

In Situ Stimulation des mikrobiellen Kohlenwasserstoffabbaues unter Fe(III)- und Mn(IV)-reduzierenden Verhältnissen

Leitfaden: Verfahrensgrundlagen

Kerstin E. Scherr¹ & Manfred Nahold²

¹ Universität für Bodenkultur Wien, IFA-Tulln, Institut für Umweltbiotechnologie, Contaminant Biogeochemistry,

² GUT GRUPPE UMWELT + TECHNIK GmbH

Erstellt im Rahmen des Forschungsprojektes *In situ* Oxidation von Poly- und Heterozyklischen Teerölkontaminanten: Einsatz von Red-Ox-Mediatoren (*HetReMed*), gefördert aus Mitteln des Bundesministeriums für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, sowie der Oberösterreichischen Landesregierung.



Impressum

AutorInnen

Priv. Doz. DI Dr. Kerstin E. Scherr

Universität für Bodenkultur Wien, Department IFA-Tulln, Institut für Umweltbiotechnologie,
Contaminant Biogeochemistry. Konrad Lorenz Strasse 20, 3430 Tulln, Österreich

kerstin.scherr[at]boku.ac.at, www.ifa-tulln.ac.at

Dr. Manfred Nahold

GUT GRUPPE UMWELT + TECHNIK GMBH, Ingenieurbüro für technischen Umweltschutz, Plesching 15,
4040 Linz, Österreich

office[at]gutlinz.at, www.gutlinz.at

Haftungsausschluss

Dieser Leitfaden soll eine Erkenntnisquelle für eine fachgerechte Behandlung von kohlenwasserstoffkontaminierten Standorten darstellen, und soll als Erweiterung und Ergänzung des bestehenden Standes der Technik gesehen werden und Ausblicke auf zukünftige Forschungsfelder geben. Durch die Anwendung dieses Leitfadens entzieht sich niemand seiner/ihrer Verantwortung für eigenes Handeln und für die sinnentsprechende Umsetzung der vorgestellten Inhalte. Trotz sorgfältiger, wissenschaftlich-technischer Bearbeitung erfolgen alle Angaben in diesem Leitfaden ohne Gewähr. Eine Haftung der AutorInnen insbesondere für Richtigkeit, Vollständigkeit und Aktualität der Inhalte dieses Leitfadens ist ausgeschlossen.

Danksagung

Die Erstellung dieses Leitfadens erfolgte im Auftrag des Ministeriums für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt- und Wasserwirtschaft (Antragsnummer B020003) unter Administration der Kommunalkredit Public Consulting und dem Amt der Oberösterreichischen Landesregierung (Vertragsnummer US 170-045) im Rahmen des Forschungsprojektes ***In situ Oxidation von Poly- und Heterozyklischen Teerölkontaminanten: Einsatz von Red-Ox-Mediatoren (HetReMed)***. Das Projektteam bedankt sich sehr herzlich bei den FördergeberInnen für ihre Unterstützung.

Erschienen im Eigenverlag der Universität für Bodenkultur Wien, (c) 2015. Zitieren als: Scherr, KE and Nahold, M (2015): ***In Situ Stimulation des mikrobiellen Kohlenwasserstoffabbaues unter Fe(III)- und Mn(IV)-reduzierenden Verhältnissen. Leitfaden: Verfahrensgrundlagen***. Universität für Bodenkultur Wien, 2015. 22p.

Inhaltsverzeichnis

Ziele und Inhalt des vorliegenden Leitfadens	4
Einleitung.....	5
Rolle von Fe(III) und Mn(IV) als Terminale Elektronenakzeptoren in der anaeroben Kohlenwasserstoffoxidation.....	6
Anaerober Abbau von Kohlenwasserstoffen unter Fe(III)- und Mn(IV)-reduzierenden Bedingungen.....	6
Extrazellulärer Elektronentransport.....	6
Datengrundlage zur Beurteilung der Verfahrenseffizienz.....	8
Datenqualität <i>in situ</i>	8
Mikrokosmen <i>in</i> und <i>ex situ</i>	8
Verfügbarkeit von geo/biogenen Fe(III) und Mn(IV)-Oxiden im Untergrund	9
Interaktionen zwischen reduzierten und oxidierten Spezies	9
Analysemethoden	10
Beispiele Bestimmung mikrobiell verfügbare Fe- und Mn-Oxide.....	11
Beurteilung des Schadstoffabbaues anhand von Donor-/Akzeptor-stöchiometrien <i>in situ</i>	13
Stöchiometrien - Theorie versus Praxis.....	13
Einschränkungen für Stöchiometrien.....	13
Stellenwert des Einsatzes von RedOx-Mediatoren für die <i>in situ</i> Behandlung von kohlenwasserstoffbelastetem Grundwasser	15
Bisherige Erfahrungen	15
Standortspezifische Verfügbarkeit von geogenen TEA-Ressourcen als primäre Einsatzrandbedingung	16
Weitere Standorteigenschaften als Einsatzrandbedingungen	16
Einsatzmöglichkeiten von RedOx-Mediatoren in der Altlastensanierung.....	17
Stand-alone Verfahren: TEA-Ressourcen als limitierender Faktor	17
RedOx-Mediatoren in Kombinationsverfahren.....	18
Abschließende Bemerkungen.....	18
Literatur.....	20

Ziele und Inhalt des vorliegenden Leitfadens

Im vorliegenden Leitfaden „*In Situ* Stimulation des mikrobiellen Kohlenwasserstoffabbaues unter Fe(III)- und Mn(IV) reduzierenden Verhältnissen“ sollen die im Rahmen des durch das BMLFUW und das Land Oberösterreich von 2011 bis 2014 geförderten Forschungsprojektes **HetReMed** erzielten, für die Altlastensanierung anwendungsrelevanten Erkenntnisse dargestellt werden. Im Rahmen des Forschungsprojektes „*In situ* Oxidation von Poly- und Heterozyklischen Teeröl-kontaminanten: Einsatz von Red-Ox-Mediatoren (**HetReMed**)“ unter der Leitung der Universität für Bodenkultur Wien (BOKU) mit der GUT Gruppe Umwelt und Technik GmbH (GUT) als Partner wurden in Labor- und Feldstudien die Wirkungsweise und die Einsetzbarkeit von RedOx-Mediatoren oder extrazellulären Elektronen-shuttles zur Stimulation des mikrobiellen PAK-Abbaues *in situ* unter Fe(III) und Mn(IV)-reduzierenden Verhältnissen untersucht.

Die im Rahmen des Forschungsprojektes untersuchten Abbauprozesse befassten sich primär mit Teerölaromaten (im weiteren als ‚PAK‘ zusammengefasst), i.e. EPA-PAK sowie alkylierte und / oder substituierte PAK. Die Labor- und Felduntersuchungen betrafen durchwegs Standorte, an denen PAK mit Mineralölkohlenwasserstoffen (MKW) sowie teilweise BTEX vergesellschaftet auftraten. Die im Weiteren vorgestellten Erkenntnisse sind also im weiteren Sinne auf Kohlenwasserstoff-kontaminierte Standorte anwendbar, wobei eine sorgfältige Überprüfung der Prozesse im Einzelfall unabdingbar ist.

Im Zuge des Forschungsprojektes **HetReMed** konnte festgestellt werden, dass auch in historisch anaeroben Aquiferen durch den Zusatz von RedOx-Mediatoren mobilisierbare Terminale Elektronenakzeptoren (TEA), i.e. Fe(III)- und Mn(IV)-Verbindungen, vorhanden sind, und durch den Zusatz von RedOx-Mediatoren der Kohlenwasserstoffabbau unter Reduktion von geogenen TEA stimuliert werden kann. Im Zuge der Standortvoruntersuchungen können mit Hilfe von biomimetischen oder mikrobiellen Verfahren anhand von Aquiferfeststoffmaterial die so nutzbaren TEA-Ressourcen standortspezifisch bestimmt werden. Entsprechende Methoden werden im Rahmen dieses Leitfadens vorgestellt. Diese Untersuchungen stellen die Grundlage für die Beurteilung der Durchführbarkeit eines Verfahrens dar. Quantitativ sind diese Ressourcen standortspezifisch zu beurteilen und begrenzt. Für eine *in situ* Sanierung eines massiv kohlenwasserstoffbelasteten Aquifers ohne Zusatz von anthropogenen TEA sind diese stöchiometrisch mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht ausreichend, und eine Verfahrenskombination ist zu empfehlen. Eine Variante stellt in jedem Fall die Kombination des Einsatzes von RedOx-Mediatoren mit anaeroben anthropogenen TEA (Nitrat, Sulphat, Fe(III)-Kolloide) dar, da durch den Einsatz von RedOx-Mediatoren eine generelle Steigerung der Elektronenübertragungsraten von Schadstoffen auf TEA zu erwarten ist [1, 2]. Diese werden zur Zeit intensiver untersucht.

Der vorliegende Leitfaden stellt die grundlegenden Überlegungen zur Anwendung eines RedOx-Mediator-basierten oder -assistierten *in situ* Sanierungsverfahrens für kohlenwasserstoffkontaminierte Aquifere dar und soll Anleitung zur Inkorporation dieses Verfahrensaspektes in *in situ*-Maßnahmen geben.

