

MASTER

Forschungsbericht BMBF 02WA9541/2

**'Identifizierung von schwer abbaubaren Reststoffen
(stickstoff- und schwefelhaltigen Verbindungen) bei der
Abwasserbehandlung, einschließlich analytischer
Methodenentwicklung'**

von

Dipl.-Chem. Edda Möhle

Dipl.-Chem. Alexander Huber

Prof. Dr. Jörg W. Metzger

**Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte-
und Abfallwirtschaft der Universität Stuttgart
-Lehrstuhl für Hydrochemie und Hydrobiologie-**

Stuttgart 1999

DISCLAIMER

Portions of this document may be illegible in electronic image products. Images are produced from the best available original document.

'Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 02WA9541/2 gefördert.

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.'

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Zielsetzung der Forschungsarbeit	1
1.2 Aussagekraft von verschiedenen Methoden zur Charakterisierung von organischen Reststoffen bei der Abwasserbehandlung	1
1.3 Schwefel	4
1.3.1 Mikrobielle Umsetzungen von Schwefelverbindungen in Gewässern	5
1.3.2 Umweltrelevante industriell produzierte Schwefelorganika	6
1.3.2.1 Schwefelhaltige Pestizide	6
1.3.2.2 Desinfektions- und Konservierungsmittel	8
1.3.2.3 Tenside	11
1.3.2.4 Sulfonierte Aromaten	13
1.3.2.5 Arylsulfonamide	14
1.3.2.6 Weitere Schwefelverbindungen	15
1.4 Stickstoff	16
1.4.1 Stickstoffhaltige Xenobiotika im kommunalen Abwasser	18
1.4.1.1 Nitroverbindungen	19
1.4.1.2 Amine	20
1.4.1.3 Komplexbildner	20
1.4.1.4 Quartäre Ammoniumverbindungen	21
1.4.1.5 Azofarbstoffe	22
1.4.1.6 Stickstoffhaltige Pflanzenbehandlungs- und Schädlingsbekämpfungsmittel (PBSM)	22
2 Summarische Bestimmung Schwefel	24
2.1 Stand der Technik	24
2.2 Neue Verbrennungstechnik zur Erzielung quantitativer Wiederfindungsraten für den adsorbierten organisch gebundenen Schwefel	25
2.3 Materialien und Methoden	26

2.4 Praktische Durchführung des Gesamtverfahrens	27
2.5 Ergebnisse zum Gruppenparameter AOS	30
2.5.1 Blindwert für die eingesetzte Aktivkohle	30
2.5.2 Verfahrensblindwert	30
2.5.3 Test des Gesamtverfahrens	30
2.5.4 Nachweisgrenze des Verfahrens	31
2.5.5 Überprüfung der quantitativen Verdrängung von Sulfat im Waschschrift	32
2.5.6 Verluste an organischen Schwefelverbindungen durch Gefriertrocknung	32
2.5.7 Optimierung der Anreicherungsbedingungen	33
2.5.8 Fraktionierung des AOS nach der Molekülgröße und Bestimmung der partikulär gebundenen Anteilen	36
2.6 Zusammenfassung	40
3 Summarische Bestimmung Stickstoff	41
3.1 Gesamtstickstoff - Stand der Technik	41
3.1.1 Prinzip des nasschemischen Aufschlusses unter oxidierenden Bedingungen	42
3.1.2 Prinzip des nasschemischen Aufschlusses unter reduzierenden Bedingungen	42
3.1.3 Prinzip der TN_b -Bestimmung nach dem Hochtemperaturaufschluss	42
3.2 Optimierung eines TN_b -Gerätes zum Einspritzen großer Volumina	43
3.2.1 Durchführung	43
3.2.1.1 Phase 1 - Testreihen mit dem Prototyp	43
3.2.1.2 Phase 2 - Kombination eines TOC-Gerätes mit einem Chemolumineszenzdetektor	44
3.2.1.3 Phase 3 - Multi $TN+C$ -Gerät	44
3.2.2 Chemikalien, Geräte und Methoden	45
3.2.2.1 Stammlösungen	46
3.2.2.2 Nitratbestimmung	46
3.2.2.3 Nitritbestimmung	47

3.2.2.4 Ammoniumbestimmung	47
3.3 Ergebnisse - Gesamtstickstoff	47
3.3.1 Ergebnisse zu den Reproduzierbarkeitstests	47
3.3.1.1 Einfluss der Injektion auf die Reproduzierbarkeit der TN_b -Messung	48
3.3.1.2 Einfluss des Sauerstoffdrucks auf die TN_b -Bestimmung	48
3.3.1.3 Einfluss der Temperatur	49
3.3.1.4 Überprüfung des Prototyps mit NO-Prüfgas	49
3.3.1.5 Einfluss unterschiedlicher Trockenmittel auf die TN_b -Bestimmung	50
3.3.2 Ergebnisse zu der Kombination des Chemolumineszenzdetektors mit dem TOC-Gerät	52
3.3.2.1 Wiederfindung für unterschiedliche Stickstoffverbindungen	54
3.3.3 Ergebnisse zu Messungen mit dem Multi TC+N-Gerät	56
3.3.3.1 Wiederfindung für unterschiedliche Stickstoffverbindungen	57
3.3.3.2 Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze des Multi TN+C - Gerätes	58
3.3.3.3 Ringversuch zur Nitratbestimmung	58
3.4 Organischer Stickstoff	59
3.4.1 Zusammensetzung des organischen Stickstoffs im kommunalen Abwasser	59
3.4.2 Relevanz des organischen Stickstoffs	61
3.4.3 Möglichkeiten zur Bestimmung des organischen Stickstoffs	62
3.4.3.1 Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffs (DEV H11/ DIN EN 25 663)	62
3.4.3.2 Differenzmethode zur Berechnung des Organischen Stickstoffs	62
3.4.4 Beurteilung der Methoden zur Bestimmung des organischen Stickstoffs	62
3.5 Modellansatz zur Entwicklung einer 'neuen' Methode zur Bestimmung des Parameters N_{org}	63
3.5.1 Versuchsdurchführung	64
3.6 Ergebnisse - Organischer Stickstoff	65
3.6.1 Entfernung von Nitrat und Nitrit mit Ionenaustauscher	65
3.6.2 Entfernung von Ammonium mit Ionenaustauscher	67
3.6.3 Verhalten von organischen Verbindungen in den Ionenaustauschern	69

