

1 Teilprojekt 1

IN SITU-STEUERUNG VON MIKROBIELLEN SCHWEFELUMSETZUNGEN IN SCHWEFELSAUREN BRAUNKOHLENTAGEBAURESTSEEN UND DEREN HYDROGEOLOGISCHEM UMFELD

WALTER GELLER

UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Sektion Gewässerforschung,
Brückstr. 3a, 39114 Magdeburg

Forschungsziel

Ziel des Projektes ist es, Strategien und Technologien für die effektive und nachhaltige *in situ*-Sanierung von geogen schwefelsauren Tagebaurestseen und schwefelsäurebelasteten Bergbaukippen mit Hilfe biotechnologischer Prinzipien zu entwickeln, um die Wasserqualität langfristig zu sichern. Kern der biotechnologischen Lösungsansätze zur Entsäuerung schwefelsaurer Gewässer sind die bakterielle Eisen- und Sulfatreduktion zur Bildung von Alkalinität.

Die biologischen Grundlagenuntersuchungen betreffen die Charakterisierung von Schwefel- und Eisenbakterien anhand der natürlichen mikrobiologischen Konsortien und von kultivierten Isolaten sowie der Milieuparameter ihrer Aktivität. Die objektbezogenen biotechnologischen Verfahren werden stufenweise vom Laborversuch über den halbtechnischen Maßstab geführt und vor Ort im größeren Maßstab bis zur *in situ*-Sanierung von Demonstrationsobjekten, z.B. eines ganzen Bergbaurestsees, getestet.

Das Ausmaß des Versauerungspotentials hat große Bedeutung für den Ablauf des mikrobiellen Schwefelumsatzes im Tagebaurestsee. Eine Bilanzierung des Schwefelhaushaltes wird Daten über die Verfügbarkeit von Sulfat liefern, die zusammen mit mikrobiellen Umsatzraten Rückschlüsse auf die Dauer und damit auf den Umfang von Sanierungsmaßnahmen erlauben. Die Ergebnisse der mineralogischen, kristallographischen und der hydrologisch-geochemischen Untersuchungen des Rest-

seeumfeldes sollen die technische Durchführung der Sanierung des Restsees einfließen.

Erzielte Ergebnisse von Juli 1998 bis Oktober 1999

Untersuchungen des hydrogeologischen Umfeldes

Grundlegende Parameter (Grundwasserstände, Niederschlagshöhen, Verdunstungsraten, Durchlässigkeitsbeiwerte) zur hydrogeologischen Charakterisierung des Einzugsgebietes wurden bestimmt. Die Hauptfließrichtungen des Grundwassers sind bekannt. Eine Konkretisierung des vom Institut für Umweltphysik der Universität Heidelberg zur Verfügung gestellten regionalen Grundwassermodells (MODFLOW) für das Restloch 111 ist in Arbeit.

Neben der kontinuierlichen Erfassung der hydrologischen Daten wurden umfangreiche geochemische und isotopengeochemische Untersuchungen an Grund-, See- und Niederschlagswasser sowie an Kippen- und Seesedimenten durchgeführt, mit deren Hilfe Abschätzungen zum jährlichen Schwefelein- bzw. -austrag sowie eine erste Bilanzierung des Sulfates vorgenommen werden können.

Die Technische Mineralogie des Forschungszentrums Karlsruhe hat im bisherigen Zeitraum der Projektbearbeitung mit Hilfe festkörperanalytischer Methoden Verfahrensschritte entwickelt, um den mineralogischen Phasenbestand im hydrogeologischen Umfeld und in den Seesedimenten zu ermitteln und quantitativ zu erfassen. Grundlegende Bedeutung für den Eintrag von Säure und Metallen, zum Teil in toxisch wirkenden Konzentrationen, in Tagebaurestseen kommen den sulfatischen Mineralneubildungen aus der Sulfidoxidation, im wesentlichen Jarosite, und ihrem Freisetzungspotential bei zunehmender Wassersättigung der Kippen zu. Mit Kenntnis solcher kinetischer Daten kann das Verhalten von Schadstoffen bei Überschreiten der Stabilitätsgrenzen einzelner Minerale nach Veränderung der Umgebungsbedingungen (z.B. Flutung der Kippen in einem Braunkohlentagebaurestloch) abgeschätzt werden. Synthetische Eisensulfat-Minerale sind im Labor im Einsatz, um die Verfügbarkeit von Sulfat unter oxischen und insbesondere unter anoxischen Bedingungen für eine mikrobiell katalysierte Sulfatreduktion zu ermitteln.

