des Redoxindikators Resazurin zu erkennen waren. Zur Auswertung wurde hier nur der farblose Ansatz herangezogen. Die Sulfatreduktion erfolgte langsamer als die Dechlorierung. Nach 13 Tagen waren 17,8 μmol und

nach 20 Tagen 28,6 μmol Sulfat reduziert worden. Am 16. Tag wurden erneut 41,7 μmol H_2 dosiert. Die zusätzliche Reduktion entspricht dabei sehr gut einem stöchiometrischen Verhältnis von 4:1 (siehe Gleichung 2.4). Aussagen zu einer H_2-Schwellwertkonzentration sind bei der geringen Datenmenge nicht zu treffen. Im farblosen Ansatz wurden nach dem Verbrauch von H_2 Werte zwischen 0,6 und 1,8 nM gemessen.

Denitrifikation und Sulfatreduktion. In den Ansätzen mit Nitrat und Sulfat wurden beide Elektronenakzeptoren gleichzeitig reduziert. Dabei wurde Nitrat in 13 Tagen vollständig (50,0 μmol), Sulfat teilweise (15,6 von 65,2 μmol) umgesetzt. Da nicht von einer Nitratreduktion bis zu N_2 ausgegangen werden kann, ist hier die Darstellung der verbrauchten H_2-Anteile (Abbildung 4.33) nur eine theoretische Betrachtung. In jedem Fall sank die H_2-Konzentration auch hier unter die Nachweisgrenze wie in den Ansätzen, die nur Nitrat enthielten. Das deutet auf die Denitrifikation als dominierenden Redoxprozess hin. Andererseits könnte auch ein Eintrag von Sauerstoff für dieses Verhalten verantwortlich sein, da der Redoxindikator zu diesem Zeitpunkt eine Rosafärbung aufwies und die Denitrifikation auch bereits zu einem früheren Zeitpunkt beendet gewesen sein könnte.

Zusammenfassung der Versuche mit verschiedenen Redoxprozessen. Die Denitrifikation von Nitrat ist in Gegenwart von anderen Elektronenakzeptoren der dominierende TEAP. Sind weitere e^--Akzeptoren, wie PCE oder Sulfat vorhanden, so können bei ausreichendem Angebot von H_2 auch diese reduziert werden und die Denitrifikation fällt etwas schwächer aus. Die Dechlorierung von PCE zu cDCE und VC sowie die Sulfatreduktion können gleichzeitig ablaufen, bei ausreichendem H_2-Angebot kann parallel auch Methan gebildet werden. Acetat wurde unter den gewählten Bedingungen nur in marginalen Mengen gebildet. Als Konkurrenz spielte die Acetogenese entweder eine untergeordnete Rolle oder Acetat wurde unmittelbar weiter zu Methan umgesetzt.

Diese Ergebnisse spiegeln das Modell der Redoxzonierung von LOVLEY & GOODWIN [1988] wider. Zwischen Laborversuchen mit wässriger Phase und realen Grundwasserleitern mit einer Bodenmatrix besteht jedoch ein großer Unterschied. Mikroorganismen haften hauptsächlich an der Bodenmatrix. Damit bestehen hinsichtlich des Stoffaustausches andere Bedingungen als in einem vollständig durchmischten Batchansatz oder im Mittelpunkt der Grundwasserströmung. Je nach Art und Ausmaß der Kontamination bzw. Zusammensetzung des Bodens und den physikochemischen Eigenschaften des Grundwassers kann es zur Ausbildung mehr oder weniger starker Biofilme kommen. Diese begünstigen die Ausbildung von Mikrozonen, in denen ein vom übrigen Grundwasserleiter verschiedenes Redoxmilieu herrschen kann. JAKOBSEN [2002] plädiert aufgrund dieser unterschiedlichen thermodynamischen Bedingungen für die Einführung von Ruhezonen bei der Modellierung von TEA-Prozessen. Mit diesem neuen Modell können auch Überlappungen von Zonen wie z. B. Sulfatreduktion und Methanogenese erklärt werden. In letzter Konsequenz bedeutet das, dass eine wesentlich differenziertere Betrachtungsweise bei der Ableitung biologischer Abbauprozesse aus den im Grundwasser vorgefundenen Redoxbedingungen nötig ist. Neben einem dominierenden Redoxprozess sind je nach Randbedingungen weitere Redoxprozesse möglich, zu denen auch biologische Abbauprozesse wie die Dechlorierung gehören können.

Mit der vorhandenen Messtechnik waren H_2-Schwellwerte für die Denitrifikation nicht zu ermitteln. Sie liegen unter der Nachweisgrenze von 0,16 nM. Die gemessenen H_2-Konzentrationen bei der Dechlorierung und Sulfatreduktion lassen in diesem Versuch nur sehr vage Rückschlüsse auf H_2-Schwellwertkonzentrationen zu.

4.2.3.2 Konkurrierende Dechlorierung von PCE, cDCE und VC

In diesem Versuch wurde die Konkurrenz verschieden chlorierter Ethene untereinander untersucht. Dazu wurden 50 ml-Batchansätze in 5 Tripletts verwendet, die 5 ml Inokulum aus der dechlorierenden Mischkultur enthielten. In alle Ansätze wurden 0,5 ml H_2 dosiert. Für alle Dechlorierungsprozesse mit der dechlorierenden Mischkultur stellten sich nach ein bis zwei Wochen H_2-Konzentrationen von 1-2 nM ein (Abbildung 4.34). Die Abwei-

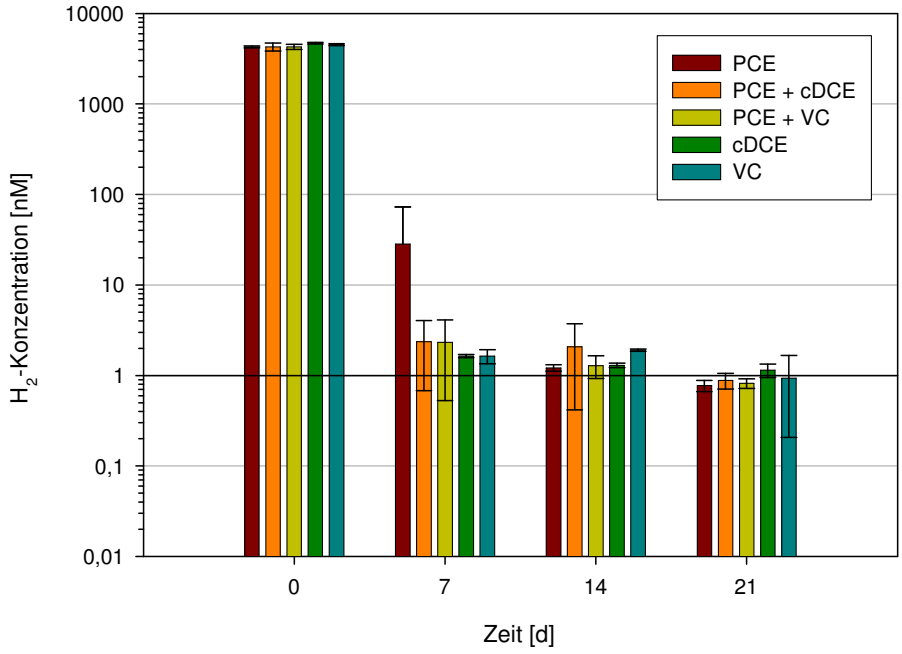


Abbildung 4.34: Zeitlicher Verlauf der H_2-Konzentration in Batchansätzen mit PCE, cDCE und VC als e^--Akzeptoren

chungen sind geringfügig. Es ist also davon auszugehen, dass die Dechlorierungsschritte parallel ablaufen können. Dass dies der Fall war, zeigt Abbildung 4.35. Die Ansätze, die sowohl PCE als auch cDCE bzw. VC enthielten, wiesen eine deutliche Dechlorierung zu VC bzw. Ethen auf, die in dem reinen PCE-Ansatz sehr viel geringer ausfiel. Im Fall PCE/VC war die Ethenbildung erst in der zweiten Woche zu beobachten, zu deren Beginn die H_2-Konzentration bereits im Mittel bei 2,3 nM lag. Das Gleiche gilt für die Ansätze, die nur VC enthielten. Hier wurden nach einer Woche im Mittel 1,6 nM, nach zwei Wochen 1,9 nM H_2 gemessen. Die Dechlorierung von cDCE zu VC stagnierte dagegen in den PCE/cDCE-Ansätzen nach der ersten Woche. PCE wurde bis zur zweiten Woche zu cDCE

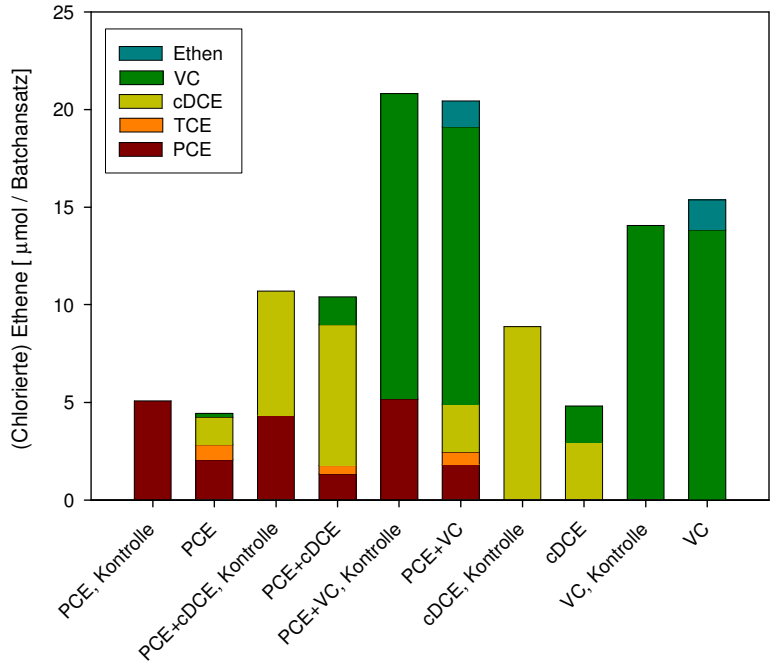


Abbildung 4.35: Stand der Dechlorierung nach 3 Wochen in Batchansätzen mit PCE, cDCE und VC als e^--Akzeptoren (Startmengen: 6-7 μl PCE, 7-8 μl cDCE, 18-19 μl VC)

dechloriert, obwohl die H_2-Konzentration hier schon sehr gering war. Daraus ist zu schließen, dass entweder sekundäre Prozesse für die H_2-Nachlieferung verantwortlich sind oder zur PCE-Dechlorierung ein anderer Elektronenakzeptor benutzt wird.

4.2.3.3 H_2-Konzentrationen bei der Dechlorierung von PCE in 37 ml-Batchsystemen

Bei Verwendung der Mischkultur in 37 ml-Batchansätzen mit 20 ml Flüssigvolumen wurden für alle Dechlorierungsschritte ähnliche H_2-Konzentrationen gemessen (Abbildung 4.36). In diesem Versuch wurden insgesamt 30 Batchansätze eingesetzt, von denen je dreimal H_2-Proben und LCKW-Proben genommen wurden. Die Hälfte der Ansätze erhielt zu Beginn 0,1 ml, die andere Hälfte 0,5 ml H_2. Die PCE-Menge je Batchansatz betrug im Mittel 3,6 μmol. Da bei dieser Anzahl von Ansätzen eine Parallelität des biologischen Abbaus von PCE nicht gegeben ist, wurden die H_2-Ergebnisse nach dem Stand der Dechlorierung in den jeweiligen Ansätzen sortiert. Sehr deutlich zu erkennen ist ein Anstieg der H_2-Konzentration nach beendeter Dechlorierung. In den Ansätzen, die 0,5 ml H_2 erhielten, war Wasserstoff bezüglich einer vollständigen Dechlorierung im Überschuss vorhanden (20,8 μmol). Daher konnte hier nach der Dechlorierung auch Methan gebildet werden. Die H_2-Konzentration stieg auch in anderen Ansätzen nach der Dechlorierung wieder an, obwohl nur Wasserstoff als e^--Donator zur Verfügung stand. Eine Erklärung hierfür wäre, dass zu Beginn vergärbare Produkte gebildet wurden, deren späterer Abbau H_2 wieder freisetzte. Außerdem könnte beim Zerfall von Biomasse ebenfalls vergärbares Material freigesetzt worden sein. Solche Beobachtungen wurden auch in anderen Versuchen (Abschnitt

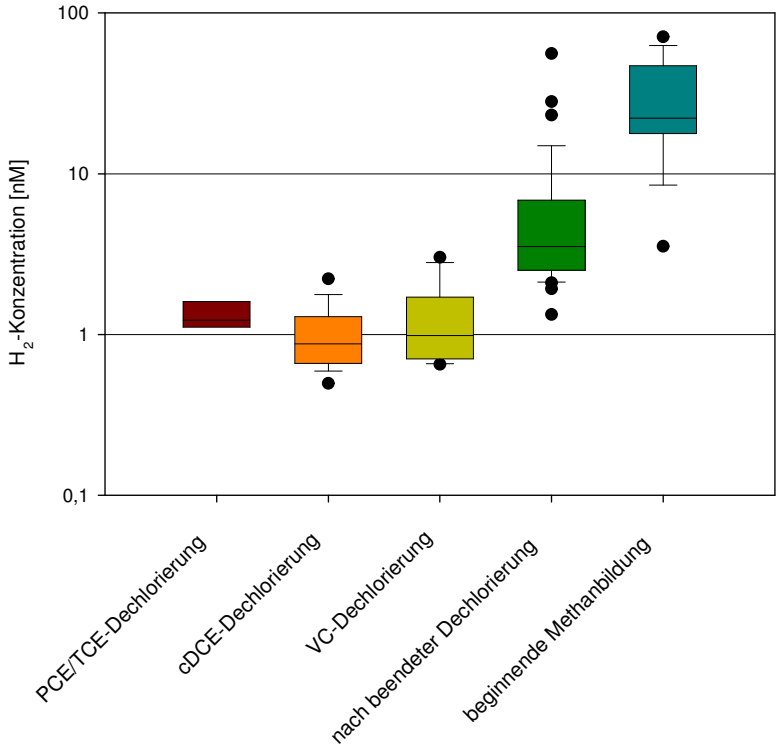


Abbildung 4.36: H_2-Konzentrationen für verschiedene Phasen der Dechlorierung von PCE in 37 ml Batchansätzen (Werte von je 15 Batchansätzen mit 0,1 bzw. 0,5 ml H_2, Messung nach 1, 2, 3, 4 und 7 Wochen)

4.2.3.8 und von anderen Autoren [YANG & MCCARTY 1998] gemacht.

Beide zuvor dargestellten Versuche weisen für die Dechlorierung der chlorierten Ethene die gleichen charakteristischen H_2-Schwellwertkonzentrationen im Bereich von 1-2 nM auf. Eine genauere Differenzierung ist auf der Basis der gemessenen Werte nicht möglich. Ähnliche Konzentrationen wurden auch in anderen Studien gemessen (siehe Abbildung 2.3). Die Werte schwanken hier von 0,3 nM [LÖFFLER ET AL. 1999] für PCE, cDCE und VC bis $2{,}6 \pm 0{,}7$ nM für PCE [YANG & MCCARTY 1998]. Lediglich von LU ET AL. [2001] werden für die Dechlorierung von VC H_2-Schwellenwerte von 2-24 nM genannt.

Die Betrachtung der veröffentlichten Werte lässt mehrere Schlüsse zu. Unter der Voraussetzung, dass überall mit einem vergleichbaren Analysensystem gearbeitet wurde (RGA2 bzw. RGA3) müssen die Unterschiede in den Batchsystemen selbst begründet sein. Das bedeutet, dass in den verwendeten Mischkulturen unterschiedliche dechlorierende Organismen vorhanden sind, die unterschiedliche spezifische Affinitäten zu Wasserstoff aufweisen. Die Dechlorierung von cDCE und VC ist bisher jedoch, abgesehen von cometabolischen Umsetzungen, nur bei *Dehalococcoides ethenogenes* nachgewiesen worden. Wenn trotzdem für die cDCE-Dechlorierung an einer Stelle 0,3 nM, an anderer 0,9 nM sowie 2,2 nM und Bereiche von 0,1-2,5 nM angegeben werden [LÖFFLER ET AL. 1999; CUPPLES ET AL. 2004; YANG & MCCARTY 1998; LU ET AL. 2001], ist anzunehmen, dass entweder die Art der Probenahme und Unterschiede in der Analytik oder die Art und Weise der Versuchsdurchführung eine Rolle spielen. Undichtigkeiten können zum Beispiel zur Diffusion von

Wasserstoff und einem Konzentrationsausgleich mit der Umgebungsluft führen, was H_2-Konzentrationen von ca. 0,5 nM zur Folge hat. Eine weitere Erklärung für die Differenzen wären cometabolische Dechlorierungsprozesse, die andere H_2-Schwellwerte besitzen. Dies erscheint aber sehr unwahrscheinlich, da in den genannten Untersuchungen hohe Dechlorierungsraten auftraten, die untypisch für cometabolische Umsetzungen sind. Zudem wird in der Regel davon ausgegangen, dass eine cometabolische Dechlorierung bei der Methanogenese auftritt, die aber erst bei höheren H_2-Konzentrationen stattfindet.

Um bei der Identifizierung der Redoxbedingungen auf der sicheren Seite zu sein, müssen als H_2-Schwellwertkonzentrationen die höchsten genannten Werte angenommen werden. Das bedeutet, dass eine Dechlorierung aller chlorierten Ethene oberhalb einer H_2-Konzentration von ca. 2,5 nM möglich sein sollte.

Genauere Werte sind auch für die Praxis wenig hilfreich. Hier kommen bei H_2-Messungen im Grundwasser aufgrund der Probenahmemethode mittels Extraktion von H_2 aus dem Grundwasser in die Gasphase wie in Abschnitt 4.1 beschrieben weitere Unsicherheitsfaktoren hinzu.

4.2.3.4 Konkurrenz von cDCE-Dechlorierung und Sulfatreduktion

Wie in Abschnitt 2.4.1 beschrieben, tritt cDCE häufig als Hauptmetabolit bei der Dechlorierung von PCE oder TCE im Grundwasser auf. Offensichtlich scheint seine Produktion schneller abzulaufen als seine weitere Reduktion. In diesem Versuch wurde die Konkurrenz der cDCE-Dechlorierung und Sulfatreduktion mit der dechlorierenden Mischkultur II betrachtet. Es wurden je zwei Tripletts mit cDCE, Sulfat sowie cDCE und Sulfat versehen, in die jeweils 2 ml H_2 dosiert wurden. Das erste Set der Tripletts wurde über den gesamten Zeitraum beprobt, das zweite nach 4 Wochen.

Neben der Dechlorierung und Sulfatreduktion traten in den Ansätzen auch Methanogenese und Acetogenese auf. In Abbildung 4.37 sind die Anteile der Redoxprozesse als H_2-Äquivalente aufgetragen. Acetat wurde in den Ansätzen, die cDCE enthielten, nach 14 Tagen nicht bestimmt. Es ist davon auszugehen, dass auch hier eine Acetogenese stattgefunden hat, die in der Größenordnung der Acetatbildung in den cDCE/Sulfat-Ansätzen liegt. Sehr deutlich wird hierbei, dass beim direkten Einsatz von H_2 als e^--Donator durch das Vorliegen hoher H_2-Konzentrationen die Acetogenese begünstigt wird. Im Grundwasser dürfte dieser Prozess eher eine untergeordnete Rolle spielen, es sei denn, es hat eine Kontamination mit organischen Stoffen stattgefunden, die als H-Donatoren dienen können wie MKW oder BTEX. In allen Ansätzen war Wasserstoff nach 14 Tagen nur noch im nM-Bereich messbar (Tabelle 4.7). Die Abnahme von Acetat in den folgenden zwei Wochen legt in diesem Zusammenhang die Vermutung nahe, dass anschließend acetotrophe Redoxprozesse, wie Methanogenese stattgefunden haben. Dass Acetat als e^--Donator für Dechlorierung und Sulfatreduktion verwendet wurde, kann nicht ausgeschlossen werden. Für eine Fortsetzung dieser Prozesse kämen jedoch auch H_2-freisetzende Zersetzungsprozesse in Frage.

Die ermittelten Wasserstoff-Konzentrationen in Tabelle 4.7 stehen im Widerspruch zu den Ergebnissen anderer Versuche und teilweise untereinander. Dies trifft insbesondere auf die Tripletts mit cDCE als Elektronenakzeptor zu. Die H_2-Konzentrationen des ersten Tripletts

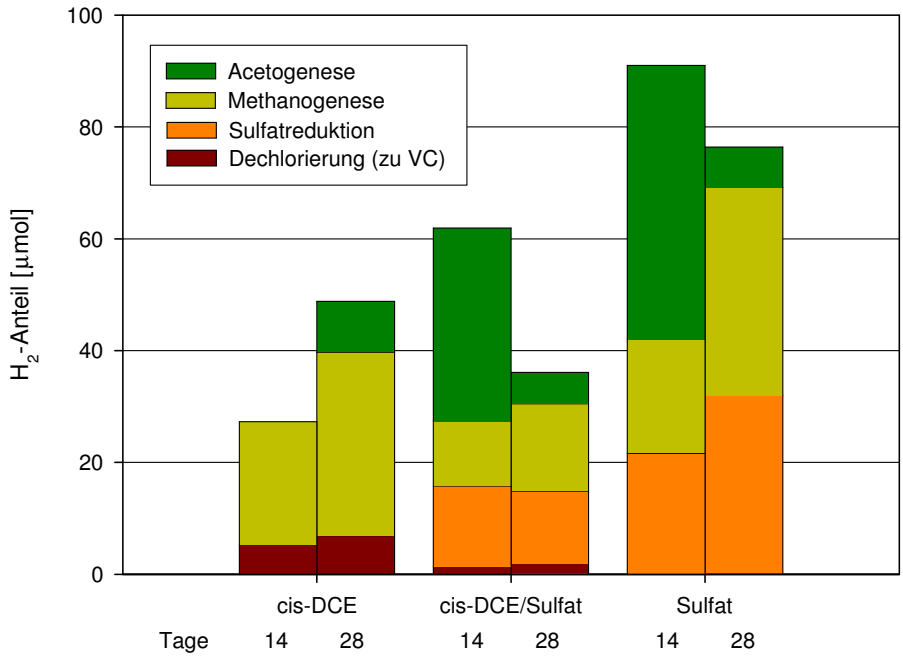


Abbildung 4.37: Anteile verschiedener Redoxprozesse am H_2-Verbrauch in Batchansätzen mit cDCE und Sulfat beim Einsatz von 2 ml H_2 (83,4 μmol)

Tabelle 4.7: H_2-Konzentrationen bei Dechlorierung von cDCE und Sulfatreduktion

Tage	cis-DCE	cis-DCE/Sulfat	Sulfat
14	$6{,}2 \pm 2{,}9$ nM	$< 0{,}2$ nM[a]	$3{,}1 \pm 0{,}1$ nM
28[b]	$6{,}3 \pm 1{,}6$ nM	$< 0{,}2$ nM[a]	1,0 nM[c]
28[d]	$3{,}5 \pm 0{,}1$ nM	$3{,}5 \pm 0{,}3$ nM	$3{,}6 \pm 0{,}3$ nM

[a] alle Ansätze rosa
[b] Messung im ersten Set
[c] Konzentration in einem Ansatz, zwei Ansätze rosa: $< 0{,}2$ nM
[d] Messung im zweiten Set (rosa)

waren deutlich höher als die Endkonzentration des zweiten Tripletts. Bei detaillierter Betrachtung der Ansätze des ersten Tripletts fällt ein Ansatz mit H_2-Konzentrationen zwischen 2,7 und 4,4 nM etwas heraus, was auch an der Standardabweichung deutlich wird. Das Verhalten bezüglich Dechlorierung und Methanogenese wich jedoch nicht von den anderen Ansätzen ab. Der H_2-Verbrauch für diese Prozesse stimmte im ersten Triplett nach 28 Tagen mit den in Abbildung 4.37 dargestellten Ergebnissen des zweiten Tripletts überein. Trotz unvollständiger Dechlorierung von VC bzw. cDCE ergaben sich hier höhere H_2-Konzentrationen als in einem anderen Versuch, wo verschiedene LCKW eingesetzt wurden und Konzentrationen um 1 nM ermittelt wurden (vergleiche Abbildung 4.34).

Anhaltspunkte für einen H_2-Schwellwert bei der Sulfatreduktion wurden bereits in einem zuvor beschriebenen Versuch gegeben (Abschnitt 4.2.3.1). Während es sich bei den dort genannten Werten zwischen 0,6 und 1,8 nM jedoch nur um Messungen eines Ansatzes handelt, beruhen die hier ermittelten Werte um 3,1-3,5 nM auf einer größeren Datenbasis.

Diese Wasserstoff-Konzentration könnte daher einen Schwellwert für die Sulfatreduktion durch die verwendete Mischkultur unter Laborbedingungen darstellen. Ähnliche Konzentrationen wurden in einem nicht dargestellten Versuch über einen Zeitraum von neun Wochen in sechs Parallel-Ansätzen gemessen. Dort wurden BES und Vancomycin eingesetzt, um Acetogenese und Methanogenese zu inhibieren. Die Hemmung der Acetogenese war nicht vollständig. Da in den Ansätzen Na_2S als Reduktionsmittel verwendet wurde, wurde wahrscheinlich zu Versuchsbeginn mit Rest-Sauerstoff Sulfat gebildet. Die Reduktion dieses Sulfat könnte dann für das erreichte H_2-Niveau verantwortlich sein. In einem weiteren Versuch ohne LCKW wurden nach beendeter Sulfatreduktion jedoch H_2-Konzentrationen zwischen 0,4 und 0,6 nM gemessen (siehe Abbildung 4.40). Auch hier wurden die Methanogenese durch BES und die Acetogenese durch Vancomycin gehemmt. Die unvollständige H_2-Bilanz könnte auch auf einen weiteren, nicht quantifizierten Redoxprozess hindeuten.

Es bleibt an dieser Stelle offen, warum in allen drei unterschiedlich zusammengesetzten Tripletts nach 4 Wochen H_2-Konzentrationen um 3,5 nM gemessen werden. Möglicherweise ist ein weiterer, nicht näher betrachteter Redoxprozess für dieses Verhalten verantwortlich und weder Sulfatreduktion noch die cDCE-Dechlorierung spielen eine dominierende Rolle. Für die Ansätze, die Sulfat enthielten, kann die genannte H_2-Konzentration den Schwellwert darstellen. LU ET AL. [2001] nennen in Laborversuchen ebenfalls einen Bereich von 1,5 bis 2,5 nM für die Sulfatreduktion, MAZUR & JONES [2001] hingegen nur 0,8 nM. In Batchversuchen, die neben Sulfat auch TCE enthielten, wurden nach der Dechlorierung 0,6-5,2 nM gemessen [HEIMANN ET AL. 2005]. Im Grundwasser werden für die Sulfatreduktion Werte von 0,5 bis 4,6 nM angeben (siehe Tabelle 2.3). Auch hier ist es, wie im Fall der Dechlorierung möglich, dass die unterschiedlichen Werte auf verschiedene Analytik-Methoden zurückzuführen sind. Andererseits zeigt die Bandbreite der Werte dieser Arbeit und die auch von anderen Autoren angegebenen Bereiche von bis zu 4 nM Differenz [CHAPELLE ET AL. 1996; MCMAHON & BRUCE 1997; COZZARELLI ET AL. 2000; LU ET AL. 2001; RYU ET AL. 2004], dass es andere Ursachen geben muss.

Vermutlich gibt es unter den sulfatreduzierenden Bakterien unterschiedliche Affinitäten zu Wasserstoff, was mit Reinkulturen näher untersucht werden sollte. Die Annahme der unterschiedlichen Affinität impliziert das Vorhandensein verschiedener Enzymsysteme, die sich thermodynamisch anders verhalten. Die Existenz verschiedener Hydrogenasen wird von VIGNAIS ET AL. [2001] unter anderem auch für Sulfatreduzierer beschrieben. Ob diese jedoch auch für die Ausbildung unterschiedlicher H_2-Gradienten und damit H_2-Konzentrationen außerhalb der Zellen verantwortlich sind und in jedem Fall Sulfat der Elektronenakzeptor ist, lässt sich nur vermuten.

HEIMANN ET AL. [2005] wiederum ermittelten zwar eine Hemmung der Dechlorierung in Anwesenheit von Sulfat (2,5 mM), die bei nanomolaren H_2-Konzentrationen beobachtet wurde. Mit erneuter Zugabe von TCE sank die H_2-Konzentration aber in den dortigen Batchansätzen unmittelbar von den oben genannten Werten auf 0,5-1,4 nM, was die Konkurrenzfähigkeit der Dechlorierer beweist. An anderer Stelle wird von einer Sulfatkonzentration von 5 mM ausgegangen, bis zu der die Dechlorierung von *Sulfurospirillum multivorans* nicht gehemmt wird [EISENBEIS ET AL. 1997]. Das entspricht einer Konzentration von 480 mg/l, die im Grundwasser nur in Ausnahmefällen anzutreffen ist. Eine Hemmung der Dechlorierung durch Sulfat an sich ist daher sehr unwahrscheinlich.

Da die Sulfatreduktion im gleichen Wasserstoff-Schwellwertbereich stattfindet wie die Dechlorierung, kann es von Nutzen sein, durch Versuche zu ermitteln, ob die am jeweiligen Standort vorhandenen Sulfatreduzierer eine Konkurrenz darstellen oder nicht, d.h. welchen konkreten H_2-Schwellenwert sie besitzen. Wahrscheinlich ist, dass sich beide Redoxprozesse nicht ausschließen, dass jedoch der verfügbare H_2-Anteil für die Dechlorierung in Anwesenheit von Sulfat geringer wird und damit den biologischen Abbau der LCKW verlangsamt.

4.2.3.5 Dechlorierung von cDCE und Sulfatreduktion bei Hemmung von Methanogenese und Acetogenese

Die Dosierung von H_2 als e^--Donator bewirkt hohe H_2-Startkonzentrationen und ermöglicht daher auch Redoxprozesse wie Methanogenese und Acetogenese. Um diese zu unterbinden, wurden in diesem Versuch BES (5 mM) und Vancomycin (50 mg/l) als Inhibitoren eingesetzt. Die Inhibitoren wurden einzeln und in Kombination in drei Tripletts mit cDCE sowie drei Tripletts mit cDCE/Sulfat verwendet. In den mitgeführten Kontrolltripletts wurde kein H_2 verbraucht und es fand weder eine Sulfatreduktion noch eine Dechlorierung von cDCE statt.

Eine Sulfatreduktion fand in diesem Versuch nicht statt. Deshalb ließen sich keine H_2-Schwellwerte für die Sulfatreduktion ermitteln. Die verwendeten Hemmstoffe wirkten vermutlich auch auf die in der dechlorierenden Mischkultur vorhandenen Sulfatreduzierer. Bekannt ist, dass die Verwendung von BES (2 bzw. 5 mM) einen Einfluss auf die Sulfatreduktion haben kann, der jedoch nach OREMLAND & CAPONE [1988]eher gering ausfällt. Vancomycin wirkt in erster Linie auf Gram-positive Eubakterien und sollte daher für die überwiegend Gram-negativen Sulfatreduzierer keine Rolle spielen.

Obwohl kein Sulfat reduziert wurde, wiesen die anderen Redoxprozesse in den Tripletts mit Sulfat einen geringeren Anteil am H_2-Verbrauch auf als in den Tripletts ohne Sulfat (Abbildung 4.38). Die Acetogenese wurde durch Vancomycin vollständig inhibiert, während der Einsatz von BES die Methanogenese nicht verhinderte.