3.7 Versuche mit realen Proben und daraus resultierende Schlussfolgerung	73
4 Screening nach unpolaren und semipolaren Substanzen mit Gaschromatographie	74
4.1 Entwicklung eines Screening-Verfahrens	74
4.1.1 Material und Methoden	74
4.1.1.1 Chemikalien und Geräte	74
4.1.1.2 Methylierung mit Diazomethan	77
4.1.1.3 Synthese von N-Phenylsulfonylsarkosin	77
4.1.2 Durchführung	77
4.1.2.1 Chromatographische Trennung und massenspektrometrische Detektion	77
4.1.2.2 Festphasenextraktion	78
4.2 Ergebnisse zur Optimierung der GC-MS Methode	79
4.2.1 Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen zur chromatographischen Trennung ausgewählter Modellsubstanzen	79
4.2.2 Auswahl der Festphasen	80
4.2.3 Einfluss von Lösungsmittel und pH-Wert auf die Festphasenanreicherung	82
4.2.4 Bestimmung der Wiederfindungsrate mit LiChrolut EN	84
4.2.5 Resultate aus der Methodenentwicklung für das Screening	86
4.2.5.1 Quantifizierung über das Standardadditionsverfahren am MSD	88
4.3 Atomemissionsdetektion als wichtige Ergänzung zur massen-selektiven Detektion von schwefelhaltigen Verbindungen	89
4.3.1 Chromatographie und Detektion	90
4.3.1.1 Parallelschaltung des AED mit dem PND	90
4.3.1.2 Chromatographische Bedingungen am GC-AED-Systems	90
4.3.1.3 Detektor-Einstellungen:	90
4.3.1.4 Standardlösungen für die GC-Analytik	91
4.4 Ergebnisse zur Methodenentwicklung GC-AED	91
4.4.1 Erstellung einer Methode zur gaschromatographischen Trennung der schwefelhaltigen Modellsubstanzen mit GC-AED	91

4.4.2 Optimierung der Empfindlichkeit und Ermittlung der Nachweisgrenzen sowie des Linearitätsbereichs des Atomemissionsdetektors für ausgewählte Schwefelverbindungen	94
4.4.3 Aussagekraft der Signalverhältnisse von Kohlenstoff zu Schwefel am AED bezüglich der Kakulation der Atomzahlenverhältnisse unbekannter Verbindungen	97
4.4.4 Festphasenanreicherung der durch Gaschromatographie erfassbaren Modellsubstanzen	99
4.4.5 Abschätzung von Konzentrationen unbekannter Substanzen und des erfassbaren Schwefels	101
4.5 Probennahme	102
5 Identifizierung von Umweltkontaminanten im Abwasser	102
5.1 Pharmakarückstände	108
5.1.1 Quantitative Bestimmung der Pharmaka im Abwasser	110
5.1.2 Analgetika	110
5.1.3 Antiepileptika	112
5.1.4 Pharmaka aus weiteren Indikationsgruppen	115
5.2 Identifizierung mit GC-MS-MS	117
5.3 Bedeutung der Pharmakarückstände für die Abwasserreinigung	120
5.4 Anteil der identifizierten stickstoffhaltigen Einzelverbindungen am Organischen Stickstoff	123
6 Identifizierung schwefelhaltiger Substanzen im Kläranlagenablauf in Kombination von GC-MS und GC-AED	123
6.1 Anteil der mit GC-AED erfassten Schwefelverbindungen am AOS	136
7 Bestimmung von aromatischen Sulfonaten mit Flüssigchromatographie	137

7.1 Festphasenanreicherung und chromatographische Trennung von aromatischen Sulfonaten	137
7.2 Experimenteller Teil	139
7.2.1 Material, Chemikalien und Geräte	139
7.2.2 Chromatographie und Detektion	141
7.2.3 Probennahme, -vorbereitung und -anreicherung	142
7.2.4 Charakterisierung des technischen Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates	143
7.2.5 Identifizierung und Quantifizierung von aromatischen Sulfonaten	144
7.3 Ergebnisse und Diskussion	144
7.3.1 Charakterisierung des technischen Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates	144
7.3.2 Flüssigchromatographische Trennung von aromatischen Sulfonaten mit Ionenpaarchromatographie	147
7.3.3 Festphasenanreicherung von Sulfonaten	150
7.3.4 Identifizierung und Quantifizierung von aromatischen Sulfonaten in Abwasserproben	156
7.4 Zusammenfassung	162
8 Bestimmung von Aniontensiden mit HPLC-ESI-MS/MS	163
8.1 Vorteile von HPLC-MS/MS gegenüber herkömmlichen Methoden in der Tensidanalytik	163
8.2 Experimenteller Teil	164
8.2.1 Material, Chemikalien und Geräte	164
8.2.2 Chromatographie	165
8.2.3 Detektion	165
8.2.4 Probennahme und -konservierung	166

8.3 Ergebnisse und Diskussion	166
8.3.1 Bestimmung der Mengenverteilung der Homologen in den technischen Standards	166
8.3.2 Identifizierung und Quantifizierung von Tensiden und Sulfophenylcarboxylaten	168
8.4 Zusammenfassung	171
9 Untersuchungen zur Eliminierung von organischen Spurenstoffen	172
9.1 Material und Methoden	173
9.1.1 Geräte	173
9.1.2 Inoculum und Medium	174
9.1.3 Versuchsaufbau	174
9.1.4 Testsubstanzen und Chemikalien	175
9.1.5 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die HPLC-MS-MS Methode	176
9.2 Durchführung	177
9.3 Ergebnisse zu den Eliminationsversuchen	179
9.3.1 Elimination durch Adsorption	179
9.3.2 Elimination durch Primärabbau	181
9.3.3 Primärabbau und Detektion von Metaboliten	183
9.3.4 Glucuronidspaltung	185
9.4 Diskussion der Eliminationsuntersuchungen	186
10 Zusammenfassung	188
11 Literaturverzeichnis	191

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Oxidationsstufen anorganischer Stickstoffverbindungen	16
Abb. 2 Packung der Quarzcontainer mit Aktivkohle	28
Abb. 3 Adsorptionsmodul mit gepackten Quarzcontainern	28
Abb. 4 Schema des Verfahrens zur Bestimmung des AOS mit dem oxidativen Druckaufschluss	29
Abb. 5 AOS-Bestimmung von Proben des Kläranlagenablaufes, die mit technisch relevanten Sulfonsäuren aufgestockt wurden (Anreicherung der Probe bei pH 2; Δ MW: Differenz der Mittelwerte der AOS-Bestimmungen vor und nach der Aufstockung) Optimierung des pH-Wertes bei der Anreicherung	33
Abb. 6 Anreicherung einer Probe eines kommunalen Kläranlagenablaufes bei verschiedenen pH-Werten und anschließende AOS-Bestimmung	34
Abb. 7 Anreicherung einer mit technischen Sulfonsäuren aufgestockten Probe des Kläranlagenablaufes auf Aktivkohle bei verschiedenen pH-Werten (aufgestockte Konzentration 100 µg/l je Verbindung) 1: Naphthalin -2,6-disulfonsäure; 2: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; 3: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; 4: Toluol-4-sulfonsäure, 5: 2-Naphthol-3,6-disulfonsäure; 6: Naphthalin-1,3,6-trisulfonsäure; 7: Naphthalin-2-sulfonsäure	35
Abb. 8 Wiederfindung von Standardsubstanzen mit unterschiedlichem Molekulargewicht nach Ultrafiltration bei Verwendung von Membranen mit den nominellen Ausschlussgrenzen 500 und 1000.	37
Abb. 9 AOS-Konzentrationen von Proben kommunaler Kläranlagenabläufe vor und nach Ultrafiltration (Membranen mit nominellen Ausschlussgrenzen 500 und 1000 U)	39
Abb. 10 Verfahren zur Gesamtstickstoffbestimmung	41
Abb. 11 Schemazeichnung des Prototyps zur TN_b -Bestimmung	48
Abb. 12 Abhängigkeit des NO-Messsignals vom Sauerstoffdruck	49
Abb. 13 Kalibriergerade im Bereich von 1 - 10 mg/l N, aufgenommen mit Harnstofflösung und NO-Prüfgas (eingekreist)	50
Abb. 14 Kombination des TOC-Gerätes mit dem Chemolumineszenzdetektor	53
Abb. 15 Wiederfindung von Nicotinsäure und Ammoniumsulfat im Vergleich zum Mischstandard für den Konzentrationsbereich von 0,1 bis 1 mg/l N	55
Abb. 16 Wiederfindung von Nicotinsäure, Harnstoff und Natriumnitrat im Vergleich zum Mischstandard für den Konzentrationsbereich von 1 bis 10 mg/l N	55
Abb. 17 Reproduzierbarkeit der TN Messung am Beispiel von Harnstoff	56