Projektleitung, Scherr & Nahold, Tulln und Plesching, im Juni 2015

Einleitung

In der Natur, i.e. unter technisch unbeeinflussten Bedingungen, bewirken zahlreiche Faktoren eine Limitierung des natürlichen mikrobiellen Abbaues von anthropogenen organischen Schadstoffen in Boden und Grundwasser (*in situ*). Ohne gezielte Behandlung ist in den meisten Fällen davon auszugehen, daß eine nachhaltige Verringerung der Schadstoffbelastung nicht oder erst im Laufe von mehreren Dekaden oder Jahrhunderten eintreffen wird.

Limitierende Faktoren stellen im Falle von reduzierten Schadstoffen (Elektronendonatoren) wie Mineralökohlenwasserstoffen (MKW), Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) und Monoaromaten (meist BTEX) neben dem Mangel an Makronährstoffen (N, P, K in ausreichendem Verhältnis zum schadstoffbürtigen Kohlenstoff) die Verfügbarkeit von terminalen Elektronenakzeptoren (TEA) dar. Diese haben im Zuge der durch Mikroorganismen katalysierten aeroben oder anaeroben Schadstoffoxidation die Funktion des Oxidationsmittels. Die in der Natur vorhandenen TEA, insbesondere Sauerstoff, Nitrat und Sulphat können für den aeroben oder anaeroben Schadstoffabbau genutzt werden [3-8] und kommen im Zuge von *in situ* biologischen Sanierungsmaßnahmen zum Einsatz (Bioventing, Biosparging u.a. [9]). Der Einsatz von Sauerstoff ist durch seine geringe Löslichkeit im Grundwasser und geringe Reichweite, jener von Nitrat und Sulphat durch den schnellen Abtransport mit dem Grundwasserstrom standortspezifisch limitiert.

Der Schadstoffabbau ist auch unter anaeroben Bedingungen mit schlecht löslichen, bio- oder geogenen Oxiden des Eisens und Mangans möglich [3, 10, 11]. Von den 14 bekannten Eisenoxiden und -hydroxiden sind 10 in der Natur nachgewiesen, mit Hämatit, Magnetit und Goethit als den häufigsten gesteinsformenden Eisenmineralen. Ferrihydrit, Maghemit und Lepidokrokit sind weniger häufig vertreten. Dies spiegelt sich im Vorkommen von Fe(III)-Oxiden im Boden, Sediment und Aquifer, oft auch als nanoskalige Partikel, wieder [12]. Fe(III)-Oxid-Verbindungen sind sehr schlecht wasserlöslich und können somit mikrobiell schlecht umgesetzt werden. Eine Ausnahme besteht hier für nanoskalige, kolloidale Fe(III)-Lösungen [13, 14]. Sinngemäß sind diese Aussagen auch auf die Rolle von Mn(IV)-Verbindungen, die geogen im einstelligen Prozentbereich der Fe(III)-Verbindungen vorkommen [15], anwendbar. Unterschiedliche mikrobielle Strategien existieren zur Erhöhung der Verfügbarkeit von sehr schlecht wasserlöslichen Fe(III)- und Mn(IV)-Verbindungen. Die Nutzung als TEA im Zuge der Schadstoffoxidation ist jedoch limitiert. Im Forschungsprojekt **HetReMed** (2011-2014) wurden an der Universität für Bodenkultur Wien und der Linzer GUT Gruppe Umwelt + Technik GmbH im Labor- und Feldmaßstab Strategien entwickelt, um natürlich vorkommende Fe(III)- und Mn(IV)-Oxide besser für anaerobe Schadstoffabbauprozesse verfügbar zu machen. Diese basieren auf dem Zusatz von RedOx-Mediatoren oder extrazellulären Elektronenshuttles, die den extrazellulären Transport von schadstoffbürtigen Elektronen auf unlösliche Akzeptoren erleichtern sollen. Das Prinzip konnte im Labor erfolgreich getestet werden, und wurde in einem kleinmaßstäblichen Feldversuch an einem teerölkontaminierten Standort umgesetzt. Hier konnte eine Steigerung der löslichen Fracht an Mn(II) aus Mn(IV)-Reduktion sowie der qualitative Nachweis von PAK-Abbauprodukten erbracht werden [16].

Im vorliegenden Leitfaden ‚*In Situ* Stimulation des mikrobiellen Kohlenwasserstoffabbaues unter Fe(III)- und Mn(IV)-reduzierenden Verhältnissen‘ sollen die Grundlagen des Verfahrensprinzipes vermittelt

werden. Diese sollen als Basis für die weitere Untersuchung von geochemischen und geobiochemischen Schadstofftransformationsprozessen, die potentiell für die Anwendung zur Schadstoffabreicherung *in situ* geeignet sind, dienen. Als Basis für das Verständnis der zugrundeliegenden *in situ* Prozesse für die Umsetzung von mikrobiologischen *in situ* Sanierungsverfahren wird auf die entsprechende Fachliteratur verwiesen. Die AutorInnen beziehen sich im Weiteren auch auf früher erschienene Leitfäden, insbesondere den ABIS-Leitfaden zur LCKW-Sanierung [17].

Rolle von Fe(III) und Mn(IV) als Terminale Elektronenakzeptoren in der anaeroben Kohlenwasserstoffoxidation

Anaerober Abbau von Kohlenwasserstoffen unter Fe(III)- und Mn(IV)-reduzierenden Bedingungen

Kohlenwasserstoffe aus der Gruppe der Mineralölkohlenwasserstoffe (MKW), polyzyklischen hetero- und homozyklischen und alkylierten Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) und Monoaromaten (meist BTEX) sind unter unterschiedlichen RedOx-Bedingungen abbaubar. Hierbei fungiert der Schadstoff als Elektronendonator (ED). Unterschiedliche Terminale Elektronenakzeptoren (TEA) können im Zuge der enzymatisch vermittelten Elektronentransportreaktion zum Einsatz kommen. Im Zuge der aeroben Oxidation ist dies molekularer Sauerstoff (O_2). Unter anaeroben Bedingungen im Aquifer kommen potentiell Nitrat, Sulphat, Fe(III), Mn(IV) und gelöstes CO_2 als TEA in Betracht. Mit sinkendem RedOx-Potential der Elektronenübertragungsreaktion gehen eine Verringerung des mikrobiellen Energiegewinns [3] und im Allgemeinen eine verringerte Abbaurate einher. Der Kohlenwasserstoffabbau unter Fe(III)- und Mn(IV)-reduzierenden Bedingungen ist für die obgenannten Elektronendonatoren nachgewiesen. Der Abbau wird im Felde meist anhand erhöhter Konzentrationen der Reaktionsprodukte – lösliche Fe(II) und Mn(II)-Verbindungen – beobachtet. Die in der Wasserphase vorliegenden Spezies umfassen lösliches Fe(III), Mn(III/IV), komplexiertes Fe und Mn sowie überwiegend Mn(II) und Fe(II) im circumneutralen pH-Bereich [18, 19]. Im Untergrund sind vielfältige unterschiedliche Oxide und Hydroxide sowie Mischformen des Eisens (Fe) und Mangans (Mn) vorhanden. Trotz der geringen Wasserlöslichkeit in ihrer oxidierten Form (trivalentes Fe (Fe(III)), tetravalentes Mn (Mn(IV))) nehmen diese Verbindungen an vielen mikrobiellen RedOx-Reaktionen teil [32]. Die Rate der Elektronenübertragung auf diese schlecht löslichen TEA kann durch den Einsatz von RedOx-Mediatoren erhöht werden [20]. Die Koppelung dieser Prozesse an den Schadstoffabbau – i.e. mit Kohlenwasserstoffen als Elektronendonator – wurde im Rahmen des **HetReMed**-Projektes erstmals untersucht und im Felde angewandt [16].

Extrazellulärer Elektronentransport

Für die Elektronenübertragung aus intrazellulären Oxidationsreaktionen auf extrazelluläre Akzeptoren wird im Allgemeinen der direkte physische Kontakt – Abstand geringer als 1,4 nm [21] – zwischen Zell- und Mineraloberfläche als Voraussetzung angenommen. Dieser findet auch durch dickere Biofilme hindurch statt z.B. via immobilisierte RedOx-Cofaktoren wie Matrix C-Typ Cytochrome [22] und andere Cofaktoren [23]. Einer anderen Strategie folgen *Geobacter*-Stämme, die die Zelloberfläche durch die

Ausprägung von elektrisch leitfähigen Proteinpili [24] ‚ausdehnen‘ und so über größere Distanzen Elektronen abgeben können. Auch die Exkretion von Chelatoren, Flavinen oder mikrobiell produzierten RedOx-Mediatoren [25, 26] stellt eine Möglichkeit des extrazellulären Transportes dar.

Der Zusatz von anthropogenen RedOx-Mediatoren im Zuge einer mikrobiologischen Sanierungsanwendung simuliert diese mikroorganismenspezifischen extrazellulären Elektronentransportwege. RedOx-Mediatoren oder Extrazelluläre Elektronenshuttles (EES) sind niedermolekulare, reversibel reduzier- oder oxidierbare organische Moleküle. RedOx-aktive Strukturen die zur Förderung des Abbaues unterschiedlicher Schadstoffe (Azofarbstoffe, LCKW, BTEX) angewandt wurden [27-29] sind in Abbildung 1 dargestellt. Nicht alle Verbindungen sind für eine *in situ* Anwendung geeignet. Während Indigokarmin als Lebensmittelfarbstoff verwendet wurde und Quinone als Huminstoff-Modellverbindungen verwendet werden, geht von anderen aromatischen Verbindungen selbst ein Gefährdungspotential aus. RedOx-Mediatoren können vermutlich über 10^2 bis 10^5 Zyklen Elektronen aufnehmen und zeitlich oder örtlich verzögert wieder abgeben, bevor Stabilitätsverlust oder mikrobieller Abbau der RedOx-Mediatoren selbst stattfindet [30].