Mikrobiologische Untersuchungen

Im Rahmen zweier BMBF-Projekte in der Lausitz wurden von der AG Mikrobiologie der UFZ-Gewässerforschung Grundlagenuntersuchungen an den Bakterienkonsortien in die Wege geleitet, die an den wesentlichen Stoffumsetzungen in stark sauren Seen beteiligt sind. Es wurden hohe Sulfat- und Eisenreduktionsraten im Sediment des Sees RL 111 gemessen, die im substratbeschickten Enclosure um ein bis zwei Größenordnungen über den Vergleichswerten im See lagen. In der Folge kam es zu einem Anstieg des pH-Wertes im Sediment.

Die Sektion Umweltmikrobiologie hat sulfatreduzierende Bakterien (SRB) aus dem RL 111 isoliert und deren Wachstum bei pH 2,5 und pH 7 gemessen. Alle Isolate zeigten Wachstum nur im Neutralbereich, nicht jedoch bei dem Original-pH-Wert des Standortes. Dies deutet darauf hin, daß die SRB in Mikrohabitaten wachsen, deren pH-Milieu mit dem pH-Wert des freien Seewassers nicht hinreichend charakterisiert wird, oder daß es nicht gelungen ist, die am Standort tatsächlich aktiven Bakterien zu isolieren.

Die Abteilung Umweltmikrobiologie der GBF hat sich mit der Bestimmung der taxonomischen Struktur der Bakteriengemeinschaften aus RL 111 mit Hilfe der direkten Analyse von Nukleinsäuren und Lipiden aus der Umwelt befaßt. Mit diesem Ansatz war es möglich, die taxonomische Struktur der planktischen Bakteriengemeinschaften bis zur Gattungs- oder Artebene direkt zu bestimmen, d. h. ohne die Bakterien zu kultivieren. Im Ergebnis waren die Bakteriengemeinschaften in den Experimentallansätzen und im See sehr ähnlich zusammengesetzt. Nur ein kleiner Teil der Bakteriengemeinschaft zeigte eine metabolische Aktivität.

Limnologische Seeuntersuchungen und Enclosure-Versuche im Freiland

In der Sektion Gewässerforschung wurden Grundlagen der Limnologie, Gewässerchemie und Mikrobiologie saurer Tagebaurestseen erarbeitet. Regelmäßige Sondenmessungen, chemische und biologische Probenahmen fanden in monatlichen Zweitageskampagnen statt, um die saisonale Entwicklung im See und in den gegenwärtig zu beobachtenden *Klein-Enclosures* (2m Ø) zu verfolgen. Der Versuchsbetrieb an den *Klein-Enclosures* erfolgt bis 1999 im Rahmen eines laufenden BMBF-

Programms und wird inhaltlich in das hier vorgestellte HGF-Projekt integriert. Die limnologischen Untersuchungen führten zu einer umfassenden Beschreibung und Analyse der physikalischen, chemischen und biologischen Verhältnisse und deren saisonaler Entwicklung und sind in entsprechenden Publikationen dokumentiert. Die Meßdaten sind Grundlage für die Validierung entsprechender Modellierungen.

Die biotechnologische Sanierung über mikrobielle Eisen- und Sulfatreduktion im Labor- und Enclosure-Maßstab wurde zunächst in dem 1999 abgeschlossenen BMBF-Projekt untersucht. Verschiedene Reinsubstrate und Industrie-Abprodukte wurden im Labormaßstab erprobt, dann die Versuchsansätze in Säulenexperimenten weitergeführt, wobei natürliche Temperaturschwankungen und Schichtungsinstabilitäten simuliert wurden. Im Labormaßstab der Standsäulen wurde nach Zugabe einer Substratkombination von Stroh und Carbokalk eine vollständige Neutralisierung (von pH 2,6 bis pH 6,0) durch mikrobiologische Sulfatreduktion und anschließende Eisendisulfid-Fällung im Zeitraum von ca. 20 Wochen erreicht. Das Verfahrensprinzip wurde zum Patent angemeldet.