Abb. 18 Wiederfindung von Ammoniumsulfat, Natriumnitrat und Nicotinsäure im Vergleich zu Harnstoff für den Konzentrationsbereich von 1 bis 10 mg/l N	57
Abb. 19 Molmassenverteilung des DON im Abwasser eines Kläranlagenablaufes nach biologischer Reinigung [Elsässer u. a., 1992].	60
Abb. 20 Schematische Darstellung des Gerätes zur one-step DON Messung	64
Abb. 21 Nitratentfernung aus wässriger Probe mittels Anionenaustauscher	65
Abb. 22 Nitritentfernung aus wässriger Probe mittels Anionenaustauscher	66
Abb. 23 Einfluss des Anionenaustauschers auf den Ammoniumgehalt	66
Abb. 24 Stufenweise Entfernung von Nitrat und Ammonium	67
Abb. 25 Einfluss des Anionenaustauschers auf den Gehalt an Nicotinsäure	70
Abb. 26 Nitratauswaschung am Anionenaustauscher in Gegenwart von H_3PO_4	70
Abb. 27 Einfluss des Anionenaustauschermaterials auf die Wiederfindung von N-Methyl-2-pyrrolidon (rechte Graphik) und Diethyltoluolamid (linke Graphik)	71
Abb. 28 Aminosäuren	71
Abb. 29 Wiederfindungsraten für die Modellsubstanzen, schematisch für drei Festphasenmaterialien dargestellt	80
Abb. 30 Relative Wiederfindung von zwei Polystyroldivinylbenzolphasen bezogen auf die Merck-LiChrolut-Phase	81
Abb. 31 Lösungsmiteleinfluss auf die Wiederfindungsrate	82
Abb. 32 Einfluss eines Lösungsmittelzusatzes zur Probe vor der Extraktion	83
Abb. 33 Einfluss des pH-Wertes auf die Wiederfindung	84
Abb. 34 Wiederfindung mit LiChrolut EN	85
Abb. 35 Probenaufarbeitung der Abwasserproben aus Kläranlagenabläufen	87
Abb. 36 Standardadditionsverfahren für die Bestimmung von Dihydrocodein. Probe aus der Kläranlage Hoheneck	88
Abb. 37 GC-AED-Chromatogramm eines Mischstandards (ca. 1 mg/l je Einzelsubstanz); Detektion der Kohlenstoff-, Schwefel- und Stickstoffemissionslinien	93
Abb. 38 Korrelation der Retentionszeiten am MSD und AED unter Einbeziehung der Daten aller im Verlauf der Arbeit mit GC identifizierten Substanzen (siehe Tab. 21)	93
Abb. 39 Detektorsignale für ausgewählte Schwefelverbindungen in Abhängigkeit der "scavenger"-Gase	94
Abb. 40 Ansprechverhalten des AED am Beispiel von 3-Acetylthiophen	96
Abb. 41 Kalibration des Atomzahlen- zu Signalverhältnis bezüglich S und C	98
Abb. 42 Wiederfindung von schwefelhaltigen Modellsubstanzen nach der Festphasenanreicherung auf RP-C 18- und Styrol-Divinylbenzol-Phasen	99

- Abb. 43 Kalibrationen verschiedener Standardsubstanzen umgerechnet auf Schwefelkonzentrationen 101
- Abb. 44 GC-MS-Totalionenchromatogramm (TIC) einer Probe aus dem Kläranlagenablauf Hoheneck vom 7.10.97. 1 Coffein (RT 27,52 min); 2 Pheneturid (RT 29,10 min); 3 Propyphenazon (RT 29,87 min, coeluiert mit m/z 149); 4 Primidon (RT 35,50 min); 5 Novalginmetabolit (RT 35,90 min); 6 Carbamazepin (RT 36,86 min); 7 Dihydrocodein (RT 37,95 min); 8 Hydrocodon (RT 39,04 min). 103
- Abb. 45 Strukturformeln der über die NIST-Bibliothek identifizierten Pharmaka (molare Massen [g/mol] in Klammern) 108
- Abb. 46 Quantifizierung von Propyphenazon im Abwasser des Ablaufs der Kläranlage Fellbach über das Ion m/z 215 109
- Abb. 47 Metabolisierung von Noramidopyrinmethansulfonat 111
- Abb. 48 Bildung von 1-(2,6-Dichlorphenyl)indolin-2-on (II) aus 2-(2,6-Dichloranilin)phenylacetat (I) 111
- Abb. 49 5-Ethyl-1,3-dimethyl-pyrimidin-2,4,6-trion (I), ein Barbitursäurederivat (II) 112
- Abb. 50 I Ionenspuren m/z 148 und 163 im Kläranlagenablauf Möhringen vom 9.12.97. II Massenspektrum der Probe bei der Retentionszeit von 29,8 min. III Pheneturid als Vergleichsspektrum der NIST Bibliothek (87 % Wahrscheinlichkeit). IV 2-Ethyl-2-phenyl-propandiamid als Vergleichsspektrum der NIST-Bibliothek (87 % Wahrscheinlichkeit) 114
- Abb. 51 Metabolisierung von Coffein (1) zu Trimethylharnsäure (2,3), welche nach Derivatisierung mit Diazomethan detektiert wurde (4) 115
- Abb. 52 EI-MS-Spektrum der Referenzsubstanz Adamantylamin (oben), Produktionenspektrum des Ions m/z 94 (Mitte), Ionenchromatogramm des Ions m/z 77 (Kläranlagenablaufprobe Fellbach vom 9.12.97; Anregungsenergie 1 Volt; unten) 118
- Abb. 53 EI-MS-Spektrum der Referenzsubstanz 7-Dimethylamino-4-methylcumarin (oben), Produktionenspektrum des Ions m/z 216 (Mitte), Ionenchromatogramm des Ions m/z 188 (Kläranlagenablaufprobe Mühlhausen vom 10.12.97; Anregungsenergie 1 Volt; unten) 119
- Abb. 54 Vergleich des Massenspektrums von 2/3-Aminophenylmethylsulfon mit einem Referenzspektrum von 4-Aminophenylmethylsulfon aus der NIST-Bibliothek 127
- Abb. 55 Vergleich des Massenspektrums von N,N-Dimethyldithiocarbamidsäuremethyl-ester mit einem Referenzspektrum aus der NIST-Bibliothek 128

