

DISS. ETH No. 22931

REDOX PROPERTIES AND DYNAMICS OF
NATURAL ORGANIC MATTER AS ASSESSED BY
MEDIATED ELECTROCHEMICAL ANALYSIS

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

Presented by

Laura Klüpfel

MSc Environmental Sciences, ETH Zurich

born 06 October 1985

citizen of Germany

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Kristopher McNeill, examiner
Dr. Michael Sander, co-examiner
Prof. Dr. Thorsten Dittmar, co-examiner

2015

Summary

Natural organic matter (NOM), including dissolved and particulate OM (DOM and POM), is a heterogeneous mixture of organic molecules with varying chemical compositions and molecular sizes. NOM contains both reducible (i.e., electron accepting) and oxidizable (i.e., electron donating) moieties. Electron transfer to and from NOM plays an important role in many redox reactions in natural and engineered systems. As a consequence, the redox properties of NOM have received considerable research attention over the past years. Yet, several fundamental aspects of NOM redox properties and dynamics remained poorly investigated and understood. Advances towards understanding NOM redox reactions have long been constrained by the lack of suitable analytical methods to quantify the redox states of NOM. For instance, past studies have primarily worked with model DOM isolates, while the redox properties of natural DOM and POM materials remained poorly investigated. Furthermore, little information was available on changes in NOM redox states and the reversibility of these changes during dynamic processes in which electrons are transferred to and from the NOM. The recent development of mediated electrochemical analysis, an analytical approach to directly quantify the redox states of NOM, made it now possible to address these aspects. In addition, mediated electrochemical analysis had the potential to quantify the redox dynamics in complex natural samples that contain along with NOM also other redox active species and geochemical phases.

The overall goal of this thesis was to advance our understanding of the redox properties and redox dynamics of different NOM specimen in the context of biogeochemically important redox processes using mediated electrochemical analysis. This overall goal was reached in four thesis subprojects that are summarized below.

In a first subproject of this thesis (Chapter 2), the redox properties of plant-derived biochars produced under different conditions and from different feedstock were investigated using mediated electrochemical analysis. While biochars are engineered and hence are not classified as natural organic matter, they were included in this work because they are commonly used as soil and sediment amendments. They are also likely to be representative for some naturally formed pyrogenic carbonaceous materials in the environment. All biochars analyzed in this work were found to accept and donate electrons. The capacities were highest in biochars produced at intermediate to high temperatures (400-500 °C). The electron accepting groups in the biochars were chemically reducible and this reduction was found to be partially to completely reversible upon exposure of the reduced biochars to air. The electron accepting and donating capacities were consistent with quinones as predominant reducible moieties in these chars and phenolic moieties as electron donating moieties, as supported by spectroscopic and elemental composition data. Based on the presented work, we postulate that biochars may participate in redox reactions in soils and sediments. Mediated electrochemical analysis is a suitable analytical approach for future studies to characterize the redox properties of biochars, a key step to assess their roles in electron transfer reactions.

The second subproject of this thesis work (Chapter 3) was devoted to elucidating the reversibility of electron transfer to and from NOM over successive cycles of microbial reduction and subsequent O₂ re-oxidation using mediated electrochemical analysis. This work was conducted with four model DOM isolates of terrestrial and aquatic origin and with the facultative anaerobe bacterium *Shewanella oneidensis* MR-1. This organism is capable of using DOM as terminal electron acceptor in anaerobic respiration with lactate as electron donor. Microbial reduction of the DOMs under anoxic conditions was evidenced from decreasing capacities of the

DOMs to accept electrons and, at the same time, increasing capacities to donate electrons. These capacity changes were reversed upon exposure of the reduced DOM to air, consistent with re-oxidation of DOM by O₂. More importantly, the total capacities of the DOMs to accept and donate electrons remained constant during consecutive cycles of microbial reduction and re-oxidation. Constant total capacities of the DOMs implied that electron transfer to the DOMs during microbial reduction was fully reversible in the presence of O₂, consistent with quinone/hydroquinone couples as major redox-active moieties in the DOM. Using mediated potentiometric analysis we were further able to show that *Shewanella oneidensis* MR-1 reduced all DOMs and several low molecular weight model compounds with varying standard reduction potentials to similar reduction potentials, E_{hv} in the presence of excess lactate. This finding suggested that the extents of microbial DOM reduction were controlled by system thermodynamics. The implications of fully reversible and sustainable electron transfer to and from DOM for redox processes in temporarily anoxic systems was highlighted by estimating the amounts of methane that this process could suppress in northern peatlands.