In den Tripletts mit BES lag nach 14 Tagen mehr Acetat vor als zu Versuchsende nach 56 Tagen. Das entspricht dem Verhalten des in Abschnitt 4.2.3.4 dargestellten Versuchs ohne Hemmstoffe. Im Triplett mit cDCE und BES sank die Stoffmenge an Acetat von 6,05 μmol (24,2 μmol H_2-Äquivalente) auf 2,2 μmol (8,8 μmol H_2-Äquivalente). Erst ab diesem Zeitpunkt wurde auch Methan gebildet, bis zu Versuchsende 1,77 μmol. Die H_2-Konzentration lag zwischen 14 und 35 Tagen bei $2{,}9 \pm 0{,}4$ nM (Abbildung 4.39). Diese Konzentration entspricht annähernd der H_2-Konzentration, die in einem Versuch ohne Hemmstoffe gemessen wurde (vergleiche Tabelle 4.7). In beiden Fällen stagnierte die Dechlorierung und Methan wurde gebildet. Bei geringem H_2-Angebot und abnehmender Acetat-Konzentration ist eine acetotrophe Methanogenese sehr wahrscheinlich. Würde durch mögliche Fermentationsprozesse H_2 gebildet, so sollte auch die Dechlorierung fortschreiten. Unklar bleibt das H_2-Niveau, welches in diesem Triplett erst ab 42 Tagen die für die Dechlorierung typischen Werte um 1 nM erreicht. Möglicherweise wird die H_2-Konzentration durch parallele Prozesse bei der acetotrophen Methanogenese beeinflusst und sinkt erst nach deren Ende aufgrund gesunkener Acetat-Konzentration auf den

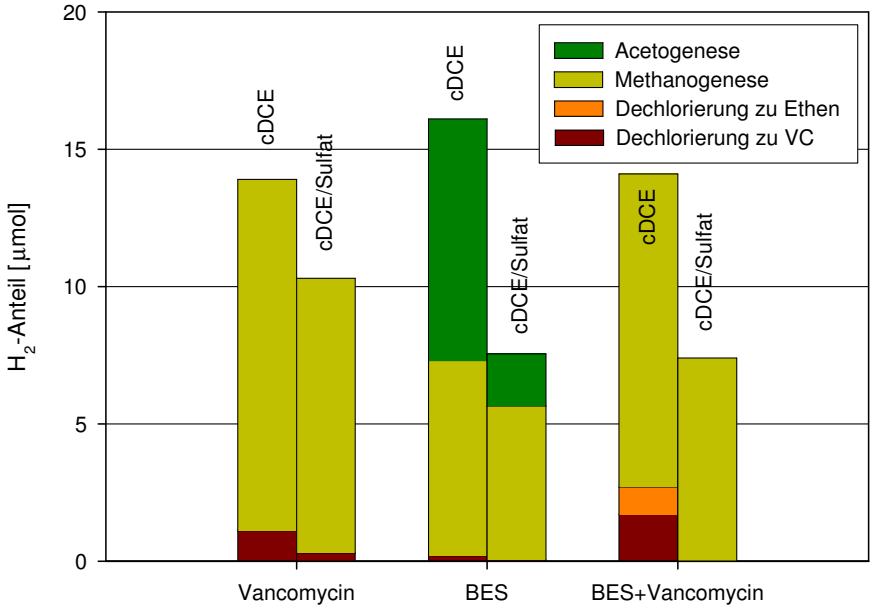


Abbildung 4.38: Anteile verschiedener Redoxprozesse am H_2-Verbrauch in Batchansätzen mit cDCE und Sulfat beim Einsatz von 1 ml H_2 (41,7 μmol) zu Versuchsende (Tag 56)

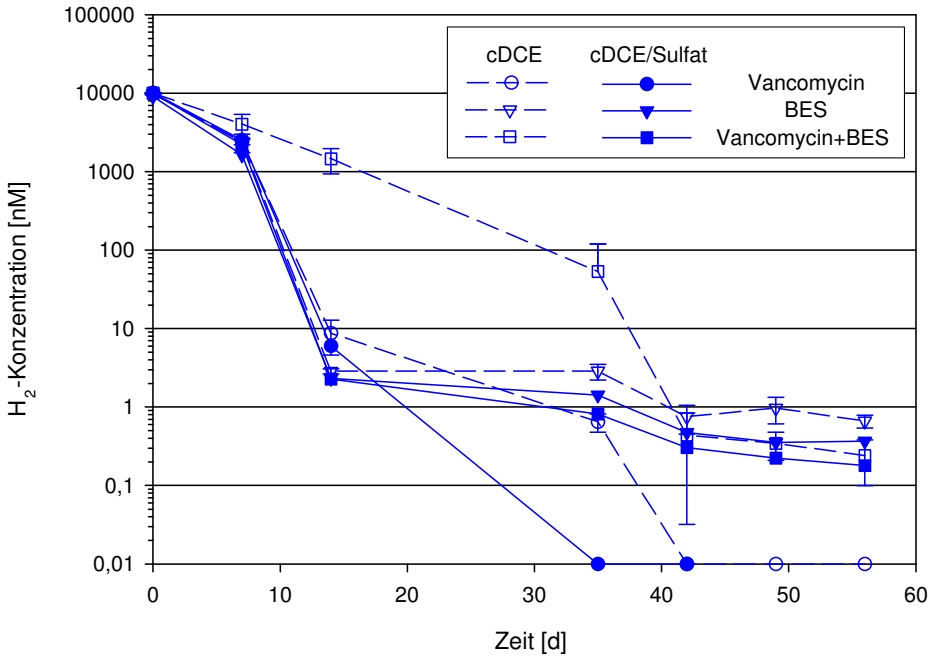


Abbildung 4.39: Verlauf der H_2-Konzentration bei der Dechlorierung von cDCE und Sulfatreduktion unter Verwendung von Vancomycin und BES beim Einsatz von 1 ml H_2

Dechlorierungs-Schwellwert. Das war im Versuch ohne Hemmstoffe aufgrund der kürzeren Versuchsdauer nicht zu erkennen.

Ein sehr ähnliches Verhalten war in den Ansätzen mit BES, cDCE und Sulfat zu beobachten. Auch hier setzte die Methanogenese erst nach dem Absinken der H_2-Konzentration auf 2,3 nM ein und zwischenzeitlich gebildetes Acetat wurde verbraucht. Nach 42 Tagen erreichte die H_2-Konzentration hier ein Niveau von 0,4-0,5 nM. Aus diesen Ergebnissen könnte man schließen, dass BES nur die hydrogenotrophe Methanogenese hemmt. Tatsächlich fand in den Tripletts mit Vancomycin und ohne BES auch bereits zu Beginn eine Methanbildung statt. Das Abfallen der H_2-Konzentrationen unter die Nachweisgrenze ist hier auf die Aerobisierung der Ansätze, zu erkennen an einer Rosafärbung des Redoxindikators Resazurin, und nicht auf die relevanten Redoxprozesse zurückzuführen.

Ein abweichender Verlauf der H_2-Konzentration ergab sich nur in den Ansätzen mit cDCE, die beide Hemmstoffe enthielten. Nur hier fand auch eine teilweise Dechlorierung bis zum Ethen statt. Acetat wurde aufgrund des Einsatzes von Vancomycin nicht gebildet. Es entstand jedoch Methan. Aus den bisher getroffenen Aussagen lässt sich die Methanogenese nicht ableiten. Die hydrogenotrophe Methanogenese wird durch BES gehemmt. Acetat für die acetotrophe Methanogenese steht nicht zur Verfügung. Das Fehlen dieser H_2-verbrauchenden Prozesse ist auch aus dem Verlauf der H_2-Konzentration ersichtlich. Eine Erklärung bietet sich aufgrund der Erkenntnisse der Versuche mit der Reinkultur *Sulfurospirillum multivorans* an. Ist Wasserstoff im Überschuss vorhanden, so kann *Sulfurospirillum multivorans* selbst Acetat bilden (siehe Abschnitt 4.2.1.1). Es ist also möglich, dass hier z. B. zwischen diesem Organismus und acetotrophen Methanogenen ein Interspecies Acetate Transfer stattgefunden hat, der eine Anreicherung von Acetat nicht erkennen ließ aber zur Bildung von Methan führte.

In den Parallelansätzen mit Vancomycin und BES, die neben cDCE noch Sulfat enthielten, entspricht der Verlauf der H_2-Konzentration hingegen denen der anderen Tripletts (Abbildung 4.38). Eine Dechlorierung fand nicht statt und es wurde weniger Methan gebildet als ohne Sulfat. Auch in den anderen Tripletts mit Sulfat fiel die Dechlorierung zu VC sehr schwach aus. Offenbar stellte die Sulfatreduktion selbst oder die Sulfatkonzentration an sich (hier: 120 mg/l, entspricht 1,25 mM) ein Problem für die weitere Dechlorierung von cDCE dar. Für letzteres sprechen die unveränderten Sulfatkonzentrationen. Eine Hemmung ist in anderen Fällen aber erst ab 2,5 mM [HEIMANN ET AL. 2005] bzw. 5 mM beobachtet worden [EISENBEIS ET AL. 1997]. Auch im Versuch ohne Hemmstoffe fiel die Dechlorierung in Gegenwart von Sulfat schwächer aus (vergleiche Abbildung 4.37). Dort könnte jedoch die Konkurrenz um Wasserstoff, der nur begrenzt zur Verfügung stand, die entscheidende Rolle gespielt haben. Ein Vergleich zur Konkurrenz zwischen PCE und Sulfat als Elektronenakzeptor zeigt, das die Dechlorierung von PCE gegenüber der Dechlorierung von cDCE hier deutlich im Vorteil ist (siehe Anteile der H_2-verbrauchenden Reaktionen in Abbildung 4.33).

Nicht eindeutig zu klären ist der Verlauf der H_2-Konzentration. Diese sinkt in Anwesenheit von Sulfat schneller, obwohl die beobachteten Redoxprozesse insgesamt eine geringere Aktivität aufweisen. Die Bildung von Methan könnte auch hier auf den zuvor vermuteten Interspecies Acetate Transfer zurückgeführt werden. Die Annahme, dass ein Organismus wie *Sulfurospirillum multivorans* hier eine Rolle spielt, würde jedoch wie in Abschnitt 4.2.1.1 beschrieben, H_2-Konzentrationen von ca. 300 nM voraussetzen. Konzentrationen oberhalb

dieses Wertes waren nur in den ersten 7 Tagen vorhanden. Dass heißt, die Acetatbildung durch *Sulfurospirillum multivorans* bliebe auf diesen Zeitraum beschränkt.

4.2.3.6 Sulfatreduktion bei Hemmung von Methanogenese und Acetogenese

Ausgehend von den in Abschnitt 4.2.3.5 beschriebenen Schwierigkeiten bei der Interpretation der Ergebnisse zur Sulfatreduktion und cDCE-Dechlorierung wurde in einem weiteren Versuch Sulfat in geringerer Konzentration (10 ppm) eingesetzt. Zur Hemmung von Acetogenese und Methanogenese wurden ebenfalls Vancomycin und BES verwendet. Außerdem wurden hier 5 ml statt 1 ml Inokulum zugegeben.

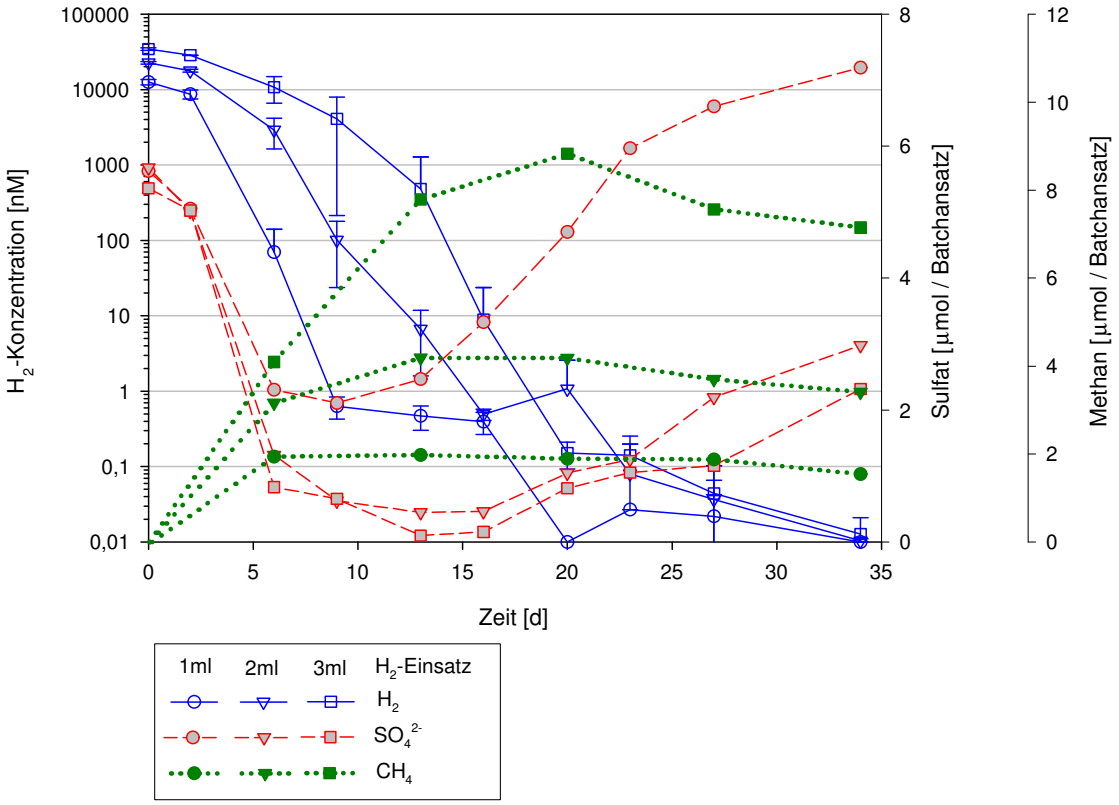


Abbildung 4.40: Sulfatreduktion und Methanogenese beim Einsatz verschiedener H_2-Mengen und unter Verwendung der Hemmstoffe BES und Vancomycin

Abbildung 4.40 zeigt den Verlauf der H_2-Konzentration und des Sulfatgehaltes in Tripletts, die zu Beginn verschiedene Mengen H_2 enthielten. Die Ableitung eines H_2-Schwellwertes für die Sulfatreduktion ist aus diesen Ergebnissen kaum möglich. Lediglich in den Ansätzen mit 1 ml H_2 trat zwischen 9 und 16 Tagen eine Art Niveau bei H_2-Konzentrationen von 0,4-0,6 nM auf. In diesen Ansätzen fand auch keine vollständige Sulfatreduktion statt, wie sie bei Einsatz von 2 und 3 ml H_2 zu beobachten war.

Auch in diesem Versuch wurde trotz des Einsatzes von BES Methan gebildet. Die mit 1 ml H_2 gebildete Methanmenge von knapp 2 μmol entspricht hierbei der Methanogenese in

gleichartigen Ansätzen, die zusätzlich noch cDCE enthielten (vergleiche Abbildung 4.38, 7,4 μmol H_2-Äquivalente). Im Gegensatz zu diesem Versuch setzte die Methanbildung hier sofort ein. Der Grund hierfür könnte die 5-fache Menge des Inokulums sein. Die Tripletts mit 2 bzw. 3 ml H_2 wiesen annähernd eine doppelte bzw. dreifache Methanproduktion auf. Acetat konnte in den Ansätzen nicht quantifiziert werden, wurde jedoch zumindest nach 9 Tagen in einigen Ansätzen nachgewiesen. Da Methan in den Tripletts genau so lange gebildet wurde, bis die H_2-Konzentration in den unteren nM-Bereich sank (Abbildung 4.40), liegt ein direkter Zusammenhang nahe. Wird die hydrogenotrophe Methanogenese durch die Gegenwart von BES gehemmt, so ist auch hier auf einen Interspecies Acetat Transfer zu acetotrophen Methanogenen zu schließen (vergleiche Abschnitt 4.2.3.5).

Auffällig an diesem Versuch ist die Zunahme der Sulfatmenge nach der Sulfatreduktion. Dafür gibt es zwei mögliche Ursachen. Zum einen könnte ein Eintrag von Sauerstoff gebildetes H_2S wieder oxidiert haben und auch der Grund für die H_2-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze sein. Eine normalerweise damit verbundene Verfärbung des Redoxindikators war jedoch mit Ausnahme von den 1 ml-Ansätzen (ab Tag 27) nicht zu beobachten. Eine zweite Möglichkeit ist die Nachlieferung von Sulfat aus dem Zerfall von BES (2-Bromethansulfonsäure). Dann sollte jedoch in allen Ansätzen eine ähnliche Zunahme zu erwarten sein, was nicht der Fall ist.

4.2.3.7 Dechlorierung und Methanogenese im Langzeitversuch

In Langzeitversuchen wurde der Verlauf der Wasserstoff-Konzentration bei wiederholter Zugabe von cDCE als e^--Akzeptor und Lactat als e^--Donator in 318 ml-Batchansätzen beobachtet. Abbildung 4.41 zeigt den Ausschnitt aus einem Ansatz, der ursprünglich PCE als e^--Akzeptor erhielt. Vor der Dosierung von 250 μl Lactat (50 %ig) am Tag 335 fand eine langsame Dechlorierung von cDCE zu VC bei H_2-Konzentrationen zwischen 0,5 und 1 nM statt. Bei der Vergärung von Lactat wird H_2 freigesetzt, was zur vollständigen Reduktion von VC zu Ethen verwendet werden kann. Die H_2-Konzentration stagnierte dann bei 13-17 nM, parallel wurde Methan gebildet. Die Zugabe von cDCE bewirkte jedes Mal ein Absinken der H_2-Konzentration auf Werte zwischen 1 und 3 nM. Umgekehrt stieg die H_2-Konzentration in Abwesenheit der Dechlorierung auf Werte deutlich über 10 nM. In diesen Fällen ist auch eine Zunahme von Methan zu beobachten. Ein gleichartiges Verhalten wurde auch von HEIMANN ET AL. [2005] beschrieben, wobei hier TCE zum Einsatz kam und die Sulfatreduktion als konkurrierender Redoxprozess andere H_2-Schwellwerte ergab.

Um diesen ersten Versuch zu verifizieren, wurde im Anschluss je ein Triplett mit PCE, cDCE und ohne LCKW angesetzt. Der Versuch wurde einmal mit Lactat und einmal mit Pyruvat als Elektronendonator durchgeführt. Als Kontrolle diente ein Triplett, welches PCE und cDCE enthielt. Eine abiotische Dechlorierung bzw. Methanogenese fand nicht statt. Die LCKW-Konzentrationen nahmen über die Zeit ab, die H_2-Konzentration blieb in den Kontrollen konstant (siehe Abbildung 4.42).

Konkurrenz von PCE-Dechlorierung und Methanogenese. Abbildung 4.43 zeigt beispielhaft die Dechlorierung von PCE mit Lactat als Elektronendonator. Die Parallelansätze wiesen ein ähnliches Verhalten auf, was jedoch zum Teil zeitlich versetzt war und eine

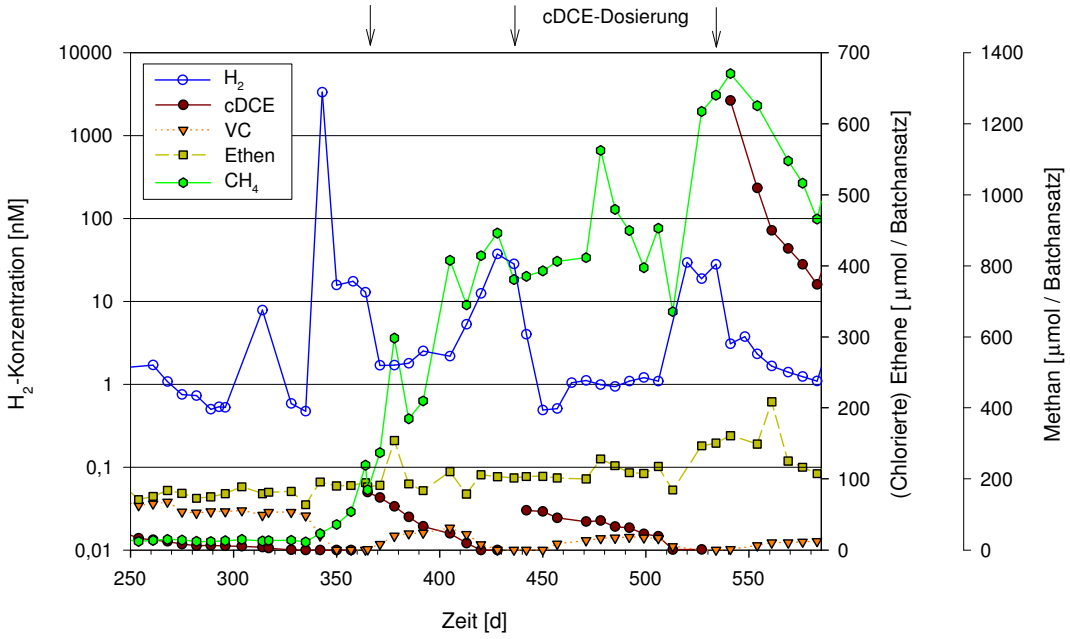


Abbildung 4.41: Dechlorierung und Methanogenese in einer dechlorierenden Mischkultur unter wiederholter Zugabe von cDCE und Lactat (Tag 335 und 420)

Mittelung ausschließt. Im Vergleich zum Einsatz von Pyruvat (Abbildung 4.44) erfolgte eine sehr schnelle Dechlorierung von PCE bis zu Vinylchlorid. Parallel zur anschließenden Phase der Dechlorierung von VC zu Ethen wurde Methan gebildet. Die Methanogenese stoppte jedoch mit dem Absinken der H_2-Konzentration auf ein Niveau zwischen 1 und 3 nM, während die Ethenogenese aus VC weiter fortschritt. Das heißt zum einen, dass bei der Vergärung von Lactat Produkte gebildet worden sein müssen, bei deren Verwertung anschließend Wasserstoff freigesetzt wurde und zum anderen, dass die Organismen, die VC dechlorieren, hier erfolgreich gegen die Methanogenen konkurrieren, indem sie die H_2-Konzentration auf diesem geringen Niveau halten. Nach einer zweiten Lactat-Dosierung und bereits vollständiger Dechlorierung stagnierte die H_2-Konzentration bei 10-15 nM und es war eine erneute Methanbildung zu beobachten. Die Zugabe von PCE bewirkte ein Absinken der H_2-Konzentration auf ca. 2 nM. Der Anstieg der H_2-Konzentration nach der PCE-Dechlorierung auf Werte um 7 nM wurde nur in diesem Ansatz beobachtet, in einem Parallelansatz stieg sie an gleicher Stelle auf ein Niveau von 4 nM. In beiden Ansätzen wurden nach vollständiger Dechlorierung zu Ethen H_2-Konzentrationen zwischen 10 und 20 nM gemessen. Eine deutliche Methanbildung fand bei einer H_2-Konzentration von 7 nM parallel zur Dechlorierung von cDCE und VC statt. Erklären ließen sich die H_2-Niveaus bei 4 und 7 nM, wenn in der ersten Phase der Ethenbildung andere Organismen dominierend gewesen wären als in der zweiten Phase und diese eine geringere Affinität zu Wasserstoff besitzen. Bisher sind allerdings nur *Dehalococcoides* sp. für die Dechlorierung von VC bekannt [MAYMO-GATELL ET AL. 1997, 2001]. Weiterführende Versuche mit diesen Kulturen könnten zur Klärung dieses Phänomens beitragen.

Im Versuch mit PCE und Pyruvat als e^--Donator ist die Methanogenese der dominierende

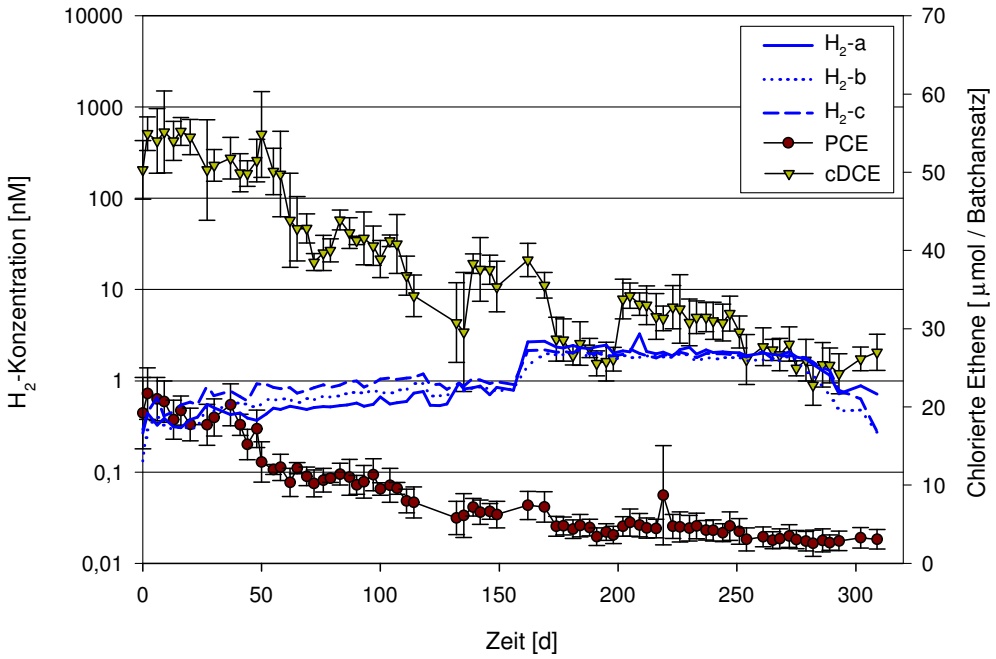


Abbildung 4.42: Verlauf der LCKW- und H_2-Konzentrationen in einem sterilen Kontroll-Triplett mit PCE und cDCE

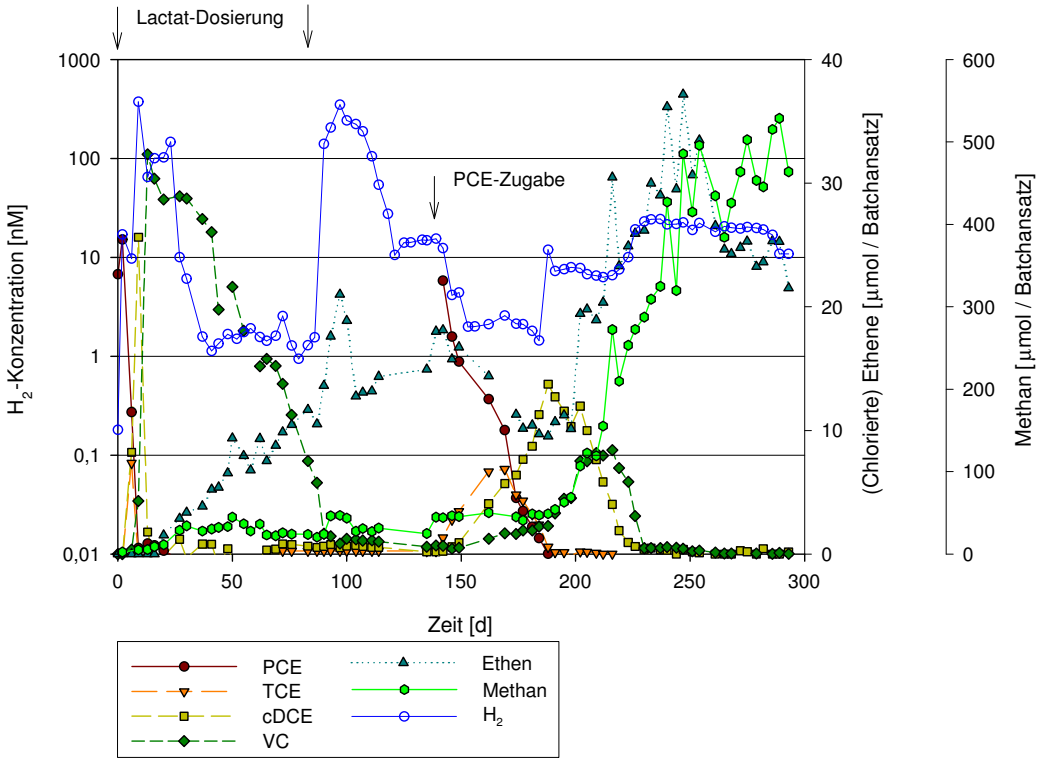


Abbildung 4.43: Dechlorierung von PCE und Methanogenese bei Verwendung von Lactat als e^--Donator

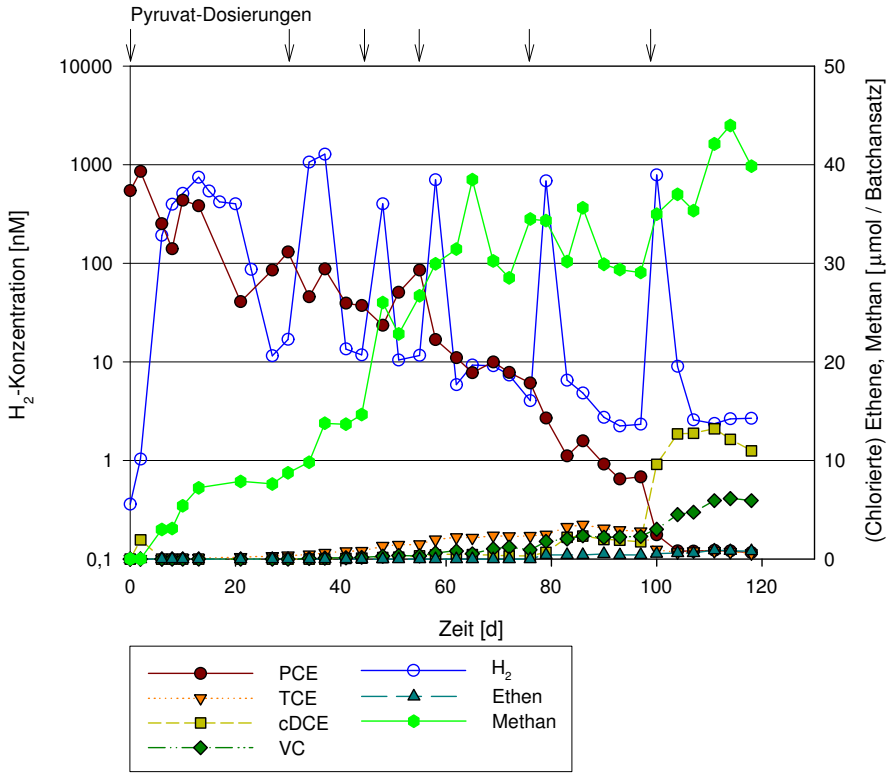


Abbildung 4.44: Dechlorierung von PCE und Methanogenese bei Verwendung von Pyruvat als e^--Donator (Mittelwerte eines Tripletts)

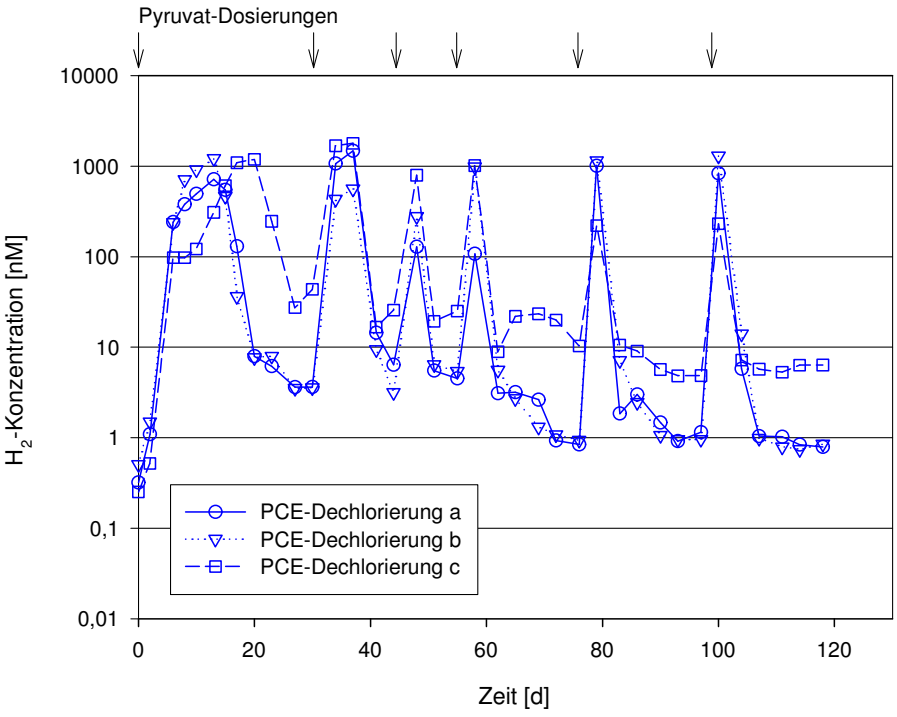


Abbildung 4.45: Verlauf der H_2-Konzentration bei der Dechlorierung von PCE und Methanogenese mit Pyruvat als e^--Donator

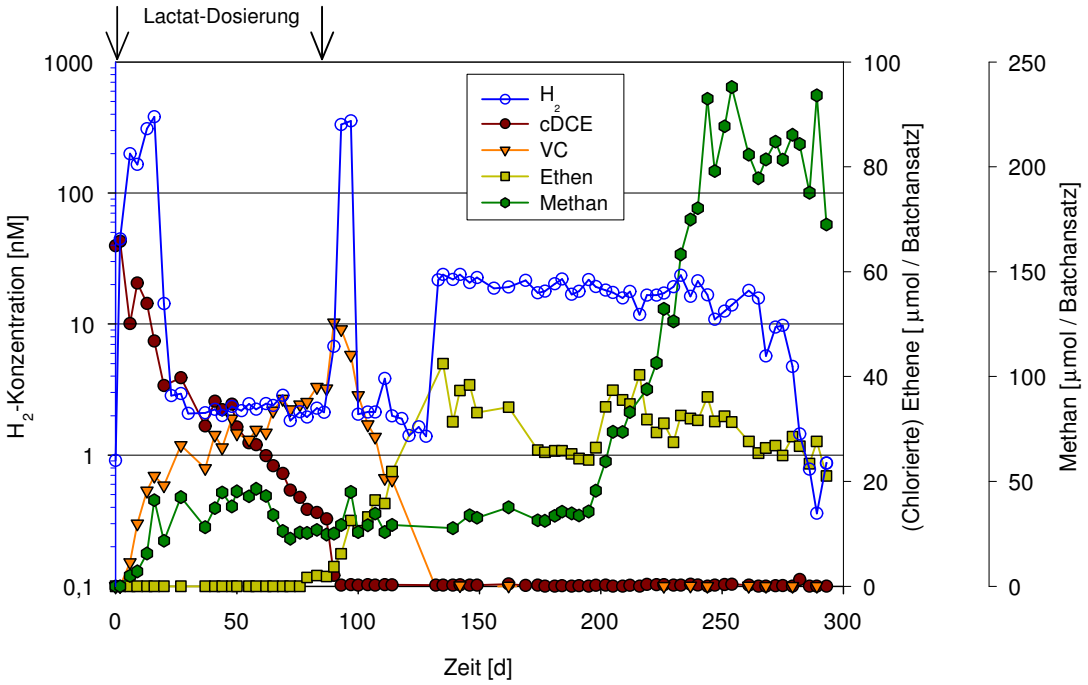


Abbildung 4.46: Dechlorierung von cDCE und Methanogenese mit Lactat als e^--Donator [ALTER & STEIOF 2005a]

Redoxprozess gewesen (Abbildung 4.44). Entsprechend sank die H_2-Konzentration nach den ersten Pyruvat-Zugaben nicht auf Werte um 1-3 nM. Da sich die Verläufe der H_2-Konzentrationen in den einzelnen Ansätzen stark unterschieden, sind diese getrennt in Abbildung 4.45 dargestellt. Ansatz c wies dabei immer H_2-Konzentrationen >10 nM auf, zum Ende ca. 6 nM. Dabei fand eine verstärkte Dechlorierung erst im letzten Versuchsabschnitt statt. In den Ansätzen a und b sank die H_2-Konzentration nach den letzten drei Pyruvatzugaben auf Werte um 1 nM. Hier war dann auch eine zunächst schwache, im letzten Schritt sehr starke Dechlorierung von PCE zu cDCE zu verzeichnen. Den Bereichen innerhalb der ersten 60 Tage mit H_2-Werten zwischen 4 und 7 nM kann jedoch keine Dechlorierungsaktivität zugeordnet werden. Es könnte sich also auch um Schwellwertkonzentrationen für die Methanogenese handeln. Diese fand, wie in Abbildung 4.44 zu sehen, auch hauptsächlich in diesem Zeitraum statt.