Abb. 56 Fragmentierungsschema von N,N-Dimethyldithiocarbamidsäuremethylester nach Elektronenstoß-Ionisation	129
Abb. 57 Massenspektrum von N-Methylbenzosulfonamid	129
Abb. 58 Fragmentierungsschema von N-Methylbenzosulfonamid nach Elektronenstoß-Ionisation	130
Abb. 59 Massenspektrum von N-Sulfonylphenyl-N-methyl- γ -aminobuttersäuremethylester	131
Abb. 60 Fragmentierungsschema von N-Sulfonylphenyl-N-methyl- γ -aminobuttersäuremethylester nach Elektronenstoß-Ionisation	131
Abb. 61 Massenspektrum von N-Sulfonylphenyl-N-methyl- β -aminopropionsäuremethylester	132
Abb. 62 Fragmentierungsschema von N-Sulfonylphenyl-N-methyl- β -aminopropionsäuremethylester nach Elektronenstoß-Ionisation	132
Abb. 63 Vergleich des Massenspektrums von N-Sulfonylphenylsarkosinmethylester mit einem Referenzspektrum eines synthetisierten Standards	133
Abb. 64 Fragmentierungsschema von 4, N,N-Trimethylbenzolsulfonamid nach Elektronenstoß-Ionisation	134
Abb. 65 Vergleich der Konzentrationen an erfassbarem organischen Schwefel in Abwasser durch Festphasenanreicherungen bei pH 7,5 sowie bei pH 2 mit anschließender Versetzung des unter den zuletzt genannten Bedingungen gewonnenen Eluats mit Diazomethan	135
Abb. 66 Verfahrensschritte bei der Ionenpaaranreicherung	142
Abb. 67 Verfahrensschritte bei der Anreicherung auf graphitierter Aktivkohle	143
Abb. 68 Chromatogramm eines Mischstandards der Konzentration 500 $\mu\text{g/l}$ je Substanz auf einer Prontosil RP-C18-Phase bei Verwendung von Methanol als organischem Modifier; FLD: Anregungswellenlänge 230 nm; Emissionswellenlänge 340/420 nm 1: 3-Aminobenzolsulfonsäure; 2: Nebenbestandteil von 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure (Isomer); 3: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; 4: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; 5: 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure 6: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; 7: 2-Hydroxynaphthalin-3,6-disulfonsäure; 8: Naphthalin-1-sulfonsäure; 9: Naphthalin-2-sulfonsäure	148
Abb. 69 Chromatogramm eines Mischstandards der Konzentration 500 $\mu\text{g/l}$ je Verbindung auf einer Prontosil RP-C18-Phase bei Verwendung von Acetonitril als organischem Modifier (Peakbeschriftung siehe Abb. 68).	149

- Abb. 70 FLD-Chromatogramm eines technischen Standards eines Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates (NSFK); Anregungswellenlänge: 230 nm; Emissionswellenlänge: 340 nm 1: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; 2: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; 3, 4, 5: unbekannte monomere Sulfonsäuren; 6: Naphthalin-1-sulfonsäure; 7: Naphthalin-2-sulfonsäure; 8: dimeres Kondensat; 9: trimeres Kondensat 150
- Abb. 71 Wiederfindungen für die Ionenpaaranreicherung aromatischer Sulfonsäuren (Ausgangskonzentration 0.5 µg/l) auf C18 endcapped Festphasen verschiedener Hersteller. A: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; B: 4-Toluolsulfonsäure; C: Naphthalin-2-sulfonsäure; D: Naphthalin-1,3,6-trisulfonsäure. 151
- Abb. 72 Wiederfindung für die Ionenpaaranreicherung aromatischer Sulfonsäuren (Die Fehlerbalken entsprechen den Spannweiten von drei Messwerten.); Ausgangskonzentration: 0,5µg/l bei einer Sulfatkonzentration von 100 mg/l. Verbindungen A - D siehe Abb. 71; E - H: : Lineare Alkylbenzolsulfon-säuren: E: Decyl-; F: Undecyl-; G: Dodecyl-; H: Tridecyl-. 151
- Abb. 73 Wiederfindungsrate verschiedener Sulfonsäuren bei der Anreicherung von Standardlösungen der Konzentration 1 mg/l je Verbindung (Die Fehlerbalken: entsprechen den Spannweiten von drei Messwerten.). A: 3-Nitrobenzol-sulfonsäure; B: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; C: 4-Toluol-sulfonsäure; D: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; E: 2-Hydroxy-3,6-disulfonsäure; F: Naphthalin-1,3,6-trisulfonsäure; G: Naphthalin-2-sulfonsäure; H: NSFK: dimere und trimere Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensate. 152
- Abb. 74 Wiederfindungsraten für ausgewählte Sulfonate bei der Anreicherung von Standardlösungen (Die Fehlerbalken entsprechen den Spannweiten von 3 Messwerten.).A: 2 Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure; B: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; C: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; D: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; E: 2-Hydroxy-3,6-disulfonsäure; F: Naphthalin-1,3,6-trisulfonsäure; G: Naphthalin-2-sulfonsäure. 153
- Abb. 75 Wiederfindung von ausgewählten Sulfonsäuren in aufgestockten Abwasserproben (Aufstockung 5 µg je Substanz); IPA: Ionenpaaranreicherung; Envicarb: Anreicherung auf graphitierter Aktivkohle A: 2-Hydroxy-3,6-disulfonsäure; B: 2 Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure; C: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; D: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; E: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; F: Naphthalin-1-sulfonsäure; G: Naphthalin-2-sulfonsäure. 154
- Abb. 76 HPLC-Chromatogramme von Eluaten, die bei der Ionenpaaranreicherung und bei Anreicherung auf graphitierter Aktivkohle erhalten wurden. 155