The third subproject presented in Chapter 4 aimed at characterizing the redox properties of natural POM and DOM samples collected from three northern peatlands. This was the first work to apply mediated electrochemical analysis to natural samples, including POM. The analysis revealed that all samples contained higher capacities to donate than to accept electrons, consistent with a larger abundance of oxidizable phenol than reducible quinone moieties in peat OM. Increasing electron donating capacities of the POM with increasing sampling depths were ascribed to a relative enrichment of phenolic moieties in the peat POM during the decomposition of peat OM, as supported by elemental composition analysis and spectroscopic characterization of the POM. In contrast to the donating capacities, the electron ac-

cepting capacities of the POM showed little variations with depth. The electron accepting and donating capacities of the peat DOM showed no systematic trend with depth. A comparison of the redox active moieties in the POM and DOM pools showed that the POM contributed the major part of redox active moieties in the peat. POM may therefore play a more important role in redox reactions in peatlands than previously recognized. The presented work highlights the need to assess the redox dynamics of POM in future studies.

The fourth and final subproject aimed at extending the work beyond the analysis of isolated OM specimen. More specifically, the goal of this subproject was to demonstrate the applicability of mediated electrochemical analysis to quantify the redox properties and dynamics of complex environmental samples that contain different redox active species and phases. In a first step, a modified electrochemical cell setup -required for the analysis of natural samples- was validated and shown to be highly sensitive. In a second step, the electroactivity of a diverse set of dissolved inorganic species and of iron and manganese oxides was systematically assessed. This step was required to identify which species that may be present in natural samples are expected to be electroactive in the electrochemical analysis. Finally, sediment samples from two Swiss lakes that contained both organic and mineral redox active phases were analyzed. The capacities of the sediment samples to accept and donate electrons could be ascribed to the contents of iron, sulfur and organic matter in the sediments. The oxidation of selected sediment subsamples upon exposure to O₂ and the subsequent reduction of these samples during incubation under anoxic conditions was successfully monitored by mediated electrochemical analysis. This work demonstrated that the electrochemical approach can be used to obtain an integrative measure for changes in the redox states in natural samples containing various redox active species.

Overall, the results from the four subprojects largely contribute to a more holistic understanding of the redox properties and dynamics of NOM, including both dissolved and particulate organic matter. Furthermore, this work demonstrates the broad applicability of mediated electrochemical analysis as an analytical tool to quantify and monitor changes in the redox states of organic and mineral geochemical phases in complex natural samples.

Zusammenfassung

Natürliche organische Substanzen (NOM), darunter gelöste und partikuläre organische Substanzen (DOM und POM), bestehen aus einem heterogenen Gemisch unterschiedlich grosser organischer Moleküle in verschiedenster chemischer Zusammensetzung. NOM enthält sowohl reduzierbare (d.h. Elektronen akzeptierende) also auch oxidierbare (d.h. Elektronen donierende) funktionelle Gruppen. Der Elektronentransfer von und zu NOM spielt eine wichtige Rolle in vielen Redox-Reaktionen in natürlichen und technischen Systemen und stand daher in den letzten Jahren im Fokus vieler Forschungsarbeiten. Dennoch blieben einige grundlegende Aspekte der Redox-Eigenschaften und Redox-Dynamiken von NOM schlecht verstanden. Fortschritte auf diesem Gebiet wurden lange durch das Fehlen geeigneter analytischer Messmethoden für die Redox-Eigenschaften von NOM verhindert. Zum Beispiel haben frühere Studien in erster Linie mit DOM-Extrakten gearbeitet, während die Redox-Eigenschaften von natürlichem DOM und POM weitgehend unerforscht blieben. Auch ist bisher nur wenig erforscht, wie sich die Redoxzustände verändern und ob die Veränderungen in dynamischen Prozessen reversibel sind. Eine kürzlich entwickelte Methode, die mediierte elektrochemische Analyse, ermöglicht nun die Erforschung dieser offenen Aspekte. Darüber hinaus hat die mediierte elektrochemische Analyse auch das Potential, Redox-Dynamiken in komplexen natürlichen Proben zu quantifizieren, in denen neben NOM auch andere redox-aktive Spezies und geochemische Phasen enthalten sind.