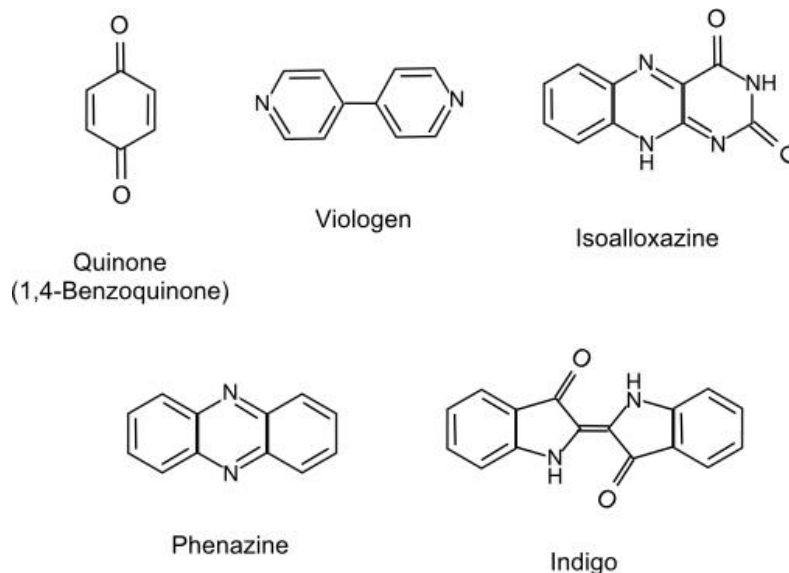


Abbildung 1: Auswahl RedOx-aktiver organischer Strukturen [30]

Der Einsatz von RedOx-Mediatoren im Zuge von RedOx-Prozessen kann die Rate der Elektronenübertragung auf Terminale Elektronenakzeptoren bzw. Donatoren um mehrere Größenordnungen erhöhen [28]. Darüber hinaus wurde festgestellt, daß auch auf unlösliche, extrazelluläre Akzeptoren durch den ungerichteten Transport von Elektronen vom Ende der mikrobiellen Elektronentransportkette Elektronen übertragen werden können [20]. Diese geogenen Akzeptoren sind im Untergrund in unterschiedlichem Ausmaß vorhanden. Die Nutzung dieser geogenen Oxide als Elektronenakzeptoren bei Nutzung von reduzierten Kohlenwasserstoffen als Elektronendonatoren stellt

die Basis des Einsatzes von RedOx-Mediatoren im Zuge der *in situ* Sanierung dar. Im Aquifer anzustrebende Zielkonzentrationen bewegen sich im Bereich von 50-500 μM [31-33].

Datengrundlage zur Beurteilung der Verfahrenseffizienz

Datenqualität *in situ*

In situ Sanierungsverfahren, insbesondere mikrobiologisch basierte, erfordern zur effizienten Durchführung ein detailliertes mechanistisches Standortverständnis. Eine umfassende, hochqualitative Datenbasis stellt auch die Grundlage zur Beurteilung der Verfahrenseffizienz durch den Einsatz von RedOx-Mediatoren dar. Die notwendigen Standortdaten umfassen hydrogeologische, geochemische und mikrobiologische Parameter, insbesondere die Erfassung dominierender RedOx-Prozesse und der Schadstoffarchitektur bzw. des Schadstoffinventars, in (i) hoher räumlicher und ausreichender zeitlicher Auflösung, und (ii) über hydrologische Extremereignisse sowie (iii) adäquate Zeiträume hinweg [19, 34]. Ein aus Sicht der AutorInnen vertretbarer Ansatz ist im ABIS-Leitfaden für LCKW beschrieben [17, Kapitel 2.2, 4.2 und A3] und ist für MKW, PAK und BTEX-Schadensfälle unter Berücksichtigung des Abbauweges einfach adaptierbar (Chloridfracht nicht relevant; Keine Bedeutung von *Dehalococcoides*-Populationen für anaerobe Kohlenwasserstoffoxidation; Vorkommen von gelöstem Methan im gegenwärtigen Fall als *a priori* Indikator für das Ablaufen von anaeroben Oxidationsprozessen). Zusätzlich kann die Anreicherung schadstoffspezifischer Metaboliten sowie die Elektronendonator- (für Monoaromaten) und -akzeptorseitige ($\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{35}\text{S}$, $\delta^{18}\text{O}$) Stabilisotopenanalyse Aufschluss über Qualität und Quantität des Schadstoffabbaues an einem kontaminierten Standort liefern [35, 36] und muss standortspezifisch evaluiert werden. Ohne ein grundlegendes Standortverständnis kann ein biologisches *in situ* Sanierungsverfahren nicht effizient durchgeführt werden.

Mikrokosmen *in* und *ex situ*

Zur Abschätzung des Sanierungserfolges mittels biologischen *in situ* Verfahren werden in vielen Fällen kleinmaßstäbliche Laborversuche in Mikrokosmen mit Standortmaterial durchgeführt [37, 38]. Auch die qualifizierte Durchführung von *in situ* Mikrokosmen [39] stellt eine Option dar. Die repräsentative Probenahme und störungsarme Behandlung der standortspezifischen Mikroorganismenpopulation im Zuge der (Vor-)Versuche ist ein entscheidender Einflussparameter für die Repräsentativität der Ergebnisse. Während zeitliche Verläufe in Labormikrokosmen nur unter Berücksichtigung von upscaling-Statistiken modelliert werden können, können grundlegenden Fragen, so zur Vollständigkeit der Mineralisierung, Nährstoffbedarf und inhibierende Faktoren in *in* und *ex situ* Mikrokosmen beantwortet werden.

Ein selten routinemäßig untersucher, für das gegenwärtige Verfahren jedoch zentraler Schlüsselaspekt stellt die Bestimmung der mikrobiellen Verfügbarkeit von im Zuge der Schadstoffoxidation als TEA nutzbaren Fe(III) und Mn(IV)-Oxiden im Untergrund dar, die in den nächsten Kapitel behandelt wird.

Verfügbarkeit von geo/biogenen Fe(III) und Mn(IV)-Oxiden im Untergrund

Das Hauptkriterium für den Einsatz von RedOx-Mediatoren an einem Standort stellt die Qualität und Quantität der durch RedOx-Mediatoren mobilisierbaren TEA-Ressourcen, insbesondere Fe(III) und Mn(IV)-Oxide, dar. Die verfügbaren Möglichkeiten zur Bestimmung des bioverfügbaren Anteils an geogenen und biogenen Fe- und Mn-Oxiden stellen eine gute Grundlage zur Abschätzung dar. Weiterer Entwicklungs- und Forschungsbedarf besteht insbesondere in der genaueren Untersuchung von Mn-Verbindungen und hinsichtlich biomimetischer nasschemischer Analysen, um den zeitlichen Aufwand zur Bestimmung des bioverfügbaren Anteiles wie unten beschrieben - mehrere Wochen Inkubationszeit mit Reinkulturen - zu verringern.

Den Strategien der extrazellulären Elektronenübertragung ist gemein, daß nur ein bestimmter, physikalisch (Lokalisation innerhalb der Partikel-, Poren- oder Mineralstruktur, Oberfläche) und chemisch (Mineralstabilität) bedingter Anteil der vorhandenen Fe- und Mn-Mineralie biologisch verfügbar ist und somit als TEA dienen kann. Im Allgemeinen wird angenommen, daß amorphe und wenig kristalline Verbindungen (z.B. Ferrihydrit) weniger stabil und somit leichter verfügbar sind als stark kristalline Verbindungen (z.B. Goethit, Hämatit) [40, 41]. Einen weiteren Fall stellt die Ausbildung sekundärer Mineralien in der Grenzschicht zwischen reduzierenden und oxidierenden Grundwasserverhältnissen dar. Die Oberfläche eines Minerals wird als proportional zu dessen biologischer Verfügbarkeit betrachtet, worauf die hohe Reaktivität von kolloidalem Fe(III) zurückzuführen ist (z.B. [42]). Die Entwicklung von nanopartikulären, in Lösung kolloidal vorliegenden Fe(III)-Oxiden als anthropogene TEA für die Altlastensanierung basiert auf diesem Prinzip [14, 43]. Über das entsprechende Verhalten von Mn-Verbindungen ist wenig bekannt.

Interaktionen zwischen reduzierten und oxidierten Spezies

Unterschiedliche Festphaseninteraktionen bestimmen das Verhalten von biologisch RedOx-aktiven Verbindungen im Untergrund. Die Bestimmung des biologisch verfügbaren Anteils von Fe(III) und Mn(IV) und somit der Größe der nutzbaren geogenen TEA-Ressourcen wird neben durch die Heterogenität des Mineralinventars durch die Dynamik von Reduktion und Reoxidation im Untergrund z.B. bei Niederschlagsereignissen oder wie oben erwähnt, an RedOx-Grenzflächen, erschwert. Dies führt zur Bildung von sekundären, biogenen Mineralien unterschiedlicher Löslichkeit in Form von Niederschlägen oder Adsorption auf anderen Mineraloberflächen. In Grundwasserleitern ist die Ausfällung von Fe- und Mn-Oxiden im Grundwasserschwankungsbereich also bereits ein Hinweis auf die entsprechenden Ressourcen des Aquifers. Diese Prozesse bestimmen auch die Ausprägung des Verhältnisses von kristallinem zu amorphem Fe(III) (Review in [44]). Die Co-Fällung von Fe(II) an Fe(III)-Oberflächen, die Bildung von Magnetit (Fe_2O_3) und der Niederschlag von Fe(II) als Pyrit bzw. sulfidischem Überzug verringern darüber hinaus die Aussagekraft der im Grundwasser gelösten Frachten, Fe(aq) und Mn(aq), als Verfahrensparameter. Dies muss bei der Interpretation von Grundwasserdaten für die Bestimmung des Verfahrenserfolges beachtet werden. Geeignete Qualitätssicherungsmaßnahmen bei der Probengewinnung, -konservierung und Analyse von redox-sensitiven Parameter müssen beachtet werden.