- Abb. 77 Chromatogramme einer undotierten (schwarze Linie) und der dazugehörigen aufgestockten Abwasserprobe (graue Linie) eines Kläranlagenablaufes (RP-C18-Säule; Fluoreszenzdetektion). 1: Naphthalin-2,6-disulfonsäure, 2: Naphthalin-1,5-disulfonsäure, 3: Naphthalin-2-sulfonsäure 157
- Abb. 78 Chromatogramme einer undotierten (durchgezogene Linie) und der dazugehörigen aufgestockten Abwasserprobe (gepunktete Linie) eines Kläranlagenablaufes (RP-C8-Säule; Fluoreszenzdetektion). 1: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; 2: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; 3, 4, 5: unbekannte monomere Sulfonsäuren auch im technischen NSFK-Standard vorhanden; 6: Naphthalin-1-sulfonsäure (hier nicht nachweisbar); 7: Naphthalin-2-sulfonsäure; 8: dimeres NSFK; 9: trimeres NSFK 158
- Abb. 79 Chromatogramm einer Abwasserprobe einer Kläranlage mit einer Textilfärberei als Indirekteinleiter (Hypersil-RP-C18-Säule). 1: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; 2: 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure; 3: Nitrobenzolsulfonsäure; 4: Naphthalin-1,5-disulfonsäure 161
- Abb. 80 Spektrum eines Hydrolyseproduktes von Cibacron Orange (links) und von Drimaren Gelb (rechts) 162
- Abb. 81 ESI-Massenspektren von technischen Tensidstandards im Scan-Modus 167
- Abb. 82: TIC- und Extracted-Ion-Chromatogramme einer um 16 µg/l je Tensid- und Sulfophenylcarboxylatstandard aufgestockten Abwasserprobe eines kommunalen Kläranlagenablaufs 169
- Abb. 83 Versuchsaufbau zur Untersuchung des Abbaus von Pharmaka durch belebten Schlamm mit HPLC-MS-MS 175
- Abb. 84 Chromatographische Trennung von 11 Wirkstoffen mittels HPLC-MS-MS (oben), Ionenspur m/z 181, 250 ng/l Pentoxifyllin (unten) 177
- Abb. 85 Reproduzierbarkeit des Messverfahrens 180
- Abb. 86 Konzentrations-Zeit-Kurven von Adamantylamin (Anfangskonzentration 11 µg/l; belebter Schlamm 1:5 verdünnt, 0,8 g/l TS_R) 181
- Abb. 87 Konzentrations-Zeit-Kurven von Pentoxifyllin, Acetamidophenol und Coffein (Anfangskonzentrationen 24,2 µg/l, 51,7 µg/L bzw. 52,7 µg/l; belebter Schlamm 1:10 verdünnt, 0,4 g/l TS_R) 182
- Abb. 88 Konzentrations-Zeit-Kurven eines Cumarinderivates (Anfangskonzentration 12 µg/l; belebter Schlamm 1:5 verdünnt, 0,8 g/l TS_R) 183
- Abb. 89 Konzentrations-Zeit-Kurven von Dihydrocodein und Hydrocodon (Anfangskonzentration Dihydrocodein 10 µg/l; belebter Schlamm 1:5 verdünnt, 0,8 g/l TS_R) 184

Abb. 90 Metabolisierung von Carbamazepin im Körper [Saris u. a., 1997]	185
Abb. 91 Spaltung von Acetaminophenolglucuronid	186

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Nach Absatzmengen im Jahr 1994 bedeutendste schwefelhaltige Pflanzenschutzmittel in der BRD nach [Industrieverband Agrar, 1995]	7
Tab. 2 Konzentrationsbereiche der mengenmäßig bedeutendsten Anionensidgruppen vor und nach der biologischen Abwasserreinigung sowie im Vorfluter und in abwasserbelasteten Oberflächengewässern [Field u. a., 1994] [Field u. Field, 1995].12	
Tab. 3 Natürlich gelöste organische stickstoffhaltige Makrostoffe (Konzentrationen > 1 mg/l) im kommunalen Abwasser [Koppe u. Stozek, 1993]	17
Tab. 4 Anreicherung von 50 ml eines 1,2 mg/l Toluolsulfonsäurestandards auf 85 mg Aktivkohle (BW: Blindwert, WF: Wiederfindung, MW: Mittelwert, s: Standardabweichung)	31
Tab. 5 Fraktionierung des AOS von Proben kommunaler Kläranlagenabläufe nach Molekülgröße AOS-Konzentrationen absolut (mit Angabe der Standardabweichungen einer Drei-fachbestimmungen für die 6. Messung) und prozentual (bezogen auf den Wert der unfiltrierten Probe)	38
Tab. 6 Einfluß von Sicapent auf den Blindwert	52
Tab. 7 Vorteile der N-Bestimmung mit Hilfe des TOC-Gerätes im Vergleich zum Prototyp	54
Tab. 8 Ringversuch zur Nitrat-Bestimmung, Ausgabetag 8.03.1996	59
Tab. 9 Eigenschaften und empfohlene Betriebsbedingungen für den Anionenaustauscher IMAC HP 555 und den Kationenaustauscher Amberlite SR1 L	68
Tab. 10 Wiederfindung von Harnstoff nach Kontakt mit dem Kationenaustauscher	72
Tab. 11 DON bestimmt nach der Differenzmethode und nach Messung mit dem 'one-step'-DON-Gerät	73
Tab. 12 Geräteparameter und chromatographische Bedingungen	78
Tab. 13 Diagnostische Ionen, Nachweisgrenze (NG) und Korrelationskoeffizient (r) für die Modellsubstanzen	79
Tab. 14 Nachweisgrenzen am GC/AED für ausgewählte Schwefelverbindungen nach DIN 32 645 [DIN 32 645, 1994] bei einem Vertrauensbereich von 95 Prozent.	95

Tab. 15 Relative Responsefaktoren (RRF _s) für organische Schwefelverbindungen in Realproben	97
Tab. 16 Nachweisgrenzen für das Gesamtverfahren nach DIN 32 645 [DIN 32 645, 1994] bei einem Vertrauensbereich von 95 Prozent	100
Tab. 17 Identifizierte Stickstoff- und Schwefelverbindungen im Abwasser kommunaler Kläranlagen	104
Tab. 18 Quantifizierung von Pharmaka über das Standardadditionsverfahren	110
Tab. 19 Konzentrationen von Dihydrocodein und Hydrocodon im Abwasser der Zu- und Abläufe kommunaler Kläranlagen	116
Tab. 20 Pharmaka, die im Abwasser von Kläranlagenabläufen nachgewiesen wurden	120
Tab. 21 In Abwasser von kommunalen Kläranlagenabläufen identifizierte schwefelhaltige Substanzen (BG: Bestimmungsgrenze; nb.: es wurde keine Messung durchgeführt; nn.: nicht nachweisbar)	125
Tab. 22 Polymerstrukturen und ihre Homologenverteilungen im Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensat identifiziert mit MALDI-MS	146
Tab. 23 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen ausgewählter Sulfonate	147
Tab. 24 Bestimmungsgrenzen ausgewählter Sulfonate in Abwasser für das Gesamtverfahren bei Anwendung der Festphasenanreicherung auf graphitierter Aktivkohle nach DIN 32 645 [DIN 32 645, 1994]	156
Tab. 25 Konzentrationen von aromatischen Sulfonaten in Abwasserproben kommunaler Kläranlagenabläufe (pos.: positiv; Konz.: Konzentration)	159
Tab. 26 Konzentrationen von aromatischen Sulfonaten in Abwasserproben einer kommunalen Kläranlage mit einer Textilfärberei als Indirekteinleiter (pos.: positiv; Konz.: Konzentration; nn.: nicht nachweisbar; nb.: nicht bestimmt)	160
Tab. 27 Prozentuale Mengenverhältnisse der Homologen in verschiedenen Mischstandards	166
Tab. 28 Konzentrationen der bedeutendsten Aniontensidgruppen in Abwasserproben des Zu- und Ablaufes des Lehr- und Forschungsklärwerkes Büsnau	168
Tab. 29 Konzentrationen der bedeutendsten Aniontensidgruppen und der Sulfophenylcarboxylat in Abwasserproben von Abläufen kommunaler Kläranlagen	170
Tab. 30 Zu- und Ablaufkonzentrationen von Pharmaka im kommunalen Abwasser	172
Tab. 31 HPLC-Gradient (Lösungsmittel A: Wasser mit 5 mmol Ammoniumacetat, Lösungsmittel B: Acetonitril/Wasser (99:1) mit 5 mmol Ammoniumacetat)	174
Tab. 32 Nachweis- (NG) und Bestimmungsgrenzen (BG) für die HPLC-MS-MS-Methode nach DIN 32645	176