Konkurrenz von cDCE-Dechlorierung und Methanogenese. Mit Lactat als e^--Donator stellten sich bei der Dechlorierung von cDCE H_2-Schwellwertkonzentrationen von ca. 2 nM ein (siehe Abbildungen 4.46 und 4.47). Sehr deutlich zu erkennen ist ein Sprung auf Werte um 20 nM mit vollständiger Dechlorierung von VC zu Ethen in einem der Tripletts (Abbildung 4.46). Bei den beiden Parallel-Ansätzen fällt das Ende der Dechlorierung in die Phase der Lactat-Fermentation, in der ausreichend Wasserstoff zur Verfügung steht. Hier war deshalb bei H_2-Werten von 10-30 nM eine starke Methanogenese zu beobachten. Die Zugabe von cDCE bewirkte ein kurzzeitiges Absinken auf 2 nM. In beiden Ansätzen stieg die H_2-Konzentration sprunghaft auf über 20 nM, sobald cDCE zu VC dechloriert war und fiel anschließend auf Werte zwischen 7 und 10 nM. Hierbei fand die weitere Dechlorierung von VC zu Ethen statt und es wurde Methan gebildet. Nach dem VC-Verbrauch kam es

wiederum zu einem Ansteigen auf Konzentrationen zwischen 20 und 30 nM, bei denen die H_2-Konzentration - wie auch im ersten Ansatz - über eine lange Zeit stagnierte.

Auch in den Ansätzen mit Pyruvat als e^--Donator wurde eine H_2-Konzentration von 1-2 nM während der Dechlorierung von cDCE zu VC gemessen (Abbildung 4.48). Die Methanogenese war im Vergleich zu den Ansätzen mit Lactat deutlich schwächer, was auch schon in den parallelen PCE-Ansätzen der Fall war. Eine Differenzierung nach H_2-Schwellwertkonzentrationen bei der Dechlorierung von cDCE und der Dechlorierung von VC lässt sich aus diesen Ergebnissen nur schwer ableiten. Eine Veränderung der Mischkulturpopulation über die Dauer des Versuches wäre eine mögliche Erklärung für unterschiedliche H_2-Schwellwerte, die erst zu einem späteren Zeitpunkt auftreten.

Methanogenese. In den Ansätzen mit der dechlorierenden Mischkultur, die weder PCE noch cDCE enthielten, wurden sowohl mit Lactat als auch Pyruvat als e^--Donator in den Zeiträumen nach den Zugaben stabile H_2-Niveaus beobachtet (Abbildungen 4.49 und 4.50). Die H_2-Schwellwerte lagen mit Lactat um 10 nM, in einem Ansatz stiegen sie nach 150 Tagen auf Werte zwischen 13 und 17 nM. Mit Pyruvat wurden etwas geringere Konzentrationen zwischen 7 und 9 nM gemessen. Die Werte bestätigen damit bekannte H_2-Schwellwertkonzentrationen für die Methanogenese.

Ein deutlicher Unterschied zwischen Lactat und Pyruvat als e^--Donator ergab sich bei der gebildeten CH_4-Menge. Wurden bei 2 Lactatdosierungen mit insgesamt ca. 2 mmol Lactat ca. 1000 bzw. 1600 μmol Methan gebildet, so sind bei 5 Pyruvatdosierungen mit jeweils 75 μmol lediglich 40-50 μmol Methan gebildet worden. Nach Gleichung 4.2 können je mol Lactat 2 mol H_2 freigesetzt werden, womit hier 4000 μmol H_2 stöchiometrisch zu Methan umgesetzt wurden. Je mol Pyruvat könnte 1 mol H_2 entstehen, womit theoretisch knapp 400 μmol Wasserstoff zur Verfügung gestanden hätten. Dies gilt laut COPE & HUGHES [2001], wenn bei der Vergärung von Pyruvat ausschließlich Acetat gebildet wird. Als Produkt kann aber auch noch Propionat entstehen, was die H_2-Ausbeute mindert. Da in den Ansätzen annähernd 350 μmol Acetat gebildet wurden, ist von der gleichen Menge an Wasserstoff auszugehen. Für die hydrogenotrophe Methanogenese wurde jedoch nur gut die Hälfte verwendet.

Theoretisch kann auch ein Teil des Methans acetotroph gebildet worden sein, was die Schwellenwerte relativieren würde. Für die Batchversuche mit Pyruvat als Elektronendonator kann das jedoch ausgeschlossen werden. Hier nahm die Acetatkonzentration kontinuierlich zu und erreichte zu Versuchsende ca. 350 μmol je Batchansatz, was in gleicher Menge auch für die parallelen LCKW-Ansätze gilt und nahezu der eingesetzten Pyruvatmenge entspricht. Für den Versuch mit Lactat gibt es aufgrund großer Messintervalle der Ionenchromatographie nicht ausreichend Daten, deren Auswertung zusätzlich durch die Überlagerung von Lactat und Acetat erschwert wird. Zum Ende konnte jedoch kein Acetat mehr nachgewiesen werden, was auf den Verbrauch von Acetat durch acetotrophe Methanogenese hindeutet.

Damit bleibt offen, in welchem Zusammenhang das beobachtete H_2-Niveau zwischen 13 und 17 nM mit der Methanogenese bei Verwendung von Lactat als Elektronendonator steht. Für die hydrogenotrophe Methanogenese, die durch Fermentation von Pyruvat ermöglicht wurde, kann eine H_2-Schwellwert-Konzentration von 7-9 nM angegeben werden.

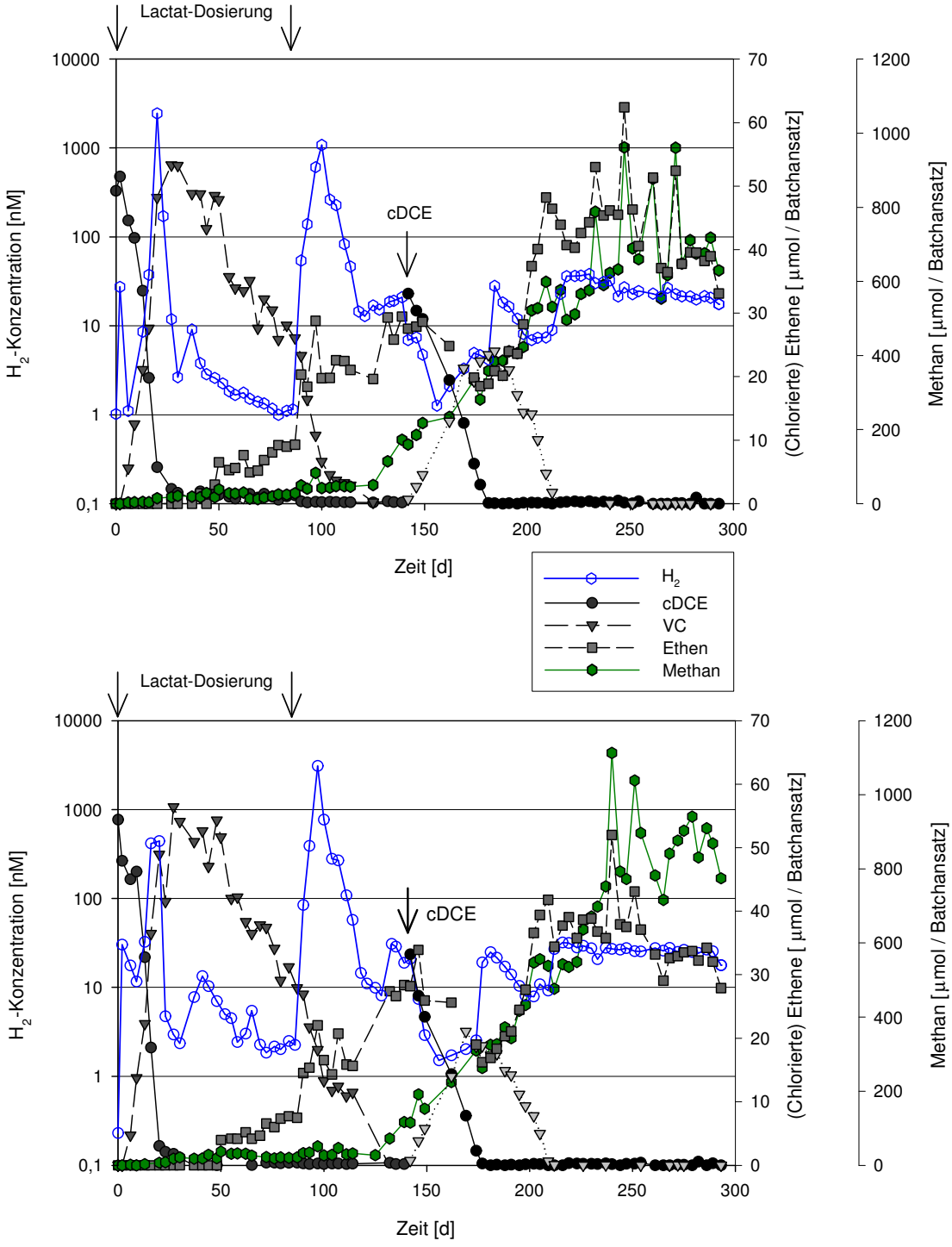


Abbildung 4.47: Dechlorierung von cDCE und Methanogenese mit Lactat als e^--Donator und zweiter cDCE-Dosierung (Dargestellt sind 2 parallele Batchansätze.)

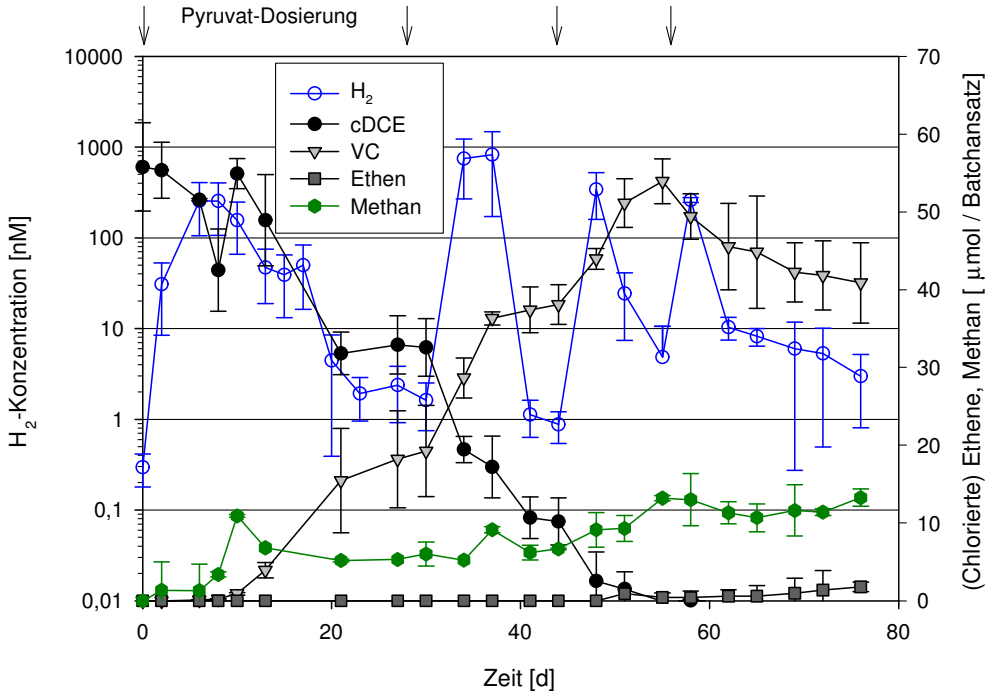


Abbildung 4.48: Dechlorierung von cDCE und Methanogenese mit Pyruvat als e^--Donator (mehrfache Zugabe)

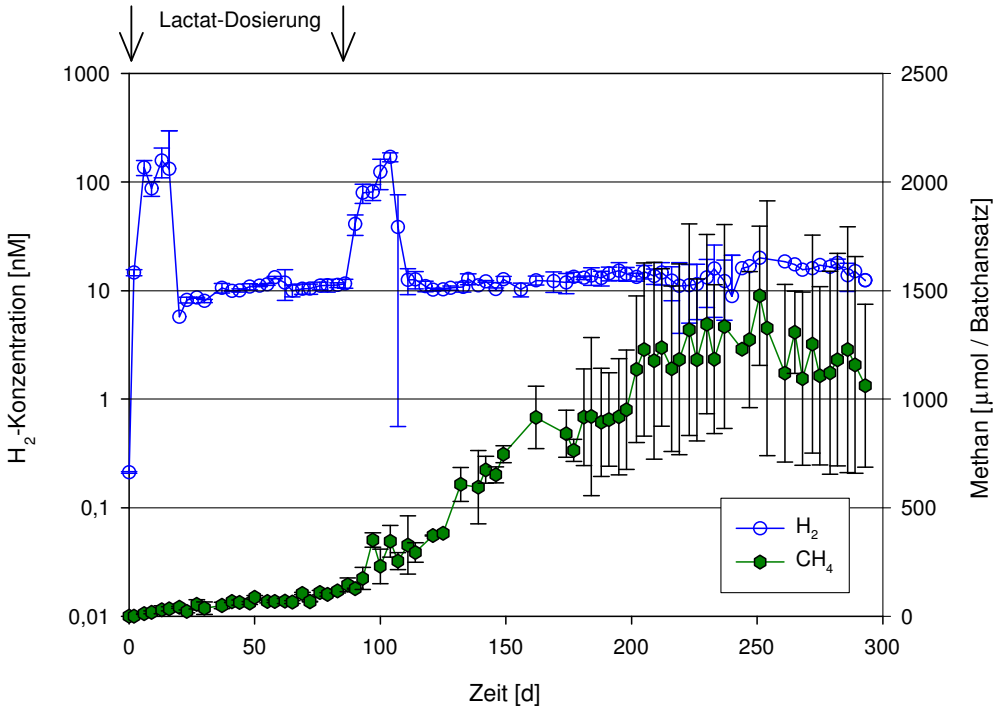


Abbildung 4.49: Methanogenese mit Lactat als e^--Donator [ALTER & STEIOF 2005a]

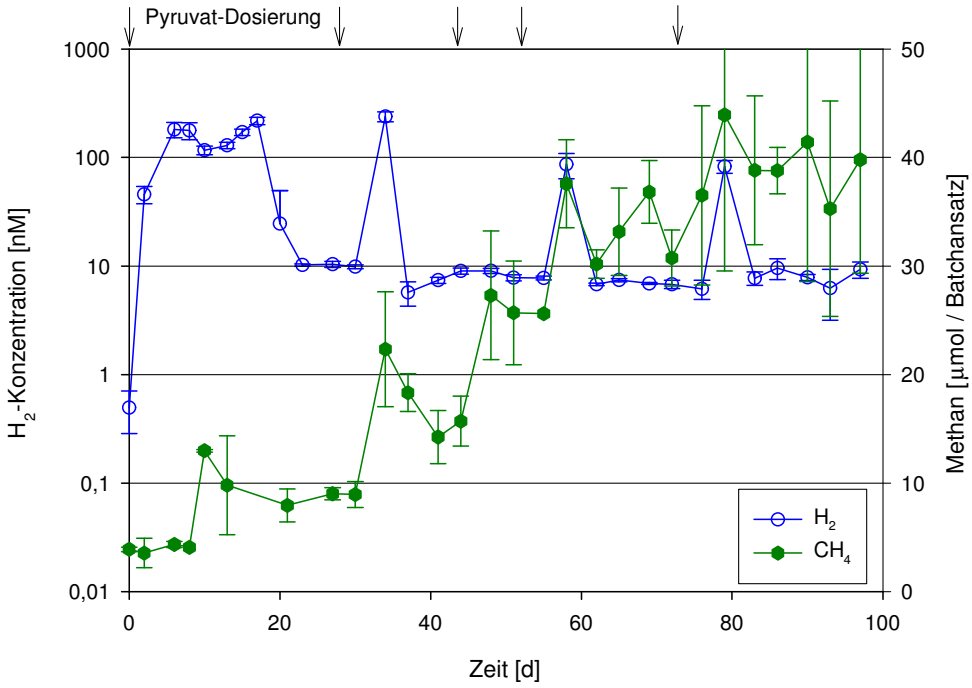


Abbildung 4.50: Methanogenese mit Pyruvat als e^--Donator (mehrfache Zugabe)

Zu den methanogenen Ansätzen mit Pyruvat, die in Abbildung 4.50 dargestellt sind, wurde nach 97 Tagen 3 μl cDCE (39,6 μmol) zugegeben und als e^--Donator erneut Pyruvat dosiert. Unmittelbar danach begann die Bildung von VC und nach ca. 3 Wochen sank die H_2-Konzentration auf Werte knapp unter 1 nM, wobei die Dechlorierung noch fortschritt (Abbildung 4.51). Im letzten Versuchsstadium war auch in allen drei Ansätzen eine Ethenbildung zu beobachten. Da bisher nur Stämme von *Dehalococcoides ethenogenes* für die reduktive Dechlorierung von cDCE bekannt ist und diese in der dechlorierenden Mischkultur auch nachgewiesen wurden [ROSENTHAL ET AL. 2004; ROSENTHAL 2004] zeigt dieses Ergebnis, dass diese Organismen sehr robust sind und auch längere Perioden in Abwesenheit von chlorierten Ethenen überdauern. Dabei setzte die Dechlorierungsaktivität sofort nach der Verfügbarkeit von cDCE ein, während die H_2-Konzentration erst nach einer lag-Phase von ca. 3 Wochen die typische Schwellwertkonzentration um 1 nM erreichte.

Zusammenfassung der Ergebnisse der Langzeitversuche. Die Langzeitversuche, bei denen Elektronendonatoren und Elektronenakzeptoren nach Verbrauch wieder erneut zugegeben wurden haben ergeben, dass

- es deutliche Unterschiede der H_2-Schwellwertkonzentrationen bei der Methanogenese und der Dechlorierung gibt, die sich in sprunghaftem Ansteigen bzw. Abfallen der Wasserstoffkonzentration manifestiert, wenn cDCE bzw. PCE vollständig dechloriert worden sind oder neu hinzugegeben werden.

- die dechlorierenden Mikroorganismen die H_2-Konzentration in der Regel auf 1-3 nM absenken und damit erfolgreich gegen die Methanogenen konkurrieren.

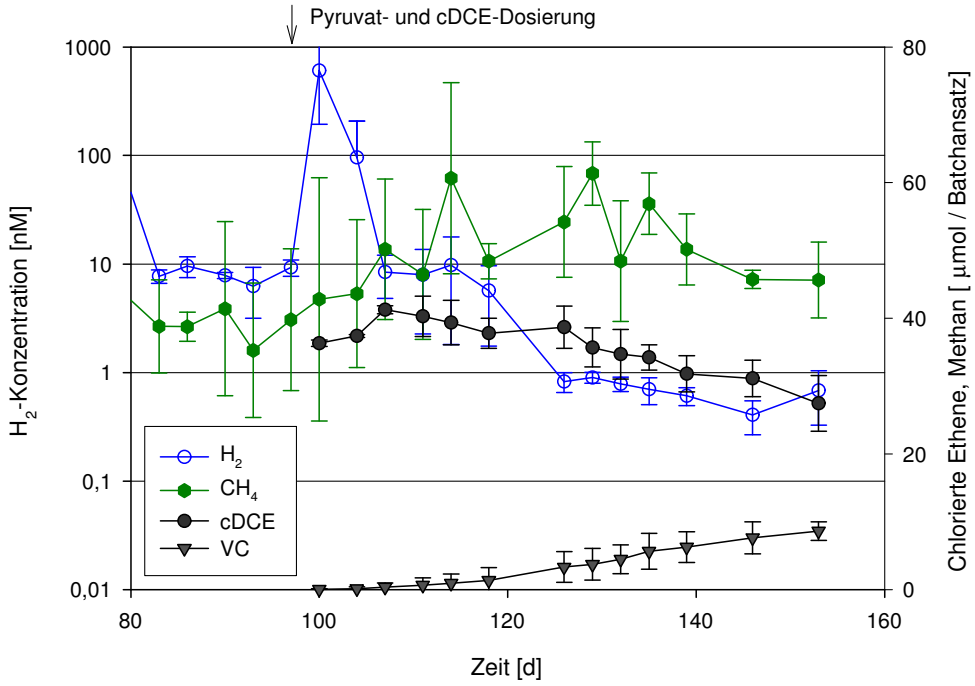


Abbildung 4.51: Wechsel zur cDCE-Dechlorierung in bisher methanogenen Ansätzen mit Pyruvat als e^--Donator (Zugabe von Pyruvat und 3 μl cDCE am 97. Tag)

- die hydrogenotrophe Methanogenese bei H_2-Konzentrationen oberhalb von 7-9 nM abläuft.
- beim Einsatz von Lactat auch eine H_2-Schwellwertkonzentration auftritt, die > 10 nM ist, teils bis 30 nM reichte. Währenddessen wurde Methan gebildet, was aber mit großer Wahrscheinlichkeit auf acetotropher Methanogenese beruht. Die wirklich H_2-bestimmende Reaktion ist an dieser Stelle ungeklärt.
- beide Elektronendonatoren unter H_2-Bildung vergoren wurden. Mit Lactat war die Methanbildung aufgrund des freigesetzten Wasserstoffs nahezu stöchiometrisch. Die schnellere Fermentation von Lactat führte zu einer vollständigen Dechlorierung bis zu Ethen. Mit Pyruvat wurden nur geringe Mengen Ethen gebildet.

Lactat kann zu Pyruvat und Acetat vergoren werden, Pyruvat zu Acetat und Propionat. Bei der Vergärung von Lactat werden mehr, theoretisch die doppelte Menge an Reduktionsäquivalenten in Form von H_2 freigesetzt und es wird vermutlich schneller Acetat gebildet. Für die methanogenen Organismen bedeutet das, dass beim Einsatz von Lactat sowohl für die acetotrophe als auch für die hydrogenotrophe Methanogenese ausreichend Substrat zur Verfügung steht. Wird Pyruvat verwendet, so wird dieses langsamer vergoren und auch weniger Wasserstoff zur Verfügung gestellt. Die unterschiedlichen H_2-Konzentrationen bei der Methanogenese mit und ohne LCKW könnten darauf hindeuten, dass im Laufe der Dechlorierung unter Verbrauch des produzierten Wasserstoffs andere Zwischenprodukte gebildet werden und die beobachteten Konzentrationsniveaus zwischen ca. 10 und 30 nM mittelbare Redoxprozesse zur Methanogenese aber nicht die hydrogenotrophe Methanogenese selbst widerspiegeln. Ähnliche H_2-Konzentrationen nach der Dechlorierung wurden

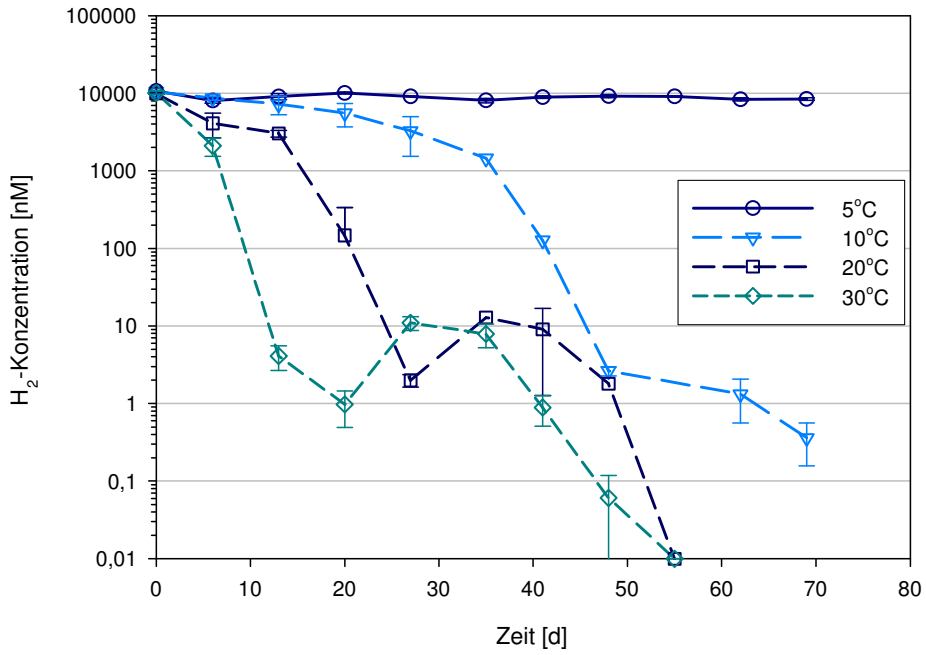


Abbildung 4.52: Verläufe der H_2-Konzentration für die Dechlorierung von PCE bei verschiedenen Temperaturen

auch in einem oben beschriebenen Versuch beobachtet (siehe Abbildung 4.36).

Ursprünglich war mit dem Einsatz von Pyruvat als langsamer vergärbarem Substrat das Ziel verfolgt worden, die bei der Dechlorierung mit Lactat aufgetretenen H_2-Zwischenniveaus bei 4 und 7 nM näher zu untersuchen, auf die die H_2-Konzentration nach der Dechlorierung zu cDCE stieg. In zwei der drei Ansätze mit cDCE und Lactat gab es auch nach der Dechlorierung von cDCE zu VC einen Sprung auf > 10 nM, der im dritten Ansatz erst nach der vollständigen Dechlorierung zu Ethen zu sehen war. Diese Werte bzw. dieses Verhalten konnten jedoch im Versuch mit Pyruvat nicht verifiziert werden. Auch hier wurden für die Dechlorierung von cDCE zu VC 1-2 nM H_2 gemessen, die den bereits in Abbildung 4.36 dargestellten Ergebnissen entsprechen.

4.2.3.8 Temperatureinfluss auf Dechlorierung und H_2-Konzentration

Biologische Aktivität ist stark temperaturabhängig. Das trifft auch auf die Dechlorierung von PCE zu, was in den Abbildungen 4.52 und 4.53 sehr gut zu erkennen ist. Alle Ansätze erhielten zu Beginn 1 ml H_2 (41,7 μmol).

Bei 5°C fand keine Dechlorierung statt und es wurde auch kein Wasserstoff verbraucht. Bei 10°C erfolgte eine langsame, unvollständige PCE-Dechlorierung zu ca. 2,5 μmol cDCE und 1 μmol TCE, die ab dem 20. Tag stagnierte, obwohl noch ca. die Hälfte des zugegebenen Wasserstoffs vorhanden war. Die Ansätze wiesen im Anschluss eine Rosafärbung des Redoxindikators auf. Das deutet auf den Eintrag von Sauerstoff hin und erklärt die stagnierende Dechlorierung und das Absinken der H_2-Konzentration unter die Nachweisgrenze.

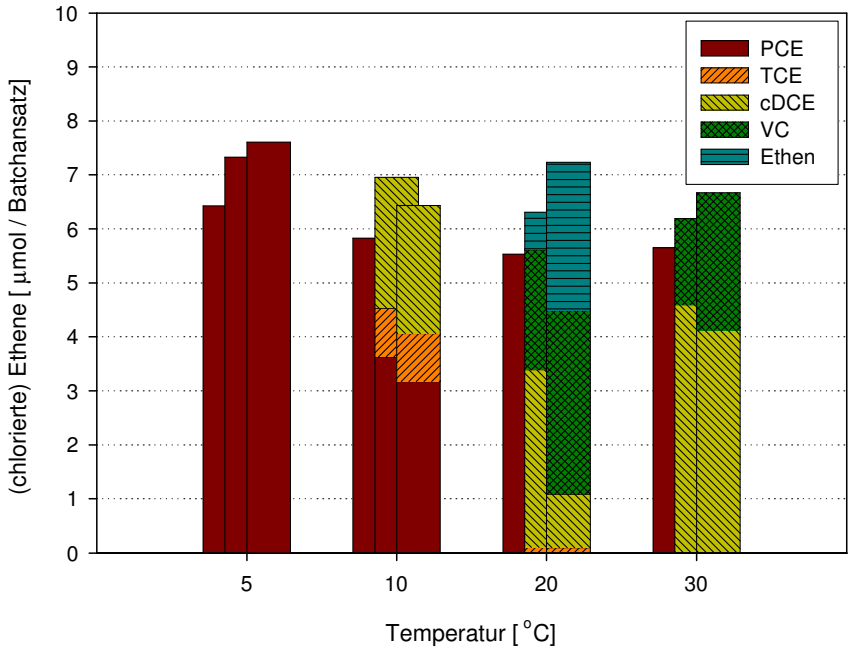


Abbildung 4.53: Dechlorierung von PCE bei unterschiedlichen Temperaturen. Dargestellt sind die Zeitpunkte 0, 20 und 48 Tage (links, Mitte, rechts)

Bei 20°C war der erste Dechlorierungsschritt nach einer Woche fast abgeschlossen und es lag nur cDCE vor. Nachfolgend begann die Dechlorierung zu VC und Ethen. Am 27. Tag wurde offensichtlich ein Wendepunkt erreicht. Mit im Mittel 2,0 nM wurden typische Werte für die Dechlorierung (siehe Abschnitte 4.2.3.11und 4.2.3.2) gemessen. Im Anschluss stieg die H_2-Konzentration wieder an. Hier wurde vermutlich zuvor ein Elektronendonator gebildet, der dann selbst weiter vergoren wurde, wobei es zur H_2-Freisetzung kam. Parallel fand eine weitere Dechlorierung von cDCE zu VC und Ethen statt, die ohne ein solches Substrat nicht erklärbar wäre. Ebenso wurde in diesem Zeitraum Methan gebildet (maximal gemessener Wert: $6{,}2 \pm 1{,}1$ μmol an Tag 41).

Bei 30°C wurde PCE innerhalb einer Woche vollständig zu cDCE umgesetzt und dieses zum Teil auch schon weiter zu VC dechloriert. Ebenso wurde Methan gebildet. Ein Minimum der H_2-Konzentration wurde am 20. Tag mit im Mittel 1,0 nM erreicht, wo 4,6 μmol cDCE und 1,6 μmol VC vorliegen. Wie auch bei 20°C kam es anschließend zu einem Anstieg der H_2-Konzentration auf im Mittel 11 nM, die auch nach einer Woche zwischen 6,2 und 11 nM lag. Parallel fand eine verstärkte Methanogenese statt und knapp 1 μmol cDCE wurden zu VC dechloriert. Ab dem 41. Tag waren die Ansätze rosa, die H_2-Konzentration sank unter die Nachweisgrenze und die Dechlorierung stagnierte.

Zwei Dinge fallen bei der Betrachtung der Ergebnisse auf. Zum einen die fehlende Ethenbildung in den 30°C-Ansätzen, zum anderen ein erneuter Anstieg der H_2-Konzentration in den Ansätzen bei 20°C und 30°C. Ersteres lässt sich mit der höheren Aktivität in den Ansätzen erklären, durch die andere Prozesse stärker am H_2-Verbrauch beteiligt waren. So wurden hier bereits nach 13 Tagen im Mittel 2,1 μmol Methan gebildet, was bei 20°C nicht der Fall war. Möglich ist auch, dass die ethenogenen Mikroorganismen ein anders Tempera-

turoptimum besitzen. Für *Dehalococcoides ethenogenes* Stamm 196 dürfte das jedoch nicht zutreffen, da dieser bei 35°C angereichert wurde [MAYMO-GATELL ET AL. 1995]. Der Anstieg der H_2-Konzentration ist mit der Verwendung alternativer e^--Donatoren zu erklären. Diese können entweder zuvor gebildet worden sein oder aus dem Zerfall von Biomasse stammen. Ähnliche Überlegungen sind schon von YANG & MCCARTY [1998] angestellt worden. Dass viele H_2-verbrauchende Bakterien auch in der Lage sind, geringe Mengen an H_2 zu produzieren, wenn sie heterotroph wachsen, erwähnt CONRAD [1996].

In beiden Tripletts (20°C und 30°C) wurde nach dem jeweiligen Minimum der H_2-Konzentration Methan gebildet bzw. die Methanogenese fortgesetzt. Es liegt nahe, dass ein anderes Substrat benutzt wurde, wahrscheinlich Acetat, was zuvor mit H_2 und Carbonat gebildet wurde. In jeweils zwei von drei Ansätzen nahm die anfängliche Acetat-Konzentration von im Mittel 2,1 ppm auf im Mittel 0,85 ppm ab, was einem Verbrauch von ca. 1 μmol entspricht. Für die Bildung von 6 bzw. 12 μmol Methan wäre das nicht ausreichend gewesen. Zu Versuchsbeginn könnte eine Acetogenese stattgefunden haben. Acetat wurde jedoch nur zu Versuchsbeginn und am Ende bestimmt, so dass dies nicht belegt werden kann.