Analysenmethoden

Die korrekte Einschätzung der Größe des Pools an biologisch verfügbaren TEA im Untergrund ist ein zentraler Parameter für die Beurteilung der Durchführbarkeit des Verfahrensprinzips. Wenngleich die Verwendung von einfachen Stöchiometrien zur Abschätzung der Größenordnung von RedOx-Prozessen nur eingeschränkt *in situ* gültig ist (siehe unten), liefert die Bestimmung der Größe der Ressourcen von biologisch verfügbaren Fe(III) und Mn(IV)-Verbindungen (unter Vernachlässigung anderer oxidierbarer Minerale) anhand von Aquiferproben eine wichtige Grundlage. Unterschiedliche Verfahren stehen zur Verfügung, um den Anteil an biologisch verfügbarem Fe(III) einer Boden- oder Aquiferprobe zu bestimmen; wiederum ist hier das Verhalten von Mn weniger umfassend erforscht. Die folgenden biomimetischen Methoden wurden publiziert:

1. Fe(III)-Reduktion mit Hydroxylamin [45],
2. Extraktion des bioverfügbaren Fe(III) mittels Oxalsäure [46],
3. Fe(III)-Titration mit AHDS (AQDS-Quinol) [47],

sowie als mikrobielle Methode:

4. Mikrobielle Reduktion mittels Modellorganismen in Rein- oder Mischkultur [48, 49]

Der Ansatz der Reduktion mit Hydroxylamin aus dem Jahr 1983 geht von der Gleichstellung ‚amorph bzw. nichtkristallin‘ = ‚biologisch verfügbar‘ aus und führt i.a. zu Unterbefunden, da der kristalline Anteil der mikrobiologisch verfügbaren Verbindungen nicht angegriffen wird, während die Extraktion im sauren Milieu gemeinhin den kristallinen Anteil, insb. cheliertes Fe(III), zu überschätzen scheint [50]. Bestimmungsmethoden außerhalb des circumneutralen pH-Bereiches verändern darüber hinaus das Löslichkeitsgleichgewicht von Fe(II) und maskieren somit Fe(II) Sorptionsprozesse. Indirekte coulometrische Titration mittels Anthraquinol kann bei pH 7 stattfinden, eine Bestimmung des bioverfügbaren Mn(IV) wurde jedoch nicht berichtet. Um auch die Verfügbarkeit von Mn-Oxiden einschätzen zu können, kann die Untersuchung der Feststoffproben mittels Mikroorganismen-Reinkulturen gewählt (Ansatz #4) werden. Die Analyse erfolgt über die Inkubation von Aquifer- und Bodenproben mit Modellorganismen (*Shewanella Alga*, *Geobacter sp.* oder Mikroorganismenpopulation mit der bekannten Fähigkeit zur Fe(III) und Mn(IV)-Respiration) unter Bereitstellung einer leicht verfügbaren Kohlenstoffquelle (Glucose, Acetat o.ä.) [49]. Untergrundproben werden unter Aufrechterhaltung des Redox-Milieus (NB – die Zufuhr von Oxidationsmitteln kann die Analyse stark beeinflussen) auf < 2mm gesiebt und über mindestens 30 Tage inkubiert. Die Konzentrationen an Ausgangs-Feststoff-Fe und Mn (Fe(tot) und Mn(tot)) sowie die Konzentrationen von Fe(aq) und Mn(aq) bzw Fe(II) und Mn(II) im Versuchsverlauf (Differenzbildung zum Ausgangswert) werden mittels ICP-MS, der Ferrozin-Methode [51] für Fe(aq) oder ähnlichen Methoden bestimmt. Das Ergebnis der Bestimmung von Fe(aq) über photometrische Methoden ist relativ sensibel für eine Reihe von Einflussparametern wie UV-Exposition, Reoxidation durch Luftzutritt und HCl-Molarität [50]. Aus diesen Daten kann für jede Untergrundprobe das Inventar an biologisch verfügbaren Eisen- (als Fe(III)) und Manganverbindungen (Mn(IV)) als Differenz zum Feststoffgesamtgehalt berechnet werden.

Beispiele Bestimmung mikrobiell verfügbare Fe- und Mn-Oxide

Abbildung 2 zeigt beispielhaft die Entwicklung wasserlöslicher Fe- und Mn-Spezies im Verlauf der Inkubationszeit mit *Shewanella Alga* in zwei unterschiedlichen Bodenproben. Nach 17 Tagen Inkubationszeit ist die Produktion von Fe(aq) und Mn(aq) nahezu abgeschlossen, steigt jedoch teilweise bis Tag 32 an. Abbildung 3 zeigt die Anteile von biologisch verfügbaren Verbindungen für unterschiedliche Untergrundproben. Der Gesamtgehalt an Mangan entspricht bei den exemplarischen Proben in etwa 3% (wt/wt) jenem des Eisens. Der jeweils verfügbare Anteil entspricht im Mittel 6% von Fe(tot) und 7,5% von Mn(tot), diese können jedoch sehr stark variieren [49]. Aus der Summe der reduzierbaren Fe- und Mn-Verbindungen errechnen sich unter Annahme der Reduktion von Fe(III) zu Fe(II) und von Mn(IV) zu Mn(II) die in Abbildung 4 angegebenen „Kapazitäten“ (in Milli[Elektronen]äquivalent pro kg Boden, oder mEq/kg) der Untergrundproben, Elektronen durch mikrobiologische Prozesse aufzunehmen.

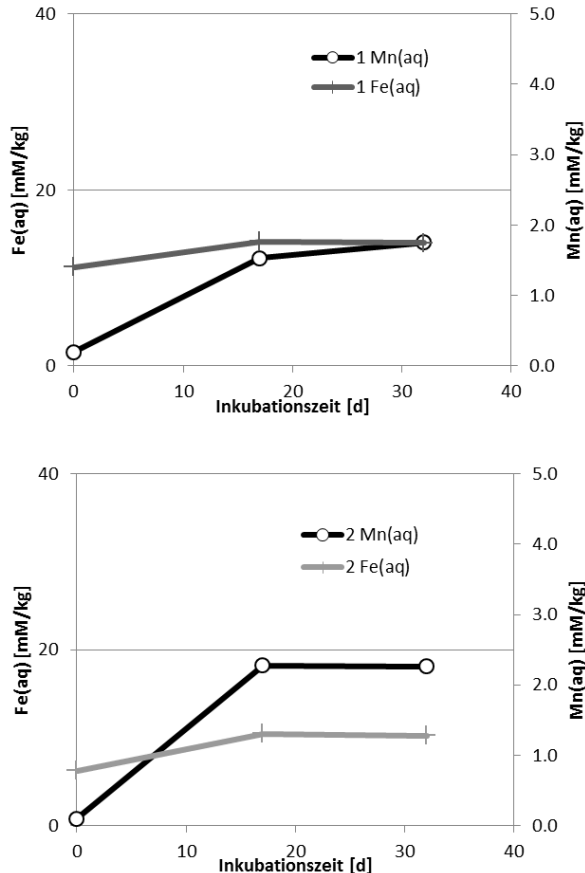


Abbildung 2: Entwicklung von löslichen Eisen- und Mangan-Spezies über 32 Tage Inkubationszeit mit *S. Alga*, mit unterschiedlichen Untergrundproben (1,2), vgl. Abbildung 3.

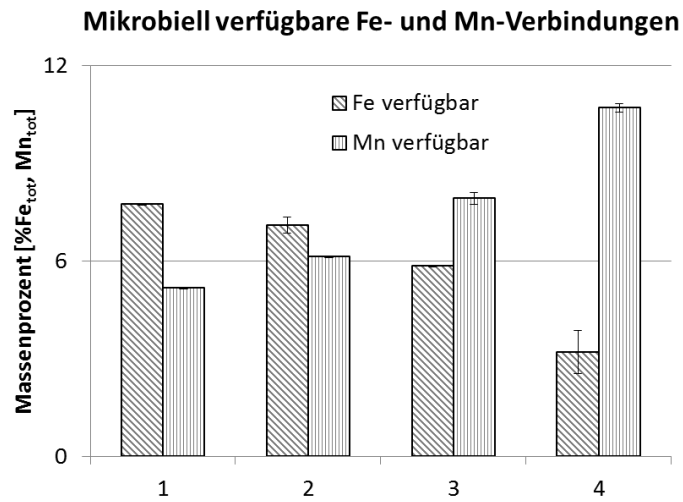


Abbildung 3: Anteile an biologisch verfügbaren Fe- und Mn-Verbindungen nach 32 Tagen Inkubation mit *S. Alga*, Fraktion <2mm, für unterschiedliche Untergrundproben.