Tab. 33 Batchversuch mit einer Mischung aus 10 Einzelsubstanzen (Abnahme der Konzentration zum Zeitpunkt $t = 0$ min, 15 min, 1:15 h, 4:15 h, 10:30 h; 'Adsorption': prozentuale Abnahme der Konzentration von $t = 0$ zu $t = 15$ min; Variationskoeffizient V_k bezieht sich auf 30 Messwerte im Zeitraum von 50 h) 179

Abkürzungsverzeichnis

AbwV	Abwasserverordnung
AED	Atomemissionsdetektor
AES	Alkylethersulfate
AOS	An Aktivkohle adsorbierbarer organisch gebundener Schwefel
AOX	An Aktivkohle adsorbierbare organisch gebundene Halogene
API	Atmospheric pressure ionisation
APCI	Atmospheric pressure chemical ionisation
AS	Alkylsulfate
BIAS	Bismut aktive Substanzen
BV	Bettvolumen
CID	Collision induced dissociation
CLD	Chemolumineszenzdetektor
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
DAD	Diodenarraydetektor
DHC	Dihydrocodein
DN _b	Dissolved bound nitrogen
DOC	Dissolved organic carbon
DON	Dissolved organic nitrogen
DOS	Dissolved organic sulfur
DTDMAC	Ditalgdimethylammoniumchlorid
DTPA	Diethylentriaminpentaacetat
EC ₅₀	50 % der Effektkonzentration
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EI	Elektronenstoßionisierung
ESI	Elektrosprayionisierung
eV	Elektronenvolt

GC	Gaschromatographie
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
LAS	Lineare Alkylbenzolsulfonsäuren
LC	Liquid chromatography
MBAS	Methylenblau aktive Substanzen
MRM	Multiple Reaction Monitoring
ms	Millisekunde
MS	Massenspektrometrie
MSD	Massenselektiver Detektor
m/z	Masse zu Ladungsverhältnis
NDIR	Nichtdispersive Infrarotspektroskopie
NG	Nachweisgrenze
NIST	National Institute of Standards & Technology
NOEC	No observed effect concentration
NPD	Nitrogen phosphor detector
NSFK	Naphthalinsulfonsäure-Formaldehyd-Kondensate
QAV	Quartäre Ammoniumverbindungen
OECD	Organisation for Economic Co-Operation and Development
PND	Phosphor- Stickstoffdetektor
PNEC	Predicted no effect concentration
PSC	N-Methyl-N-(phenylsulfonyl)- ϵ -aminocaprinsäure
r	Korrelationskoeffizient
RP	Reversed phase
s	Sekunde
SAS	Sekundäre Alkylsulfonate
SIM	Selected Ion Monitoring
SPC	Sulfophenylcarboxylate
SPS	N-(phenylsulfonyl)-sarcosin
TIC	Totalionenchromatogramm
TN _b	Total bound nitrogen
TOC	Total organic carbon
TPS	Tetrapropylenbenzolsulfat
V _k	Wiederholungsvariationskoeffizient

1 Einleitung

1.1 Zielsetzung der Forschungsarbeit

Organische Reststoffe, die bei der Abwasserbehandlung nicht vollständig aus dem Wasser entfernt werden, können ökotoxikologisch oder bei der Trinkwasseraufbereitung in Wasserwerken relevant sein. Damit entsprechende Behandlungsverfahren zur Eliminierung dieser Stoffe aus dem Abwasser entwickelt und vor allem Vorabmaßnahmen getroffen werden können, um zu verhindern, dass diese Stoffe überhaupt in das Abwasser gelangen, müssen sie zunächst identifiziert werden.

In dem vorliegenden Forschungsprojekt sollten schwefelhaltige und stickstoffhaltige Substanzen im Abwasser von Abläufen kommunaler Abwasserbehandlungsanlagen in Form von Summenparametern erfasst werden. Ferner sollten möglichst viele Einzelsubstanzen, die zur Summe der organischen schwefelhaltigen und stickstoffhaltigen Verbindungen beitragen, identifiziert und quantifiziert werden. Es wurde angestrebt, die Aussagekraft der Summenparameter dadurch zu überprüfen. Diesem Ziel diente auch eine Fraktionierung der organischen Wasserinhaltsstoffe nach Molmasse. In weiteren Untersuchungen sollte festgestellt werden, ob die organischen Inhaltsstoffe kolloidal oder sorptiv gebunden an mikrosiebgängigen Partikeln vorzufinden waren. Daneben sollte untersucht werden, wie sich die identifizierten Stoffe während der Abwasserreinigung verhalten. Der Schwerpunkt des Forschungsprojektes wurde dabei auf polare Stoffe gelegt, da hier das zur Verfügung stehende Datenmaterial noch sehr unvollständig ist.

1.2 Aussagekraft von verschiedenen Methoden zur Charakterisierung von organischen Reststoffen bei der Abwasserbehandlung

Trotz der großen Fortschritte, die die Abwassertechnik in den letzten Jahren erreicht hat, verbleiben in den Kläranlagenabläufen nicht unerhebliche Restmengen an organischen Stoffen, die gemessen als "gesamter gelöster organisch gebundener Kohlenstoff" (DOC) 5 bis 20 mg/l betragen [Helmreich u. a., 1997]. Die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe ist sehr uneinheitlich und ihr Aufbau zum Teil äußerst komplex. Da die Existenz von einigen Reststoffen mittlerweile in nahezu allen aquatischen Systemen nachgewiesen werden konnte, ist eine Beurteilung und Charakterisierung dieser Substanzen dringend erforderlich.