Im 20°C-Triplett schritt parallel zur Methanogenese die Dechlorierung von cDCE zu VC und Ethen fort, was in den 30°C-Ansätzen nicht der Fall war. Das heißt, dass hier Wasserstoff den entscheidenden e^--Donator für die Dechlorierung darstellt. Eine Dechlorierung zu Ethen mit anderen Elektronendonatoren ist noch nicht beschrieben worden. Die Dechlorierung mit Acetat ist nur in Ausnahmefällen beobachtet worden [z. B. KRUMHOLZ ET AL. 1996]. Hierbei wurde PCE von einer Reinkultur (Stamm TT4B) zu cDCE dechloriert. Eine Dechlorierung zu Ethen mit Acetat als e^--Donator konnte in Versuchen von YANG & MCCARTY [1999] nicht beobachtet werden. Für die Anreicherung von *Dehalococcoides ethenogenes* diente Acetat nur als C-Quelle [MAYMO-GATELL ET AL. 1995, 1997], nicht jedoch als Elektronendonator.

Nach 7 Wochen wurden die 5°C-Ansätze bei 20°C gelagert, innerhalb von 2,5 Wochen setzte hier aber keine Aktivität (H_2-Abnahme oder Dechlorierung) ein.

Viele Untersuchungen zur Dechlorierung sind bei Raumtemperatur bzw. Temperaturen zwischen 20°C und 37°C durchgeführt worden. Einige Autoren konnten auch eine Dechlorierung unter grundwassernahen Bedingungen zeigen. So wurden von CARTER & JEWELL [1993] Säulenversuche bei 15°C durchgeführt, bei denen 98 % der Ausgangssubstanzen PCE und TCE zu niedriger chlorierten Ethenen bzw. Ethen abgebaut wurden. Das Hauptprodukt war Vinylchlorid. KOMATSU ET AL. [1994] untersuchten die Dechlorierung von cDCE bei verschiedenen Temperaturen mit einer anaeroben Anreicherungskultur. Dabei wurde eine optimale Umsetzung bei 25°C beobachtet. Auch bei 15°C und sogar bei 7°C erfolgte ein akzeptabler Abbau (80 % bzw. 50 % Abbau in 20 Tagen). Dagegen wurde bei 35°C so gut wie kein Abbau festgestellt. Es wird vermutet, dass bei diesen Temperaturen methanogene Organismen eine größere Rolle spielen, was auch die Versuche in dieser Arbeit bestätigen. Die Temperaturabhängigkeit der methanbildenen Reaktionen ist auch durch andere Studien belegt. Nach FEY & CONRAD [2004] ist der Anteil der acetotrophen Methanogenese bei tiefen Temperaturen (10°C) höher als der der hydrogenotrophen. Das heißt, unter den üblichen Temperaturen im Grundwasser stellen die Methanogenen eine geringere Konkurrenz für dechlorierende Organismen dar. Methan wird jedoch trotzdem, nämlich acetotroph produziert. Für die Praxis bedeutet das, dass niedrige H_2-Konzentrationen und

eine parallele Methanogenese sich nicht ausschließen. In den Untersuchungen mit der Reinkultur *Methanosarcina mazei* wurde eine Art Schwellwert für die Acetatkonzentration bei der acetotrophen Methanogenese festgestellt (Abschnitt 4.2.1.2). Es kann daher die Hypothese aufgestellt werden, dass bei der Identifizierung von Redoxzonen im Grundwasser auch andere Eduktkonzentrationen herangezogen werden müssen. Dazu könnte neben Wasserstoff und Acetat auch Formiat gehören. Diese Überlegung korrigiert das bisherige Modell, wie es in Abbildung 2.4 in Abschnitt 2.6.5 vorgestellt wurde und kann Überlappungen von Redoxzonen erklären. Damit wird auch der Kritik am Modell der Identifizierung über die H_2-Konzentration durch JAKOBSEN ET AL. [1998] und CHRISTENSEN ET AL. [2000] Rechnung getragen.

In diesem Zusammenhang muss darauf verwiesen werden, dass Acetat für die Dechlorierung keine Rolle spielt bzw. nur als C-Quelle benötigt wird (siehe Abschnitt 4.2.3.10). Untersuchungen zu Schwellwerten der Formiat-Konzentration sind nicht bekannt. Von SCHINK [1997] wird jedoch auch ein Formiat-Transfer bei methanogenen Organismen beschrieben. Die in dieser Arbeit verwendete Reinkultur *Sulfurospirillum multivorans* kann Formiat als e^--Donator nutzen [SCHOLZ-MURAMATSU ET AL. 1995], *Dehalococcoides ethenogenes* hingegen nicht [MAYMO-GATELL ET AL. 1997]. SUNG ET AL. [2003] beschrieben wiederum zwei PCE-abbauende Bakterien (*Desulfuromonas michiganensis* sp. nov), die Acetat oxidieren können, H_2 und Formiat jedoch nicht. Es muss also bei der Charakterisierung der Abbaubedingungen für LCKW im Grundwasser berücksichtigt werden, dass durch die Vielfalt der Stoffwechselprozesse die H_2-Konzentration nicht als alleiniges Kriterium benutzt werden kann.

4.2.3.9 Dechlorierung mit verschiedenen Elektronendonatoren

Die Bestimmung von H_2-Schwellwertkonzentrationen mit H_2 als e^--Donator lässt nur eine Feststellung der Endkonzentration an H_2 zu. Das heißt, wenn diese erreicht wird, findet in der Regel auch kein Redoxprozess mehr statt. Um die H_2-Konzentration während des Redoxprozesses zu beobachten, wurden in diesem Versuch zum Vergleich Lactat und Propionat als Elektronendonatoren eingesetzt.

Mit Wasserstoff stellte sich bei der Dechlorierung von VC zu Ethen eine H_2-Konzentration von 1-2 nM ein (Abbildung 4.54). Dass die Dechlorierung über einen langen Zeitraum bei dieser Konzentration fortschritt, kann nur damit erklärt werden, dass in der Startphase mit dem im Überschuss vorhandenen Wasserstoff andere Elektronendonatoren gebildet worden sind. Durch Vergärung dieser e^--Donatoren stand weiterhin H_2 für die Dechlorierung von VC zur Verfügung. Bei der Nutzung von Lactat verlief die Dechlorierung schneller als mit H_2. Auch hier wurde bei der Dechlorierung von VC zu Ethen eine H_2-Konzentration zwischen 1 und 2 nM gemessen. Nach vollständiger VC-Dechlorierung kam es, wie auch in anderen Versuchen (vergleiche Abschnitt 4.2.3.7) zu einem sprunghaften Anstieg der H_2-Konzentration auf ca. 16 nM, was auf Methanogenese als Folgeprozess hindeutet. Propionat wurde, wie auch schon von YANG & MCCARTY [1998] untersucht, am langsamsten vergoren. Entsprechend verlief auch die Dechlorierung langsamer (Abbildung 4.54). Die H_2-Konzentration sank zwar zunächst während der PCE-Dechlorierung auf ein Niveau von ca. 2 nM, stieg aber im weiteren Versuchsverlauf an, so dass sich daraus keine H_2-Schwellwerte ableiten lassen. Obwohl also bei der Vergärung von Propionat die geringsten

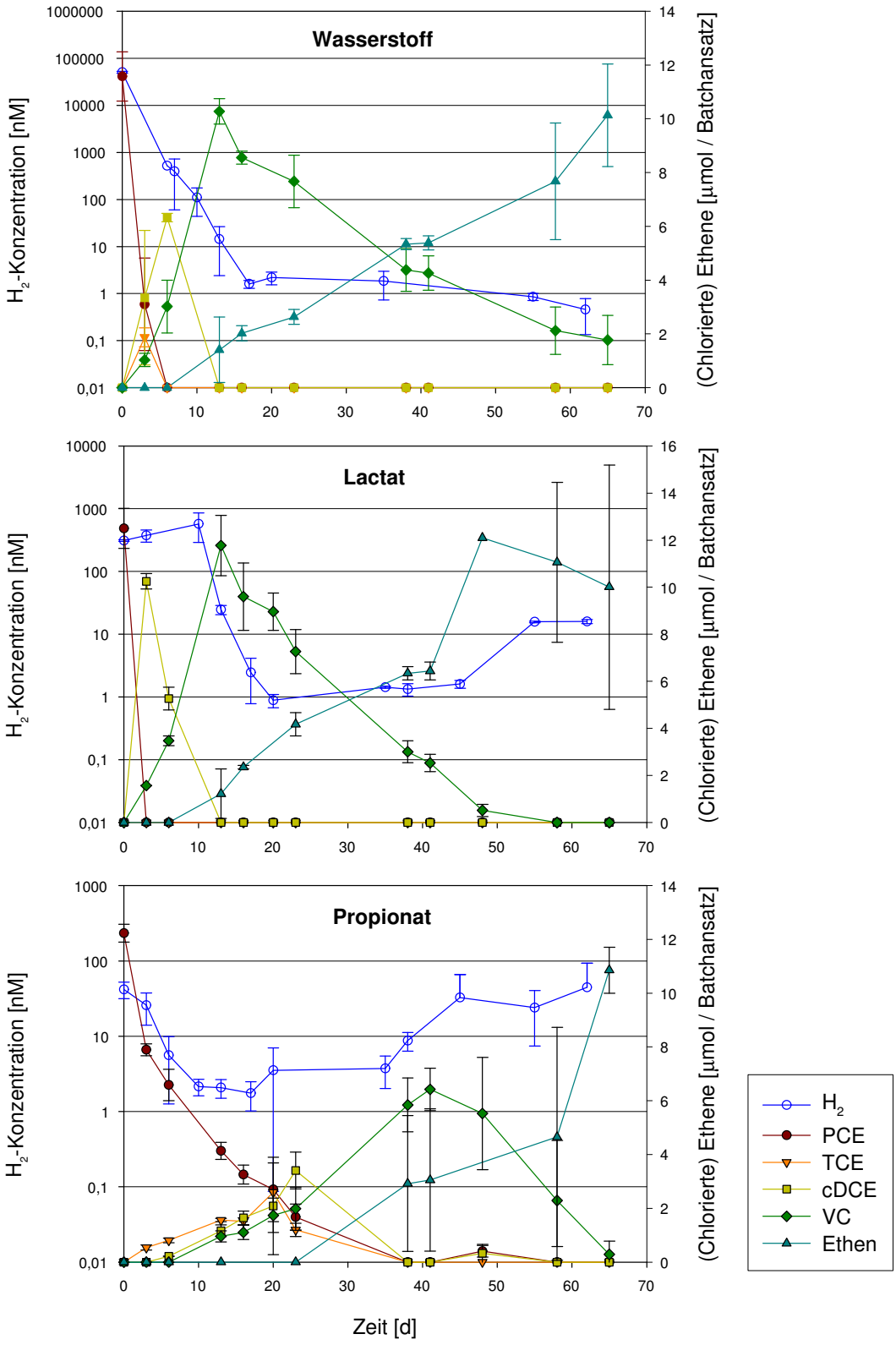


Abbildung 4.54: H_2-Konzentrationen bei der Dechlorierung von PCE mit 5 ml H_2, Lactat und Propionat (jeweils 1mM), Ti(III)-NTA als Reduktionsmittel

H_2-Mengen freigesetzt wurden - die Konzentration lag hier auch zu Beginn unter 100 nM - und eine langsame Vergärung die Beobachtung der H_2-Konzentration bei verschiedenen Redoxprozessen begünstigt hätte, kann aus dem Verlauf der H_2-Konzentration und den parallel stattfindenden Dechlorierungsteilschritten kein Zusammenhang abgeleitet werden.

4.2.3.10 Acetat als Kohlenstoffquelle bei der Dechlorierung von PCE

Vor dem Hintergrund von geplanten Säulenversuchen, bei denen ein Medium mit Phosphatpuffer eingesetzt werden sollte, war in Vorversuchen eine wesentlich schlechtere Dechlorierungsleistung verglichen mit carbonatgepufferten Batchansätzen beobachtet worden. Deshalb wurde in diesem Versuch Acetat (1 mM, entspricht 60 ppm) als C-Quelle in einem Medium mit Phosphatpuffer eingesetzt. Parallel wurde ein Triplett mit Acetat aber ohne PCE mitgeführt.

Wie zu erwarten, war die Aktivität in den Ansätzen ohne Acetat als C-Quelle geringer. Das zeigte sich einerseits am langsameren Verbrauch des Wasserstoffs (Abbildung 4.55), aber auch an einer geringeren Dechlorierungsleistung (Abbildung 4.56). In den Ansätzen mit

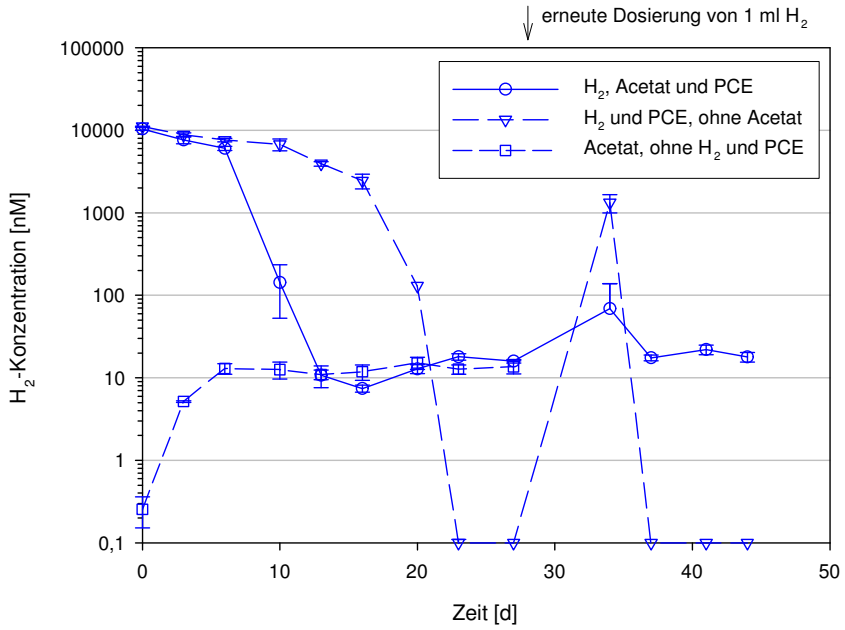


Abbildung 4.55: Verlauf der H_2-Konzentration in Batchansätzen mit phosphatgepuffertem Medium bei der Dechlorierung von PCE mit und ohne Acetat sowie nur mit Acetat

Acetat fand ab dem 10. Tag nur noch eine schwache Dechlorierung von VC zu Ethen statt. Nach erneuter H_2-Dosierung an Tag 28 verlief diese schneller. Dazwischen wurden H_2-Konzentrationen im Bereich 7-20 nM gemessen. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu Beobachtungen bei der Dechlorierung von VC (siehe Abschnitt 4.2.3.2 und Abbildung 4.34), wo die H_2-Konzentration unter 2 nM lag. Im gleichen Zeitraum wurde parallel Methan gebildet (Abbildung 4.56), was aufgrund des fehlenden Carbonats nur auf eine acetotrophe

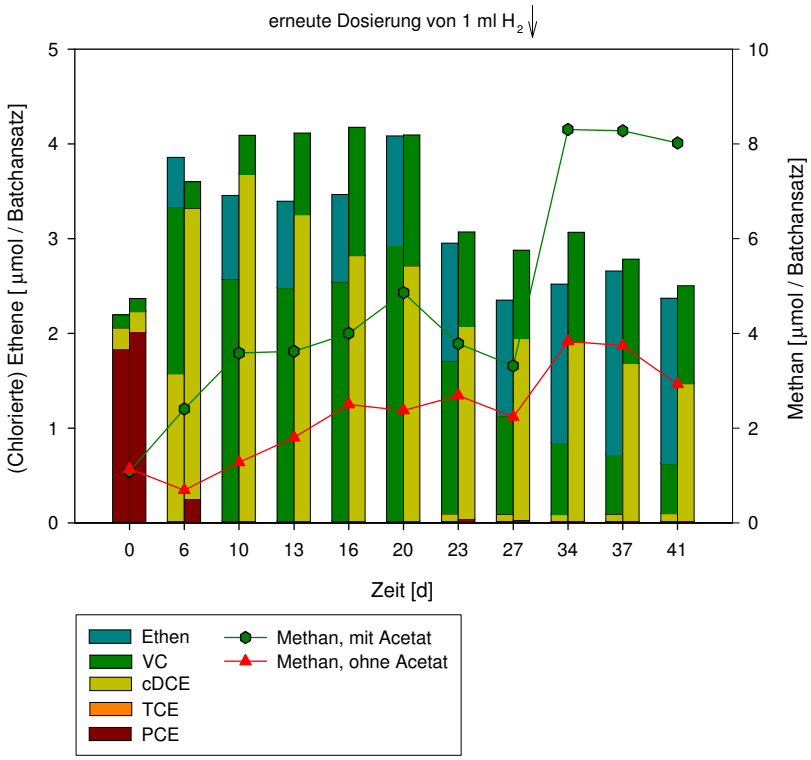


Abbildung 4.56: Dechlorierung von PCE und Methanogenese in Batchansätzen mit phosphatgepuffertem Medium mit und ohne Acetat (linke/rechte Balken)

Methanogenese zurückgeführt werden kann. Die H_2-Konzentrationen decken sich mit Werten, wie sie auch während der Methanogenese (Abschnitt 4.2.3.7, Abbildungen 4.49 und 4.50) gemessen werden. Eine Erklärung für dieses Verhalten wäre eine cometabolische Reduktion von VC. Dagegen spricht jedoch eine verstärkte Dechlorierungsreaktion nach der H_2-Zugabe. Auf der anderen Seite stieg die H_2-Konzentration im parallelen Triplett ohne PCE ebenfalls auf $13{,}0 \pm 1{,}9$ nM und blieb über drei Wochen bis Versuchsende auf diesem Niveau (Abbildung 4.55). Eine Methanbildung war in diesem Triplett quantitativ kaum feststellbar, unter Umständen sind geringe Mengen gebildet worden. Die Acetatkonzentration nahm hier von im Mittel 57,8 ppm in drei Wochen auf 52,0 ppm ab, im Triplett mit PCE auf 49,8 ppm. In letzterem sank sie nach erneuter H_2-Dosierung auf 16,6 ppm zu Versuchsende. Da das H_2-Niveau um 10 nM unabhängig von der Anwesenheit von PCE auftritt, steht es nicht mit der Dechlorierung im Zusammenhang.

Die in den Ansätzen mit PCE und Acetat beobachtete Acetatreduktion vor der zweiten H_2-Dosierung entspricht einer Stoffmenge von ca. 6,5 μmol. Dem gegenüber stehen knapp 5 μmol gebildetes Methan am 20. Tag, was auf eine stöchiometrische Umsetzung durch acetotrophe Methanogenese hindeutet. Die weitere Abnahme um 27,5 μmol Acetat bis zu Versuchsende spiegelt sich aber nicht in einer entsprechenden Methanproduktion wider. Das heißt, Acetat könnte hier mit dem Wasserstoff zu anderen, nicht nachgewiesenen Verbindungen umgesetzt worden sein und das H_2-Niveau > 10 nM ist für diese Reaktion charakteristisch. Hier könnte es sich auch um Reaktionen des Anabolismus handeln.

Was an diesem Versuch auch deutlich wird, ist, dass Acetat selbst nicht als Elektronendo-

nator oder Quelle für Elektronendonatoren dient, sondern lediglich als C-Quelle benötigt wird. Dass Acetat kein e^--Donator für die Dechlorierung darstellt, wurde bereits von anderen Autoren [BOUWER & MCCARTY 1983; VOGEL & MCCARTY 1985; FATHEPURE & BOYD 1988; FREEDMAN 1989] beobachtet. In jüngeren Experimenten wurde dies auch von YANG & MCCARTY [1998] festgestellt und diskutiert [DOLFING 1999; YANG & MCCARTY 1999]. In Ansätzen mit Hefeextrakt und mit/ohne Acetat fand eine Dechlorierung zu Ethen statt, während nur mit Acetat nicht dechloriert wurde. In den Kulturen, die Wasserstoff als e^--Donator erhalten, wird Acetat lediglich als C-Quelle benötigt [ZHENG ET AL. 2001]. In Ansätzen ohne H_2 fand auch keine Dechlorierung fand.

Das Triplett ohne Acetat wies ab Tag 23/27 Undichtigkeiten auf, was an der Rosafärbung des Redoxindikators Resazurin zu erkennen war. Das erklärt das Absinken der H_2-Konzentration unter die Nachweisgrenze. Ein H_2-Schwellwert war hier somit nicht feststellbar.

4.2.3.11 Hemmung der Dechlorierung durch Ethin

Ethin ist in der Lage, die Dechlorierung von TCE und VC zu hemmen [PON ET AL. 2003]. Im Bereich von Natural Attenuation kann der Einsatz von Ethin nach Ansicht der Autoren als Werkzeug zum Nachweis von biologischen Dechlorierungsprozessen eingesetzt werden. In Batchversuchen würde die Dechlorierung durch die Zugabe von Ethin gestoppt und nach Entfernen des Gases erneut beginnen. Ein anderer Hintergrund für Untersuchungen mit Ethin ist die Tatsache, dass bei der reduktiven Dechlorierung mit elementarem Eisen ebenfalls Ethin gebildet werden kann [ROSENTHAL 2004]. In diesem Zusammenhang könnte eine erhöhte Ethin-Konzentration die parallele Dechlorierung durch Mikroorganismen hemmen. Nach ARNOLD & ROBERTS [2000] stellt Ethin jedoch nur ein Zwischenprodukt auf dem Weg der Dechlorierung mit Fe^0zu Ethen und Ethan dar. Zusätzlich wurde eine mögliche Endprodukthemmung durch hohe Ethen-Konzentrationen untersucht.

In diesem Versuch wurden zu Beginn in ein Triplett mit PCE als Elektronenakzeptor 0,6 ml Ethin und in Tripletts mit PCE bzw. cDCE 3,1 ml Ethen injiziert. Unter Einbeziehung des Verteilungsgleichgewichtes entspricht das für beide Stoffe einer theoretischen Konzentration von 200 μmol/l in der Flüssigphase.

In Abbildung 4.57 ist ein deutlicher Unterschied im Verlauf der H_2-Konzentration erkennbar. Beim Einsatz von Ethin sank diese wesentlich langsamer als in den Tripletts mit Ethen. Auch ein Schwellwert-Niveau ist nicht erkennbar. Dagegen stellten sich in den Ansätzen mit Ethen vor einer erneuten H_2-Dosierung H_2-Konzentrationen zwischen 1,5 und 3 nM ein. Diese Werte liegen etwas über denen in Abschnitt 4.2.3.2 gezeigten H_2-Konzentrationen für die Dechlorierung verschiedener chlorierter Ethene. Dies könnte auf eine Hemmung durch Ethen hindeuten. Gestützt wird diese Vermutung auch durch die stöchiometrische Umsetzung von cDCE zu VC ohne weiteren Abbau (Abbildung 4.59).

Eine Hemmung durch Ethin trat in diesem Versuch nicht auf. Im Gegenteil, bei mittleren PCE-Gehalten von 3,7 μmol in den Ansätzen mit Ethen und 4,2 μmol in den Ansätzen mit Ethin (Kontrolle: 3,8 μmol) fiel die Dechlorierungsleistung in Anwesenheit von Ethin sogar höher aus (vergleiche rechte Balken in Abbildung 4.58). Zu vermuten ist, dass das langsamere Absinken der H_2-Konzentration mit Ethin auf die Hemmung konkurrierender

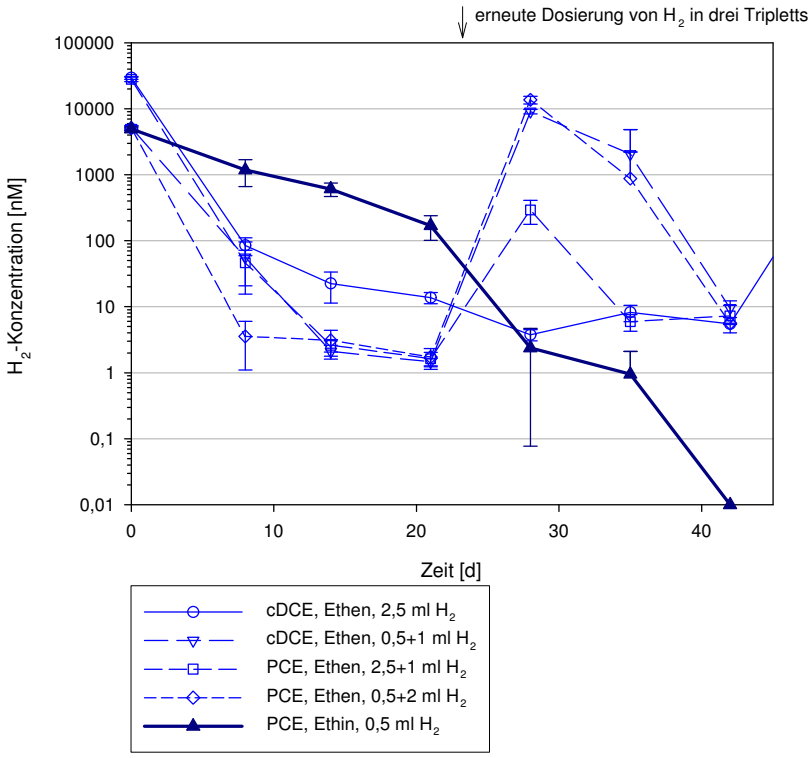


Abbildung 4.57: Verläufe der H_2-Konzentration bei der Dechlorierung von PCE und cDCE unter Zugabe von Ethen bzw. Ethin und unterschiedlichem H_2-Einsatz

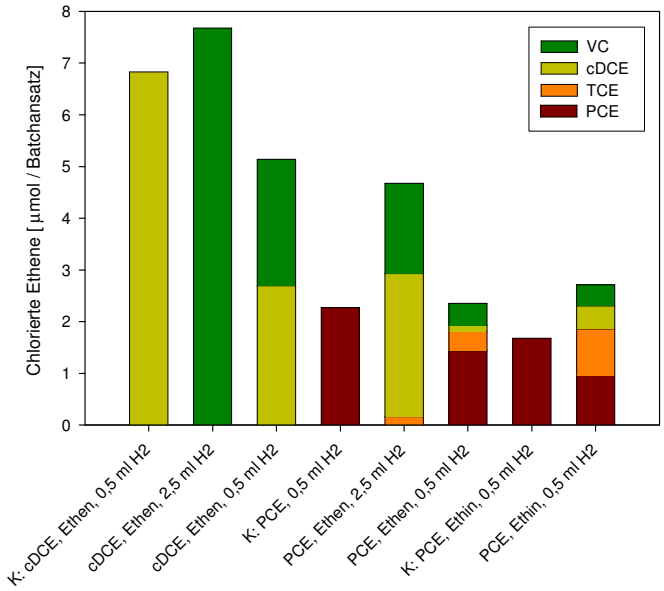


Abbildung 4.58: Stand der Dechlorierung nach 3 Wochen in Batchansätzen mit PCE und cDCE unter Zugabe von Ethen bzw. Ethin und unterschiedlichem H_2-Einsatz; K: Kontrollansätze ohne dechlorierende Mischkultur

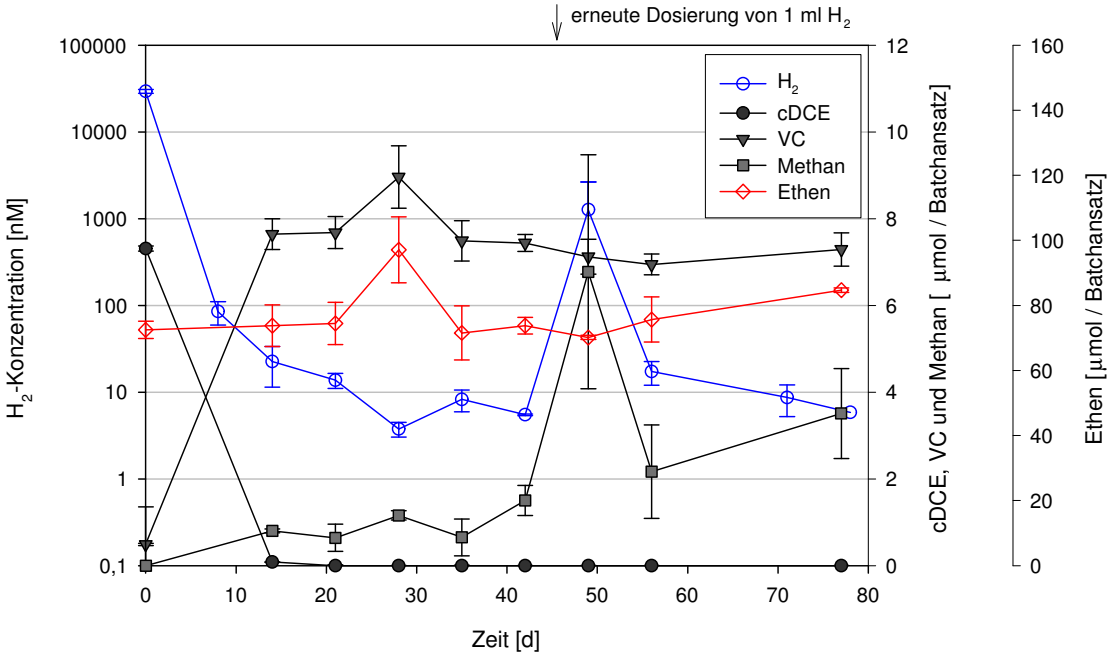


Abbildung 4.59: Dechlorierung in Batchansätzen mit cDCE und 2,5 ml H_2 unter Zugabe von Ethen

Redoxprozesse zurückzuführen ist, die in den Ansätzen mit Ethen dagegen stattgefunden haben. Hierbei könnte es sich um Acetogenese oder Methanogenese handeln. Methan entstand jedoch in den Ansätzen mit PCE und 0,5 ml H_2 erst nach erneuter H_2-Dosierung in nachweisbaren Mengen. Acetatmessungen zu Versuchsende ließen keinen Rückschluss auf Acetogenese zu.

Das Triplett, welches cDCE und 2,5 ml H_2 sowie Ethen enthielt, wies im Unterschied zu den anderen Tripletts über den gesamten Versuchszeitraum eine H_2-Konzentration größer 3 nM auf. Abgesehen vom Messwert nach der H_2-Zugabe lag sie über 9 Wochen zwischen 4 und 17 nM. Diese Werte deuten auf Methanogenese als dominierendem TEAP hin. Tatsächlich wurde nur in diesem Triplett von Beginn an Methan gebildet. In den cDCE-Ansätzen mit 0,5 ml H_2 blieb die Dechlorierung zu VC zunächst unvollständig, die H_2-Konzentration lag bei 1,4-2,5 nM. Nach der Zugabe von 1 ml H_2 wurde cDCE vollständig umgesetzt und die H_2-Konzentration stagnierte auf ähnlichem Niveau (6-13 nM) wie zuvor beschrieben.

4.2.3.12 Einfluss der Lagerung von Batchansätzen auf die Dechlorierung

In der Regel werden Batchansätze bei Untersuchungen zum biologischen Schadstoffabbaus geschüttelt oder gerührt. Dies war aufgrund bestimmter Bedingungen in dieser Arbeit (große Anzahl von Ansätzen, Lagerung bei verschiedenen Temperaturen) nicht immer möglich. Ein Vergleich von Tripletts, die 0,1 ml, 0,25 ml sowie 0,5 ml H_2 und PCE enthielten, ergab, dass die Dechlorierung schneller und effizienter verläuft, wenn die Ansätze nicht geschüttelt werden (siehe Tabelle 4.8). In den nicht geschüttelten Ansätzen wurde

ein größerer Anteil des Wasserstoffs für die Dechlorierung verwendet und der Wasserstoff langsamer verbraucht.

Tabelle 4.8: Dechlorierung bei stehenden und geschüttelten Ansätzen (grau hinterlegt). H_2-Einsatz und anteiliger Verbrauch für Dechlorierungsprozesse (in μmol) sowie Dauer bis zum Erreichen der H_2-Schwellwerte

H_2-Dosierung	5,1		10,2		20,4	
H_2-Äquivalente für cDCE-Bildung	2,9	4,0	5,4	7,0	8,2	7,2
H_2-Äquivalente für VC-Bildung			0,6	0,6	0,6	2,1
Dauer bis H_2 < 1 nM	7-9 d	9 d	9 d	14 d	9 d	14 d

Wenn die Ansätze bewegt werden, findet eine ständige Durchmischung und damit eine gleichmäßigere Verteilung von Wasserstoff und den chlorierten Kohlenwasserstoffen statt. Dies hat zur Folge, dass bei direkter H_2-Dosierung zu Beginn der Versuche auch in der Flüssigkeit eine hohe H_2-Konzentration vorhanden ist. Es bildet sich kein Gradient aus. Da der Abbau der LCKW in der Flüssigphase stattfindet, sind die dechlorierenden Organismen aufgrund ihrer hohen Affinität zu Wasserstoff gegenüber Methanogenen oder Acetogenen im Vorteil, wenn sich ein Konzentrationsgefälle ausbildet.

Praktische Bedeutung hat dieses Verhalten für die Abbildung realer Prozesse mit Hilfe von Laborversuchen. Bei nicht bewegten Versuchsansätzen ist eine Vergleichbarkeit mit den Verhältnissen im Grundwasserleiter eher gegeben. Aus dieser Sicht sind Säulenversuche am besten geeignet, reale Bedingungen zu simulieren. Für die Ermittlung von Wasserstoff-Schwellwertkonzentrationen sind sie jedoch nicht praktikabel, da für die Probenahmen ein gasförmiger Headspace benötigt wird. Eine an Feldbedingungen angelehnte Probenahme mittels Extraktion über die Gasphase wie in Abschnitt 2.7 beschrieben, würde Säulenvolumina von ca. 50 l erfordern.

4.2.4 H_2-Schwellwerte in einer dechlorierenden Mischkultur

Die Wasserstoff-Schwellwerte, die sich für unterschiedliche Redoxprozesse mit der dechlorierenden Mischkultur ergeben haben sind in Tabelle 4.9 zusammengefasst.

