

Diss. ETH No. 12053

# **Cobalamin-Mediated Reductive Dehalogenation of Chlorinated Ethenes**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
ZURICH  
for the degree of  
DOCTOR OF NATURAL SCIENCES

presented by  
GUY GLOD  
Dipl. Natw. ETH  
born October 20, 1968  
citizen of Luxemburg

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. René Schwarzenbach, examiner  
Dr. Werner Angst, co-examiner  
Dr. Christof Holliger, co-examiner  
Prof. Dr. Bernhard Kräutler, co-examiner

Kastanienbaum 1997

## Summary

In environmental sciences, biotic and abiotic reductive transformation reactions of organic pollutants are of major interest, mainly for two reasons. First, in anaerobic environments, such processes can lead to products of great (eco)toxicological concern. Second, such reactions may be used in remediation approaches to remove recalcitrant compounds from contaminated soils and aquifers.

An important class of ground water pollutants are the chlorinated solvents. Among them tetrachloroethene (PCE) and trichloroethene (TCE) are most prominent, because they are used in large amounts for various purposes including dry cleaning and metal degreasing. In previous studies it could be shown that these compounds can be reduced microbially and that cobalamin is often involved in these reactions. However, rather little is still known about the mechanism(s) and rate-limiting step(s) of the reaction between cobalamin and its derivatives with polyhalogenated compounds, particularly chlorinated ethenes.

In this work a model system consisting of a homogeneous aqueous solution with cobalamin as electron transfer mediator and titanium(III) citrate or titanium(III)-NTA as bulk reductant was used to study the reductive dehalogenation of chlorinated ethenes (CEs) at pH 7, 8 and 9. The major objectives were to generate basic informations that help to interpret and understand the microbial transformations of CE's and to provide a basis for the use of corrinoids in remediation techniques.

In the first part of the work it is shown that cob(I)alamin, cob(I)inamide and cob(I)amide are effective electron transfer mediators for the reduction of tetrachloroethene and trichloroethene. For a given chlorinated ethene, the reaction rate varied only slightly with pH and was about 50 times faster for PCE than for TCE. The first and rate-limiting step of the reduction of PCE and TCE is postulated to be a dissociative one-electron transfer yielding the corresponding vinyl radicals. The elimination of a chloride

radical from the 1,1-dichlorovinyl radical yielding chloroacetylene and subsequently acetylene is proposed to account for the direct formation of acetylene out of TCE. This is the first time that evidence was obtained for such a pathway of a direct reduction of TCE to acetylene and subsequently ethene. At more positive redox potentials, however, the regeneration of the reactive superreduced corrinoid-species may become rate-limiting due to the intermediate formation of addition products.

In the second part, the effect of redox-potential and pH on the cobalamin-mediated reduction of *cis*-dichloroethene (*cis*-DCE), *trans*-dichloroethene (*trans*-DCE), 1,1-dichloroethene (1,1-DCE) and vinyl chloride (VC) was investigated. Cob(I)alamin reduced *cis*- and *trans*-DCE, 1,1-DCE and VC in a pH-dependent reaction to ethane and ethene. The initial and rate-limiting step is postulated to be the addition of cob(I)alamin to the CEs with simultaneous protonation. At high pH, however, 1,1-DCE was found to react also via an electron transfer mechanism. 1,1-DCE reacted about 30, 600, and 3000 times faster than VC, *trans*-DCE and *cis*-DCE, respectively. At more positive redox potentials, the cleavage of the addition products may become very slow and block the regeneration of cob(I)alamin. The stable intermediates that could be isolated were identified by UV/vis-, MS- and <sup>1</sup>H-NMR-spectroscopy as ethyl- and vinylcobalamin.

In conclusion, this is the first study to demonstrate that *cis*- and *trans*-DCE are the most unreactive compounds during the complete cob(I)alamin-mediated reduction of PCE and TCE in the pH-range studied. They will therefore accumulate, which is consistent with the results of other studies. At low pH and redox-potential cob(I)alamin and other corrinoids are effective electron-transfer mediators for the complete reduction of PCE and TCE without accumulation of VC. Their application in engineered treatment systems should be further investigated.

## Zusammenfassung

In den Umweltwissenschaften sind biotische und abiotische Reduktionen von organischen Schadstoffen vor allem aus zwei Gründen von großer Bedeutung. Einerseits können solche Reaktionen zu (öko)toxikologisch bedenklichen Produkten führen, andererseits besteht aber auch die Möglichkeit solche Prozesse für die Sanierung von kontaminierten Böden und Grundwassersystemen einzusetzen.