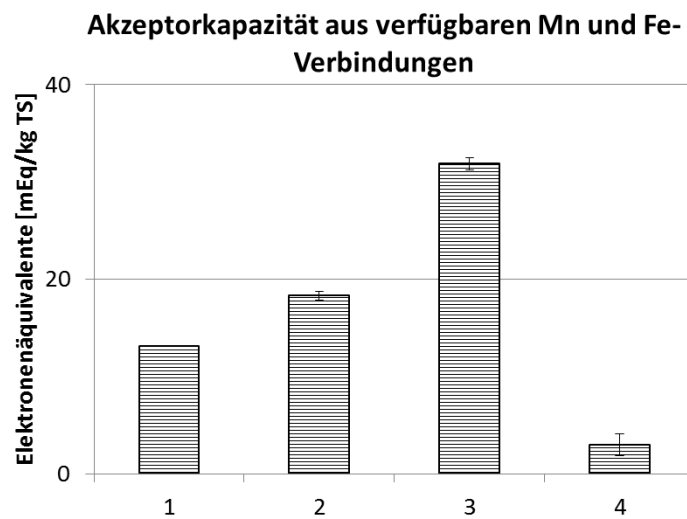


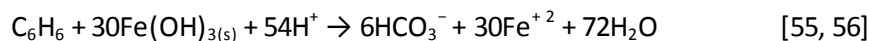
Abbildung 4: Kapazitäten der untersuchten Untergrundproben, Elektronen durch mikrobiologische Prozesse auf Fe- und Mn-Verbindungen aufzunehmen, unter der Annahme der Reduktion von Fe(III) zu Fe(II) und Mn(IV) zu Mn(II).

Beurteilung des Schadstoffabbaues anhand von Donor-/Akzeptorstöchiometrien *in situ*

Bei der Interpretation von Standortdaten muss die Anwendbarkeit von Donor/Akzeptorstöchiometrien zur Quantifizierung des Schadstoffabbaues *in situ* genau geprüft werden. Stöchiometrische Überlegungen, die rechnerisch und unter bestimmten Laborbedingungen (z.B. unter Ausschluss von Festphasen als potentielle Sorbentien oder Quellen) gültig sind, sind in realen Systemen jedoch nur begrenzt anwendbar, wie frühere Publikationen zeigen [52, 53]. Limitationen in der Übertragbarkeit bestehen hier von Seiten des Elektronendonors (Schadstoff) wie terminalen Akzeptors (TEA). Die Anwendung von reaktiven Multikomponenten-Transportmodellen ist zu empfehlen [z.B. 54].

Donor/Akzeptor Stöchiometrien - Theorie versus Praxis

Die Reaktionsgleichung für Benzolabbau unter Fe(III)-reduzierenden Bedingungen



geht beispielsweise von der vollständigen Mineralisierung des Schadstoffes zu Kohlendioxid und Wasser unter der stöchiometrischen Produktion von Fe(aq) aus, und läßt die Produktion von summarisch 30 Mol Fe(aq) pro Mol mineralisiertem Benzol im Grundwasser im Zuge des Abbaues, d.h. in ein einem a priori unbekanntem Zeitraum, erwarten. Der quantitative Rückschluss von dem Vorkommen aquatischer Fe- und Mn- Spezies auf die Größenordnung des PAK-Abbaues wird zusätzlich, neben den z.B. durch Grundwassermarkierungsversuche einschätzbaren Faktoren Dispersion und Verdünnung, durch deren Untergrundverhalten erschwert. Reduktionsprodukte von Fe(III) und Mn(IV) weisen durch Reoxidation und Co-Fällung eine geringe Mobilität im Aquifer auf (sh. oben). So berichteten Ng et al. [55] von der Immobilisierung des Großteiles der gelösten Fe-Spezies durch Sorption an Aquiferbestandteilen innerhalb der Fließstrecke durch die kontaminierte Fläche selbst. Durch die Beurteilung von Abbauprozessen basierend auf Fe(aq)-Konzentrationen alleine kann also die Nutzung dieser TEA-Quelle stark unterschätzt werden. Ähnliche Überlegungen gelten für Mn-reduzierende Verhältnisse, wobei auf das Auftreten von breiten Übergangs- und Reaktionsfronten und auf das parallele Ablaufen von RedOx-Prozessen mit unterschiedlichen TEA hingewiesen werden soll [57, 58]. Auch hier ist die Beurteilung der Veränderung der Prozesse und Reduktionsprodukte im Zuge einer Verfahrensumsetzung ein wichtiger Parameter zur Beurteilung des Abbaues *in situ*.

Einschränkungen für Stöchiometrien

Aus der Beurteilung der biologischen Verfügbarkeit von Fe- und Mn-Oxiden an einem kontaminierten Standort kann die Kapazität von Fe- und Mn-Oxiden, Elektronen aus der Schadstoffoxidation zu empfangen, berechnet werden. Dabei muss donorseitig zwischen vollständiger Oxidation (Maximalbedarf an TEA) und partieller Oxidation (Minimalfall: Aktivierung des Kohlenwasserstoffes, i.a.

Hydroxylierung) unterschieden werden. Formal werden auch nur gering durch Abbauprozesse veränderte Kohlenwasserstoffe, z.B. hydroxylierte Chinoline [59], in der Bestimmung aufgrund ihres veränderten Massenspektrums und meist höheren Polarität standardmäßig in der massenspektroskopischen Analyse nicht erfasst. Die Bestimmung des Abbaugrades komplexer Substanzmischungen, so die im Labor mögliche Verwendung von ^{14}C -markierten Modellsubstanzen bei Messung der Entstehung von $^{14}\text{CO}_2$ nicht möglich ist, erfordert die Suche nach einer Vielzahl von Verbindungen und ist nicht trivial. Die Annahme *partielle Oxidation* versus *vollständige Oxidation* samt Zwischenstufen hat einen großen Einfluss auf die resultierenden Stöchiometrien. Abbildung 5 zeigt exemplarisch einen Vergleich des Bedarfs an Elektronenäquivalenten (meq) für die partielle Oxidation (Annahme: initialer Abbauschritt, Aktivierung des PAK-Moleküles) eines PAK-kontaminierten Grundwasserleiters im Vergleich zur vollständigen Mineralisierung, und den Bedarf an Fe(III) und Mn(IV) Spezies zur Deckung dieses Bedarfes. Es ist ersichtlich, daß der Bedarf je nach Annahme (partielle / vollständige Oxidation) um mehr als eine Größenordnung variiert. Die Überlegungen gelten sinngemäß für Mineralölkohlenwasserstoffe und BTEX in Mischkontaminationen.

Weitere Einflussfaktoren auf die Interpretierbarkeit von Stöchiometrien sind unter anderem:

- präferentieller Abbau von bestimmten Kohlenwasserstoffen (z.B. in Abhängigkeit des Substituenten, der Molekülgröße, des Alkylierungsgrades),
- der nicht quantifizierte Anteil an Kohlenwasserstoffen (u.a. nicht analysierte PAK, MKW < $n\text{-C}_{10}$ und > $n\text{-C}_{40}$),
- mangelnde Schadstoffverfügbarkeit,
- der nicht quantifizierte Anteil an abbaubarem nicht-Schadstoff-Kohlenstoff,
- der Auf- und Abbaubau von Biomasse und
- die Konkurrenz um Elektronenakzeptoren.

Die Dimensionierung der im Aquifer zu erreichenden RedOx-Mediator Zielkonzentrationen, i.A. im Bereich von 50-500 μM [31-33] basieren im Gegenteil dazu nicht auf Donor/Akzeptorstöchiometrien, sondern sind experimentell bestimmte Konzentrationen, bei denen die physiologischen Reaktionen der beteiligten Mikroorganismen ein Optimum aufzuweisen scheinen [20, 28].

Basierend auf diesen Überlegungen kann, wie oben angemerkt, aus dem Entstehen von Fe(aq) und Mn(aq) Spezies allein keine quantitative Abschätzung des durch den Einsatz von RedOx-Mediatoren induzierten Kohlenwasserstoff-Abbaues gegeben werden, halbquantitative Einschätzungen sind jedoch möglich. Für die Einschätzung der Art und Größenordnung von Untergrundprozessen sollte immer der gesamte Katalog der relevanten *in situ* Parameter herangezogen werden, die Modellierung mittels reaktiver Transportmodelle wird empfohlen.