Dies ist nicht zuletzt auch deshalb notwendig, um den gesetzlichen Regelungen für das Einleiten von Abwasser Geltung zu verleihen.

Die Überwachung der Einleiteranforderungen an das Abwasser aus Kläranlagenabläufen wird unter anderem mittels der Summenparameter CSB ('Chemischer Sauerstoffbedarf') und TOC ('Total organic carbon') bzw. DOC ('Dissolved organic carbon') bewertet. Die Bedeutung des TOC bzw. DOC nahm aufgrund der zur Verfügung stehenden Online-Messgeräte in den letzten Jahren stark zu. Eine Erfassung der organischen Reststoffe allein durch diese Summenparameter ist aber hinsichtlich einer Beurteilung ihrer Wirkung bedenklich, da keine Informationen über die Zusammensetzung und Struktur der Reststoffe gegeben werden. Diese Parameter können nur zur Überwachung der Funktionsfähigkeit von Kläranlagen sowie zu ihrer Regelung eingesetzt werden. Der DOC ist zudem eine sinnvolle Bezugsbasis für alle anderen summarischen Parameter. In Verbindung mit Flüssigkeitschromatographie oder Diafiltration und anderen Detektionssystemen, beispielsweise UV-Absorption, kann eine problemorientierte Charakterisierung der in der Summe erfassten Substanzen erfolgen [Frimmel, 1996].

Summenparameter, mit denen vorzugsweise spezielle Stoffgruppen erfasst werden, wie der Phenolindex, methylenblauaktive Substanzen (MBAS) zur summarischen Bestimmung von Aniontensiden und bismutaktive Substanzen (BIAS) zur Quantifizierung aller nichtionischen Tenside, haben toxikologisch höhere Aussagekraft. Bei diesen Verfahren werden diejenigen Wasserinhaltsstoffe erfasst, die sich mit einem bestimmten Reagenz in gleichartiger Weise umsetzen lassen. Nachteil dieser Methoden ist, dass diese Reaktion häufig nicht für alle Substanzen, die zu den angesprochenen Stoffgruppen zählen, vollständig ist, wodurch Minderbefunde entstehen können. Verglichen mit der Einzelsubstanzanalytik sind diese Verfahren um ein bis zwei Zehnerpotenzen weniger nachweisstark. Summarische Tensidbestimmungen sind im Vergleich zur Analytik der Einzelstoffe sogar mit einem sehr hohen Zeitaufwand verbunden.

Detailliertere Informationen über organische Substanzen im Abwasser geben auch Verfahren, bei denen die Konzentration an organisch gebundenen Heteroatomen wie Chlor, Stickstoff oder Schwefel im Wasser summarisch erfasst werden. Zur Bestimmung der Elemente aus den unterschiedlichen Bindungsformen werden diese in ein einheitliches Reaktionsprodukt überführt und die Konzentration dieses Reaktionsproduktes gemessen. Beispiele hierfür sind die Parameter Kjeldahl-Stickstoff (Bestimmungsform NH_4^+), "an Aktivkohle adsorbierbare organische Halogenverbindungen" (AOX; Bestimmungsform X) und "an Aktivkohle adsorbierbare organische schwefelhaltige Verbindungen" (AOS; Bestimmungsform SO_2 bzw. SO_3).

Ein Vorteil gegenüber der Einzelsubstanzanalytik ist, dass mit Summenparametern ein breites Spektrum von Substanzen mit relativ geringem Zeitaufwand erfasst werden kann. Vor allem bei der Überwachung polarer Substanzen haben Summenparameter große Bedeutung, weil diese mit Einzelsubstanzanalytik in vielen Fällen nur mit erheblichem technischen Aufwand oder gar nicht analysierbar sind. Trotzdem sind chemische Summenparameter aufgrund ihrer sehr eingeschränkten Aussagekraft bezüglich der Wirkung der summarisch erfassten Substanzen in der Kritik.

Bei dem in diesem Forschungsprojekt zu bestimmenden Parameter "an Aktivkohle adsorbierbare organische schwefelhaltige Verbindungen" (AOS), der sich in den einzelnen Verfahrensschritten an den AOX anlehnt, könnte das natürliche Vorkommen des Elements Schwefel diese Aussagekraft herabsetzen. So muss der Anteil der natürlichen organischen Stoffe am AOS, dies betrifft vor allem Huminstoffe, Aminosäuren und Addukte aus beiden Spezies, sowie die Möglichkeiten zur Abtrennung dieser Verbindungen bei der Probenvorbereitung untersucht werden. Ein zusätzlicher Schwachpunkt der Verfahren mit einem der Messung vorgeschalteten Adsorptionsschritt ist, dass einige zu dieser Gruppe zählenden, toxikologisch relevanten Substanzen nicht erfasst werden.

Somit bleibt die Einzelsubstanzanalytik in Form eines Screenings zur Beurteilung und Charakterisierung von Reststoffen der Abwasserbehandlung unverzichtbar. Ohne die Information über die Zusammensetzung der Reststoffe, wie sie aus den Summenparametern und der Einzelsubstanzanalytik gewonnen werden, können keine Maßnahmen zur Vermeidung oder Eliminierung der detektierten eventuell toxischen Stoffe getroffen werden.

Somit ist die Einzelsubstanzanalytik für die Überwachung von Stoffen, die im unteren Spurenbereich toxisch wirken können und deshalb mit Gruppenparametern nicht erfasst werden können, unbedingt notwendig. Die Identifizierung von Einzelstoffen kann zudem zur Auffindung von Verursachern schadstoffhaltiger Einträge in die Kläranlage und zur Erkennung persistenter Stoffe genutzt werden. Erst durch Kenntnis der schwer abbaubaren Reststoffe der Abwasserbehandlung lassen sich Maßnahmen zur Vermeidung ihrer Einleitung sowie zur technischen Weiterentwicklung der Abwasserbehandlung ergreifen. Ausgewählte Einzelstoffe können auch als Leitparameter für bestimmte Branchen bzw. Einleitertypen herangezogen werden. An ihre Grenzen stößt die Einzelsubstanzanalytik immer dann, wenn aufgrund ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften Stoffe nicht aus der Matrix isoliert oder detektiert werden können. Zudem sind mit einer Bestimmungsmethode nur Substanzen mit ähnlichen Eigenschaften zu erfassen. Dies schränkt die Möglichkeiten für ein breit angelegtes Screening ein. Die Kopplung der Flüssigkeitschromatographie mit der Massenspektro-

metrie ermöglicht jedoch auch den Nachweis polarer bzw. nicht unzersetzt verdampfbare Stoffe, die mit der Gaschromatographie nicht zu bestimmen sind.