Im Vergleich zu den Ergebnissen mit den Reinkulturen *Sulfurospirillum multivorans*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *Methanosarcina mazei* und *Methanospirillum hungatei* in Abschnitt 4.2.2 liegen die H_2-Schwellwertkonzentrationen für die betrachteten Redoxprozesse mit der Mischkultur deutlich niedriger. Lediglich bei der Dechlorierung in Ansätzen mit zwei Reinkulturen (*Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei*) wurden die selben H_2-Niveaus von 1-2 nM ermittelt. War *Sulfurospirillum multivorans* als einziger Organismus vorhanden, so fand eine Dechlorierung von PCE nur oberhalb von 10 nM statt bzw. sank die H_2-Konzentration nach Zugabe von PCE auf diesen Wert. Für die Sulfatreduktion mit *Desulfovibrio desulfuricans* lag der H_2-Schwellwert bei ca. 20 nM. Bis zu diesem Wert wurde die H_2-Konzentration auch bei der hydrogenotrophen Methanogenese durch *Methanosarcina mazei* gesenkt.

Tabelle 4.9: Wasserstoff-Schwellwerte für unterschiedliche Redoxprozesse mit der dechlorierenden Mischkultur

Redoxprozess	H_2-Schwellwert	Bemerkungen
Denitrifikation	$< 0{,}16$ nM	Werte unterhalb der Nachweisgrenze
Sulfatreduktion	3,1-3,5 nM	In einigen Versuchen wurden auch Werte zwischen 0,6 und 1,8 nM gemessen. Diese sind aber Einzelwerte und daher nicht unbedingt repräsentativ.
Dechlorierung	1-2 nM	H_2-Konzentrationen in diesem Bereich wurden für alle Dechlorierungsschritte bis zu Ethen gemessen. Vereinzelt traten auch Konzentrationen zwischen 3 und 7 nM bei der Dechlorierung von cDCE auf.
Methanogenese	7-9 nM	Dieses H_2-Niveau gilt für die hydrogenotrophe Methanogenese. Parallel zur acetotrophen Methanogenese traten H_2-Niveaus > 10 nM, teils bis 30 nM auf, die aber nur mittelbar mit der Methanbildung im Zusammenhang stehen können.

Die Diskrepanz dieser H_2-Konzentrationen als Schwellwerte für die entsprechenden Redoxprozesse lässt sich am ehesten damit erklären, dass in der Mischkultur andere Mikroorganismen für die Absenkung auf die tieferen H_2-Niveaus verantwortlich sind. Da auch bei der Dechlorierung von cDCE und VC zu Ethen H_2-Konzentrationen von 1-2 nM auftreten, würde das bedeuten, dass *Dehalococcoides ethenogenes* bei direkter Konkurrenz mit *Sulfurospirillum multivorans* im Vorteil wäre. Ein H_2-Schwellwert für die Reinkultur *Dehalococcoides ethenogenes* konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht ermittelt werden. Aufgrund der bisher in der Regel beobachteten schnelleren und bevorzugten Dechlorierung von PCE und TCE gegenüber der Dechlorierung von cDCE und VC erscheint diese Erklärung nicht plausibel. Gleiches gilt vermutlich auch für die Sulfatreduktion, für die H_2-Schwellwerte bei Reinkulturen in der Literatur nicht vorliegen. An dieser Stelle besteht weiterer Forschungsbedarf, insbesondere, was H_2-Schwellwertkonzentrationen bei Reinkulturen betrifft. Dieser Bedarf bestätigt sich auch im Hinblick auf Untersuchungen mit Reinkulturen, darunter *Sulfurospirillum multivorans*, durch LUIJTEN ET AL. [2004], die H_2-Konzentrationen von 0,05 bis 0,08 nM gemessen haben, die zwei Größenordnungen unter den hier beobachteten 10 nM liegen. Diese Konzentrationen liegen unterhalb der Nachweisgrenze des in dieser Arbeit verwendeten Messgerätes. Sie wurden als Konzentrationsniveaus weder bei Reinnoch bei Mischkulturen gemessen bzw. als ständiges Absinken unter die Nachweisgrenze innerhalb der Dechlorierungsphase beobachtet.

Berücksichtigt man die Tatsache, dass Hydrogenasen zumeist reversible Reaktionen katalysieren, also sowohl die Oxidation als auch die Bildung von Wasserstoff ermöglichen [VIGNAIS ET AL. 2001] und den Fakt, dass die Enzyme bei allen genannten H_2-Konzentrationen im nanomolaren Bereich nicht am thermodynamischen Limit arbeiten [HEIMANN & JAKOBSEN 2006], könnte es sich bei den in dieser Arbeit gemessenen Konzentrationen für Reinkulturen auch um Gleichgewichtskonzentrationen der jeweiligen Hydrogenasen handeln. Welche Prozesse hier stattfinden und welche Faktoren diese Gleichgewichtskonzentrationen bestimmen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

4.3 Rolle des DOC für den natürlichen Abbau von LCKW

Mit LCKW-kontaminiertem Grundwasser vom Standort Hannover-Südstadt wurden Untersuchungen zur Nutzung des vorhandenen DOC durchgeführt.

4.3.1 Aerobes Nutzungspotenzial des DOC

Wie in Abschnitt 2.6.4 beschrieben, besteht der DOC aus biologisch abbaubarem und refraktionären DOC. Um neben der anaeroben DOC-Nutzung auch ein aerobes Nutzungspotenzial zu ermitteln, wurde im kontaminierten Grundwasser der BSB_∞ (über 70 Tage) bestimmt. Abbildung 4.60 zeigt den Verlauf der O_2-Konzentration während der BSB-Bestimmung. Abzüglich der Reduktion in den Kontrollen von $0{,}65 \pm 0{,}07$ mg/l ergab sich für das Grundwasser der Messstelle 36442 ein BSB_∞ von 4,05 $\pm 0{,}78$ mg/l und an der Messstelle 180928 ein BSB_∞ von 2,62 $\pm 0{,}25$ mg/l. Das Ergebnis zeigt, dass unter aeroben Bedingungen ein Teil des DOC biologisch genutzt werden kann. Entsprechend ist auch ein anaerober Abbau zu erwarten.

4.3.2 Anaerobe DOC-Nutzung

Die Ansätze für diesen Versuch wurden wie in Abschnitt 3.5.2 beschrieben hergestellt. Die autochthonen Ansätze enthielten die am Standort vorhandenen Mikroorganismen, allochthone Ansätze die dechlorierende Mischkultur. Da für die DOC-Probenahme große Mengen an Flüssigkeit benötigt wurden, wurden zu Beginn mehrere Tripletts angesetzt und diese dann nach der DOC-Probenahme verworfen. Die in Abbildung 4.61 dargestellten Werte setzen sich folglich aus mehreren Tripletts zusammen, die gleich zu Beginn, nach 7, 21, 42 und 70 Tagen beendet wurden.

Im Vergleich zu den Kontrollen war in allen Versuchsansätzen eine biologische Aktivität erkennbar. Deutlich wird das vor allem durch zu Beginn leicht angestiegene H_2-Konzentrationen. Im Fall der Messstelle 36442 enthielt das Grundwasser auch eine geringe Mengen Nitrat, welche in den biologischen Ansätzen schnell reduziert wurden. Im Anschluss daran stieg auch die H_2-Konzentration auf Werte um 1 nM, wie sie bei der Dechlorierung von cDCE auftreten (siehe Abschnitt 4.2.3.7 und Abbildung 4.47). Eine Dechlorierung selbst ließ sich aufgrund insgesamt sehr geringer Konzentrationen infolge der Begasung nach dem Abfüllen und offensichtlich sehr geringen Mengen an biologisch abbaubarem DOC nicht nachweisen.

In den Ansätzen der Messstelle 180928, die zusätzlich Pyruvat als e^--Donator enthielten, wurden in einzelnen Ansätzen nach 7 und 14 Tagen bis zu 4 nM H_2 gemessen, eine Dechlorierung wurde jedoch auch hier nicht beobachtet. Pyruvat wurde in 28 Tagen verbraucht und die DOC-Konzentration näherte sich mit 6-7 mg/l der Ausgangskonzentration von 4-5 mg/l an.

Die Hintergrundkonzentration an Sulfat lag an dieser Messstelle über 250 mg/l (siehe Tabelle 4.4). Die Fähigkeit der dechlorierenden Mischkultur, die als Inokulum verwendet wurde, Sulfat zu reduzieren, wurde in Vorversuchen nachgewiesen. Dennoch konnte in den

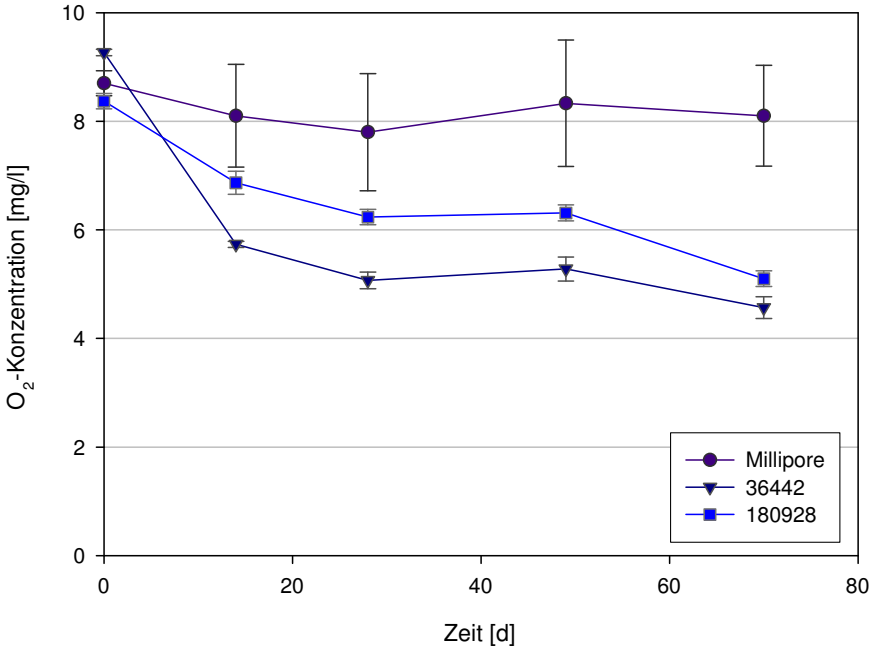


Abbildung 4.60: BSB-Bestimmung in kontaminiertem Grundwasser der Messstellen 36442 und 180928 in Hannover-Südstadt, als Kontrolle diente Millipore. [Daten aus MAROSKY & LUTZE 2005]

Ansätzen mit Pyruvat keine Sulfatreduktion festgestellt werden. Da es im Grundwasser in Hannover-Südstadt auch keine Reduktion von Sulfat gibt, sind möglicherweise spezifische Hemmstoffe enthalten. In einem weiteren Versuch, bei dem ebenfalls Pyruvat und die dechlorierende Mischkultur mit dem kontaminierten Grundwasser eingesetzt wurden, wurde zusätzlich zugegebenes TCE vollständig zu cDCE und geringen Mengen VC dechloriert. Auch hier fand keine Sulfatreduktion statt [MAROSKY & LUTZE 2005].

Obwohl eine quantitative Abnahme des DOC in den Ansätzen nicht sichtbar war, haben sich qualitative Änderungen ergeben. Das zeigt die Auswertung der LC-OCD-Messungen, die in Abbildung 4.62 dargestellt sind. Der Anteil der UV-aktiven Substanzen hat über den Versuchszeitraum in den Ansätzen mit Grundwasser der Messstelle 36442 erheblich abgenommen. Zum einen ist es zur Bildung von Huminstoffen gekommen, zum anderen deutet der Peak im Bereich der niedermolekularen, neutralen Substanzen (rechts) auf einen gewissen Umbau der hochmolekularen Substanzen hin. In den Ansätzen mit Grundwasser der Messstelle 180928 hat ebenfalls eine Umwandlung der Substanzen aus dem Bereich der Säuren (vergleiche Abbildung 3.1) hin zu ebenfalls UV-aktiven Huminstoffen, Humin- und Fulvinsäuren sowie zu nicht UV-aktiven niedermolekularen Substanzen stattgefunden.

Zusammenfassung und Diskussion der DOC-Versuche Die Ergebnisse zeigen, dass Teile des im Grundwasser vorhandenen DOC verfügbar sind. Bestätigt wird das insbesondere durch die BSB-Untersuchung und die LC-OCD-Ergebnisse. Wie hoch der Anteil des biologisch verwertbaren DOC (BDOC) im Grundwasser aus Hannover-Südstadt tatsächlich

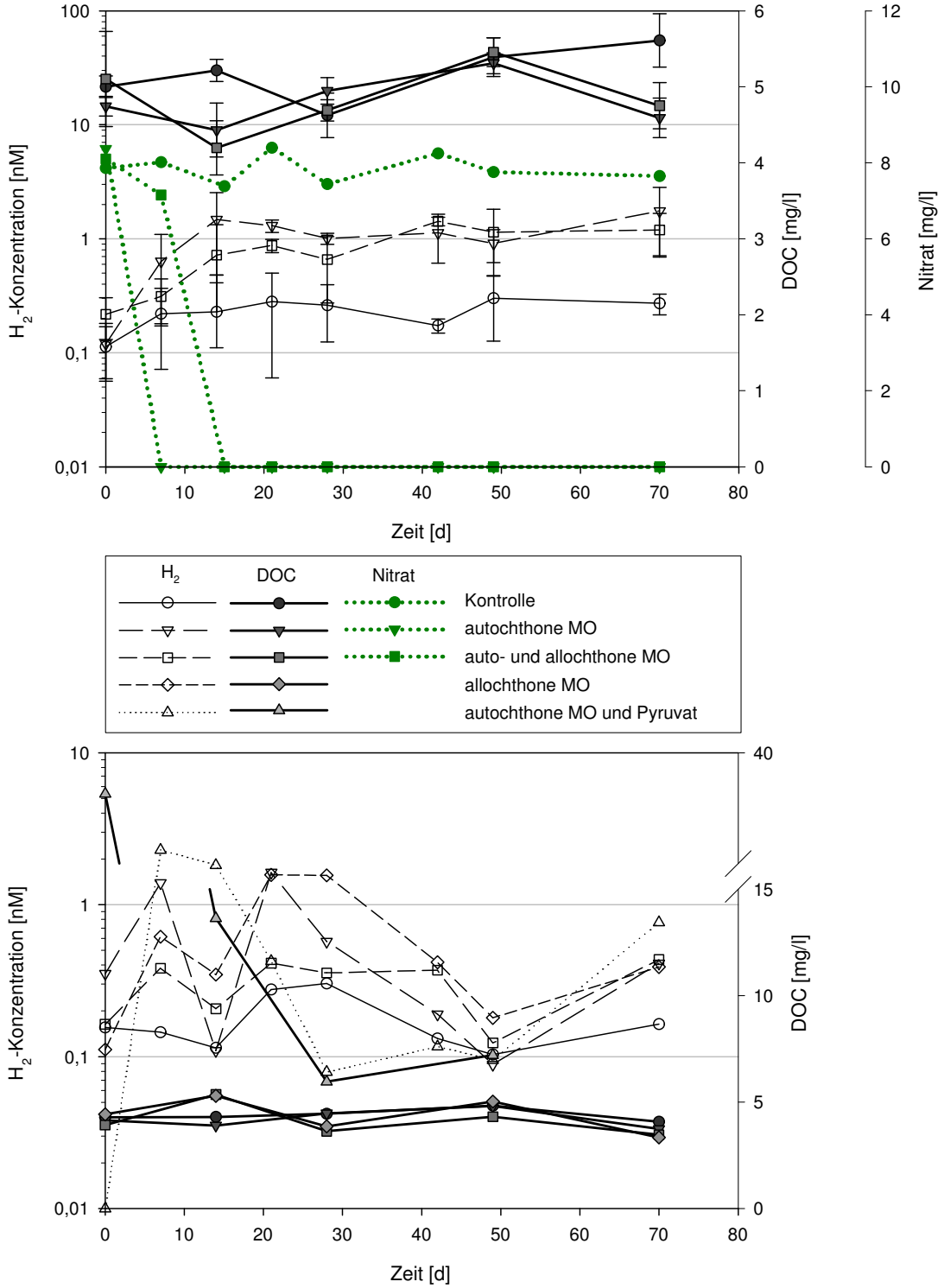


Abbildung 4.61: Verlauf der H_2-Konzentration, des DOC und Nitrat in Versuchsansätzen mit Grundwasser der Messstellen 36442 (oben) und 180928 (unten) vom Standort Hannover-Südstadt. [Daten aus MAROSKY & LUTZE 2005]

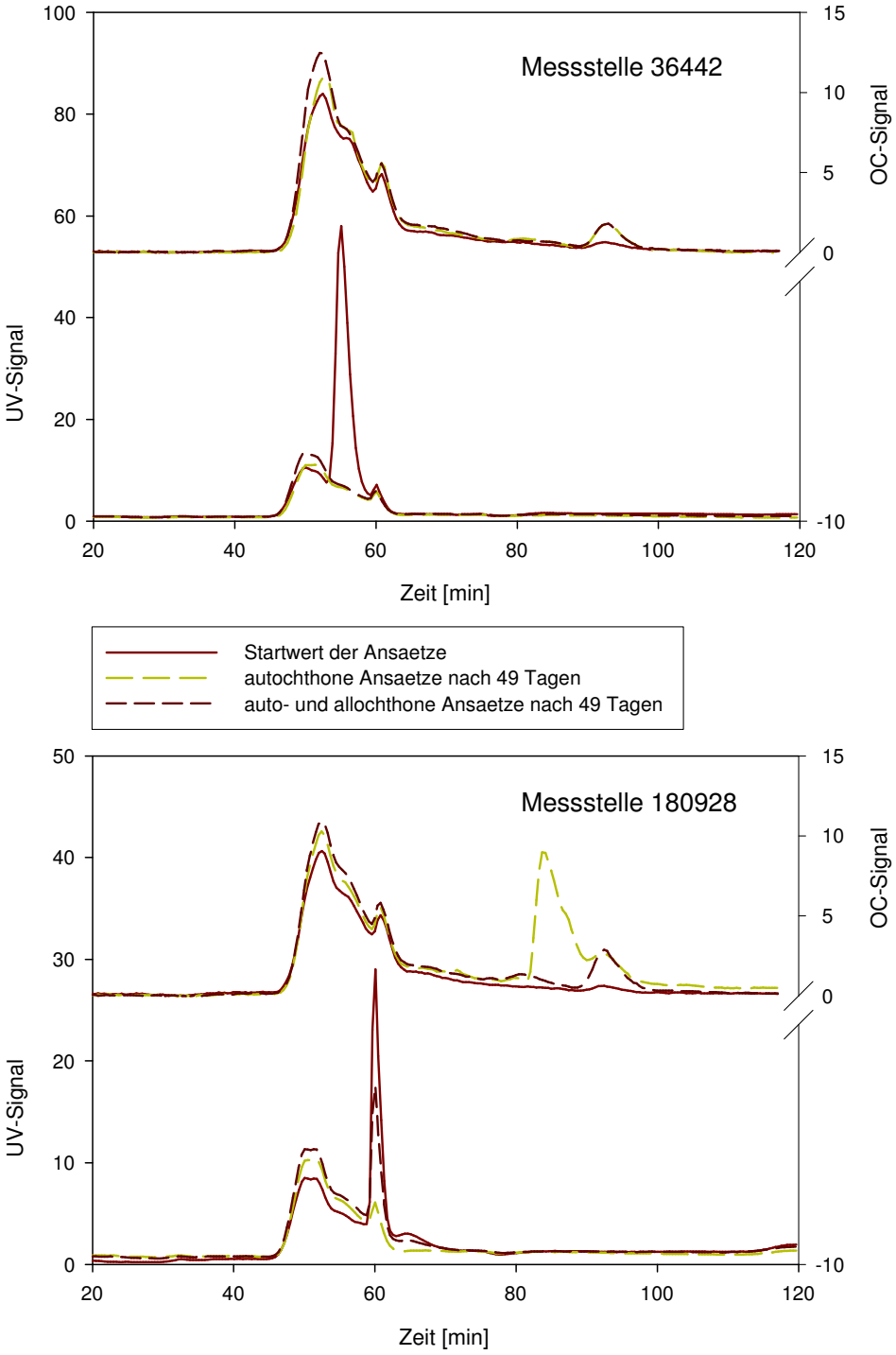


Abbildung 4.62: LC-OCD-Chromatogramme vor Beginn des Versuches und nach 49 Tagen in den Ansätzen ohne und mit zusätzlicher Mischkultur [Daten aus MAROSKY & LUTZE 2005]

ist, lässt sich aus diesen Untersuchungen nicht ableiten. In Ansätzen mit Nitrat wurde dieses vollständig denitrifiziert, vereinzelt ließen VC-Peaks in GC-Chromatogrammen eine Dechlorierung vermuten. Letzteres müsste jedoch mit einem anderen Versuchssetup und höheren LCKW-Konzentrationen verifiziert werden. Die gemessenen H_2-Konzentrationen deuten in jedem Fall auch auf eine Dechlorierung hin. In Ansätzen mit Nitrat und Grundwasser einer weiteren Messstelle war hier eine auch eine sprunghafte Zunahme von Konzentrationen nahe der Nachweisgrenze auf ca. 1 nM zu beobachten, sobald Nitrat verbraucht war [MAROSKY & LUTZE 2005].

Die heutigen Grundwasserkontaminationen haben ihre Ursache zum größten Teil in lange zurückliegenden Verunreinigungen. Es ist daher anzunehmen, dass in vielen Fällen der biologisch verfügbare Anteil des DOC schon verwertet worden ist. Dies belegen zum Beispiel Untersuchungen mit Deponiesickerwasser, die LEAHY & SHREVE [2000] durchführten. Hier wurden in jüngeren Sickerwässern mit höheren BSB-Werten höhere Abbauraten bei der Dechlorierung erzielt als in älteren Sickerwässern mit geringeren BSB-Werten. In letzteren wiederum fand keine Akkumulation von cDCE statt. Es wurde bis zum VC dechloriert, während in den jüngeren Sickerwässern cDCE akkumulierte. Das heißt, in älteren Kontaminationen sind zwar adaptierte Mikroorganismen vorhanden, die zum LCKW-Abbau benötigten Elektronendonatoren liegen aber nur noch in sehr geringen Konzentrationen vor. Änderungen kann es durch Grundwasserschwankungen geben. So beobachteten MCMAHON & BRUCE [1997] bei jahreszeitlich höheren Grundwasserständen höhere DOC-Werte, die auch mit höheren H_2-Konzentrationen einhergingen. Ohne unterstützende Maßnahmen wie z. B. der Zugabe von Elektronendonatoren (ENA) ist daher bei geringen DOC-Konzentrationen von sehr langsamen natürlichen Reinigungsprozessen auszugehen.

Die Aktivität in den Batchansätzen mit Grundwasser ist sehr gering gewesen. Das liegt vermutlich daran, dass im Boden bzw. Grundwasser die Mikroorganismen hauptsächlich an der Bodenmatrix anhaften. Diese Tatsache wurde auch von MCGUIRE ET AL. [2002] beschrieben. Für Versuche dieser Art ist daher zu empfehlen, neben Grundwasser auch Bodenmaterial vom jeweiligen Standort einzusetzen.

4.4 Bemerkungen zur Versuchsgestaltung

Grundsätzlich waren Batchansätze, die knapp zur Hälfte mit Flüssigkeit gefüllt waren und mit teflonbeschichteten Butylsepten verschlossen wurden, zur Untersuchung der H_2-Konzentrationen bei verschiedenen Redoxprozessen gut geeignet. Die Kontrolle der Dichtigkeit, die einerseits über den Redoxindikator Resazurin und andererseits über die regelmäßige Druckmessung gegeben war, hat gut funktioniert. Ansätze, die eine Rosafärbung sowie einen anderen Verlauf des Innendruckes als Parallelansätze aufwiesen, konnten so eindeutig identifiziert werden und wurden bei der Auswertung gesondert berücksichtigt bzw. ausgeschlossen. In der Regel war hier, bis auf Ansätze, die Nitrat enthielten, Sauerstoff in die Ansätze gelangt, was in H_2-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze resultierte.

Ein Manko der Versuchsdurchführung in Batchansätzen liegt darin, dass nur eine begrenzte Anzahl von Probenahmen möglich ist ohne die Versuchsbedingungen (Druck, Verhältnis Gasphase zu Flüssigphase) gravierend zu verändern. Die Dechlorierung und die konkurrierenden Redoxprozesse verliefen überwiegend sehr schnell, so dass häufigere Probenahmen wünschenswert gewesen wären. Ausgeglichen wurde dieses Manko zum Teil durch Wiederholungsversuche mit anderen Probenahmeintervallen und die Verwendung größerer Batchansätze (vgl. Abschnitt 4.2.3.7) sowie Sequenzen von Batchansätzen, die nacheinander beprobt wurden (z. B. Abbildung 4.19).

Beim Einsatz von Wasserstoff als Elektronendonator sinkt die H_2-Konzentration asymptotisch bis zur Gleichgewichtskonzentration der jeweiligen Redoxprozesse. Unter Realbedingungen im Grundwasser tritt eine solche Situation in der Regel nicht auf. Durch die Versuchsdurchführung werden somit auch Redoxprozesse begünstigt, die einen höheren H_2-Schwellwert besitzen wie z. B. die Acetogenese und die im Grundwasser nicht den Anteil am Verbrauch des Wasserstoffs haben, der in den Batchversuchen auftritt. Aus diesem Grund wurden alternative Methoden der Bereitstellung von Wasserstoff untersucht. Als Elektronendonatoren wurden Lactat, Pyruvat und Propionat eingesetzt, wobei die H_2-Freisetzung durch Gärung bei letzterem am langsamsten verlief (siehe Abschnitt 4.2.3.9). Gleiches wurde auch von YANG & MCCARTY [1998] bestätigt. In Mischkulturen kann also durch die Verwendung von langsam fermentierbaren Verbindungen das Auftreten hoher Wasserstoffkonzentrationen vermieden werden und Redoxprozesse mit einem geringen H_2-Schwellwert können besser beobachtet werden. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass diese Elektronendonatoren direkt von dechlorierenden Organismen verwertet werden. So sind die Organismen *Sulfurospirillum multivorans*, *Desulfitobacterium sp.* Stamm PCE1 und *Desulfuromonas michiganensis sp. nov.* [SCHOLZ-MURAMATSU ET AL. 1995; GERRITSE ET AL. 1996; SUNG ET AL. 2003] sowie andere Kulturen [FATHEPURE ET AL. 1987] auch in der Lage, Lactat und Pyruvat als Elektronendonatoren zu nutzen, nicht jedoch *Dehalococcoides ethenogenes* [MAYMO-GATELL ET AL. 1997]. In einer Anreicherungskultur, die mit Lactat oder Pyruvat VC zu Ethen dechlorieren konnte, wurde allerdings mittels 16S rRNA-Identifizierung eine *Dehalococcoides* Population nachgewiesen. Diese konnte aber PCE und TCE nicht mehr dechlorieren [HE ET AL. 2003].

Eine weitere Alternative, um niedrige H_2-Konzentrationen einzustellen, sind kontinuierliche Versuche, bei denen das Medium im Zulauf mit einer geringkonzentrierten H_2-Inertgasatmosphäre im Gleichgewicht steht. Eine solche Methodik wurde in Vorversuchen getestet. Sie erwies sich aber aufgrund von nicht sterilisierbarem bzw. keimfrei zu haltenden Material im Zulauf der Reaktionsräume als nicht praktikabel. Ein weiterer Nachteil bestand darin, dass bei H_2-Zulaufkonzentrationen im nanomolaren Bereich die zu beobachtenden Redoxreaktionen (Sulfatreduktion) quantitativ nicht erfassbar waren. NELSON ET AL. [2002] setzten zur H_2-Versorgung Hohlfibermembranen in 460 ml-Glasgefäßen ein. Hier wurde jedoch mit hohen H_2-Konzentrationen (1, 50 und 100 % H_2) gearbeitet, um die Konkurrenz durch die Denitrifikation und Sulfatreduktion auf die Dechlorierung zu vermeiden und genügend Wasserstoff für alle Reaktionen bereitzustellen. Das Gegenteil war der Fall und die Dechlorierung wurde gehemmt. Möglicherweise wäre hier der umgekehrte Ansatz (geringe H_2-Konzentrationen) zielführender gewesen und man könnte mit dieser Methode Feldbedingungen bezüglich der H_2-Versorgung für die Dechlorierung simulieren.

Eine weitere Möglichkeit der niedrigkonzentrierten H_2-Versorgung besteht in einem über die Gasphase kommunizierenden System mit zwei Reaktionsräumen mit Flüssigkeiten. Dabei wird in einem Reaktionsraum Wasserstoff durch Vergärung organischen Substrates produziert und im zweiten Reaktionsraum verwertet. Für Untersuchungen mit leichtflüchtigen Verbindungen wie LCKW ist dieser Aufbau nicht geeignet, andere Redoxprozesse, wie Denitrifikation, Sulfatreduktion oder Methanogenese könnten damit jedoch untersucht werden, da jeweils nur die Produkte flüchtig sind und nicht die Ausgangsstoffe.

CUPPLES ET AL. [2004] verwendeten für eine minimale H_2-Versorgung in Batchversuchen 2 ml-Vials, die 10 % Wasserstoff enthielten. Von diesen wurden 1-4 in die Batchansätze gegeben und der Wasserstoff diffundierte durch die Septen. Mit dieser Methode wurde die Dechlorierung von VC und cDCE bei 4 verschiedenen H_2-Konzentrationen zwischen 5 und 13 nM beobachtet. Da diese über eine Versuchsdauer von etwa 2 Wochen relativ konstant blieben, lassen sich H_2-Schwellwerte auf diese Art und Weise erst bei einem differenzierterem H_2-Einsatz ableiten. Bei Schwankungsbreiten von $\pm$ 1 nM für 5 nM und $\pm$ 6 nM für 11 nM ist jedoch fraglich, ob diese Methode zielführend wäre.

4.5 Schlussfolgerungen

An dieser Stelle soll noch einmal die grundlegende Rolle von Wasserstoff bei mikrobiellen Abbauprozessen im Boden/Grundwasser und die daraus abzuleitende Relevanz der H_2-Konzentration als Parameter zur Beurteilung von Natural Attenuation Prozessen diskutiert werden.

4.5.1 Wasserstoff als zentrales Stoffwechselprodukt

Neben dem Interspecies Hydrogen Transfer werden auch ein Interspecies Acetate Transfer [CONRAD 1996] sowie ein Interspecies Formate Transfer [THIELE & ZEIKUS 1988] genannt, die als Austauschprozesse für e^--Donatoren in anaeroben Milieus fungieren können. Das heißt, es ist auch denkbar, dass Mikroorganismen, die Schadstoffe wie LCKW abbauen, nicht zwingend auf Wasserstoff als Elektronendonator angewiesen sind und somit eine Charakterisierung des Redoxmilieus und der Abbaubedingungen über eben diesen Parameter nicht sinnvoll ist. Zum Interspecies Formate Transfer liegen wenig Informationen vor. Dagegen ist bekannt, dass eine Dechlorierung von PCE bis zu cDCE auch mit Acetat stattfinden kann [KRUMHOLZ ET AL. 1996; SUNG ET AL. 2003]. In der Literatur nimmt der Interspecies Hydrogen Transfer einen größeren Stellenwert ein und auch bei ROSENTHAL [2004] überwiegen in einer Auflistung dechlorierender Organismen die H_2-Verwerter. Für die vollständige Dechlorierung zum Ethen sind bisher auch nur Stämme von *Dehalococcoides ethenogenes* bekannt geworden, die auf Wasserstoff angewiesen sind. Demnach besitzt Wasserstoff als Stoffwechselintermediat speziell im Hinblick auf Natural Attenuation Prozesse von LCKW eine große Bedeutung.

Im Blick auf methanogene Prozesse im Grundwasser spielt hingegen Acetat eine größere Rolle als Wasserstoff. Dies ist bekannt (siehe Abschnitt 2.6.3) und wurde auch in mehreren Versuchen dieser Arbeit (vergleiche Abschnitte 4.2.1.2 und 4.2.3.7) beobachtet bzw.

nachgewiesen. Daraus könnte man schließen, dass die acetotrophe Methanogenese keinen Einfluss auf die H_2-Konzentration besitzt. Das Gegenteil ist jedoch der Fall. Während der acetotrophen Methanogenese wurde ein höheres H_2-Konzentrationsniveau gemessen als bei der hydrogenotrophen Methanogenese (siehe Abbildungen 4.49 und 4.50). Hierfür sind vermutlich mittelbar mit der Methanogenese im Zusammenhang stehende Reaktionen verantwortlich.

Für Sulfatreduzierer gilt, dass es auch hier Arten gibt, die Wasserstoff bzw. Acetat oder beides nutzen können. Eine parallele Sulfatreduktion zur Dechlorierung muss also nicht unbedingt in direkter Konkurrenz um Wasserstoff stehen. Die Ausführungen verdeutlichen, dass eine einfache Ableitung der dominierenden Redoxprozesse anhand der H_2-Konzentration nicht möglich ist. Zur Identifizierung müssen weitere Parameter, wie die Konzentrationen der Redoxpaare grundwassertypischer Redoxprozesse und ggf. auch die Konzentrationen von Acetat, und Formiat sowie die zeitliche Entwicklung dieser Konzentrationen herangezogen werden.