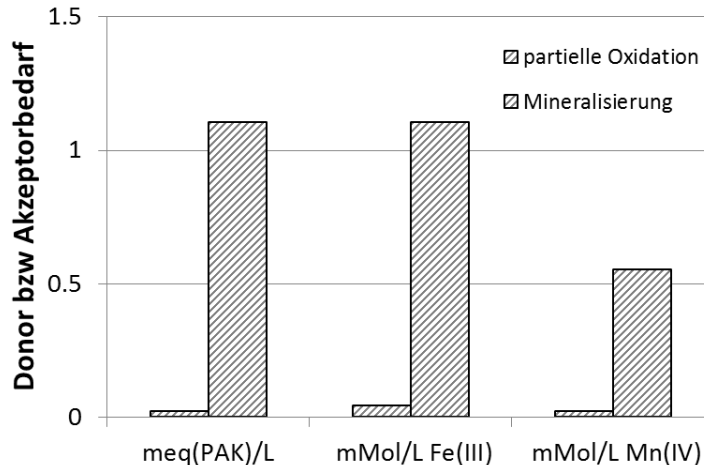


Abbildung 5: Exemplarische rechnerische Donor-Akzeptor-Stöchiometrie für PAK-kontaminiertes Grundwasser unter Annahme von partieller (blaue Balken) bzw. vollständiger PAK-Oxidation (rote Balken): donorseitiger Äquivalentbedarf, und notwendige Ressourcen an biologisch verfügbaren Fe(III) und Mn(IV)-Verbindungen pro L Grundwasser zur Deckung des Bedarfes

Stellenwert des Einsatzes von RedOx-Mediatoren für die *in situ* Behandlung von kohlenwasserstoffbelastetem Grundwasser

Bisherige Erfahrungen

Ein kleinmaßstäblicher Pilotversuch zur Förderung des *in situ* Schadstoffabbaues mittels RedOx-Mediatoren wurde an einem teerölbelasteten Standort in Oberösterreich unter Begleitung der Wasserrechtsbehörde in den Jahren 2013-2014 durchgeführt und ist im Endbericht des Forschungsprojektes beschrieben [16]. Im Vorfeld des Pilotversuches wurden u.a. die einzubringenden Stoffe nach Art, Wirkungsweise, Masse und Umweltverhalten, der Ist-Zustand des Grundwassers in chemischer, physikalischer und hygienischer Hinsicht sowie die geplanten Tätigkeiten im Detail beschrieben [60], eine entsprechende wasserrechtliche Bewilligung zur Durchführung des Forschungsprojektes erwirkt, und der Behörde über die bescheidgemäße Durchführung der Arbeiten berichtet [61]. Dieser Pilotversuch stellt nach Wissen der AutorInnen die bisher einzige dokumentierte Anwendung von RedOx-Mediatoren dar. Eine routinemäßige Umsetzbarkeit als *in situ* Sanierungsverfahren ist derzeit noch nicht gegeben. Basierend auf den Untersuchungen im Rahmen des Projektes kann das Prinzip – Nutzung von geogenen Elektronenakzeptoren als TEA für den Kohlenwasserstoff-Abbau mit geringem Mitteleinsatz – jedoch als funktional betrachtet werden. Ein kombinierter Einsatz, z.B. mit der Zugabe von anthropogenen Elektronenakzeptoren, erscheint eine erfolgversprechende Strategie und ist dem Einsatz als stand-alone Verfahren vorzuziehen. Abschließend sollen einige Betrachtungen für die Weiterentwicklung und mögliche zukünftige Anwendung getätigt werden.

Standortspezifische Verfügbarkeit von geogenen TEA-Ressourcen als primäre Einsatzrandbedingung

Die zentrale Einsatzrandbedingung für die Förderung des anaeroben Kohlenwasserstoffabbaues unter Einsatz von RedOx-Mediatoren stellt die Verfügbarkeit von Fe- und Mn-Verbindungen im Aquifer dar, welche mittels RedOx-Mediatoreinsatz als TEA für den biologischen Schadstoffabbau zugänglich gemacht werden können. Da diese Prozesse auch für Oxidationsprozesse von nicht-Schadstoff-Kohlenstoff ablaufen, werden biologisch reduzierbare Fe- und Mn-Verbindungen auch durch natürliche Prozesse reduziert bzw. unterliegen durch Reoxidation (zB bei Sauerstoffzutritt durch Niederschlag) einer gewissen Dynamik. Die Verfügbarkeitsbestimmung mittels eisen- und manganreduzierenden Mikroorganismen [49] zeigte, daß in der vadosen wie auch gesättigten Zone Ressourcen an geogenen terminalen Elektronenakzeptoren (reduzierbare Fe- und Mn-Oxide) vorhanden sind, die nur durch bestimmte Mechanismen angegriffen werden können.

Im Rahmen der Projektarbeiten konnte festgestellt werden, daß derzeit noch wenig über die Rolle von Mn-Oxiden als terminale Elektronenakzeptoren und deren analytische Bestimmung bekannt ist. Mn-Verbindungen sind im Untergrund im geringeren Maße (wenige Gewichtsprozent von Fe-Verbindungen) vorhanden, stellen jedoch das Doppelte an Elektronenäquivalenten zur Verfügung (Reduktion von Mn(IV) zu Mn(II)) und sind somit eine nicht zu vernachlässigende TEA-Quelle. Es ist wahrscheinlich, daß ähnliche Mechanismen wie in der Fe-Reduktion und Reoxidation auch für den biologischen Umsatz von Mn-Verbindungen verantwortlich sind [15], diese sind jedoch nicht umfassend untersucht. Die Masse von über extrazellulären Elektronentransport als TEA verfügbar zu machenden Fe- und Mn-Verbindungen ist der zentrale Einsatzparameter für die Anwendung hier vorgestellten Verfahrensprinzipes, und muss *a priori* durch geeignete Methoden quantifiziert werden.

Weitere Standorteigenschaften als Einsatzrandbedingungen

Neben den oben beschriebenen TEA-Ressourcen können grundlegende Eigenschaften oder Einsatzrandbedingungen eines kontaminierten Standortes definiert werden, die bei der Auswahl eines Standortes für die Anwendung von RedOx-Mediatoren *a priori* zu beachten sind.

- Als **Zielschadstoffe** sind primär **PAK (Homo- und Heterozyklen mit und ohne Alkylketten)**, aber auch aufgrund des ähnlichen Abbauverhaltens **BTEX**, die im Grundwasser gelöst sind, geeignet. Aus demselben Grund ist die Anwendung für **MKW** denkbar, wenngleich noch nicht nachgewiesen. Die Anwendung von EES für die Behandlung von **LCKW** wurde früher [17, 52] in Grundzügen behandelt, dort handelt es sich jedoch um gänzlich andere Abbauprozesse, und eine Verfahrenskombination mit Elektronendonatoren wurde vorgeschlagen.
- Das Verfahren zielt auf im **Grundwasser gelöste Schadstoffe** ab (d.h. Fahnenanierung). Die Präsenz von D- oder L-NAPL-Körpern hat daher keinen Einfluss auf die technische Anwendbarkeit, wenngleich die TEA-Ressourcen sehr wahrscheinlich um Größenordnungen für einen quantitativ signifikanten mikrobiellen Abbau zu gering sind. Da das Prinzip die Förderung von anaeroben, mikrobiologischen Umsatzprozessen darstellt, ist einer Anwendung in der vadosen Zone die Förderung des aeroben Metabolismus vorziehen (z.B. via *Bioventing*).

- Die Stimulierung von mikrobiologischen Abbauprozessen an bereits **mikrobiologisch aktiven Standorten**, soweit z.B. nach Untersuchungen zu NA-Prozessen bekannt, ist naturgemäß weniger aufwändig als an Standorten die bislang keine Zeichen von natürlichem Schadstoffabbau gezeigt haben. Letztere umfassen im Allgemeinen sehr frische Schäden. Gründe für das Ausbleiben von *Natural Attenuation*-Prozessen sind üblicherweise im Bereich suboptimaler pH-Werte, Co-Kontaminanten u.a. lokalisiert.
- Aerobe PAK-Abbauprozesse weisen im Allgemeinen eine sanierungstechnisch vorteilhaftere Kinetik auf. Sanierungsverfahren in aeroben bzw. schwach reduzierenden Milieus sind daher vorteilhafter über die Stimulation von aerobem PAK-Abbau durchzuführen (z.B. *Biosparging*). Im Gegenzug dazu hat der Einsatz von RedOx-Mediatoren die Förderung von Abbauprozessen unter **reduzierenden Verhältnissen** zum Ziel. Ein forcierter Abbau von Schadstoffen könnte durch (mehrfache) Änderungen des Redox-Milieus im kontaminierten Aquifer erzielt werden, dies ist jedoch noch zu untersuchen.
- Die horizontale und vertikale **Durchlässigkeit** des Aquifers soll einerseits das **Einbringen von RedOx-Mediatoren und ggf. Makronährstoffen** ermöglichen, bei zugleich adäquater Retention, um den Abbau zu gewährleisten. Hierzu sind geeignete Brunnen bzw. hydraulische Systeme einzusetzen.
- Alle biologischen Sanierungsverfahren haben gemein, daß ein **hoher Erkundungs- und Verständnisgrad** des Standortes notwendig ist. Das inkludiert das Wissen um hydrogeologische Parameter, NA-Parameter, dreidimensionales Schadstoffinventar, und anderes.
- Das Verfahren erfordert die Möglichkeit, zentrale oder dezentrale **Infrastruktureinrichtungen** aufzustellen, zu warten und zu betreuen. Geeignete Vorkehrungen sind erforderlich, um Einflussnahme von unbefugten Dritten, Schutz vor Frost und ggf. Nutzungseinschränkungen während der Sanierung hintanzuhalten.