Das 'scale-up' wurde anschließend in einer 6x-Enclosure-Anlage im Freilandversuch den natürlichen Wetter- und Umfeldbedingungen weiter angenähert. Die Stoffzugabe im Freilandversuch der *Klein-Enclosures* (24m³) wurde minimal gehalten, um den Fortgang und das Ausmaß der Folgereaktionen genau erfassen zu können. Es zeigte sich eine starke Zunahme der biologischen Reduktionsprozesse und Alkalinitätssteigerung im Sediment. In der bisherigen Laufzeit der Freilandversuche wurde eine Neutralisierung der Wassersäule noch nicht erreicht. Die Ergebnisse der Enclosureuntersuchungen und auch der Bakterienisolierungen haben gezeigt, daß die Milieubedingungen am Mikrostandort der Bakterien von entscheidender Bedeutung für deren Aktivität sind. Zur Charakterisierung von Mikrohabitaten und zur Quantifizierung von Umsatzraten wurde die nötige Meßtechnik (Mikrosensoren) eingerichtet und getestet.

Im Rahmen des HGF-Projektes und in Zusammenarbeit mit GKSS wurden die Versuche im Sommer/Herbst 1999 in zwei Varianten weitergeführt: (1.) Ergänzung von laufenden Enclosure-Ansätzen durch De-Oxygenierung der Wassersäule mittels

Ausblasen mit N_2 und (2.) Einbau/Betrieb eines strohgefüllten, 6m-langen vertikalen Reaktorrohres (\varnothing : 30cm) mit solarbetriebener Wasserumwälzung. Im (1.) "Passiv-Ansatz" wurde Anaerobie und eine deutliche Senkung des Redoxpotentials im gesamten Enclosure-Volumen erreicht, die Reaktionen schritten im Beobachtungszeitraum jedoch nicht bis zur Stufe der Sulfatreduktion fort. Der Versuch zeigt, daß allein ein anoxischer Wasserkörper (d.h. Hypolimnion) nicht ausreicht, um den im Sediment deutlichen Neutralisierungseffekt schnell in die Wassersäule zu übertragen. Als Ursache wird eine zu geringe Substratdosierung angenommen. Im (2.) "Aktivan-satz" ging die Reaktion weiter bis zur Eisen- und Sulfatreduktion und H_2S -Bildung. Die Reaktionen führten jedoch durch H_2S -Rückoxidation im oberen Teil der Wassersäule zum elementaren Schwefel ("Schwefelmilch"). Als Ursache wird ein für die angestrebte Eisenmonosulfid-Fällung zu niedrig bleibender pH-Wert wegen zu hoher Wasseraustauschrate im Reaktorrohr angenommen. Abgeleitet aus Versuchsergebnissen mit geschlossenen Reaktoren wurde der offene *in situ*-Reaktor mit ca. 20 Stunden Austauschzeit des Reaktorvolumens betrieben. Die sich dabei ergebenden typischen Anströmgeschwindigkeiten der mit Biofilm assoziierten Bakterien von ca. 100x Zelldurchmesser pro Sekunde waren hoch und verhinderten wahrscheinlich eine hinreichende Ausbildung der notwendigen pH-Mikrozonierungen im strohgefüllten Reaktorbett. Im geplanten Folgeversuch soll eine um ein bis zwei Größenordnungen verringerte Wasserumwälzung (>1 Woche Volumenaustauschzeit und Anströmgeschwindigkeiten von ca. 1x Zelldurchmesser pro Sekunde) eingesetzt werden. Das bei diesen Versuchen mit dem steuerbaren "Aktivreaktor" deutlich werdende Problem der zu optimierenden Durchflußgeschwindigkeit soll im halbtechnischen Maßstab mit unterschiedlichen Durchsatzraten und Substratdosierungsraten untersucht werden.

Technische Verfahrensentwicklung und großmaßstäbliche Versuche

Für den Maßstab der ca. 5000 m³ fassenden *Groß-Enclosures* und des ganzen Sees oder von See-Teilbecken waren technische und logistische Probleme zu lösen, die die von GKSS eingebrachte Ingenieurkompetenz erfordern.