Chlorierte Lösungsmittel sind eine häufig nachgewiesene Klasse von Schadstoffen im Grundwasser. Unter ihnen sind Tetrachlorethen (PCE) und Trichlorethen (TCE) besonders hervorzuheben, da sie in großen Mengen unter anderem für die Metallentfettung und die chemische Reinigung eingesetzt werden. Vorhergehende Studien zeigten, daß diese Substanzen mikrobiell reduziert werden können, wobei Cobalamin in vielen Fällen an diesen Reduktionen beteiligt ist. Es ist jedoch erstaunlich wenig bekannt über die Mechanismen und geschwindigkeitslimitierenden Schritte der Reaktionen zwischen Cobalamin und seinen Derivaten mit polyhalogenierten Substanzen, vor allem mit chlorierten Ethenen.

In dieser Arbeit wurde die reduktive Dehalogenierung von chlorierten Ethenen in einem Modellsystem untersucht, das aus einer homogenen wässrigen Lösung mit Cobalamin als Elektronentransfermediator und Ti(III)-Citrat oder Ti(III)-NTA als Reduktionsmittel bestand. Die Hauptziele dieser Arbeit bestanden darin, Grundlagen zu erarbeiten um die mikrobiellen Transformationen chlorierter Ethene besser zu verstehen, und Voraussetzungen zu schaffen für den Einsatz von Corrinoiden in Boden- und Grundwassersanierungen.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde gezeigt, daß Cob(I)alamin, Cob(I)inamid und Cob(I)amid wirksame Elektronentransfermediatoren für die Reduktion von TCE und PCE sind. Die Geschwindigkeit der reduktiven Dechlorierung der beiden Verbindungen wurde nur wenig durch den pH-Wert beeinflusst und war etwa 50 mal grösser für PCE als für TCE. Als

erster und geschwindigkeitsbestimmender Schritt der Reduktion von PCE und TCE wurde ein dissoziativer Elektronentransfer postuliert, der zur Bildung der entsprechenden Vinylradikale führt. Für die direkte Bildung von Acetylen aus TCE wurde die Elimination eines Chlorradikals vom 1,1-Dichlorvinylradikal zu Chloracetylen mit anschließender Reduktion zu Acetylen vorgeschlagen. Erstmals wurden Hinweise erarbeitet, die für diesen Reaktionsweg der direkten Reduktion von TCE zu Acetylen und anschließender Reduktion zu Ethen sprechen. Ein höheres Redoxpotential kann jedoch dazu führen, daß die Regeneration der reaktiven Cob(I)alamin-Spezies aus intermediär gebildeten Additionsprodukten geschwindigkeitslimitierend wird.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde der Einfluß des Redoxpotentials und des pH-Wertes auf die Cobalamin-vermittelte Reduktion von *cis*-Dichlorethen (*cis*-DCE), *trans*-Dichlorethen (*trans*-DCE), 1,1-Dichlorethen (1,1-DCE) und Vinylchlorid (VC) untersucht. Cob(I)alamin reduzierte *cis*- und *trans*-DCE, 1,1-DCE und VC in einer pH-abhängigen Reduktion zu Ethan und Ethen. Als erster und geschwindigkeitsbestimmender Schritt wurde die Addition von Cob(I)alamin an die chlorierten Ethene mit gleichzeitiger Protonierung postuliert. Bei hohem pH wurde für 1,1-DCE jedoch ein Elektronentransfermechanismus beobachtet. 1,1-DCE reagierte etwa 30, 600 und 3000 mal schneller als VC, *trans*-DCE und *cis*-DCE. Bei hohen Redoxpotentialen kann die Spaltung von Additionsprodukten sehr langsam werden und die Regeneration von Cob(I)alamin verzögern. Als stabile Zwischenprodukte wurden Ethyl- und Vinylcobalamin isoliert. Die Identifikation dieser Zwischenprodukte wurde mittels UV/vis, MS- und <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie durchgeführt.

In dieser Studie wurde zum ersten Mal gezeigt, daß *cis*- und *trans*-DCE im untersuchten pH-Bereich die unreaktivsten Substanzen der Cob(I)alamin-vermittelten Reduktion von TCE und PCE sind. Dieses Resultat ist in Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen, in welchen die Akkumulation von *cis*- und *trans*-DCE beobachtet wurde. Bei tiefem pH und tiefem Redoxpotential sind Cob(I)alamin und andere Corrinoide wirksame Elektronentransfer-mediatoren für die vollständige Reduktion von PCE und TCE ohne Anhäufung von VC. Der Einsatz von Corrinoiden zu Sanierungszwecken sollte deshalb als vielversprechender Ansatz weiterverfolgt werden.