Einsatzmöglichkeiten von RedOx-Mediatoren in der Altlastensanierung

Stand-alone Verfahren: TEA-Ressourcen als limitierender Faktor

Unterschiedliche Anwendungsbereiche für ein *in situ* Verfahren, das auf dem Zusatz von RedOx-Mediatoren zur Stimulation des anaeroben mikrobiologischen Abbaues von PAK beruht, sind denkbar. Der Einsatz als **alleinstehendes Verfahren** zur Fahnenbehandlung über unterschiedliche Einbringungsverfahren ist möglich. Möglichkeiten zur vertikalen oder horizontalen Wirkstoffrezirkulation stellen Grundwasserzirkulationsbrunnen oder horizontale Dipole, wie im ABIS-Leitfaden [17] beschrieben, dar. Die Umsetzung kann als punkt- oder linienförmige, kontinuierliche ständige oder gepulste Mediator- bzw. TEA-Injektion und/oder Infiltration in adäquater räumlicher Auflösung am Standort erfolgen. In jedem Fall ist neben dem Nachweis des PAK-Abbaues zu unbedenklichen Stoffen die Charakterisierung der Mobilisierbarkeit der TEA-Ressourcen des Aquifers notwendig. In Anbetracht des Vorkommens von Fe- und Mn-Oxiden ist es wahrscheinlich, daß die **TEA-Ressourcen eines Aquifers als nicht ausreichend für die Oxidation der Zielschadstoffmenge** eingestuft werden. Hier kann die **sequentielle Anwendung** von RedOx-Mediatoren und, nach Erschöpfung der mobilisierbaren TEA-

Ressourcen, von anthropogenen TEA (Nitrat, Sulphat, Fe(III)-Oxide) in Betracht gezogen werden. Hierzu können beispielsweise kolloidale Fe(III)-Verbindungen angewendet werden [14, 43].

RedOx-Mediatoren in Kombinationsverfahren

Es besteht jedoch auch Anwendungspotential der RedOx-Mediator-Zugabe als **Kombinationsverfahren** mit mikrobiologischen wie herkömmlichen, physikalisch-chemischen Behandlungsverfahren. Die Einbringung von RedOx-Mediatoren in mittels Pump & Treat oder Funnel & Gate-Verfahren gesicherte Fahnenbereiche zur Entlastung von Grundwasserreinigungsanlagen bzw. einer Verkürzung der Betriebsdauer ist denkbar.

Die Adsorption an Aktivkohle (AK) stellt bei der Grundwasserreinigung von teerölbürtigen Schadstoffgemischen den Stand der Technik dar– verbunden mit der Problematik, daß polare Schadstoffe (beispielsweise Phenole) nicht oder nur zu geringen Anteilen am Adsorbens verbleiben oder wieder von diesem verdrängt werden (konkurrierende Sorption). Bei der Grundwasserreinigung mittels Aktivkohle sind neben der Entfernung (möglichst aller) Schadstoffe aus dem Wasser andere Prozesse zu bewältigen, wie beispielsweise die Ausfällung von Fe-/Mn-Oxiden im Fall von Sauerstoffzutritt in den Filter bzw. bei sich ändernden RedOx-Bedingungen oder auch die hohe Korrosionsanfälligkeit metallischer Anlagenteile, falls diese mit dem (anaeroben) Grundwasser in Kontakt sind. Mit PAK beladene Aktivkohle kann nicht (wie im Fall von LCKW) regeneriert werden, sondern ist nach deren Auswechslung der Verbrennung zuzuführen.

Durch die Stimulation des PAK-Abbaues unter Fe(III)- oder Mn(IV)-reduzierenden Bedingungen kann theoretisch eine Veränderung der Belastung der Wasserhaltung bzw. eines AK-Filters erwartet werden. Erhöhte Frachten an Mn(aq) konnten im Feldversuch beobachtet werden, diese wurden aber bereits wenige Meter im Abstrom nicht mehr gefunden. Generell sind gelöste Fe- und Mn-Spezies im Untergrund weniger mobil als bisher angenommen. So wurde in entsprechenden Studien beobachtet, daß über 99% der Fe(aq)-Spezies am Aquifermaterial sorbieren bzw. im Verlauf des Fließweges co-gefällt werden [55], und somit eine nachgeschaltete AK-Stufe sehr wahrscheinlich gar nicht erreichen würden. Aufgrund der geringen Mobilität ist also mit einer zusätzlichen Belastung von AK-Systemen bei einer kombinierten Anwendung nicht zu rechnen.

Abschließende Bemerkungen

Über das Umweltverhalten von RedOx-Mediatoren ist derzeit noch wenig bekannt, es ist jedoch aus Laborstudien zu erwarten, daß nach Stabilitätsverlust nach wenigen Tagen biologische Abbauprozesse zum Tragen kommen.

Die Verteilung der erforderlichen Wirkstoffe im Grundwasserleiter müsste mittels hydraulischer Verfahren erfolgen. Hier besteht ein Unterschied zum Einsatz einer diesbezüglich weitgehend "passiven" Anwendungsmöglichkeit von Aktivkohle beispielsweise in einem Funnel & Gate-System. Allerdings ist absehbar, daß für die Verteilung der erforderlichen geringen Mengen an Wirkstoffen im Aquifer energiesparende Verfahren entwickelt werden bzw. verfügbar sind.

Unabhängig von den oben besprochenen Aspekten bleibt der Umgang mit einer oftmals im Grundwasserschwankungsbereich oder an dessen Sohle vorliegenden D- oder L-NAPL-Phase. Dieses

fungiert weiterhin und unabsehbar lange als Schadstoffquelle. Im Idealfall kann zumindest ein Teil des Teeröls über spezielle Fassungs- und Fördereinrichtungen entfernt werden, jedoch ist die großtechnische und effiziente Entfernung von residualen und nicht fließfähigen Phasenresten noch nicht zufriedenstellend gelöst. Diese Frage ist jedoch unabhängig von den zur Wasserreinigung verfügbaren Verfahren zu bearbeiten.

In Anbetracht des experimentellen Charakters der hier vorgestellten Verfahrensansätze ist eine routinemäßige Anwendung des Verfahrens nicht gegeben. Die AutorInnen raten zu einer intensiven Auseinandersetzung mit der Materie und der Konsultation von interdisziplinären Experten und Expertinnen.

Literatur

1. Brutinel, E.D. and J.A. Gralnick, *Shuttling happens: Soluble flavin mediators of extracellular electron transfer in Shewanella*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012. **93**(1): p. 41-48.
2. Richter, K., M. Schicklberger, and J. Gescher, *Dissimilatory Reduction of Extracellular Electron Acceptors in Anaerobic Respiration*. Applied and Environmental Microbiology, 2012. **78**(4): p. 913-921.
3. Widdel, F. and O. Grundmann, *Biochemistry of the anaerobic degradation of non-methane alkanes*, in *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*, K.N. Timmis, Editor. 2010, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 909-923.
4. Gieg, L.M., S.J. Fowler, and C. Berdugo-Clavijo, *Syntrophic biodegradation of hydrocarbon contaminants*. Current Opinion in Biotechnology, 2014. **27**: p. 21-29.
5. Berdugo-Clavijo, C., et al., *Methanogenic biodegradation of two-ringed polycyclic aromatic hydrocarbons*. FEMS Microbiology Ecology, 2012. **81**(1): p. 124-133.
6. Fowler, S.J., et al., *Methanogenic toluene metabolism: Community structure and intermediates*. Environmental Microbiology, 2012. **14**(3): p. 754-764.
7. Davidova, I.A., et al., *Anaerobic phenanthrene mineralization by a carboxylating sulfate-reducing bacterial enrichment*. The ISME Journal, 2007. **1**: p. 436-442.
8. Callaghan, A.V., et al., *Comparison of mechanisms of alkane metabolism under sulfate-reducing conditions among two bacterial isolates and a bacterial consortium*. Applied and Environmental Microbiology, 2006. **72**(6): p. 4274-4282.
9. Leeson, A. and R.E. Hinchee, *Soil Bioventing, Principles and Practice*. 1997: CRC, Lewis Publishers Boca Raton, Florida.
10. Berlendis, S., et al., *Anaerobic biodegradation of BTEX by original bacterial communities from an underground gas storage aquifer*. Environmental Science and Technology, 2010. **44**(9): p. 3621-3628.
11. Widdel, F., K. Knittel, and A. Galushko, *Anaerobic hydrocarbon-degrading microorganisms: an overview*. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology, 2010: p. 1997-2021.
12. Guo, H. and A.S. Barnard, *Naturally occurring iron oxide nanoparticles: Morphology, surface chemistry and environmental stability*. Journal of Materials Chemistry A, 2013. **1**(1): p. 27-42.
13. Bosch, J., et al., *Anaerobic, nitrate-dependent oxidation of pyrite nanoparticles by thiobacillus denitrificans*. Environmental Science and Technology, 2012. **46**(4): p. 2095-2101.
14. Fritzsche, A., et al., *Fast microbial reduction of ferrihydrite colloids from a soil effluent*. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2012. **77**: p. 444-456.
15. Lovley, D.R., D.E. Holmes, and K.P. Nevin, *Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction*. Advances in Microbial Physiology, 2004. **49**: p. 219-86.
16. Scherr, K.E. and M. Nahold, *In situ Oxidation von Poly- und Heterozyklischen Teeröl-kontaminanten: Einsatz von Red-Ox-Mediatoren (HetReMed): Endbericht des Forschungsprojektes, 04/2011 – 06/2014*. 2014, Universität für Bodenkultur Wien, Institut für Umweltbiotechnologie. p. 169.
17. Scherr, K.E., M.M. Nahold, and A.P. Loibner, *Handbuch Anaerobe Biologische Sanierung (ABIS) von LCKW-belastetem Grundwasser: Verfahrenstechnische Standortwahl - Projektentwicklung - Qualitätskriterien*. 2011, Universität für Bodenkultur Wien, Department IFA-Tulln, Institut für Umweltbiotechnologie: Tulln, Austria.
18. Aichberger, H., et al., *Assessing natural biodegradation potential at a former oil refinery site in Austria*. Land Contamination and Reclamation, 2007. **15**(1): p. 1-14.
19. Börke, P. and N.R. Hüßers, *Leitfaden "Natürliche Schadstoffminderung bei Teerölkontaminationen"*. Themenverbund 2: "Gaswerke, Kokereien, Teerverarbeitung, (Holz-)Imprägnierung", P. Werner, P. Börke, and N. Hüßers, Editors. 2008, Technische Universität Dresden, Institut für Abfallwirtschaft und Altlasten: Dresden.
20. Wolf, M., et al., *Effects of Humic Substances and Quinones at Low Concentrations on Ferrihydrite Reduction by Geobacter metallireducens*. Environmental Science and Technology, 2009. **43**(15): p. 5679-5685.
21. Kerisit, S., et al., *Molecular Computational Investigation of Electron-Transfer Kinetics Across Cytochrome-Iron Oxide Interfaces*. The Journal of Physical Chemistry C, 2007. **111**(30): p. 11363-11375.
22. Gray, H.B. and J.R. Winkler, *Electron flow through metalloproteins*. Biochimica Et Biophysica Acta - Bioenergetics, 2010. **1797**(8): p. 1563-1572.
23. Snider, R.M., et al., *Long-range electron transport in Geobacter sulfurreducens biofilms is redox gradient-driven*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. **109**(38): p. 15467-72.
24. Reguera, G., et al., *Extracellular electron transfer via microbial nanowires*. Nature, 2005. **435**(7045): p. 1098-1101.
25. Nevin, K.P. and D.R. Lovley, *Mechanisms for Fe(III) Oxide Reduction in Sedimentary Environments*. Geomicrobiology Journal, 2002. **19**(2): p. 141-159.
26. Marsili, E., et al., *Shewanella secretes flavins that mediate extracellular electron transfer*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008. **105**(10): p. 3968-3973.
27. Van der Zee, F.P., *Impact and application of electron shuttles on the redox (bio)transformation of contaminants: A review*. Biotechnology Advances, 2009. **27**(3): p. 256-277.
28. Watanabe, K., et al., *Electron shuttles in biotechnology*. Current Opinion in Biotechnology, 2009. **20**(6): p. 633-641.