4.5.2 Ort des Schadstoffabbaus und Transportprozesse

Entscheidend für den Abbau von Schadstoffen im Grundwasser/Boden ist der Kontakt der Schadstoffmoleküle mit den Mikroorganismen. Ebenso entscheidend ist es im Falle des LCKW-Abbaus, dass die nötigen Elektronendonatoren in räumlicher Nähe zur Verfügung stehen, um den oben beschriebenen Interspecies Hydrogen Transfer zu ermöglichen. Die meisten Mikroorganismen bewegen sich nicht frei im Grundwasser sondern haften an den vorhandenen Oberflächen. Das heißt, der Schadstoffabbau findet nicht frei im Grundwasser statt sondern wahrscheinlich zum größten Teil in an der Bodenmatrix haftenden Biofilmen. McGuire et al. [2002] konnten in Mikrokosmen mit reduziertem Grundwasser keine Denitrifikation und Sulfatreduktion nachweisen, während diese Prozesse in Mikrokosmen mit Bodenmaterial stattfanden. Hiermit ist auch die geringe Aktivität in den Versuchen zur DOC-Nutzung (siehe Abschnitt 4.3) zu erklären. Für weitere Untersuchungen dieser Art ist der Einsatz von Bodenmaterial zu empfehlen.

Bereits 2001 entwarf Hoehler et al. [2001] ein Modell, das davon ausgeht, dass im Grundwasser stets nur die H_2-Konzentration gemessen werden kann, die außerhalb des Biofilms übrig bleibt. Diese bietet keinem der beteiligten Organismen einen Nutzen mehr. Demnach würden bei einer thermodynamischen Betrachtung, die auf im Grundwasser gemessenen H_2-Konzentrationen basiert, die Möglichkeiten der Mikroorganismen überschätzt. Innerhalb des Biofilms lägen wesentlich höhere H_2-Konzentrationen vor. Die Berücksichtigung dieser Tatsache ist jedoch nur dann relevant, wenn man alle stattfindenden Redoxprozesse untersuchen will. Die H_2-Konzentration im Grundwasser lässt letztlich nur Aussagen über den Prozess zu, der die H_2-Konzentration kontrolliert. Eine Dechlorierung innerhalb des Biofilms ist dann trotz H_2-Konzentrationen unterhalb des Schwellwertes außerhalb möglich.

Diese Betrachtungsweise liefert eine Erklärung für das gleichzeitige Stattfinden unterschiedlicher Redoxprozesse. Der Boden ist einem Festbettreaktor zur Abwasserbehandlung vergleichbar, auf dem sich je nach Belastung unterschiedlich starke Biofilme ausbilden. Im Biofilm entsteht eine Schichtung. Innerhalb dieser Schichtung existieren verschiedene

Konzentrationsgradienten für die beteiligten Reaktionspartner. Wie in der Abwasserreinigung kommt es bei hohen Konzentrationen an Elektronendonatoren, die z. B. in Form von MKW oder BTEX vorliegen können, zu einem Konzentrationsgefälle von gelöstem Sauerstoff oder den sukzessive verwendeten Elektronenakzeptoren Nitrat und Sulfat. Innerhalb des Biofilms können also nach Verbrauch des jeweils thermodynamisch günstigeren Elektronenakzeptoren auch Sulfatreduktion, Dechlorierung oder Methanogenese stattfinden. Für Eisen- und Manganoxide bzw. -hydroxide dürfte dagegen kaum ein Gradient vorliegen, da diese in der oxidierten Form (Fe(III), Mn(IV)) als Feststoff vorliegen.

An diese Überlegungen schließt sich die Fragestellung an, wo die benötigten Elektronendonatoren vorliegen. Bei einer Mischkontamination liegen diese sowohl in Lösung als auch an Oberflächen adsorbiert oder in Phase vor. Damit sind gute Bedingungen für einen Abbau von LCKW gegeben. Anders sieht es im Fall einer reinen LCKW-Kontamination oder bei älteren Schäden mit Mischkontaminationen aus. Hier ist der Anteil des bioverfügbaren DOC (BDOC) entscheidend. In den genannten Fällen ist dieser in der Regel sehr gering, was sich auch in einem geringen natürlichen Abbaupotenzial widerspiegelt [LEAHY & SHREVE 2000; GRIEBLER & MÖSSLACHER 2003]. Es ist zu vermuten, dass der Großteil des biologisch verfügbaren organischen Materials nicht als DOC sondern an der Bodenmatrix adsorbiert vorliegt. Dieses bildet die Grundlage für Biofilme und ist Voraussetzung für einen biologischen Abbau der chlorierten Kohlenwasserstoffe.

Die Idee von unerkannten bzw. nicht identifizierbaren Reaktionsräumen ist auch im Modellierungskonzenpt von JAKOBSEN [2002] vorhanden. Hier werden Ruhezonen eingeführt, um Überlappungen von Redoxzonen zu erklären. Dabei handelt es sich letztlich um nichts anderes als stärkere Biofilme oder Nischen im Boden, wo der Stoffaustausch limitiert ist und Konzentrationsgefälle entstehen, die mehrere Redoxprozesse in engem räumlichen Zusammenhang ermöglichen. So wiesen HANSEN ET AL. [2001] beispielsweise Methanogenese bei höheren H_2-Konzentrationen in Mikronischen nach und COZZARELLI ET AL. [2000] beobachteten eine parallele Fe(III)-Reduktion und Sulfatreduktion. Das bedeutet, dass niedrige Konzentrationen an gelöstem Wasserstoff nicht unbedingt Redoxprozesse ausschließen, die aus thermodynamischen Gründen höhere Wasserstoffkonzentrationen benötigen. Wenn innerhalb der Biofilme oder in Mikronischen große H_2-Konzentrationsgefälle vorliegen, ist es denkbar, dass Redoxprozesse wie Dechlorierung oder Methanogenese innerhalb des Biofilms stattfinden, obwohl im Grundwasserleiter beispielsweise eine Denitrifikation stattfindet und dort geringe H_2-Konzentrationen auftreten. In den in dieser Arbeit vorgestellten Batchversuchen ist keine Bodenmatrix und damit keine Aufwuchsfläche für Mikroorganismen vorhanden gewesen. Konzentrationsgefälle sind jedoch auch hier in Mikroflocken, die beobachtet wurden, denkbar.

Wenn auch bei geringen H_2-Konzentrationen im Grundwasser innerhalb von Biofilmen eine Dechlorierung möglich ist, stellt sich die Frage nach der Aussagekraft der H_2-Konzentration für entsprechende NA-Prozesse. Eine geringe H_2-Konzentration, die beispielsweise auf die Denitrifikation als dominierendem Redoxprozess schließen lässt, bedeutet auch ein starkes Konzentrationsgefälle innerhalb des Biofilms. Je nach Dicke des Biofilms reduziert sich damit der Bereich, in dem eine Dechlorierung möglich wäre. Gleichzeitig ist auch der Bereich limitiert, in dem ein Wachstum der dechlorierenden Organismen stattfinden kann. Für die Interpretation und den Nutzen der H_2-Konzentration als Parameter bedeutet das, dass erst mit dem Überschreiten des H_2-Schwellwertes von ca. 1 nM von optimalen Bedingungen für

die Dechlorierung ausgegangen werden kann. Wenn die Dechlorierer die H_2-Konzentration kontrollieren, steht ihnen als Reaktionsraum der gesamte Biofilm zur Verfügung. Welche H_2-Konzentration im Biofilm maximal erreicht werden und inwiefern konkurrierende Prozesse wie die Methanogenes dann ein Rolle spielen, bedarf weiterer Untersuchungen. Im Grundwasser schließen geringe H_2-Konzentrationen unterhalb des Schwellwertes die Dechlorierung in „geschützten" Räumen nicht aus. Sie ist aber dann nicht der dominierende Redoxprozess und spielt somit für NA eine geringere Rolle.

Vielfach diskutiert wird auch die Vermutung, dass NA-Prozesse in erster Linie am Rand von Schadstofffahnen auftreten. Für Kohlenwasserstoffe wie MKW und BTEX, die ein oxidierendes Milieu zum Abbau benötigen ist diese Vermutung zutreffend, da die anaeroben Prozesse, die im Zentrum der Fahne auftreten, langsamer verlaufen. Nur in Bereichen, wo die Schadstofffahne auf unbeeinflusstes Grundwasser trifft oder dieses in Kontaminationszonen einströmt, sind ausreichend Elektronenakzeptoren für den Schadstoffabbau vorhanden. Im Fall der LCKW findet die reduktive Dechlorierung bei ausreichend reduzierendem Milieu dagegen eher im Zentrum der Schadstofffahne statt. YAGER ET AL. [1997] beschrieben einen solchen Fall mit H_2-Konzentrationen bis zu 1,4 nM (eine Messung: 7,4 nM), wo die Dechlorierungsaktivität nur im Zentrum gegeben war. Voraussetzung für die reduktive Dechlorierung ist jedoch das gleichzeitige Vorliegen einer entsprechenden Menge an Elektronendonatoren. Im Fall von betroffenen oligotrophen Grundwasserleitern erübrigt sich daher eine Diskussion über einen Abbau von hochchlorierten LCKW am Fahnenrand oder im Zentrum der Fahne. Solche Bedingungen werden unter anderem durch sehr niedrige H_2-Konzentrationen (0,01-0,5 nM) angezeigt. In LCKW-Fahnen mit reduzierendem Milieu können dagegen die räumlichen Grenzen der reduktiven Dechlorierungszone durch H_2-Konzentrationen $>$ 1-2 nM recht gut erfasst werden. Andere Parameter wie die Konzentrationen an gelöstem Eisen oder Methan sind hier weniger gut geeignet, da sie wesentlich weiter transportiert werden und nicht einem schnellen Verbrauch unterliegen wie Wasserstoff.

Dieses Verhalten bedingt den Vorteil der H_2-Konzentration als Parameter für das Monitoring von NA-Prozessen. Weiterhin kommt es nicht unbedingt darauf an, den dominierenden Redoxprozess zu ermitteln, sondern ist letztlich wichtig, ob bei einer bestimmten H_2-Konzentration ein Abbau der Schadstoffe, in diesem Fall von LCKW, stattfinden kann oder nicht. DINICOLA ET AL. [2002] sind ebenfalls der Meinung, dass nicht die Kenntnis des dominierenden anorganischen Elektronenakzeptors entscheidend ist. Es kann wichtiger sein, zu wissen, dass die H_2-Konzentration oberhalb von 1 nM liegt. Das in Abbildung 2.4 auf Seite 25 dargestellte hierarchische Schema nach CHAPELLE ET AL. [1995] verliert mit diesen Überlegungen für die Dechlorierung etwas an Bedeutung. Das heißt nicht, dass die anderen geochemischen Parameter wertlos sind. Man muss jedoch alle Parameter im Zusammenhang betrachten und bewerten, welche Aussagen damit tatsächlich möglich sind bzw. ob die Erfassung aller Parameter immer sinnvoll ist. In dieser Richtung scheinen insbesondere weitere Felduntersuchungen erforderlich, damit eine Bewertung des Nutzens der Parameter auf der Grundlage einer größeren Datenbasis erfolgen kann. Nachzuweisen wäre in diesem Zusammenhang unter anderem auch die tatsächliche Dechlorierungsaktivität oder das Vorhandensein dechlorierender Organismen in den mit Hilfe der Wasserstoffkonzentration ermittelten Dechlorierungszonen.

4.5.3 Verfügbarkeit von Elektronendonatoren, Enhanced Natural Attenuation

CHAPELLE & BRADLEY [1998] gehen von einer Art Natural-Attenuation-Kapazität im Boden aus und beschrieben das anhand unterschiedlich gealterter Sickerwässer. Die NA-Kapazität eines Grundwasserleiters bemisst sich bezüglich einer erwünschten mikrobiologischen reduktiven Dechlorierung anhand der biologisch verfügbaren Elektronendonatoren, d.h. in der Regel dem biologisch verfügbaren DOC (BDOC). Wenn der Anteil des BDOC am DOC bzw. TOC sehr gering ist, was in natürlichen Grundwässern die Regel ist, wird auch ein möglicher biologischer Schadstoffabbau trotz günstiger Milieubedingungen gering ausfallen. Die H_2-Konzentration stellt daher nur einen qualitativen Parameter dar, der die Milieubedingungen beschreibt aber keine quantitativen Aussagen zulässt. Das „Ob“ der Dechlorierung kann nachgewiesen werden, nicht aber das „Wie viel?“ bzw. „Wie lange?“.

Im Falle von hohen Restkonzentrationen an LCKW und geringen Anteilen an biologisch verfügbaren Elektronendonatoren ist daher bei MNA von sehr langen Monitoringzeiträumen auszugehen. Deshalb gewinnt Enhanced Natural Attenuation (ENA) zunehmend an Bedeutung. Hierbei werden dem Grundwasserleiter unterschiedliche Elektronendonatoren zugeführt. Dabei kann es sich um Lactat, Pyruvat, Melasse oder sogenannte HRC (hydrogen releasing compounds) handeln. Auch eine Art bioreaktive Wand, bestehend aus Melasse und Schlamm aus der Abwasserreinigung, die in Abstromrichtung des Schadensfalles eingebaut wird, wurde vorgeschlagen [KAO ET AL. 2003]. Die Vergärung dieser Substrate führt zur Freisetzung von Wasserstoff, der für die Dechlorierung genutzt werden kann. Solange jedoch Elektronenakzeptoren zur Verfügung stehen, deren Verwertung mehr Energie für die Mikroorganismen bereitstellt, werden diese Redoxprozesse entweder parallel oder vorrangig zur Dechlorierung ablaufen. Dabei ist von Bedeutung, ob die Wasserstoff-Konzentration von den H_2-verbrauchenden oder den H_2-produzierenden Prozessen bestimmt wird. Schnell vergärbare Substrate wie Melasse oder Lactat führen zu hohen Wasserstoffkonzentrationen und begünstigen dadurch auch acetogene Prozesse. Propionat und Pyruvat setzen Wasserstoff langsamer frei. Daraus resultieren geringere H_2-Konzentrationen im Bereich von 100-1000 nM (siehe Abbildungen 4.54, 4.48 und 4.50), die für die Acetogenese weniger günstig sind. Damit ist der Anteil des für die Dechlorierung zur Verfügung stehenden Wasserstoffs größer. Bei hohen Konzentrationen an Fe- und Mn-Mineralen im Grundwasserleiter und hohen Nitratkonzentrationen werden jedoch erst diese reduziert, so dass große Mengen an Elektronendonatoren erforderlich sind, um die für die Dechlorierung benötigten Redoxbedingungen zu schaffen.

In Laborstudien ist der Einsatz der genannten und weiterer Elektronendonatoren schon vielfach untersucht worden [GIBSON & SEWELL 1992; KOMATSU ET AL. 1994; CARR & HUGHES 1998; KENNES ET AL. 1998; MIDDELDORP ET AL. 1998; COPE & HUGHES 2001; LU ET AL. 2001, 2002; SUNG ET AL. 2003]. Dabei wurde nicht in allen Fällen die Wasserstoffkonzentration gemessen. Optimale Redoxbedingungen für die Dechlorierung wurden sowohl mit geringen Konzentrationen an leichter vergärbarem Substrat wie Lactat [BALLAPRAGADA ET AL. 1997] als auch mit langsam vergärbarem Substrat wie Butyrat [FENNELL ET AL. 1995; FENNELL & GOSSETT 1997] und Propionat [YANG & MCCARTY 1998; LU ET AL. 2002] gefunden. Die praktische Anwendung verschiedener komplexer Substrate oder Einzelstoffe im Feld ist dagegen bisher kaum untersucht bzw. veröffentlicht

worden. Hier spielen neben dem Ziel einer optimalen H_2-Versorgung zum Schadstoffabbau auch Kostenaspekte eine Rolle. Untersuchungen mit Abprodukten der Nahrungsmittelindustrie und Nahrungsmittel wie Melasse [KAO ET AL. 2003] und Olivenöl [YANG & MCCARTY 2002] deuten in diese Richtung. In diesen Fällen ist es von Interesse, die komplexen Elektronendonatoren in Konzentrationen einzusetzen, die einen effektiven Abbau der LCKW ermöglichen. Als Kontrollparameter für die Stärke der Gärprozesse und die Reichweite solcher Maßnahmen könnte die H_2-Konzentration eine wichtige Rolle spielen. An dieser Stelle besteht weiterer Untersuchungsbedarf.

4.5.4 Wachstum und Bioaugmentation

Voraussetzung für biologische Natural Attenuation Prozesse ist die Gegenwart der entsprechenden Organismen im betroffenen Grundwasserleiter. Die meisten schadstoffabbauenden Mikroorganismen sind ubiquitär vorhanden, was die Vielzahl von nachgewiesenen Metaboliten und die zu beobachtenden Reduktionen von Schadstoffkonzentrationen ohne aktive Maßnahmen belegen. HENDRICKSON ET AL. [2002] konnten bei Untersuchungen von 24 LCKW-kontaminierten Standorten in Nordamerika und Europa mittels molekularer Analyse der 16S rDNA an 21 Standorten *Dehalococcoides* Spezies nachweisen. An diesen Standorten fand auch eine vollständige Dechlorierung zu Ethen statt. Drei Standorte wiesen jedoch einen unvollständigen Abbau (bis cDCE) auf und gleichzeitig fand man dort keinen Hinweis auf *Dehalococcoides*.

Ein anderer Aspekt ist die Anzahl bzw. Konzentration der vorhandenen Mikroorganismen. Unter günstigen Milieubedingungen und ausreichend Substrat kann ein Wachstum stattfinden und der natürliche Abbau beschleunigt werden. Insbesondere *Dehalococcoides ethenogenes* stellt jedoch hohe Ansprüche an die Umweltbedingungen, was die Beschreibung der Kultivierung in MAYMO-GATELL ET AL. [1997, 2001] zeigt. Der Versuch, im Rahmen dieser Arbeit *Dehalococcoides ethenogenes* zur Untersuchung der H_2-Schwellwerte in Reinkultur zu kultivieren, war nicht erfolgreich. Die Aktivität von *Dehalococcoides ethenogenes* in den verwendeten Mischkulturen schwankte zwar, war aber immer vorhanden [ROSENTHAL 2004]. Erkennbar war das am Ausmaß der Ethenbildung nach Zugaben von PCE bzw. cDCE, das ohne sonstige Veränderungen in der Kultivierung von Zeit zu Zeit geringer war als normalerweise.

ZHENG ET AL. [2001] beobachteten in Säulenversuchen, dass bei kurzen Verweilzeiten in den Säulen von ca. 3 Tagen die Dechlorierung nur bis zu cDCE verlief, während bei einer Aufenthaltszeit von 11 Tagen auch VC und Ethen nachgewiesen werden konnten. Sie führten dieses Verhalten auf geringere Wachstumsraten und eine Auswaschung der Mikroorganismen zurück, die bis zum cDCE dechlorieren.

Für eine vollständige Dechlorierung im Aquifer bedeuten diese Beobachtungen, dass der letzte Schritt der Ethenbildung offensichtlich nur in sehr engen Grenzen bezüglich der Milieubedingungen möglich ist. Dabei scheint nicht die H_2-Schwellwertkonzentration eine limitierende Größe zu sein. Diese ist, wie Abbildung 4.36 auf Seite 95 zeigt, nicht verschieden zu den anderen Dechlorierungsschritten. Vielmehr erscheint eine Limitierung hinsichtlich der benötigten Suppline zu bestehen. Es ist anzunehmen, dass bei den Experimenten

von ZHENG ET AL. [2001] eher der Austrag dieser Zusatzstoffe der Grund für die mangelnde Dechlorierung zu Ethen war als der Austrag von Biomasse. Nur so erscheint auch eine schnelle Reaktivierung der Dechlorierung zu Ethen bei Verlängerung der Aufenthaltszeit plausibel. Diese setzt einen Rückhalt der Mikroorganismen voraus. Dieser war in den betreffenden UASB-Reaktoren[2] vermutlich durch die Schwerkraft auf Mikroorganismenaggregate, die dem Austrag entgegenwirkt, gegeben und ist im Boden durch die Sorption von Mikroorganismen gewährleistet.

Sorptionsflächen sind im Boden ausreichend vorhanden. Die Fließgeschwindigkeit dürfte in der Regel gering genug sein, so dass eine starke Verdünnung von benötigten Supplinen nicht zu erwarten ist. Wichtig ist eher, dass diese überhaupt zur Verfügung stehen. Entscheidend für die letzten Abbausequenzen zu Vinylchlorid und Ethen ist, dass in den kontaminierten Aquiferen *Dehalococcoides* Spezies vorkommen. Hierbei stellt sich die Frage, wie diese bezüglich Sauerstoff sehr sensiblen und in Nährstoff-Hinsicht sehr anspruchsvollen Mikroorganismen den Aquifer besiedeln. In unkontaminiertem Grundwasser herrscht in der Regel ein aerobes Milieu. Entweder gibt es anaerobe Nischen, in denen *Dehalococcoides ethenogenes* überdauert oder es erfolgt ein Eintrag von außen. Untersuchungen hierzu sind bisher noch nicht vorgenommen bzw. nicht veröffentlicht worden.

Eine mögliche Lösung des Problems der unzureichenden Menge bzw. des Nichtvorkommens von Dechlorierern, die auch die letzten Dechlorierungsschritte ausführen, ist die Bioaugmentation. In einem Fall, wo ein Aquifer bereits *Dehalococcoides ethenogenes* enthielt, wurden die Mikroorganismen aus dem Aquifer mit *Desulfuromonas michiganensis* Stamm BRS1 gemischt und angereichert. Die Zugabe dieser Mischkultur in den zuvor mit Lactat anaerobisierten Aquifer resultierte nach 6 Wochen in einem 92 %-igen Umsatz zu Ethen und verglichen mit einem Kontrollfeld in einem Anstieg der *Dehalococcoides*-Population um 4 Zehnerpotenzen. Eine weitere Möglichkeit, das Wachstum durch Biostimulation zu forcieren, führte hier mit Lactat und Nährstoffen zu einem Anstieg der *Dehalococcoides*-Population um drei Zehnerpotenzen. Für die Dechlorierung von cDCE zu VC und Ethen ergab sich eine lag-Phase von 3 Monaten bevor ebenfalls hauptsächlich Ethen gebildet wurde [LENDVAY ET AL. 2003].

Die Bioaugmentation durch allochthone Mikroorganismen ist jedoch häufig nicht erfolgreich. Die Organismen können sich an das Milieu nicht anpassen, sterben ab und tragen nicht zur Sanierung bei. GENTRY ET AL. [2005] schlagen daher verschiedene Bioaugmentationsmethoden vor, damit die Organismen den Transfer überleben. Zum einen wird eine Einkapselung beschrieben, zum anderen eine Verankerung in den Nischen der Rhizosphäre genannt. Letzteres ist jedoch nur für die Sanierung der ungesättigten Bodenzone interessant und damit für den Abbau von LCKW ohne Bedeutung. Als weitere Möglichkeit wird ein Gentransfer zu vorhandenen Organismen genannt. Die Anwendbarkeit und den Erfolg dieser Methoden müssen künftige Untersuchungen belegen.

[2] UASB: upflow anaerobic sludge blanket

4.5.5 Bedeutung der Wasserstoffkonzentration für NA-Prozesse bei LCKW-Kontaminationen und Ausblick

Für LCKW-Kontaminationen stellt die Wasserstoffkonzentration einen wichtigen ergänzenden Parameter dar, wenn zur Überwachung von Natural Attenuation Prozessen ein Monitoring durchgeführt wird. Ein Konzentrationsniveau von 1-2 nM Wasserstoff zeigt die Dominanz der Dechlorierung als Redoxprozess an. Das konnte durch diese Arbeit gezeigt werden und wurde auch in anderen Untersuchungen nachgewiesen [YANG & MCCARTY 1998; KASSENGA ET AL. 2004; HEIMANN ET AL. 2005]. Bei geringeren H_2-Konzentrationen im Grundwasser ist eine Dechlorierung nicht vollständig ausgeschlossen. Sie kann innerhalb von Biofilmen stattfinden, ist dann aber nicht der dominierende Prozess und entsprechend weniger effektiv, was die Reduzierung des Schadstoffinventars betrifft.

Durch die H_2-Messung ist eine Identifizierung von Dechlorierungs-Zonen möglich. Werte oberhalb des Schwellwertes von 1-2 nM lassen konkurrierende Redoxprozesse wie Sulfatreduktion und Methanogenese zu, schließen die Dechlorierung aber nicht aus. Diese hohen Konzentrationen sind aber nur zu erwarten, wenn leicht verfügbare Elektronendonatoren im Überschuss vorliegen. Dies kann im Fall einer Mischkontamination mit MKW oder BTEX oder bei der aktiven Zugabe von Elektronendonatoren (ENA) auftreten. In letzterem Fall könnte die Wasserstoffkonzentration einen geeigneten Parameter darstellen, um den Einflussbereich und die Geschwindigkeit des Verbrauches der Elektronendonatoren abzuschätzen.

Obwohl auch Acetat und Formiat als e^--Donatoren im Aquifer eine Rolle spielen, ist Wasserstoff der wichtigste Elektronendonator für die Dechlorierung. Die H_2-Konzentration ist auch deshalb weniger für die Identifizierung des konkreten Redoxmilieus als vielmehr zur Kontrolle des Dechlorierungsmilieus geeignet.

Die Ermittlung von H_2-Konzentrationen kann das Monitoring unterstützen und im späteren Sanierungsverlauf erleichtern. Hier kann eine Reduktion auf die notwendigen Überwachungsparameter vorgenommen werden, wobei die Analyse der typischen Grundwasserparameter wie Sulfat, Methan, gelöstes Eisen und Mangan durchaus durch die Messung des gelösten Wasserstoff ersetzt werden kann. Das setzt allerdings zu Beginn ein umfangreiches Monitoring voraus, bei dem diese Parameter und die H_2-Konzentration erfasst werden.

Ein Hauptproblem für die Anwendung von gelöstem Wasserstoff als Monitoringparameter besteht in der fehlenden H_2-Messtechnik. Wie Tabelle 2.3 zeigt, ist die H_2-Messung im Feld bei LCKW-Schadensfällen bisher so gut wie nicht angewendet worden. Hier besteht ein Dilemma, da sich die Anschaffung transportabler Gaschromatographen zur Wasserstoffmessung erst lohnt, wenn der Bedarf vorhanden ist. Das wiederum ist nicht der Fall, unter anderem deshalb, weil zu wenig Untersuchungen darüber vorliegen, welchen Vorteil die H_2-Messung bringt. Mit der Verbesserung der Probenahmetechnik und der nachgewiesenen Aufbewahrungsmöglichkeit von Wasserstoffproben, die keine sofortige Messung erfordert, wurde deshalb hier ein weiterer Schritt getan, um die Anwendung dieses Parameters als nützliches Werkzeug für die Beobachtung von NA-Prozessen zu etablieren. Gleichfalls konnten, wenn auch wenige, Grundwassermessstellen in einem LCKW-Schadensfall auf gelösten Wasserstoff untersucht werden und die Ergebnisse (siehe Abschnitt 4.1.3) korrelierten mit der vorgefundenen Dechlorierungsaktivität.

Künftige H_2-Messungen an LCKW-kontaminierten Standorten können darüber Aufschluss geben, ob die vermutete Korrelation von Dechlorierungsbereichen und Bereichen mit H_2-Konzentrationen oberhalb von 1-2 nM tatsächlich gegeben ist. Weiterhin gilt es zu erforschen, in welchem Ausmaß eine Dechlorierung auch bei geringeren Konzentrationen innerhalb vorhandener Biofilme stattfinden kann. Auch stehen noch Praxistests aus, inwiefern durch die H_2-Konzentration Enhanced Natural Attenuation Prozesse kontrolliert bzw. gesteuert werden können. Für reine NA-Prozesse ist der Zusammenhang des biologisch verfügbaren DOC (BDOC), der Wasserstoffproduktion und der Wasserstoffkonzentration interessant.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wasserstoffkonzentration als Parameter zum Nachweis von natürlichen Abbauprozessen (NA) bei LCKW-Schadensfällen im Grundwasser untersucht. Hierfür wurde zum einen die bekannte Probenahmemethode („bubble strip method“) optimiert und eine Methode zur Aufbewahrung von H_2-Proben entwickelt. Zum anderen wurde in Laborversuchen mit Reinkulturen und einer dechlorierenden Mischkultur die H_2-Konzentration bei konkurrierenden Redoxprozessen untersucht.

H_2-Probenahme und -aufbewahrung. Die Extraktion von Wasserstoff aus dem Grundwasser konnte mit Hilfe eines geringeren Eintrittsdurchmessers in die verwendete Gasmaus optimiert werden. Mit einem Gasblasenvolumen von 10 ml und Volumenströmen des (Grund-)Wassers von 50 bis 140 ml/min entsprach der Verlauf der Extraktion annähernd der theoretisch berechneten Gleichgewichtseinstellung. Bei Volumenströmen > 100 ml/min wurde in 20 min ein 98 %iges Equilibrium erreicht. Somit ergibt sich eine Zeitersparnis für H_2-Probenahmen im Feld. Der Einsatz von Luft als Gasphase ist möglich, sofern die erwarteten H_2-Konzentrationen im Grundwasser oberhalb einer Gleichgewichtskonzentration von 0,5 ppmv (0,42 nM bei 20°C und 1013 hPa) liegen. Bei zu erwartenden geringen H_2-Konzentrationen ($< 1{,}0$ nM) sollte jedoch mit Hilfe einer Getterpatrone gereinigtes Helium 5.0 oder Stickstoff 5.0 verwendet werden. H_2-Proben, die als Gasproben mittels Verdrängung von Millipore in Headspace-Vials überführt werden, können bei Lagerung über Kopf im Dunkel für 1-3 Tage aufbewahrt werden. Empfehlenswert ist ein großes Gas-Millipore-Volumenverhältnis, z. B. 10 ml Probe in 12,5 ml Headspace-Vials. Die Methoden konnten erfolgreich an einem LCKW-Schadensfall in Hannover-Südstadt erprobt werden. Die ermittelten H_2-Konzentrationen korrelierten mit den durch chemische Analysen bekannten Redoxbedingungen.

H_2-Schwellwertkonzentrationen bei Reinkulturen und Mischkulturen. Für die Reinkultur *Sulfurospirillum multivorans* wurde ein H_2-Schwellwert von 10 nM für die Dechlorierung ermittelt. Ohne LCKW wurde ein H_2-Niveau von ca. 300 nM beobachtet, das der Acetogenese zugeordnet werden kann. Für die Sulfatreduktion durch *Desulfovibrio desulfuricans* ergab sich eine H_2-Schwellwertkonzentration von ca. 20 nM. Die hydrogenotrophe Methanogenese von *Methanosarcina mazei* läuft ebenfalls nur bei H_2-Konzentrationen oberhalb von 20 nM ab.

In Ansätzen mit zwei Reinkulturen (*Sulfurospirillum multivorans* und *Methanosarcina mazei*) sowie in der dechlorierenden Mischkultur wurden bei der Dechlorierung von PCE H_2-Schwellwerte von 1-2 nM ermittelt. Das trifft in der dechlorierenden Mischkultur auch für die sukzessiven Abbauschritte bis zur Bildung von Ethen zu. Obwohl an der Dechlorierung unterschiedliche Enzyme beteiligt sind, konnten hier keine Unterschiede festgestellt

werden. Mit der Mischkultur lagen die Wasserstoff-Schwellwerte für die Denitrifikation unterhalb der Nachweisgrenze, für die Sulfatreduktion ergaben sich 3,1-3,5 nM und für die hydrogenotrophe Methanogenese 7-9 nM. Die Ergebnisse mit der Mischkultur bestätigen damit bekannte H_2-Schwellwertkonzentrationen für die genannten Redoxprozesse.

Neu sind H_2-Messungen bei Reinkulturen. Die hier gefundenen H_2-Schwellwertkonzentrationen liegen deutlich über den H_2-Schwellwerten der gleichen Redoxprozesse in Mischkulturen. Es ist möglich, dass in der Mischkultur andere als die untersuchten Reinkulturen die H_2-Konzentration bestimmen. Eventuell spielen auch Gleichgewichtskonzentrationen der beteiligten Hydrogenasen eine Rolle. Zur Klärung der Diskrepanz der H_2-Schwellwerte können sowohl H_2-Messungen bei Versuchen mit Reinkulturen als auch weitere Untersuchungen der Interaktion verschiedener Organismen in Mischkulturen beitragen.

In den Versuchen wurde sehr häufig eine acetotrophe Methanogenese beobachtet. Diese ging mit höheren H_2-Konzentrationen einher als die H_2-abhängige Methanogenese. Bei hohen H_2-Konzentrationen wurde auch viel Acetat gebildet. Sofern Elektronendonatoren nicht im Überschuss vorliegen, senken die dechlorierenden Mikroorganismen die H_2-Konzentration auf 1-2 nM und konkurrieren damit erfolgreich gegen Methanogene und Sulfatreduzierer.

Für die Praxis ist festzuhalten, dass die Ermittlung von Dechlorierungszonen mit Hilfe der Wasserstoff-Konzentration relevanter ist, als die Identifizierung der dominierenden Redoxprozesse. Andere Grundwasserparameter wie Methan oder gelöstes Eisen spiegeln durch einen möglichen Transport nicht unbedingt die Gegebenheiten wider. Wasserstoff dagegen wird in unmittelbarer Nähe der Produktion wieder verbraucht und reflektiert die tatsächlichen Milieubedingungen an Monitoring-Messstellen. Theoretisch ist auch eine Dechlorierung innerhalb von Biofilmen, wo höhere H_2-Konzentrationen vorliegen, denkbar.

Konzentrationsgradienten von H_2 spielen für die Effizienz der Dechlorierung eine große Rolle. In stehenden Ansätzen mit H_2 in der Gasphase war die Dechlorierung wesentlich effektiver als in geschüttelten Ansätzen, in denen der Anteil konkurrierender Redoxprozesse am H_2-Verbrauch höher war.