In einer Vorstudie wurden die biologischen, technischen und logistischen Rahmenbedingungen dieses Verfahrens zur Sanierung schwefelsaurer Restseen aus technologischer Sicht analysiert. Es wurden zunächst die Rahmenbedingungen für die Auslegung und den Betrieb der *Groß-Enclosures* definiert. Ein Enclosure mit 10m Durchmesser wurde technisch geplant und bereits hergestellt. Er soll Ende 1999 bis Anfang 2000 in den See eingesetzt werden. Der Vorgang der Einbringung, die Verankerung und die Betriebsweise sind bereits Gegenstand des beim Brandenburgischen Oberbergamt im Bearbeitungsverfahren befindlichen Sonderbetriebsplans für Restloch 111, auf dessen Grundlage die weiteren Arbeiten erst möglich werden. Die Ausarbeitung der die Forschungs- und Betriebsaktivitäten beschreibenden Anteile des Sonderbetriebsplans, der von der LMBV/Länderbereich Brandenburg federführend erarbeitet und in das Genehmigungsverfahren eingebracht werden mußte, war ein wesentlicher Bestandteil der technisch-logistischen Arbeiten 1999.

Kurzfristig wurde ein Plan für den Einbau/Betrieb eines vertikalen Reaktorrohres mit solarbetriebener Wasserrumwälzung in einen der bestehenden *Klein-Enclosures* realisiert. Der Enclosure wurde mit dieser Ausstattung von einem "Passiv-Reaktor" zu einem steuerbaren "Aktiv-Reaktor" weiterentwickelt. Der erste Experimentaleinsatz und vorläufige Ergebnisse sind oben beschrieben.

TP1 Erfolgskontrolle zu Meilenstein-Vorgaben

Das Arbeitsprogramm gliederte sich in drei Abschnitte, die objekt- und methodenbezogen getrennt behandelt werden: (1.) Die landseitigen Untersuchungen des hydrologischen Umfeldes, (2.) die mikrobiologischen Laboruntersuchungen und (3.) die Untersuchungen des Restsees selbst und die Freilandexperimente mit Enclosures.

(1.) Untersuchungen des hydrologischen Umfeldes und Analyse der Sulfatquellen (FZK Technische Mineralogie, UFZ-Hydrogeologie)

Bei der Erfassung der hydrogeologisch-hydrodynamischen und geochemischen Ausgangssituation wurden die Meilensteinvorgaben für 1999, z.T. auch schon für Anfang 2000, erreicht (Untersuchung des Grundwasserfeldes, Abstimmung der Probenahmen wegen der Hydrochemie des Restsees und der Koordination der Proben-

behandlung wegen der Festphasenanalytik). Die geplanten Recherchen bei LMBV und Forstverwaltung wegen der geologischen Situation wurden im wesentlichen erfolgreich durchgeführt.

Zur Auswahl der spezifischen Schwefel-Ausgangsverteilung am Modellstandort wurden die notwendigen Sedimentkerne und Kippenmaterial gewonnen und die Abstimmung bezüglich vorhandener Schwefelphasen durchgeführt. Die Isotopensignaturen von Grund- und Seewasser sind ermittelt worden, die Kinetik der Schwefelfreisetzung konnte in ersten Elutionsversuchen erfaßt werden. Anhand der Isotopensignaturen von Grund- und Seewasser konnten die mittlere Verdunstungsrate des Restloches und die mit dem Grundwasserstrom verbundene Sulfatfracht bestimmt werden. Drei neue Grundwassermeßstellen wurden errichtet.

Die für Sulfatbindung und -freisetzung wesentlichen Minerale des Kippenmaterials, der anstehenden tertiären Sedimente und der Seesedimente wurden bestimmt. Damit konnte die Identifizierung von Mineralneubildungen als Sulfatquellen und die Nennung ihrer möglichen Mineralreaktionen bei Milieuänderung als Grundlage für entsprechende Modellierungen weitgehend abgeschlossen werden. Mit der Synthese der in den Felduntersuchungen nachgewiesenen Sulfate für die Untersuchungen zur Ermittlung ihrer Hydrolysekinetik ist bereits begonnen worden.