29. Rau, J., H.J. Knackmuss, and A. Stolz, *Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria*. Environmental Science and Technology, 2002. **36**: p. 1497–1504.
30. Scherr, K.E., *Extracellular Electron Transfer in situ Petroleum Hydrocarbon Bioremediation*, in Hydrocarbon, V. Kutcherov, Editor. 2013, InTech Publishing: Rijeka, Croatia. p. **161-194**.
31. Orsetti, S., C. Laskov, and S.B. Haderlein, *Electron transfer between iron minerals and quinones: Estimating the reduction potential of the Fe(II)-goethite surface from AQDS speciation*. Environmental Science and Technology, 2013. **47**(24): p. 14161-14168.
32. Aulenta, F., et al., *The humic acid analogue anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) serves as an electron shuttle in the electricity-driven microbial dechlorination of trichloroethene to cis-dichloroethene*. Bioresource Technology, 2010. **101**(24): p. 9728-9733.
33. Royer, R.A., et al., *Enhancement of biological reduction of hematite by electron shuttling and Fe(II) complexation*. Environmental Science and Technology, 2002. **36**(9): p. 1939-46.
34. Bombach, P., et al., *Current approaches for the assessment of in situ biodegradation*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010. **86**(3): p. 839-852.
35. Hwang, H.T., et al., *A multiphase flow and multispecies reactive transport model for DNAPL-involved Compound Specific Isotope Analysis*. Advances in Water Resources, 2013. **59**: p. 111-122.
36. Griebler, C., et al., *Combined Application of Stable Carbon Isotope Analysis and Specific Metabolites Determination for Assessing In Situ Degradation of Aromatic Hydrocarbons in a Tar Oil-Contaminated Aquifer*. Environmental Science and Technology, 2004. **38**(2): p. 617-631.
37. Aichberger, H., et al., *Potential of preliminary test methods to predict biodegradation performance of petroleum hydrocarbons in soil*. Biodegradation, 2005. **16**(2): p. 115-125.
38. Zhang, W.X. and E.J. Bouwer, *Biodegradation of benzene, toluene and naphthalene in soil-water slurry microcosms*. Biodegradation, 1997. **8**(3): p. 167-175.
39. Bombach, P., et al., *Evaluation of ethyl tert-butyl ether biodegradation in a contaminated aquifer by compound-specific isotope analysis and in situ microcosms*. Journal of Hazardous Materials, 2015. **286**: p. 100-106.
40. Roden, E.E. and J.M. Zachara, *Microbial Reduction of Crystalline Iron(III) Oxides: Influence of Oxide Surface Area and Potential for Cell Growth*. Environmental Science & Technology, 1996. **30**(5): p. 1618-1628.
41. Munch, J.C. and J.C.G. Ottow, *Preferential Reduction of Amorphous to Crystalline Iron Oxide by Bacterial Activity*. Soil Science, 1980. **129**(1): p. 20-28.
42. Bosch, J., et al., *Nanosized iron oxide colloids strongly enhance microbial iron reduction*. Applied and Environmental Microbiology, 2010. **76**(1): p. 184-189.
43. Braunschweig, J., J. Bosch, and R.U. Meckenstock, *Iron oxide nanoparticles in geomicrobiology: From biogeochemistry to bioremediation*. New Biotechnology, 2013. **30**(6): p. 793-802.
44. Roden, E.E. and M.M. Urrutia, *Influence of biogenic Fe(II) on bacterial crystalline Fe(III) oxide reduction*. Geomicrobiology Journal, 2002. **19**(2): p. 209-251.
45. Chao, T.T. and L. Zhou, *Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments*. Soil Science Society of America Journal, 1983. **47**(2): p. 225-232.
46. Blesa, M.A., et al., *Mechanism of dissolution of magnetite by oxalic acid-ferrous ion solutions*. Inorganic Chemistry, 1987. **26**(22): p. 3713-3717.
47. Hacherl, E.L., et al., *Measurement of iron(III) bioavailability in pure iron oxide minerals and soils using anthraquinone-2,6-disulfonate oxidation*. Environmental Science and Technology, 2001. **35**(24): p. 4886-4893.
48. Lovley, D.R. and E.J.P. Phillips, *Rapid Assay for Microbially Reducible Ferric Iron in Aquatic Sediments*. Applied and Environmental Microbiology, 1987. **53**(7): p. 1536-1540.
49. Evans, P.J., *A Novel Ferric Iron Bioavailability Assay*, in Risk, Regulatory, and Monitoring Considerations, G.B. Wickramanayake and e. al., Editors. 2000, Battelle Press, Columbus, OH, USA. p. 167-174.
50. Braunschweig, J., et al., *Reevaluation of colorimetric iron determination methods commonly used in geomicrobiology*. Journal of Microbiological Methods, 2012. **89**(1): p. 41-48.
51. Stookey, L.L., *Ferrozine - A new spectrophotometric reagent for iron*. Analytical Chemistry, 1970. **42**(7): p. 779-781.
52. Scherr, K.E., et al., *Sequential application of electron donors and humic acids for the anaerobic bioremediation of chlorinated aliphatic hydrocarbons*. New Biotechnology, 2011. **1**(29): p. 116-125.
53. Hasinger, M., Scherr, Kerstin E., et al., *Changes in iso- and n-alkane distribution during biodegradation of crude oil under nitrate and sulphate reducing conditions*. Journal of Biotechnology, 2012. **157**(4): p. 490-498.
54. Prommer, H., *PHT3D - A reactive multicomponent transport model*. 2012.
55. Ng, G.H.C., et al., *A mass balance approach to investigating geochemical controls on secondary water quality impacts at a crude oil spill site near Bemidji, MN*. Journal of Contaminant Hydrology, 2014. **164**: p. 1-15.
56. Widdel, F., A. Boetius, and R. Rabus, *Anaerobic biodegradation of hydrocarbons including methane*, in The Prokaryotes, S.F. M. Dworkin, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, and E. Stackebrandt, Editor. 2006, Springer: New York. p. 1029-1049.
57. Cribbin, L.B., et al., *Reaction front formation in contaminant plumes*. Journal of Contaminant Hydrology, 2014. **171**: p. 12-21.

58. Meckenstock, R.U., et al., *Biodegradation: Updating the Concepts of Control for Microbial Cleanup in Contaminated Aquifers*. Environmental Science and Technology, 2015. **49**(12): p. 7073-7081.
59. Reineke, A.K., et al., *Quinoline and derivatives at a tar oil contaminated site: Hydroxylated products as indicator for natural attenuation?* Environmental Science and Technology, 2007. **41**(15): p. 5314-5322.
60. Nahold, M. and K.E. Scherr, *Einreichprojekt zur Durchführung eines begrenzten Feldversuches zur Beschleunigung des natürlichen Abbaus von Schadstoffen im Grundwasser am Standort der Altlast O 45 in Enns*. 2013, GUT Gruppe Umwelt + Technik GmbH, Universität für Bodenkultur Wien: Plesching, Linz.
61. Nahold, M., *Abschlussbericht zur Durchführung eines begrenzten Feldversuches zur Beschleunigung des natürlichen Abbaus von Schadstoffen im Grundwasser am Standort der Altlast O 45 in Enns. Forschungsvorhaben "HetReMed - In situ Oxidation von Poly- und Heterozyklischen Teerölkontaminaten unter Einsatz von RedOx-Mediatoren".- Technischer Bericht der GUT GRUPPE UMWELT + TECHNIK GMBH vom 26. August 2014*. 2014, GUT Gruppe Umwelt + Technik GmbH: Plesching, Linz.