Bei Untersuchungen zur Temperaturabhängkeit der Dechlorierung konnte bei 5°C keine Dechlorierung festgestellt werden. Bei 10°C findet die Dechlorierung statt, jedoch langsamer als bei Raumtemperatur oder 30°C. Die Dechlorierungsraten sind im Grundwasser dementsprechend niedriger. Da mit sinkender Temperatur der Anteil der acetotrophen Methanogenese steigt, nimmt damit die Konkurrenz um Wasserstoff ab.

Um die Verwendung der Wasserstoffkonzentration als Monitoring-Parameter bei NA-Prozessen zu etablieren, sind weitere Felduntersuchungen bei LCKW-Schadensfällen notwendig. Für diese wiederum ist eine Ausstattung mit der entsprechenden Messtechnik nötig. Unter diesen Voraussetzungen und unter Berücksichtigung künftiger, weitergehender und ergänzender Laboruntersuchungen kann die H_2-Konzentration auch unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten einen alternativen Parameter für ein Langzeit-Monitoring zur Beobachtung von Dechlorierungsprozessen in Schadstofffahnen darstellen.

Literaturverzeichnis

ACHTNICH, C., F. BAK & R. CONRAD [1995a]. Competition for electron donors among nitrate reducers, ferric iron reducers, sulfate reducers, and methanogens in anoxic paddy soil. Biol. Fertil. Soils 19, 1: 65–72.

ACHTNICH, C., A. SCHUHMANN, T. WIND & R. CONRAD [1995b]. Role of interspecies H_2 transfer to sulfate and ferric iron-reducing bacteria in acetate consumption in anoxic paddy soil. FEMS Microbiol. Ecol. 16, 1: 61–70.

ADRIAN, L. [1999]. Dechlorierung von Trichlorbenzolen durch anaerobe Mikroorganismen. Dissertation, TU Berlin, Fachbereich Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie. Verlag dissertation.de.

AGARIUS, J., M. ALTENBOCKUM, U. DANNWOLF, R. MELZER, J. MICHELS, J. MÜLLER, N. STEINER & M. WEBERT [2004]. Arbeitshilfe - H 1 -12: Monitored Natural Attenuation. Ingenieurtechnischer Verband Altlasten e.V., Pestalozzistr. 5-8, D-13187 Berlin.

ALTER, M. D. & M. STEIOF [2005a]. Hydrogen threshold concentrations during methanogenesis and dechlorination. In: 2. European Conference on Natural Attenuation, Soil and Groundwater Risk Management. DECHEMA e.V., 72.

ALTER, M. D. & M. STEIOF [2005b]. Optimized method for dissolved hydrogen sampling in groundwater. J. Cont. Hydrol. 78, 1-2: 71–86.

ANDERSON, R. T., F. H. CHAPELLE & D. R. LOVLEY [2001]. Comment on „Abiotic controls on H_2 production from basalt - water reactions and implications for aquifer biogeochemistry“. Environ. Sci. Technol. 35, 7: 1556–1557.

ANDERSON, R. T. & D. R. LOVLEY [1997]. Ecology and biochemistry of in situ groundwater bioremediation. Adv. Microbial Ecol. 15: 289–350.

ARNOLD, W. A. & A. L. ROBERTS [2000]. Pathways and kinetics of chlorinated ethylene and chlorinated acetylene reaction with Fe(0) particles. Environ. Sci. Technol. 34, 9: 1794–1805.

BALKE, S. & M. GRAF [2005]. Wasserstoff als Elektronendonator - Konkurrenz von Dechlorierung, Methanogenese und Sulfatreduktion bei anaeroben Reinkulturen. Projektarbeit am Institut für Technischen Umweltschutz, TU Berlin.

BALLAPRAGADA, B. S., H. D. STENSEL & J. F. FERGUSON [1997]. Effect of hydrogen on reductive dechlorination of chlorinated ethenes. Environ. Sci. Technol. 31, 6: 1728–1734.

BALOWS, A., H. G. TRUPER, M. DWORKIN, W. HARDER & K. H. SCHLEIFER (Hg.) [1992]. The Prokaryotes, A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications, Bd. IV, Kapitel 183. Springer-Verlag, New York, 2. Aufl.

BARTH, J. A. C., G. SLATER, C. SCHÜTH, M. BILL, A. DOWNEY, M. LARKIN & R. M. KALIN [2002]. Carbon isotope fractionation during aerbic biodegradation of trichloroethene by *Burkholderia cepacia* G4: a tool to map degradation mechanisms. Appl. Environ. Microbiol. 68, 4: 1728–1734.

BJERG, P. L., R. JAKOBSEN, H. BAY, M. RASMUSSEN, H.-J. ALBRECHTSEN & T. H. CHRISTENSEN [1997]. Effects of sampling well construction on H_2 measurements made for characterization of redox conditions in a contaminated aquifer. Environ. Sci. Technol. 31, 10: 3029–3031.

BLUME, H.-P. [1990]. Handbuch des Bodenschutzes. Ecomed Verlagsgesellschaft mbH, Landsberg/Lech. S. 351-353.

BLÜTHGEN, J. & W. WEISCHET [1980]. Allgemeine Klimageographie, Lehrbuch der allgemeinen Geographie, Bd. 2. de Gruyter, Berlin, 3. Aufl.

BOLT, H. M. [1997]. Halogenierte Kohlenwasserstoffe. In: Lehrbuch der Toxikologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 405–413.

BOONE, D. R., J. A. G. F. MENAIA, J. E. BOONE & R. A. MAH [1987]. Effects of hydrogen pressure during growth and effects of pregrowth with hydrogen on acetate degradation by *Methanosarcina* species. Appl. Environ. Microbiol. 53, 1: 83–87.

BOUWER, E. & P. MCCARTY [1983]. Transformations of 1- and 2-carbon halogenated aliphatic compounds under methanogenic conditions. Appl. Environ. Microbiol. 45, 4: 1286–1294.

BUNDESREGIERUNG [2004]. Antwort der Bundesregierung auf die Kleine Anfrage der Abgeordneten Dr. Peter Paziorek, Ulrich Petzold, Dr. Rolf Bietmann, weiterer Abgeordneter und der Fraktion der CDU/CSU - Bodenschutz und Altlasten. Deutscher Bundestag Drucksache 15/3743 15. Wahlperiode.

BUNDESTAG [1990]. Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe TrinkwV - Trinkwasserverordnung. Fassung vom 5. Dezember 1990 (BGBl. I S. 2612; 1991 S. 227; 1993 S. 278; 1998 S. 699; 2000 S. 1045), aufgehoben.

BUNDESTAG [2001]. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch TrinkwV 2001 - Trinkwasserverordnung. Fassung vom 21. Mai 2001 (BGBl. I Nr. 24 S. 959; 2003 S. 2304).

BUNDESTAG [2004a]. Bundes - Bodenschutz- und Altlastenverordnung. Fassung vom 12. Juli 1999 (BGBl. I 1999 S. 1554; 2004 S. 3758).

BUNDESTAG [2004b]. Zweite Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes: Verordnung zur Emissionsbegrenzung von leichtflüchtigen halogenierten organischen Verbindungen. Fassung vom 10. Dezember 1990 (BGBl. I S. 2694; 1991 S. 1218; 2000 S. 632, 2001 S. 2180; 2004 S. 3758).

BURMEIER, H. & V. BIRKE [2005]. Vorstellung des BMBF-Verbundvorhabens RUBIN. URL: http://www.rubin-online.de/. Abruf: 08. Dez. 2005.

CARR, C. S. & J. B. HUGHES [1998]. Enrichment of high-rate pce dechlorination and comparative study of lactate, methanol, and hydrogen as electron donors to sustain activity. Environ. Sci. Technol. 32, 12: 1817–1824.

CARTER, S. R. & W. J. JEWELL [1993]. Biotransformation of tetrachloroethylene by anaerobic attached-films at low temperatures. Water Res. 27, 4: 607–615.

CHAPELLE, F. H. & P. M. BRADLEY [1998]. Selecting remediation goals by assessing the natural attenuation capacity of groundwater systems. Bioremed. J. 2, 3: 227–238.

CHAPELLE, F. H., P. M. BRADLEY, D. R. LOVLEY, K. O'NEILL & J. E. LANDMEYER [2002]. Rapid evolution of redox processes in a petroleum hydrocarbon-contaminated aquifer. Ground Water 40, 4: 353–360.

CHAPELLE, F. H., S. H. HAACK, P. ADRIAENS, M. A. HENRY & P. M. BRADLEY [1996]. Comparison of E_h and H_2 measurements for delineating redox processes in a contaminated aquifer. Environ. Sci. Technol. 30, 12: 3565–3569.

CHAPELLE, F. H. & P. B. MCMAHON [1991]. Geochemistry of dissolved inorganic carbon in a coastal plain aquifer. 1. Sulfate from confining beds as an oxidant in microbial CO_2 production. J. Hydrol. 127, 1-4: 109–135.

CHAPELLE, F. H., P. B. MCMAHON, N. M. DUDROVSKY, R. F. FUJII, E. T. OAKSFORD & D. A. VROBLESKY [1995]. Deducing the distribution of terminal electron-accepting processes in hydrologically diverse groundwater systems. Water Res. Research 31, 2: 359–371.

CHAPELLE, F. H., D. A. VROBLESKY, J. C. WOODWARD & D. R. LOVLEY [1997]. Practical considerations for measuring hydrogen concentrations in groundwater. Environ. Sci. Technol. 31, 10: 2873–2877.

CHARTRAND, M. M., A. WALLER, T. E. MATTES, M. ELSNER, G. LACRAMPE-COULOUME, J. GOSSETT, E. EDWARDS & B. LOLLAR [2005]. Carbon isotopic fractionation during aerobic vinyl chloride degradation. Environ. Sci. Technol. 39, 4: 1064–1070.

CHRISTENSEN, T. H., P. L. BJERG, S. A. BANWART, R. JAKOBSEN, G. HERON & H.-J. ALBRECHTSEN [2000]. Characterization of redox conditions in groundwater contaminant plumes. J. Cont. Hydrol. 45, 3-4: 165–241.

CHU, K.-H., S. MAHENDRA, D. L. SONG, M. E. CONRAD & L. ALVAREZ-COHEN [2004]. Stable carbon isotope fractionation during aerobic biodegradation of chlorinated ethenes. Environ. Sci. Technol. 38, 11: 3126 – 3130.

CONRAD, R. [1996]. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H_2, CO, CH_4, OCS, N_2O ,and NO). Microbiol. Rev. 60, 4: 609–640.

CONRAD, R. [1999]. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments. FEMS Microbiol. Ecol. 28, 3: 193–202.

COPE, N. & J. B. HUGHES [2001]. Biologically-enhanced removal of pce from napl source zones. Environ. Sci. Technol. 35, 10: 2014–2021.

CORD-RUWISCH, R., H. J. STEITZ & R. CONRAD [1988]. The capacity of hydrogenotrophic anaerobic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of the terminal electron acceptor. Arch. Microbiol. 149, 4: 350–357.

COZZARELLI, I. M., J. M. SULFLITA, G. A. ULRICH, S. H. HARRIS, M. A. SCHOLL, J. L. SCHLOTTMANN & S. CHRISTENSON [2000]. Geochemical and microbiological methods for evaluating anaerobic processes in an aquifer contaminated by landfill leachate. Environ. Sci. Technol. 34, 18: 4025–4033.

CUPPLES, A. M., A. M. SPORMANN & P. L. MCCARTY [2004]. Vinyl chloride and cis-dichloroethene dechlorination kinetics and microorganism growth unter substrate limiting conditions. Environ. Sci. Technol. 38, 4: 1102–1107.

DAHMKE, A. [1997]. Aktualisierung der Literaturstudie “Reaktive Wände” pH-Redoxreaktive Wände. Landesanstalt für Umweltschutz, Baden-Württemberg, Texte und Berichte zur Altlastenbearbeitung, 33/97, Karlsruhe.

DAMBORSKY, J. [1999]. Tetrachloroethene-dehalogenating bacteria. Folia Microbiol. 44, 3: 247–262.

DE BRUIN, W. P., M. J. J. KOTTERMAN, M. A. POSTHUMUS, G. SCHRRA & A. J. B. ZEHNDER [1992]. Complete biological reductive transformation of tetrachloroethene to ethane. Appl. Environ. Microbiol. 58, 6: 1996–2000.

DEKANT, W. & S. VAMVAKAS [1994]. Toxikologie für Chemiker und Biologen. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. S. 237-240.

DINICOLA, R. S., S. E. COX, J. E. LANDMEYER & P. M. BRADLEY [2002]. Natural attenuation of chlorinated volatile organic compounds in ground water at Operable Unit 1, Naval Undersea Warfare Center, Division Keyport, Washington. U.S. GEOLOGICAL SURVEY Open-File Rep. 02-4119 .

DISTEFANO, T. D., J. M. GOSSETT & S. H. ZINDER [1991]. Reductive dechlorination of high concentrations of tetrachloroethene to ethene by an anaerobic enrichment culture in the absence of methanogenesis. Appl. Environ. Microbiol. 57, 8: 2287–2292.

DISTEFANO, T. D., J. M. GOSSETT & S. H. ZINDER [1992]. Hydrogen as an electron donor for dechlorination of tetrachloroethene by an anaerobic mixed culture. Appl. Environ. Microbiol. 58, 11: 3622–3629.

DOLFING, J. [1999]. Comment on „Competition for hydrogen within a chlorinated solvent dehalogenating anaerobic mixed culture“. Environ. Sci. Technol. 33, 12: 2127.

EISENBEIS, M., P. BAUERKREISEL & H. SCHOLZ-MURAMATSU [1997]. Studies on the dechlorination of tetrachloroethene to cis-1,2-dichloroethene by *Dehalospirillium multivorans* in biofilms. Water Sci. Technol. 36, 1: 191–198.

EL FANTROUSSI, S. E., H. NAVEAU & S. N. AGATHOS [1998]. Anaerobic dechlorinating bacteria. Biotechnol. Prog. 14, 2: 167–188.

EUROPÄISCHES PARLAMENT [2000]. Richtlinie 2000/60/EG des europäischen Parlamentes und Rates vom 23.10.2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik (EG-WRRL). Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L 327/1 vom 22.12.2000.

FATHEPURE, B. Z. & S. A. BOYD [1988]. Dependence of tetrachloroethylene dechlorination on methanogenic substrate consumption by *Methanosarcina* sp. Strain DCM. Appl. Environ. Microbiol. 54, 12: 2976–2980.

FATHEPURE, B. Z., J. P. NENGU & S. A. BOYD [1987]. Anaerobic bacteria that dechlorinate perchloroethene. Appl. Environ. Microbiol. 53, 11: 2671–2674.

FENNELL, D. E. & J. M. GOSSETT [1997]. Comparison of butyric acid, ethenol, lactic acid, and propionic acid as hydorgen donors for the reductive dechlorination of tetrachloroethene. Environ. Sci. Technol. 31, 3: 918–926.

FENNELL, D. E., M. A. STOVER, S. T. ZINDER & J. M. GOSSETT [1995]. Comparison of alternative electron donors to sustain pce anaerobic reductive dechlorination. In: Third International In Situ and On-Site Bioreclamation Symposium; 3(4) Bioremediation of Chlorinated Solvents (R. E. HINCHEE, A. LEESON & L. SEMPRINI, Hg.). Battelle Press, Columbus, USA, 9–16.

FENT, K. [1998]. Ökotoxikologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. S. 33.

FERIS, K. P., K. HRISTOVA, B. GEBREYESUS, D. MACKAY & K. M. SCOW [2004]. A shallow BTEX and MTBE contmainated aquifer supports a diverse microbial community. Microb. Ecol. 48, 4: 589–600.

FERREY, M. L., R. T. WILKIN, R. G. FORD & J. T. WILSON [2004]. Nonbiological removal of cis-dichloroethylene in aquifer sediment containing magnetite. Environ. Sci. Technol. 38, 6: 1746–1752.

FERRY, J. G., P. H. SMITH & R. S. WOLFE [1974]. *Methanospirillum*, a new genus of methanogenic bacteria and characterization of *Methanospirillum hungatii* sp.nov.. Int. J. Syst. Bacteriology 24, 4: 465–469.

FERRY, J. G. & R. S. WOLFE [1977]. Nutritional and bichemical characterization of *Methanospirillum hungatii*. Appl. Environ. Microbiol. 34, 4: 371–376.

FEY, A. & R. CONRAD [2004]. Effect of temperature on carbon and electron flow and on the archeal community in methanogenic rice field soil. Appl. Environ. Microbiol. 66, 11: 4790–4797.

FREEDMAN, D. L. [1989]. Biological reductive dechlorination of tetrachlorethylene and trichloroethylene to ethylene under methanogenic conditions. Appl. Environ. Microbiol. 55, 9: 2144–2151.

GELLER, A. [1998]. Leichtflüchtige Chlorkohlenwasserstoffe (LCKW), Überblick . In: Leitfaden - Biologische Verfahren zur Bodensanierung (J. MICHELS, T. TRACK, U. GEHRKE & D. SELL, Hg.). Umweltbundesamt Fachgebiet III 3.6 Projektträger Abfallwirtschaft und Altlastensanierung (PT AWAS), Postfach 33 00 22, 14191 Berlin, 51–88.

GENTRY, T. J., C. RENSING & I. L. PEPPER [2005]. New approaches for bioaugmentation as a remediation technology. Critical Reviews in Environ. Sci. and Technol. 34, 5: 447–494.

GERRITSE, J., V. RENARD, T. M. P. GOMES, P. A. LAWSON, M. D. COLLINS & J. C. GOTTSCHAL [1996]. *Desulfitobacterium* sp. strain PCE1, an anaerobic bacterium that can grow by dechlorination of tetrachloroethene or ortho-chlorinated phenols. Arch. Microbiol. 165, 2: 132–140.

GIBSON, S. A. & G. W. SEWELL [1992]. Stimulation of reductive dechlorination of tetrachloroethene in anaerobic aquifer microcosms by addition of short-chain organic acids or alcohols. Appl. Environ. Microbiol. 58, 4: 1392–1393.

GLISSMANN, K., K.-J. CHIN, P. CASPER & R. CONRAD [2004]. Methanogenic pathway and archaeal community structure in the sediment of eutrophic lake Dagow: Effect of temperature. Microb. Ecol. 48, 3: 389–399.

GONSOULIN, M. E., B. H. WILSON & J. T. WILSON [2004]. Biodegradation of PCE and TCE in landfill leachate predicted from concentrations of molecular hydrogen: a case study. Biodegradation 15, 6: 475–485.

GOSSETT, J. M. [1987]. Measurement of henry´s law constant for C_1 and C_2 chlorinated hydrocarbons. Environ. Sci. Technol. 21, 2: 202–208.

GRAHAME, D. A. & E. DEMOLL [1995]. Substrate and accessory protein-requirements and thermodynamics of acetyl-coa synthesis and cleavage in *Methanosarcina barkeri*. Biochemistry 34, 14: 4617–4624.

GRAHAME, D. A., S. GENCIC & E. DEMOLL [2005]. A single operon-encoded form of the acetyl-CoA decarbonylase/synthase multienzyme complex responsible for synthesis and cleavage of acetyl-CoA in *Methanosarcina thermophila*. Arch. Microbiol. 184, 1: 32–40.

GRIEBLER, C. & F. MÖSSLACHER [2003]. Grundwasserökologie. Facultas Universitätsverlag, Wien.

GU, A. Z. H. D. S., J. M. H. PIETARI & S. E. STRAND [2003]. Vinyl bromide as surrogate for determining vinyl chloride reductive dechlorination potential. Environ. Sci. Technol. 37, 19: 4410–4416.

HANSEN, L. K., R. JAKOBSEN & D. POSTMA [2001]. Methanogenesis in a shallow sandy aquifer, Rømø, Denmark. Geochim. Cosmochim. Acta 65, 17: 2925–2935.

HE, J., K. M. RITALAHTI, M. R. AIELLO & F. E. LÖFFLER [2003]. Complete detoxification of vinyl chloride by an anaerobic enrichment culture and identification of the reductively dechlorinating population as a *Dehalococcoides* species. Appl. Environ. Microbiol. 69, 2: 996–1003.

HE, J., Y. SUNG, M. E. DOLLHOPF, B. Z. FATHEPURE, J. M. TIEDJE & F. E. LÖFFLER [2002]. Acetate versus hydrogen as direct electron donors to stimulate the microbial reductive dechlorination process at chloroethene-contaminated sites. Environ. Sci. Technol. 36, 18: 3945 –3952.

HEIMANN, A., S. MARCZINEK, K. KLOOS & S. PEIFFER [2003]. Optimization of the sampling technique for the determination of dissolved hydrogen in groundwater. Acta hydrochim. hydrobiol. 31, 6: 491–500.

HEIMANN, A. C., A. K. FRIIS & R. JAKOBSEN [2005]. Effects of sulfate on anaerobic chloroethene degradation by an enriched culture under transient and steady-state hydrogen supply. Water Res. 39, 15: 3579–3586.

HEIMANN, A. C. & R. JAKOBSEN [2006]. Experimental evidence for a lack of thermodynamic control on hydrogen concentrations during anaerobic degradation of chlorinated ethenes. Environ. Sci. Technol. 40, 11: 3501–3507.

HELD, T. [1999]. Natural Attenuation bei CKW-Kontaminationen. In: Natural Attenuation, Möglichkeiten und Grenzen naturnaher Sanierungsstrategien. DECHEMA e.V., 149–166.

HENDRICKSON, E. R., J. A. PAYNE, M. G. S. R. M. YOUNG, M. P. PERRY, D. E. E. S. FAHNESTOCK & R. C. EBERSOLE [2002]. Molecular analysis for *Dehalococcoides* 16S ribosomal DNA from chloroethen-contaminated sites throughout North America and Europe. Appl. Environ. Microbiol. 68, 2: 485–495.

HENSCHLER, D. [1994]. Toxikologie chlororganischer Verbindungen. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim. S. 22-28.

HICKMANN, J. C. [1993]. Tetrachlorethylene. In: Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology, Bd. 6. John Wiley & Sons, Inc., New York, 4. Aufl., 50–59.

HOEHLER, T. M., J. M. ALPERIN, A. D. B. & C. S. MARTENS [2001]. Apparent minimum free energy requirements for methanogenic archaea and sulfate-reducing bacteria in an anoxic marine sediment. FEMS Microbiol. Ecol. 38, 1: 33–41.

HOLLIGER, C., D. HAHN, H. HARMSEN, W. LUDWIG, W. SCHUHMACHER, B. TINDALL, F. VAZQUEZ, N. WEISS & A. J. B. ZEHNDER [1998]. *Dehalobacter restrictus* gen. nov. and sp. nov., a strictly anaerobic bacterium that reductively dechlorinates tetra- and trichlororethene in an anaerobic respiration. Arch. Microbiol. 169, 4: 313–321.

HOLLIGER, C., G. SCHRAA, A. STAHMS & A. ZEHNDER [1993]. A highly purified enrichment culture couples the reductive dechlorination of tetrachloroethene to growth. Appl. Environ. Microbiol. 59, 9: 2991–2997.

HOLLIGER, C. & W. SCHUMACHER [1994]. Reductive dehalogenation as a respiratory process. Antonie van Leeuwenhoek Int. J. of General and Molecular Microbiology 66, 1-3: 239–246.

HUBER, S. A. [2005]. Das LC-OCD Verfahren. URL: http://www.doc-labor.de/. Abruf: 25. Okt. 2005.

HUBER, S. A. & F. H. FRIMMEL [1996]. Gelchromatographie mit Kohlenstoffdetektion (LC-OCD): Ein rasches und aussagekräftiges Verfahren zu Charakterisierung hydrophiler organischer Wasserinhaltsstoffe. Vom Wasser 86: 277–290.

HUNKELER, D., R. ARAVENA, K. BERRY-SPARK & E. COX [2005]. Assessment of degradation pathways in an aquifer with mixed chlorinated hydrocarbon contamination using stable isotope analysis. Environ. Sci. Technol. 39, 16: 5975 –5981.

JACOB, K. [1999]. FFU-Report 99-2: Ökologische Modernisierung und Strukturwandel in der Chemischen Industrie: Der Fall Chlorchemie. Fallstudie im Rahmen des DFG-Forschungsprojektes "Erfolgsbedingungen umweltentlastenden Strukturwandels: Internationale Fallstudien zu ausgewählten Grundstoffindustrien". Forschungsstelle für Umweltpolitik, Ihnestraße 22, 14195 Berlin.

JAKOBSEN, R. [2002]. Including stagnant zones in order to model overlapping redox processes occurring in a shallow sandy aquifer. Geochim. Cosmochim. Acta 66, 15A: A362.

JAKOBSEN, R., H.-J. ALBRECHTSEN, M. RASMUSSEN, H. BAY, P. L. BJERG & T. H. CHRISTENSEN [1998]. H_2 concentrations in a landfill leachate plume (Grindsted, Denmark): In situ energetics of terminal electron acceptor processes. Environ. Sci. Technol. 32, 14: 2142–2148.

KAO, C. M., Y. L. CHEN, S. C. CHEN, T. Y. YEH & W. S. WU [2003]. Enhanced pce dechlorination by biobarrier systems under different redox conditions 37, 20: 4885–4894.

KASSENGA, G., J. H. PARDUE, W. M. MOE & K. S. BOWMAN [2004]. Hydrogen thresholds as indicators of dehalorespiration in constructed treatment wetlands. Environ. Sci. Technol. 38, 4: 1024–1030.

KENNES, C., M. C. VEIGA & L. BHATNAGAR [1998]. Methanogenic and perchloroethylene-dechlorinating activity of anaerobic granular sludge. Appl. Microbiol. Biotechnol. 54, 4: 484–488.

KILTZ, P. [2003]. Entwicklung einer Analysenmethode zur Bestimmung von Wasserstoff in wässrigen Proben. Diplomarbeit, TU Berlin, Institut für Technischen Umweltschutz, AG Umwelthygiene.

KOCH, H.-J., M. DOHMANN, T. EIKMANN, C. VON HAAREN, M. JÄNICKE, P. MICHAELIS & K. OTT [2004]. Umweltgutachten 2004 - Umweltpolitische Handlungsfähigkeit sichern. Geschäftsstelle des Rates von Sachverständigen für Umweltfragen (SRU), Reichpietschufer 60, 7. OG, D-10785 Berlin.

KOCH, R. [1991]. Umweltchemikalien: Physikal.-chem. Daten, Toxizitäten, Grenz- und Richtwerte, Umweltverhalten. VCH-Verlag, Weinheim, 2. Aufl.

KOMATSU, T., K. MOMONOI, T. MATSUO & K. HANAKI [1994]. Biotransformation of cis-1,2-dichloroethylene to ethylene and ethane under anaerobic conditions. Water Sci. Technol. 30, 7: 75–84.

KRAEMER, H. & R. CONRAD [1993]. Measurement of dissolved H_2 concentrations in methanogenic environments with a gas-diffusion probe. FEMS Microbiol. Ecol. 12, 3: 149–158.

KREKELER, D. & H. CYPIONKA [1995]. The preferred electron acceptor of *Desulfovibrio desulfuricans* csn. FEMS Microbiol. Ecol. 17, 4: 271–277.

KRIEG, N. R. & J. G. HOLT (Hg.) [1984]. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Bd. 1. Williams & Wilkins, Baltimore. S. 666 ff.

KRUMHOLZ, L. R., R. SHARP & S. S. FISHBAIN [1996]. A freshwater anaerobe coupling acetate oxidation to tetrachloroethylene dehalogenation. Appl. Environ. Microbiol. 62, 11: 4108–4113.

KUDER, T., J. T. WILSON, P. KAISER, R. KOLHATKAR, P. PHILP & J. ALLEN. [2005]. Enrichment of stable carbon and hydrogen isotopes during anaerobic biodegradation of MTBE: microcosm and field evidence. Environ. Sci. Technol. 39, 1: 213–220.

KUHLMANN, A. [1998]. Untersuchungen zur reduktiven Dechlorierung von Tetrachlorethen durch eine methanogene Mischkultur. Diplomarbeit, TU Berlin, Institut für Technischen Umweltschutz, FG Hygiene.

LAABS, C. [2004]. Fouling of low-pressure membranes by municipal wastewater: identification of principal foulants and underlying fouling mechanisms. (Dissertation,TU Berlin, Fakultät III, Prozesswissenschaften). Logos verlag, Berlin.

LANDMEYER, J. E., F. CHAPELLE & P. BRADLEY [2000]. Microbial H_2 cycling does not affect d2H values of ground water. Ground Water 38, 3: 376–380.

LANGWALDT, J. H. & J. A. PUHAKKA [2005]. Characterization and microbial utilization of dissolved organic carbon in groundwater contaminated with chlorophenols. Chemosphere 59, 7: 983–996.

LEAHY, J. G. & G. S. SHREVE [2000]. The effect of organic carbon on the sequential reductive dehalogenation of tetrachloroethylene in landfill leachates 34, 8: 2390–2396.

LEE, W. & B. BATCHELOR [2002]. Abiotic reductive dechlorination of chlorinated ethylenes by iron-bearing soil minerals. 1. pyrite and magnetite. Environ. Sci. Technol. 36, 23: 5147 – 5154.

LEENHEER, J. A. & J.-P. CROUE [2003]. Characterizing aquatic dissolved organic matter. Environ. Sci. Technol. 37, 1: 18A–26A.

LEENHEER, J. A., R. L. MALCOLM, P. W. MCKINLEY & L. ECCLES [1974]. Occurence of dissolved organic carbon in selected groundwater samples in the United States. J. Res. U.S. Geological Survey 2: 361–369.

LENDVAY, J. M., F. E. LÖFFLER, M. DOLLHOPF, M. R. AIELLO, G. DANIELS & B. Z. FATHEPURE [2003]. Bioreactive barriers: A comparison of bioaugmentation and biostimulation for chlorinated solvent remediation. Environ. Sci. Technol. 37, 7: 1422–1431.

LI, X. D. & F. W. SCHWARTZ [2004]. DNAPL mass transfer and permeability reduction during in situ chemical oxidation with permanganate. Geophysical Research Letters 31, 6: L06504.

LÖFFLER, F. E., J. M. TIEDJE & R. A. SANFORD [1999]. Fraction of electrons consumed in electron acceptor reduction and hydrogen thresholds as indicators of halorespiratory physiology. Appl. Environ. Microbiol. 65, 9: 4049–4056.

LOLLAR, B. S., G. F. SLATER, B. SLEEP, M. WITT, G. M. KLECKA, M. HARKNESS & J. SPIVACK [2001]. Stable carbon isotop evidence for intrinsic bioremediation of tetrachloroethene an trichloroethene at area 6, Dover Air Force Base. Environ. Sci. Technol. 35, 2: 261–269.

LOVLEY, D. R. & F. H. CHAPELLE [1995]. Deep subsurface microbial processes. Rev. Geophysics 33, 3: 365–381.

LOVLEY, D. R., F. H. CHAPELLE & J. C. WOODWARD [1994]. Use of dissolved H_2 concentrations to determine distribution of microbially catalyzed redox reactions in anoxic groundwater. Environ. Sci. Technol. 28, 7: 1205–1210.

LOVLEY, D. R. & S. GOODWIN [1988]. Hydrogen concentrations as an indicator of the predominant terminal electron-accepting reactions in aquatic sediments. Geochim. Cosmochim. Acta 52, 12: 2993–3003.

LOVLEY, D. R. & E. J. P. PHILLIPS [1986]. Organic matter mineralization with the reduction of ferric iron in anerobic sediments. Appl. Environ. Microbiol. 51, 4: 683–689.

LU, X.-X., G.-H. LI, S. TAO, T. BOSMA & J. GERRITSE [2002]. Volatile fatty acids as electron donors for the reductive dechlorination of chloroethenes. J. Environ. Sci. Health A37, 4: 439–449.

LU, X.-X., S. TAO, T. BOSMA & J. GERRITSE [2001]. Characteristic hydrogen concentrations for various redox processes in batch study. J. Environ. Sci. Health 36, 9: 1725–1734.

LUIJTEN, M. L. G. C., W. ROELOFSEN, A. A. M. LANGENHOFF, G. SCHRAA & A. J. M. STAMS [2004]. Hydrogen threshold concentrations in pure cultures of halorespiring bacteria and at a site polluted with chlorinated ethenes. Environ. Biol. 6, 6: 646–650.

MACKAY, D. M. & J. A. CHERRY [1989]. Groundwater contamination: Pump and treat remediation. Environ. Sci. Technol. 23, 6: 630–636.

MADIGAN, M. T., J. M. MARTINKO & J. PARKER [2001]. Brock Mikrobiologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

MAGNUSON, J. K., R. V. STERN, J. M. GOSSETT, S. H. ZINDER & D. R. BURRIS [1998]. Reductive dechlorination of tetrachloroethene to ethene by a two-component enzyme pathway. Appl. Environ. Microbiol. 64, 4: 1270–1275.

MAROSKY, N. & R. LUTZE [2005]. Natural Attenuation am Beispiel eines LCKW-kontaminierten Grundwassers - Rolle des DOC beim mikrobiellen Abbau. Projektarbeit am Institut für Technischen Umweltschutz, TU Berlin.

MAYMO-GATELL, X., T. ANGUISH & S. H. ZINDER [1999]. Reductive dechlorination of chlorinated ethenes and 1,2-dichloroethane by „*Dehalococcoides ethenogenes*“ 195. Appl. Environ. Microbiol. 65, 7: 3108–3113.

MAYMO-GATELL, X., I. NIJENHUIS & S. H. ZINDER [2001]. Reductive dechlorination of cis-1,2-dichloroethene and vinyl chloride by „*Dehalococcoides ethenogenes*“. Environ. Sci. Technol. 35, 3: 516–521.

MAYMO-GATELL, X., V. TANDOI, J. M. GOSSETT & S. H. ZINDER [1995]. Characterization of an H_2-utilizing enrichment culture that reductively dechlorinates tetrachloroethene to vinyl chloride and ethene in the absence of methanogenesis and acetogenesis. Appl. Environ. Microbiol. 61, 11: 3928–3933.