Das Hauptziel dieser Arbeit war es, unser Verständnis der Redox-Eigenschaften und Redox-Dynamiken verschiedenster NOM-Proben, die für biogeochemische Redox-Prozesse von Bedeutung sind, mittels mediiertes elektrochemischer Analyse zu erweitern. Dieses Gesamtziel erreichten wir in vier Teilprojekten, die im

Folgenden aufgeführt werden.

In einem ersten Teilprojekt dieser Arbeit (Kapitel 2) wurden die Redox- Eigenschaften verschiedener Biokohlen mittels medierter elektrochemischer Analyse untersucht. Diese Biokohlen wurden aus Pflanzenmaterial unter verschiedenen Bedingungen und aus unterschiedlichen Ausgangsmaterialien hergestellt. Weil Biokohlen künstlich hergestellt werden, fallen sie nicht in die Klassifizierung von natürlichen organischen Substanzen, sie wurden jedoch im Rahmen dieser Arbeit untersucht, da sie Böden und Sedimenten häufig zugegeben werden. Ausserdem sind sie höchstwahrscheinlich repräsentativ für einige natürlich vorkommende, kohlenstoffhaltige Materialien pyrogenen Ursprungs. Alle untersuchten Biokohlen konnten Elektronen aufnehmen und abgeben. Die höchsten Kapazitäten fanden sich für Biokohlen, die bei mittleren bis hohen Temperaturen (400-500 °C) hergestellt wurden. Die Elektronen-akzeptierenden Gruppen in den Biokohlen konnten chemisch reduziert werden und diese Reduktion war teilweise oder vollständig reversibel. In Kombination mit spektroskopischen Messungen und Daten zur elementaren Zusammensetzung deuten die gemessenen Kapazitäten zur Elektronenaufnahme und -abgabe darauf hin, dass Quinone die wichtigsten reduzierbaren Gruppen und Phenole die wichtigsten oxidierbaren Gruppen sind. Auf der Grundlage dieser Arbeit postulieren wir, dass Biokohlen in Redox-Reaktionen in Böden und Sedimenten teilnehmen. Medierte elektrochemische Analyse eignet sich, um in zukünftigen Studien die Redox-Eigenschaften von Biokohlen zu charakterisieren und ihre Rolle in Redox-Reaktionen besser verstehen zu können.

Das zweite Teilprojekt dieser Arbeit (Kapitel 3) untersucht die Reversibilität des Elektronentransfers von und zu NOM mittels medierter elektrochemischer Analyse. Dafür wurden aufeinanderfolgende Zyklen von mikrobieller Reduktion und anschliessender Re-oxidation durchgeführt. Für diese Studie verwendeten wir

als Modell vier DOM-Extrakte terrestrischen und aquatischen Ursprungs, sowie das fakultativ anaerobe Bakterium *Shewanella oneidensis* MR-1. Dieses Bakterium ist in der Lage, DOM als terminalen Elektronenakzeptor in der anaeroben Atmung zu verwenden. Laktat dient dabei als Elektronendonator. Die mikrobielle Reduktion von DOM unter anoxischen Bedingungen zeigte sich an abnehmenden Elektronenakzeptor-Kapazitäten und gleichzeitig zunehmenden Elektronendonator-Kapazitäten. Bei Kontakt der reduzierten DOM mit Luft wurden diese Veränderungen der Kapazitäten umgekehrt, was auf eine Re-oxidation durch Luftsauerstoff schliessen lässt. Von zentraler Bedeutung ist, dass die Gesamtkapazitäten der verschiedenen DOM, Elektronen zu akzeptieren und zu donieren, während der aufeinanderfolgenden Zyklen von mikrobieller Reduktion und Re-oxidation konstant blieb. Das zeigt, dass der Elektronentransfer zu den verschiedenen DOM während der mikrobiellen Reduktion und Re-oxidation durch Sauerstoff vollständig reversibel ist. Diese Beobachtung stimmt damit überein, dass Quinone/Hydroquinone die prädominanten redox-aktiven Gruppen in DOM darstellen. Weiterhin konnten wir mittels medierter potentiometrischer Analyse zeigen, dass *Shewanella oneidensis* MR-1 alle DOM, sowie mehrere niedermolekulare Modellverbindungen mit unterschiedlichen Standard-Reduktionspotentialen, auf ähnliche Reduktionspotentiale, $E_{h'}$, reduziert. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass das Ausmass mikrobieller DOM-Reduktion durch die Thermodynamik des Systems gesteuert wird. Ein vollständig reversibler und nachhaltiger Elektronentransfer von und zu DOM hat wichtige Auswirkungen auf Redox-Prozesse in zeitweise anoxischen natürlichen Systemen. Dies wurde verdeutlicht durch eine Abschätzung der Menge an Methan, deren Freisetzung durch diesen Prozess unterdrückt werden kann.