(2.) Mikrobiologische Untersuchungen (UFZ-Gewässerforschung. & Umweltmikrobiologie, GBF)

Die taxonomische, physiologische und molekularbiologische Charakterisierung der Bakteriengemeinschaft am Standort wurde im geplanten Zeitrahmen durchgeführt und wird fortgesetzt. Im einzelnen umfaßt dies die Lipidanalysen relevanter Bakteriengattungen, Untersuchungen zur Anpassung der 5S rRNA Fingerprinttechnik auf Biofilme, die Bestimmung der taxonomische Diversität der bakteriellen Lebensgemeinschaft während des Ausgangszustandes im Bergbaurestsee unter Einbeziehung nicht kultivierter Mikroorganismen, die Bestimmung mikrobiologischer Basisparameter und der Abundanz von Bakterien des Fe- und S-Kreislaufs, die Isolation und Selektion metall- und säuretoleranter Sulfat- und Eisenreduzierer, sowie die taxo-

nomische Einordnung von Isolaten nach biochemisch/physiologischen Methoden und auf der 16S rRNA Ebene.

Die entnommenen mikrobiologischen Proben werden im Labor als Gemeinschaften charakterisiert und/oder in Isolatkulturen unabhängig vom Freilandprogramm weiter bearbeitet. Die mikrobiologischen Untersuchungen am See bzw. in den Enclosures betreffen Inkubationsversuche zur Bestimmung der Umsatzraten, bzw. –potentiale (die Sulfatreduktion wird zwar im Labor gemessen, ist aber eine *in situ*-Rate). Die Bestimmung der Bakterienabundanz und des Lipidphosphates wurden im Rahmen mindestens zweitägiger Kampagnen mehrere Male im Jahr durchgeführt und werden fortgesetzt.

(3.) Seeuntersuchungen und technische Umsetzungen

Die Seeuntersuchungen wurden über das im HGF-Antrag beschriebene Ausmaß hinaus weiter geführt. Insbesondere die limnophysikalischen Messungen im See und die Modellierung der Strömungs- und Wasseraustauschvorgänge haben den Charakter einer Grundlagenuntersuchung, die als Wissensbasis für den Maßstab der späteren Ganz-See-Experimente und allgemein für das Verständnis der physikalischen Vorgänge in Seen mit komplexer Beckenstruktur wichtig ist (weitere Anwendungsbeispiele: Goitschensee und Geiseltalsee).

Die Messungen mit automatischen Sonden (Jojo-Prinzip) haben Details der Algen- und pH-Entwicklung offengelegt, die als eigene Phänomene weiter verfolgt werden und den Rahmen des HGF-Projektes überschreiten. Ähnlich zu bewerten sind die ausführlichen Untersuchungsergebnisse zur Verteilung der Schwermetalle in Wasser und Sediment und ihre Anreicherung in definierten Tiefenbereichen des Sees.

Die Versuche mit *Klein-Enclosures* bilden die Anfangsphase des HGF-Projektes. Die oben beschriebenen Versuchsvarianten und die dabei erzielten Ergebnisse sind unmittelbar aus vorherigen Versuchsergebnissen abgeleitet worden und waren in der Versuchplanung des HGF-Antrags so nicht vorgesehen. Die wichtigen Ergebnisse dieser Versuche stellen einen gewissen Ausgleich dar für die Verzögerungen der Arbeiten mit den *Groß-Enclosures*, deren Beginn von der derzeit noch ausstehenden

Genehmigung des beantragten LMBV-Sonderbetriebsplans für das Restloch 111 abhängt.