MAYMO-GATELL, X., Y.T.CJIEN, J. GOSSETT & S. ZINDER [1997]. Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene. Science 276, 5318: 1568–1571.

MAZUR, C. S. & W. J. JONES [2001]. Hydrogen concentrations in sulfate-reducing estuarine sediments during PCE dehalogenation. Environ. Sci. Technol. 35, 24: 4783–4788.

MCCARTY, P. [1997]. Breathing with chlorinated solvents. Science 276, 5318: 1521–1522.

MCGUIRE, J. T., D. T. LONG, M. J. KLUG, S. K. HAACK & D. W. HYNDMANN [2002]. Evaluating behavior of oxygen, nitrate, and sulfate during recharge and quantifying reduction rates in a contaminated aquifer. Environ. Sci. Technol. 36, 12: 2693–2700.

MCGUIRE, J. T., E. W. SMITH, D. T. LONG, D. W. HYNDMAN, S. K. HAACK, M. J. KLUG & M. A. VELBEL [2000]. Temporal variations in parameters reflecting terminal-electron-accepting processes in an aquifer contaminated with waste fuel and chlorinated solvents. Chemical Geology 169, 3-4: 471–485.

MCINERNEY, M. J. & M. P. BRYANT [1981]. Anaerobic degradation of lactate by syntrophic associations of *Methanosarcina barkeri* and *Desulfovibrio* species and effect of H_2 on acetat degradation. Appl. Environ. Microbiol. 41, 2: 346–354.

MCINNES, D. M. & D. KAMPBELL [2000]. The bubble stripping method for determining dissolved hydrogen H_2 in well water. Field Analytical Chemistry and Technology 4, 6: 283–296.

MCKNIGHT, U., M. FINKEL, M. KÜBERT, D. WABBELS, M. BITTENS, H. RÜGNER & G. TEUTSCH [2005]. Anwendung eines rezeptor-orientierten multikompartimentellen Modells zur Bewertung von Managementoptionen für großräumige Schadensfälle am Standort Leuna. In: 7. Symposium Natural Attenuation. DECHEMA e.V., 30–33.

MCMAHON, P. B. & B. W. BRUCE [1997]. Distribution of terminal electron-accepting processes in an aquifer having multiple contaminant sources. Appl. Geochem. 12, 4: 507–560.

VAN DER MEER, J. R., C. WERLEN, S. F. NISHINO & J. C. SPAIN [1998]. Evolution of a pathway for chlorobenzene metabolism leads to natural attenuation in contaminated groundwater. Appl. Environ. Microbiol. 64, 11: 4185–4193.

MICROSEEPS INC. [2006]. Dissolved gas sampling materials. URL: http://www.microseeps.com/html/dissolved_gas.html. Abruf: 18. Jan. 2006.

MIDDELDORP, P. J. M., M. A. VAN AALST, H. H. M. RIJNAARTS, F. J. M. STAMS, H. F. DE KREUK, G. SCHRAA & T. N. P. BOSMA [1998]. Stimulation of reductive dechlorination for in situ bioremediation of a soil contaminated with chlorinated ethenes. Water Sci. Technol. 37, 8: 105–110.

MILLER, E., G. WOHLFARTH & G. DIEKERT [1997]. Studies on tetrachloroethene respiration in *Dehalospirillum multivorans*. Arch. Microbiol. 166, 6: 379–387.

MILLER, G. S., C. E. MILLIKEN, K. R. SOWERS & H. D. MAY [2005]. Reductive dechlorination of tetrachloroethene to trans-dichloroethene and cis-dichloroethene by PCB-dechlorinating bacterium DF-1. Environ. Sci. Technol. 39, 8: 2631 – 2635.

MORITA, R. Y. [1999]. Is H_2 the universal energy source for long-term survival? Microb. Ecol. 38, 4: 307–320.

MORKIN, M., J. F. DEVLIN, J. F. BARKER & B. J. BUTLER [2000]. In situ sequential treatment of a mixed contaminated plume. J. Cont. Hydrol. 45, 3-4: 283–302.

MRAVIK, S. C., R. K. SILLAN, A. L. WOOD & G. W. SEWELL [2003]. Field evaluation of the solvent extraction residual biotreatment technology. Environ. Sci. Technol. 37, 21: 5040–5049.

MÜLLER, R. & S. RINDFLEISCH [2004]. Monitored Natural Attenuation in der Sanierung von Altlasten – Die einschlägigen Rechtsnormen in den USA, den Niederlanden und der Region England - Wales – dienlich für Deutschland? Altlasten Spektrum 5: 259–266.

MURRAY, W. A., M. DOOLEY & D. R. SMALLBECK [1999]. Natural attenuation of chlorinated solvents: When indicators are positive, does this really mean its working? J. Soil Cont. 8, 1: 23–27.

NELSON, D. K., R. M. HOZALSKI, L. W. CLAPP, M. J. SEMMENS & P. J. NOVAK [2002]. Effect of nitrate and sulfate on dechlorination by a mixed hydrogen-fed culture. Bioremed. J. 6, 3: 225–236.

NEUMANN, A. H.-M., M. MESSMER, E. MOORE & G. DIEKERT [1994]. Tetrachloroethene metabolism of *Dehalospirillum multivorans*. Archives of Microbiology 162, 4: 295–301.

NIEDERSÄCHSISCHES LANDESAMT FÜR BODENFORSCHUNG [2005]. Forschungsprojekt Grundwasser Hannover Südstadt. URL: http://www.nlfb.de/. Abruf: 03. Nov. 2005.

OREMLAND, R. S. & D. G. CAPONE [1988]. Use of specific inhibitors in biogeochemistry and microbial ecology. Adv. Microbial Ecol. 10: 285–383.

PINTHER, W. [2000]. Natural Attenuation aus Sicht einer Fachbehörde. In: 5. Symposium Natural Attenuation - Neue Erkenntnisse, Konflikte, Anwendungen. DECHEMA e.V., 38–39.

PON, G., M. R. HYMAN & L. SEMPRINI [2003]. Acetylene inhibition of trichloroethene and vinyl chloride reductive dechlorination. Environ. Sci. Technol. 37, 14: 3181–3188.

PON, G. & L. SEMPRINI [2004]. Anaerobic reductive dechlorination of 1-chloro-1-fluoroethene to track the transformation of vinyl chloride. Environ. Sci. Technol. 38, 24: 6803 – 6808.

QUALLS, R. G. [2005]. Biodegradability of fractions of dissolved organic carbon leached from decomposing leaf litter. Environ. Sci. Technol. 39, 6: 1616 –1622.

RIPPEN, G. [2005]. Handbuch der Umweltchemikalien, Band 1-7. Loseblattsammlung. Ecomed Verlagsgesellschaft AG & Co. KG, Landsberg/Lech. Stand November 2005.

ROSENTHAL, H. [2004]. Biologische Prozesse in reaktiven Systemen mit elementarem Eisen und Tetrachlorethen. Dissertation, Institut für Technischen Umweltschutz, TU Berlin.

ROSENTHAL, H., L. ADRIAN & M. STEIOF [2004]. Dechlorination of pce in the presence of FE^0 enhanced by a mixed culture containing two dehalococcoides strains. Chemosphere 55, 5: 661–669.

RYU, J.-H., R. A. DAHLGREN, S. GAO & K. K. TANJI [2004]. Characterization of redox processes in shallow groundwater of Owens Dry Lake, California. Environ. Sci. Technol. 38, 22: 5950–5957.

SALZWEDEL, J. [1999]. Bodenschutzrechtliche und wasserrechtliche Vorgaben für die Sanierung von Altlasten. Wasser und Abfall 9: 32–35.

SANFORD, R. A., R. J. COLE & J. M. TIEDJE [2002]. Characterization and description of *Anaeromyxobacter dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an aryl-halorespiring facultative anaerobic myxobacterium. Appl. Environ. Microbiol. 68, 2: 893–900.

SCHINK, B. [1997]. Energetics of synthrophic cooperation in methanogenic degradation. Microbiology and Molecular Biology Reviews 61, 2: 262–280.

SCHOLZ-MURAMATSU, H., A. NEUMANN, M. MESSMER, E. MOORE & G. DIEKERT [1995]. Isolation and characterization of *Dehalospirillum multivorans* gen. nov., sp. nov., a tetrachloroethene-utilizing, strictly anaerobic bacterium. Arch. Microbiol. 163, 1: 48–56.

SCHÜRING, J., H. D. SCHULZ, W. R. FISCHER, J. BÖTTCHER & W. H. M. DUIJNSVELD (Hg.) [2000]. Redox Fundamentals, Processes and Applications. Springer-Verlag, Berlin. S. 10.

SMATLAK, C. R. & J. M. GOSSETT [1996]. Comparative kinetics of hydrogen utilization of tetrachloroethene and methanogenesis in an anaerobic enrichment culture. Environ. Sci. Technol. 30, 9: 2850–2858.

SMETS, B. F., S. D. SICILIANO & M. VERSTRAETE [2002]. Natural attenuation: extant microbial activity forever and ever? Evironmental Microbiology 4, 6: 315–317.

SONNENSCHEIN, G., H.-J. WALBERG, S. HOFFMANN, R. MICHAELIS & W. PFLANZBAUM [2003]. BIA-Report 3/03: Stoffdossier Tetrachlorethen (PER). URL: http://www.hvbg.de/d/bia/pub/rep/rep04/pdf_datei/biar0303/bia03_03.pdf. Abruf: 19. Jan. 2006.

STANLEY, J. T., M. P. BRYANT, N. PFENNIG & J. G. HOLT (Hg.) [1989]. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Bd. 3. Williams & Wilkins, Baltimore. S. 2193 ff.

STEINER, N. & R. STRUCK [2003]. Bodenschutz- und wasserrechtliche Rahmenbedingungen für die Nutzung von NA-Prozessen. Altlasten Spektrum 5: 229–236.

STEVENS, T. & J. MCKINLEY [2000]. Abiotic controls on H_2 production from basalt-water reactions and implications for aquifer biogeochemistry. Environ. Sci. Technol. 34, 5: 826–831.

STEVENS, T. & J. MCKINLEY [2001]. Response to „Comment on 'Abiotic controls on H_2 production from basalt-water reactions and implifications for aquifer biogeochemistry'". Environ. Sci. Technol. 35, 7: 1558–1559.

STUMM, W. & J. J. MORGAN [1996]. Aquatic Chemistry: Chemical equilibria and rates in natural waters. Wiley & Sons, New York, 3. Aufl.

STUPP, H. D. [2005]. DNAPL in Boden und Grundwasser – Verhalten von LCKW und PAK-Ölen. URL: http://www.dscweb.de/Publikationen/DNAPL%20in%20Boden/paper8.html. Abruf: 01. Dez. 2005.

SUNG, Y., K. M. RITALAHTI, R. A. SANFORD, J. W. URBANCE, S. J. FLYNN, J. M. TIEDJE & F. E. LÖFFLER [2003]. Characterization of two tetrachloroethene-reducing, acetate-oxidizing anaerobic bacteria and their description as *Desulfuromonas michiganensis* sp. nov. Appl. Environ. Microbiol. 69, 5: 2964–2974.

TANDOI, V., T. D. DISTEFANO, P. A. BROWSER, J. M. GOSSETT & S. ZINDER [1994]. Reductive dehalogenation of chlorinated ethenes and halogenated ethanes by a high-rate anaerobic enrichment culture. Environ. Sci. Technol. 28, 5: 973–979.

TER MEER, J., J. GERRITSE, C. DI MAURO, M. P. HARKES & H. H. M. RIJNAARTS [2000]. Hydrogen as indicator for redox conditions and dechlorination. In: Proceedings of the 7th Int. FZK/TNO Contaminated Soil Conference 2000. 189–197.

TERZENBACH, D. P. & M. BLAUT [1994]. Transformation of tetrachloroethylene to trichloroethylene by homoacetogenic bacteria. FEMS Microbiological Letters 123, 1-2: 213–218.

TEUTSCH, G. & G. D. WABBELS [2003]. Entwicklung eines Entscheidungsbaumes am Beispiel mineralölkontaminierter Standorte mit Bezug auf die Praxis. In: 5. Symposium Natural Attenuation - Integrierte Konzepte und Sanierungstechnologien. DECHEMA e.V., 69–70.

THELOKE, J. [2005]. NMVOC-Emissionen aus der Lösemittelanwendung und Möglichkeiten zu ihrer Minderung. Dissertation, Fakultät Maschinenbau, Institut für Energiewirtschaft und Rationelle Energieanwendung (IER), Universität Stuttgart.

THIELE, J. H. & J. G. ZEIKUS [1988]. Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: significance of formate transfer versus hydrogen transfer during syntrophic methanogenesis in flocs. Appl. Environ. Microbiol. 54, 1: 20–29.

UMWELTBUNDESAMT (Hg.) [2000]. Daten zur Umwelt - Der Zustand der Umwelt in Deutschland 2000. Erich Schmidt Verlag, 7. Aufl.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (U.S. EPA) [1999]. Use of monitoring natural attenuation at superfund, RCRA corrective action, and underground storage tank sites. Office of Solid Waste and Emergency Response Directive 9200.4-17. URL: www.epa.gov/OUST/directiv/d9200417.pdf.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (U.S. EPA) [2003]. National primary drinking water standards. Office of Water (4606M), EPA 816-F-03-016. URL: www.epa.gov/safewater.

U.S. NATIONAL RESEARCH COUNCIL [2000]. Natural Attenuation for Groundwater Remediation. National Academy Press, Washington, DC.

VANCHEESWARAN, S., G. HICKMANN, R. PRATT, S. MCKINLEY, M. GERMON, J. GROSS, L. SEMPRINI & J. ISTOK [2000]. Evaluation of *in-situ* biological dehalogenation activity using a reactive tracer. In: Bioremediation and Phytoremediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds (G. B. WICKRAMANAYAKE, A. R. GAVASKAR, B. C. ALLEMAN & V. S. MAGAR, Hg.). Battelle Press, Columbus, Ohio, USA, 303–309.

VANCHEESWARAN, S. M. R. H. & L. SEMPRINI [1999]. Anaerobic biotransformation of trichlorofluoroethene in groundwater microcosms. Environ. Sci. Technol. 33, 12: 2040–2045.

VERSTEYL, L.-A. & W. D. SONDERMANN [2002]. Bundes-Bodenschutzgesetz, Kommentar. Verlag C.H. Beck, München, 1. Aufl.

VIGNAIS, P. M., B. BILLOUD & J. MEYER [2001]. Classification and phylogeny of hydrogenases. FEMS Microbiol. Rev. 25: 455–501.

VOGEL, T. & P. MCCARTY [1985]. Biotransformation of tetrachlorethylene to trichloroethylene, dichloroethylene, vinyl chloride, and carbon dioxide under methanogenic conditions. Appl. Environ. Microbiol. 49, 5: 1080–1083.

VROBLESKY, D., P. BRADLEY & F. CHAPELLE [1997]. Lack of correlation between organic acid concentrations and predominant electron-accepting processes in a contaminated aquifer. Environ. Sci. Technol. 31, 5: 1416–1418.

VROBLESKY, D. A. & F. H. CHAPELLE [1994]. Temporal and spatial changes of terminal electron-accepting processes in a petroleum hydrocarbon-contaminated aquifer and the significance for contaminant degradation. Water Res. Research 30, 5: 1561–1570.

VROBLESKY, D. A. & F. H. CHAPELLE [2002]. Workshop on Monitoring Oxidation-Reduction Processes for Ground-water Restoration - Workshop Summary Dallas, Texas April 25-27, 2000, Kap. Hydrogen measurments and redox dynamics in ground-water systems. Subsurface Protection and Remediation Division National Risk Management Research Laboratory Ada, OK 74820, 19–20. EPA/600/R-02/002.

WEAST, R. C., M. J. ASTLE & W. H.BEYER (Hg.) [1985]. CRC Handbook of Chemistry and Physics. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 66. Aufl.

WIDDEL, F. [1988]. Biology of anaerobic microorganisms, Kap. Microbiology and ecology of sulfate- and sulfur-reducing bacteria. John Wiley & Sons, Inc., New York, 469–585.

WIEDEMEIER, T., M. A. SWANSON, D. E. MOUTOUX, E. K. GORDON, J. T. WILSON, B. H. WILSON, D. H. KAMPBELL, P. E. HAAS, R. N. MILLER, J. E. HANSON & F. H. CHAPELLE [1998]. Technical protocol for evaluation natural attenuation of chlorinated solvents in ground water. EPA/600/R-98/128 .

WIEDEMEIER, T. H., S. RIFAI, HANADI, C. J. NEWELL & J. T. WILSON [1999]. Natural Attenuation of Fuels and Chlorinated Solvents in the Subsurface. John Wiley & Sons, INC., New York.

WITT, M. E., G. M. KLECKA, E. J. LUTZ, T. A. EI, N. R. GROSSO & F. H. CHAPELLE [2002]. Natural attenuation of chlorinated solvents at area 6, dover air force base: groundwater biogeochemistry. J. Cont. Hydrol. 57, 1: 61–80.

WOLF, M. [2003]. Voraussetzungen zur Überführung einer aktiven Sanierungsmaßnahme in MNA am Beispiel eines CKW-Schadens - Entscheidungshilfe. In: 5. Symposium Natural Attenuation - Integrierte Konzepte und Sanierungstechnologien. DECHEMA e.V., 67–68.

YAGER, R. M., S. E. BILOTTA, C. L. MANN & E. L. MADSEN [1997]. Metabolic adaptation and in situ attenuation of chlorinated ethenes by naturally occuring microorganisms in a fractured dolomite aquifer near Niagara Falls, New York. Environ. Sci. Technol. 31, 11: 3138–3147.

YANG, Y. & P. L. MCCARTY [1998]. Competition for hydrogen within a chlorinated solvent dehalogenating anaerobic mixed culture. Environ. Sci. Technol. 32, 22: 3591–3597.

YANG, Y. & P. L. MCCARTY [2002]. Comparison between donor substrates for biologically enhanced tetrachloroethene dnapl dissolution. Environ. Sci. Technol. 36, 15: 3400–3404.

YANG, Y. R. & P. L. MCCARTY [1999]. Response to „Comment on 'Competition for hydrogen within a chlorinated solvent dehalogenating anaerobic mixed culture' “. Environ. Sci. Technol. 33, 12: 2128–2128.

ZEIKUS, J. G. & V. G. BOWEN [1975]. Fine structure of *Methanospirillum hungatei*. Journal of Chemical and Engineering Data 121, 1: 373–380.

ZHENG, D., C. S. CARR & J. B. HUGHES [2001]. Influence of hydraulic retention time on extent of PCE dechlorination and preliminary characterization of the enrichment culture. Bioremed. J. 5, 2: 159–168.

ZIEGLER, D. [2001]. Untersuchungen zur nachhaltigen Wirkung der Uferfiltration im Wasserkreislauf Berlins. Dissertation, Institut für Technischen Umweltschutz, TU Berlin.

ZITTWITZ, M., M. GERHARDT & M. RINGPFEIL [2003]. Praktische Erfahrungen in der kommerziellen Anwendung von Enhanced Natural Attenuation für die Sanierung von Mineralöl- und LCKW-Schadensfällen. In: 5. Symposium Natural Attenuation - Integrierte Konzepte und Sanierungstechnologien. DECHEMA e.V., 182–184.

Anhang

Anhang A

Analytik

A.1 Gaschromatographie

Tabelle A.1: Daten zur H_2-Messung für hohe Konzentrationen

Gerät	GC-14A, Fa. Shimadzu, Kyoto, Japan Injektion manuell
Injektionsvolumen	100μl
Injektortemperatur	30°C
Säule	CTRI, 182,88 cm, Fa. Alltech GmbH, Unterhaching
Innere Säule:	ø 0,42 cm, poröse Polymermatrix Porapak
Äußere Säule:	ø 0,625 cm, aktiviertes Molekularsieb 13x
Säulentemperatur	30°C isotherm
Trägergas	Stickstoff 5.0
Trägergasstrom	65 ml/min
Detektor	Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD)
Brückenstrom des Detektors	80 mA (H2-Messung)
Temperatur des Detektors	35°C
Integration	PeakNet 5.1, Fa. Dionex, Sunnyval, Kalifornien, USA
Methodenzeit	2 min
Konzentrationsbereich	0,1-10 %

Tabelle A.2: Daten zur H_2-Messung für Konzentrationen im nanomolaren Bereich

Gerät	GC-14B, Fa. Shimadzu, Kyoto, Japan Injektion manuell über Extraktionseinheit
Injektionsvolumen	0,2 bzw. 1 ml
Säule	
Vorsäule	HayeSep D (Fa. ICT, Bad Homburg)
Hauptsäule	3 m, 1/8", Molekularsieb 5A
Säulentemperatur	40°C isotherm
Trägergas	Helium 5.0, zusätzlich gereinigt mittels Getterpatrone (Vici Valco Instruments Co. Inc.)
Trägergasstrom	
Purge	200 bar, Druck auf die Probenschleife
Carrier 1	250 bar, Druck auf der Vorsäule
Carrier 2	165 bar, Druck auf die Hauptsäule
Carrier P2	3,5 bar, Gasstrom zum Detektor
Detektor	Pulsed discharge ionization detector (PDID) (Modell: PD-D-4-I; Vici Valco Instruments Co. Inc.)
Temperatur des Detektors	110°C
Integration	PeakNet 5.1, Fa. Dionex, Sunnyval, Kalifornien, USA
Methodenzeit	5,5 min
Konzentrationsbereich	0,1-10 %
Extraktionseinheit	Eigenbau, Paschelke Ingenieurbüro f. chem. Analytik
Volumen der Extraktionskammer	ca. 2,5 ml
Volumen der Probenschleife	2 ml

Tabelle A.3: Daten zur LCKW-Messung, PE 8700

Gerät	Gaschromatograph 8700, Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, USA
Probengeber	Dampfrauminjektor HS-101, Perkin Elmer Corp.
Thermostatisierzeit	60 min
Probentemperatur	50°C
Transfertemperatur	70°C
Injektortemperatur	80°C
Zeit des Druckaufbaus	2,5 min
Druck	120 kPA
Injektionszeit	0,25 min
Säule	GS Gas-Pro 30 m
Trägergas	Helium 5.0
Temperaturprogramm	Gase: 50°C, 9°C/min auf 68°C für 1 min LCKW und Gase: 50°C, 9°C/min auf 211°C für 1 min
Detektor	Flammenionisationsdetektor (FID)
Detektortemperatur	280°C
Methodenzeit	Gase: 5 min; LCKW und Gase: 25 min
Integration	PeakNet 5.1, Fa. Dionex, Sunnyval, Kalifornien, USA

Tabelle A.4: Daten zur LCKW-Messung, PE 8500

Gerät	Gaschromatograph 8500, Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, USA
Probengeber	Dampfrauminjektor HS-101, Perkin Elmer Corp.
Thermostatisierzeit	50 min
Probentemperatur	50°C
Transfertemperatur	80°C
Injektortemperatur	80°C
Zeit des Druckaufbaus	2,0 min
Druck	120 kPA
Injektionszeit	0,20 min
Säule	GS Gas-Pro 30 m
Trägergas	Helium 5.0
Temperaturprogramm	Gase: 40°C, 10°C/min auf 60°C für 1 min LCKW und Gase: 40°C für 2 min, 30°C/min auf 220°C für 2 min
Detektor	Flammenionisationsdetektor (FID)
Detektortemperatur	280°C
Methodenzeit	Gase: 5 min; LCKW und Gase: 11 min
Integration	PeakNet 5.1, Fa. Dionex, Sunnyval, Kalifornien, USA

A.2 Ionenchromatographie

Tabelle A.5: Daten zur Ionenchromatographie

Gerät	DX-120 Ion, Fa. Dionex, Sunnyval, Kalifornien
Vorsäule	IonPac® AG 14 Guard (4 x 50 mm), Fa. Dionex
Anionenaustauschersäule	IonPac® AS 14 Analytical (4 x 250 mm), Fa. Dionex
Leitfähigkeits-Detektor	CD4, Fa. Dionex ;*hier später noch UV bzw. Fluoreszenz berücksichtigen*
UV-Detektor	BT 3030, Fa. Biotronik, Frankfurt am Main
Laufmittel	0,35 mM Na2CO3, 0,1 mM NaHCO3 in Millipore
Fluss	1,2 ml/min
Suppressor	ASRA-Ultra, Fa. Dionex
Probengeber	Autosampler P/N 37077, Fa. Dionex
Probenschleife	50μl
Methodenzeit	11 min
Integration	PeakNet 5.1, Fa. Dionex, Sunnyval, Kalifornien, USA

A.3 DOC-Bestimmung

Tabelle A.6: Daten zur DOC-Bestimmung

Gerät	Hochtemperatur-TOC-Analysator, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau
Arbeitsbereich	0,2 bis 10.000 mg/l C
Analysendauer	12 min
Trägergas	Synthetische Luft (Fa. Air Liquide, Düsseldorf)
Probenaufschluss	Saurer Aufschluss des DIC mit 0,8 %iger Salzsäure
Detektor	Küvetten-Mehrkanal-Infrarot-Detektor
Integration	liquiTOC®-Software

Anhang B

Zusammensetzung der Nährmedien

Tabelle B.1: Medium für die dechlorierende Mischkultur (Stamm-Medium)

Basallösung		
$MgCl_2$ x 6 H_2O	0,10	g/l
$CaCl_2$ x 2 H_2O	0,11	g/l
Carbonatpuffer		
$KHCO_3$	0,70	g/l
$NaHCO_3$	1,92	g/l
Phosphatlösung		
KH_2PO_4	0,2	g/l
Spurenelemente		
$ZnCl_2$	0,14	mg/l
$MnCl_2$ x 5 H_2O	0,16	mg/l
H_3BO_3	0,012	mg/l
$CoCl_2$ x 6 H_2O	0,28	mg/l
$CuCl_2$ x 2 H_2O	0,004	mg/l
$NiCl_2$ x 6 H_2O	0,048	mg/l
Na_2MoO_4 x 2 H_2O	0,072	mg/l
EDTA	25,6	mg/l
$FeCl_2$ x 4 H_2O	2,0	mg/l
Vitamine		
D(+)Biotin	0,010	mg/l
Thiaminchlorid-dihydrochlorid	0,100	mg/l
Nicotinsäure	0,100	mg/l
Ca-D (+) Pantothenat	0,050	mg/l
p-Aminobenzoesäure (THF)	0,040	mg/l
Pyridoxinhydrochlorid	0,150	mg/l
Vitamin B12 (Cyanocobalamin)	(05	mg/l

Für einige Ansätze wurde anstatt des Carbonatpuffers ein Phosphatpuffer eingesetzt. Diese Ansätze wurden mit reinem Stickstoff begast. Das Medium wurde wie oben hergestellt, die Angaben für die Phosphatpufferlösung sind in der Tabelle B.2 aufgeführt. Die in Tabelle B.1 genannte Phosphatlösung entfiel entsprechend.

Tabelle B.2: Abweichende Medienzusammensetzung mit Phosphatpuffer

Phosphatpuffer		
KH_2PO_4	2,52	g/l
Na_2HPO_4 x 2 H_2O	1,92	g/l

Tabelle B.3: Medium für *Desulfovibrio desulfuricans* (DSMZ-Medium 63)

Basallösung		
K_2HPO_4	0,50	g/l
NH_4Cl	1,00	g/l
Na_2SO_4	1,00	g/l
$CaCl_2$ x 2 H_2O	0,10	g/l
$MgSO_4$ x 7 H_2O	2,00	g/l
DL-Na-Lactat	2,00	g/l
Hefe-Extrakt	1,00	g/l
Fe-Lösung		
$FeSO_4$	0,50	g/l
Sonstiges		
Na-Thioglykolat	0,10	g/l
Ascorbinsäure	0,10	g/l

Tabelle B.4: Methanosarcina Medium (DSMZ-Medium 120)

Basallösung		
NH_4Cl	0,500	g/l
$MgSO_4$ x 7 H_2O	0,500	g/l
$CaCl_2$ x 2 H_2O	0,250	g/l
NaCl	2,250	g/l
$FeSO_4$ x 7 H_2O	0,002	g/l
Hefe-Extrakt	2,000	g/l
Casiton	2,000	g/l
$NaHCO_3$	0,850	g/l
Methanol[a]	10,0	ml/l
Cystein-HCl x H_2O	0,300	g/l
Na_2S x 9 H_2O	0,300	g/l
Phosphatpuffer		
K_2HPO_4	0,348	g/l
KH_2PO_4	0,227	g/l
Spurenelemente		
HCl	0,010	ml/l
$FeCl_2$ x 4 H_2O	1,500	mg/l
$ZnCl_2$	0,070	mg/l
$MnCl_2$ x 4 H_2O	0,100	mg/l
H_3BO_3	0,006	mg/l
$CoCl_2$ x 6 H_2O	0,190	mg/l
$CuCl_2$ x 2 H_2O	0,002	mg/l
$NiCl_2$ x 6 H_2O	0,024	mg/l
Na_2MoO_4 x 2 H_2O	0,036	mg/l
Vitamine		
D(+)Biotin	0,020	mg/l
Folsäure	0,020	mg/l
Pyridoxinhydrochlorid	0,100	mg/l
Thiaminchlorid-dihydrochlorid	0,050	mg/l
Riboflavin	0,050	mg/l
Nicotinsäure	0,050	mg/l
Ca-D (+) Pantothenat	0,050	mg/l
Vitamin B 12	0,001	mg/l
p-Aminobenzoesäure (THF)	0,040	mg/l
Liponsäure	0,050	mg/l

[a] Für die Kultivierung, in den Batchversuchen nur verwendet, wenn explizit angegeben.

Tabelle B.5: Medium für Konkurrenzversuche mit *Sulfurospirillum multivorans*, *Desulfovibrio desulfuricans* und *Methanospirillum hungatei* (MH-Medium), modifiziert nach ZEIKUS & BOWEN [1975]

Basallösung		
$CaCl_2$ x 2 H_2O	0,10	g/l
NH_4Cl	0,50	g/l
NaCl	0,90	g/l
$(NH_4)_2SO_4$	0,45	g/l
$MgSO_4$ x 7 H_2O	0,18	g/l
$NaHCO_3$	0,01	g/l
Phosphatpuffer		
K_2HPO_4	1,5	g/l
KH_2PO_4	2,2	g/l
Spurenelemente		
$FeCl_2$ x 4 H_2O	1,500	mg/l
$ZnCl_2$	0,070	mg/l
$MnCl_2$ x 4 H_2O	0,100	mg/l
H_3BO_3	0,006	mg/l
$CoCl_2$ x 6 H_2O	0,190	mg/l
$CuCl_2$ x 2 H_2O	0,002	mg/l
$NiCl_2$ x 6 H_2O	0,024	mg/l
Na_2MoO_4 x 2 H_2O	0,036	mg/l
Vitamine		
p-Aminobenzoesäure (THF)	0,080	mg/l
D(+)Biotin	0,020	mg/l
Nicotinsäure	0,200	mg/l
Ca-D (+) Pantothenat	0,100	mg/l
Pyridoxinhydrochlorid	0,300	mg/l
Thiaminchlorid-dihydrochlorid	0,200	mg/l
Vitamin B 12	0,020	mg/l
Sonstiges		
Hefe-Extrakt	2,00	g/l
L-Cystein	0,50	g/l
Na_2S x 9 H_2O	0,50	g/l

Danksagung

Ich möchte Herrn Dr. Martin Steiof für die Überlassung des Themas und sein Interesse an dieser Arbeit danken. Für fachliche, technische und andere Fragen war er jederzeit ansprechbar.

Herrn Prof. Dr. H. Rüden und Herrn Prof. Dr. W. Rotard danke ich für die interessierte Begutachtung dieser Arbeit und die Unterstützung in fachlichen und organisatorischen Fragen.

Ganz besonders danken möchte ich allen Mitarbeitern der AG Umwelthygiene, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Die angenehme, familiäre Arbeitsatmosphäre bildete eine gute Voraussetzung für diese Arbeit. Hervorheben möchte ich Frau R. Hilarius, Fr. C. Leberl, Frau K. Noack, Frau N. Marosky, Frau S. Balke, Herrn M. Graf und Herrn R. Lutze, die als technische Angestellte bzw. im Rahmen von Projektarbeiten wesentlich an den praktischen Tätigkeiten beteiligt waren. Frau H. Rosenthal danke ich für viele fachliche und sonstige Diskussionen, Herrn M. Benedde für infrastrukturelle und weitere Unterstützung, Herrn L. Vigelahn für viele praktische Tipps sowie Frau B. Rüster für die vielen kleinen Dinge im Hintergrund. Nicht vergessen werden soll an dieser Stelle Herr P. Kiltz, der mich in die Tücken der H_2-Analytik eingeführt hat und auch später jederzeit dafür ansprechbar war.

Danken möchte ich auch Herrn J. Haberkamp aus dem Fachgebiet Wasserreinhaltung für die unkomplizierte Zusammenarbeit bezüglich der LC-OCD-Messungen.

Weiterer Dank gilt den Mitarbeitern des früheren Niedersächsischen Landesamtes für Bodenforschung, namentlich insbesondere Herr S. Hoffmann für die Unterstützung bei den H_2-Probenahmen in Hannover. Ebenfalls nennen möchte ich an dieser Stelle die gute Kooperation mit Dr. H.-J. Weiß, der das Equipment für die Probenahme zur Verfügung stellte.

Bei der Erstellung dieser Arbeit mit LaTeX waren Astrid und Sebastian Tannert stets ansprechbar und halfen mit guten Tipps zum Textsatz. Auch Ihnen sei hier gedankt.

Zum Schluss möchte ich mich vielmals bei meiner Frau Sabine und meinem Sohn Jonathan für die Geduld und Rücksichtnahme bedanken, die sie der Fertigstellung dieser Arbeit auch unter schwierigen Umständen entgegengebracht haben.