Ziel des dritten Teilprojekts in Kapitel 4 war eine Charakterisierung der Redox-

Eigenschaften von natürlichen POM- und DOM-Proben aus drei nördlichen Mooren. In dieser Arbeit wurden mittels mediierter elektrochemischer Analyse erstmals auch natürliche Proben, einschliesslich POM, untersucht. Die Analyse zeigte bei allen Proben höhere Elektronendonator- als Elektronenakzeptor-Kapazitäten. Dieser Befund deckt sich mit dem grösseren Vorkommen von oxidierbaren Phenolen als reduzierbaren Quinonen in NOM aus Mooren. Die mit der Tiefe ansteigenden Elektronendonator-Kapazitäten in POM konnten einer relativen Anreicherung von phenolischen Gruppen während der Zersetzung von Moor POM zugeschrieben werden. Spektroskopische Charakterisierung und Analyse der Elementzusammensetzung untermauerten dies. Im Gegensatz zu den Elektronendonator- Kapazitäten zeigten die Elektronenakzeptor- Kapazitäten nur geringe Veränderungen mit zunehmender Tiefe. Die Elektronendonator- und Elektronenakzeptor- Kapazitäten von DOM aus Mooren zeigten keine systematischen Trends mit zunehmender Tiefe. Ein Vergleich von POM und DOM aus Mooren zeigte, dass der Hauptteil redoxaktiver Gruppen in Form von POM vorliegt. POM kann daher in Redox-Reaktionen in Mooren eine wichtigere Rolle spielen, als bisher angenommen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstreichen die Notwendigkeit, die Redox-Dynamiken von POM in zukünftigen Studien eingehender zu untersuchen.

Der vierte und abschliessende Teil hatte das Ziel, über die Analyse von isolierten NOM Proben hinauszugehen. Genauer gesagt war es das Ziel zu zeigen, dass medierte elektrochemische Analyse angewendet werden kann um die Redox-Eigenschaften und -dynamiken von komplexen Umweltproben, die unterschiedliche redox-aktive Spezies und Phasen enthalten, zu quantifizieren. Ein erster Schritt bestand darin, ein modifiziertes Setup der elektrochemischen Zellen - nötig für die Analyse von Umweltproben - zu validieren, was eine sehr hohe Sensitivität desselbigen zeigte. In einem zweiten Schritt wurde die Elektroaktivität von einer

Reihe von gelösten anorganischen Spezies und von Eisen- und Manganoxiden systematisch analysiert. Dieser Schritt war erforderlich, um festzustellen, welche Spezies, die in natürlichen Proben vorkommen können, in der elektrochemischen Analyse aktiv sind. Abschliessend wurden Sedimentproben aus zwei Schweizer Seen analysiert, die sowohl organische als auch mineralische redox-aktive Phasen enthielten. Die Elektronendonator- und -akzeptor-Kapazitäten der Sedimentproben konnten den Gehalten von Eisen, Schwefel und organischer Substanz in den Sedimenten zugeschrieben werden. Die Oxidation von ausgewählten Sedimentproben durch O₂ und die nachfolgende Reduktion dieser Proben während der Inkubation unter anoxischen Bedingungen konnte mittels mediiertes elektrochemischer Analyse erfolgreich verfolgt werden. Dieser Teil der Arbeit zeigte, dass die elektrochemische Methode angewendet werden kann, um integrativ Veränderungen in den Redoxzuständen von Umweltproben mit verschiedenen redox-activen Spezies zu erfassen.

Insgesamt tragen die Ergebnisse aus den vier Teilprojekten zu einem besseren und allumfassenderen Verständnis der Redox-Eigenschaften und -Dynamiken von NOM bei, einschliesslich der Redox-Eigenschaften von gelöster und organischer Substanz. Darüber hinaus zeigt diese Arbeit, in welchem grossen Anwendungsbereich mediierte elektrochemische Analyse als analytisches Werkzeug verwendet werden kann, um Veränderungen in Redoxzuständen von organischen und mineralischen Phasen in komplexen natürlichen Proben zu verfolgen und zu quantifizieren.