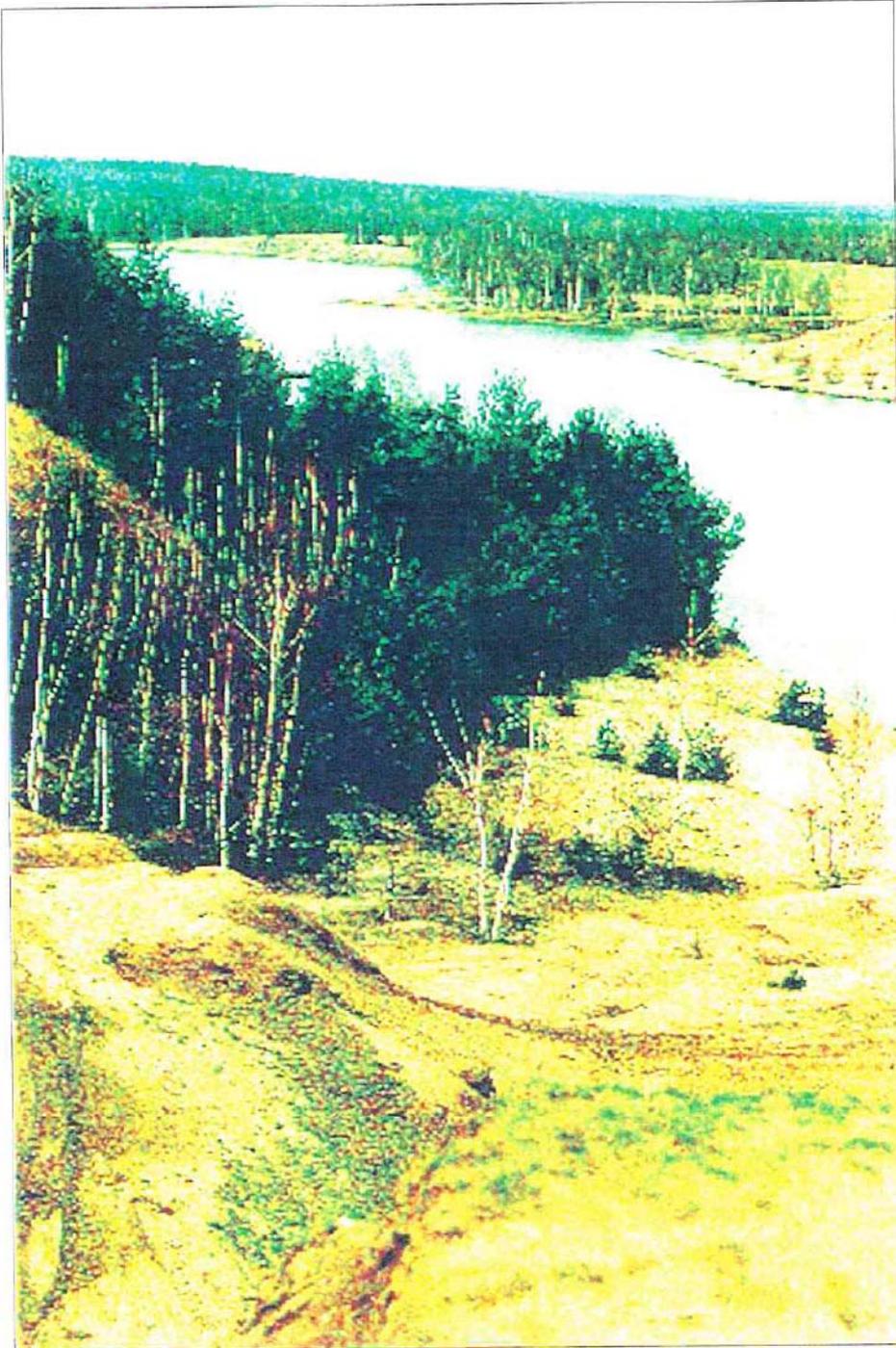
Die Erarbeitung der technischen Konzeption der *Groß-Enclosures* ist abgeschlossen und liegt im Zeitplan. Die technischen Rahmen- und Arbeitsbedingungen wurden definiert und sind Bestandteil des o.g. Sonderbetriebsplans für RL 111. Die geplanten Vorversuche wurden z.T. im Labormaßstab durchgeführt, z.T. – anders als zunächst geplant – im Maßstab der *2m-Klein-Enclosures* begonnen (s.o.). Die Versuche zur Methodik der Einbringung und Handhabung der *Groß-Enclosures* stehen noch aus und können erst nach Vorliegen der amtlichen Genehmigung – voraussichtlich nicht vor Dez. '99/Jan. 2000 - begonnen werden. Dies soll im ersten Schritt mit dem schon beschafften 10m-Enclosure erfolgen, bevor im Folgeschritt der erste 30m-Enclosure zum Einsatz kommt.

Zwischenbericht zum HGF-Strategiefondsprojekt

**Systemintegrierte Umweltbiotechnologie zur Sanierung von organisch
und anorganisch belasteten Grund- und Oberflächenwässern**

L. Meierling¹⁾, N. Schmidt¹⁾ (Herausgeber)

W. Babel¹⁾, W. Geller¹⁾, M. Höfle²⁾, U. Stottmeister¹⁾



1) UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

2) Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH, Braunschweig