1.3 Schwefel

Für alle Lebensformen ist Schwefel essentiell zur Aufrechterhaltung der Lebensvorgänge. In Pflanzen beträgt der Schwefelanteil ca. 0,5 Prozent ihrer Trockenmasse, in Mikroorganismen und bei Tieren 0,5-1,5 Prozent [Nriagu, 1978] [Zinder u. a., 1978]. Der Schwefel ist dabei hauptsächlich in den Aminosäuren Cystein, Cystin und Methionin gebunden. Aber auch in einigen Vitaminen, Antibiotika sowie in anderen Wirkstoffen (z.B. Sexuallockstoffen, Abwehrstoffen) ist Schwefel enthalten [Wagner, 1980].

Schwefel ist ein sehr reaktives Element, das in Oxidationsstufen von -2 bis +6 in der Natur vorkommt.

In seinen anorganischen Verbindungen tritt er in folgenden Oxidationsstufen auf:

- II Sulfid und Thiokomplexe (z.B. $\text{NaSbS}_4 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)
- I Disulfide (z.B. Pyrit), Disulfan
- 0 elementarer Schwefel (S_n ; $n = 8 \alpha$ -, β -, λ -Schwefel; $n > 1000 \mu$ -Schwefel)
- + II Sulfoxylate (stabil als schwerlösliches CoSO_2 oder als Formaldehyd-"Addukt"
 $\text{Na(O)OS-CH}_2\text{OH}$, "Rongalit" genannt)
- + III Dithionige Säure und Dithionite
- + IV Schwefeldioxid und Sulfite
- + V Dithionsäure und Dithionate
- + VI Schwefeltrioxid und Sulfate

Daneben findet man noch Verbindungen mit mehreren Schwefelatomen, in denen Schwefel in unterschiedlichen Oxidationsstufen vorkommt, wie z. B. in Thiosulfaten, Polysulfanen und Polythionsäuren bzw. Polythionaten.

In seinen organischen Verbindungen tritt Schwefel in den folgenden Oxidationsstufen auf:

- II Thiole, Sulfide, Thiophene, Thiazole
- I Disulfide
- 0 Sulfoxide
- + II Sulfone
- + IV Sulfonsäuren, Sulfonamide

1.3.1 Mikrobielle Umsetzungen von Schwefelverbindungen in Gewässern

Unter aeroben Bedingungen ist das Sulfat-Ion die stabilste Form des Schwefels. Seine Reduktion erfolgt nur in Pflanzen und Mikroorganismen über Assimilation oder unter anaeroben Bedingungen durch Desulfurikation (Sulfat-Atmung, dissimilatorische Sulfat-Reduktion), zu der eine spezielle Gruppe von Mikroorganismen (Desulfurikanten) befähigt ist und bei der als Endprodukt Sulfid-Schwefel bzw. bei Sulfatüberschuss (bezüglich H-Donatoren) Schwefel entsteht. Je nach pH-Wert verbleibt der Schwefel als Sulfid im Wasser oder entweicht als Schwefelwasserstoff in die Atmosphäre. Anaerobe Zonen findet man vor allem in den Sedimenten und bei stehenden Gewässern in tiefen Wasserschichten. Die Desulfurikation läuft nach folgender Reaktionsgleichung ab:



Dabei dienen organische Säuren (Lactat, Acetat etc.), Alkohole und andere veratembare organische Stoffe, die beim anaeroben Abbau von Biomasse entstehen, als Wasserstoffdonatoren. Neben Sulfat sind nachgewiesenermaßen auch Thiosulfat, Tetrathionit, Sulfit, Dithionit, Disulfit und kolloidaler Schwefel als Wasserstoffakzeptoren geeignet. Im kommunalen Abwasser und im Faulschlamm wird dieser Prozess hauptsächlich von der obligat anaeroben Bakteriengattung *Desulfovibrio* durchgeführt [Wagner, 1989] [Wagner, 1980].

Unter aeroben Bedingungen wird der Sulfidschwefel entweder abiotisch durch Luftsauerstoff zu elementarem Schwefel oder im Energiestoffwechsel über diese Zwischenstufe zu Sulfat oxidiert. Im letzteren Fall kann auch elementarer Schwefel abgeschieden werden. Das Verhältnis von Sulfid zu Sulfat hängt im wesentlichen vom Sauerstoffgehalt und den Redoxverhältnissen ab. Ein geringer Teil der Schwefelverbindungen wird auch von Algen und Plankton verstoffwechselt. Durch deren Stoffwechselaktivitäten entstehen in geringer Konzentration Dimethylsulfid, Dimethyldisulfid und Methylmercaptan.

Bei den Schwefelorganika spielt in der Umwelt der Auf- und Abbau von Aminosäuren eine zentrale Rolle. Diese werden mikrobiell zu Sulfid bzw. Schwefelwasserstoff und zu flüchtigen Schwefelorganika (Sulfide, niedere Oligosulfide, Thiole) metabolisiert.

Methylmercaptan ist immer dann zu finden, wenn große Mengen Protein einem Faulungsprozess unterliegen. Durch die nitrifikationshemmende Wirkung dieser Substanz sind daher bei erhöhten Proteinfrachten im Zulauf einer Kläranlage Störungen der biologischen Stufen nicht auszuschließen. Außer in Abwässern und Klärschlämmen wurde Methylmercaptan auch in Sedimenten von stehenden Gewässern und in Flußwässern nachgewiesen [Kümmerer, 1990]. Gleiches gilt für die Oligosulfide [Franke u. a., 1995].

Beim Abbau der Aminosäure Methionin kann Dimethylsulfid gebildet werden. Dimethylsulfid entsteht auch durch Desalkylierung von Sulfoniumsalzen, die von Algen- und Tangarten produziert werden.

Die Umsetzung von organischen Sulfiden, Oligosulfiden, Thiolen, Sulfoxiden und Sulfonen ist gemessen am Abbau der Aminosäuren weniger bedeutend.

Neben den Produkten des Aminosäureabbaus wurden auch alkylierte und acylierte Thiophene als Stoffe identifiziert, die durch anaeroben Abbau entstehen und auf Kläranlagen zu unangenehmen Geruchsbelastungen führen [Janson, 1988]. Auch Kohlenstoffdisulfid und Carbonylsulfid gelten als mikrobielle Abbauprodukte von organischen Schwefelverbindungen [Zinder u. a., 1978].

1.3.2 Umweltrelevante industriell produzierte Schwefelorganika

Durch die Industrialisierung wurden in zunehmendem Maß Schwefelorganika anthropogenen Ursprungs in die Umwelt eingetragen. Entsprechend ihrer Funktionen lassen sich die wichtigsten Schwefelverbindungen, die von industrieller Bedeutung sind, in folgende Gruppe einteilen:

Pestizide

Desinfektions- und Konservierungsmittel

Zusatzstoffe für die Gummi- und Kunststoffherstellung (Weichmacher, Vulkanisationsbeschleuniger)

Oberflächenaktive Stoffe

Dispergiermittel

Waschmittelhilfsstoffe und ihre Ausgangsprodukte

Farbstoffe und ihre Ausgangsprodukte

Arzneimittel

Im folgenden wird eine kurze Übersicht über umweltrelevante Schwefelverbindungen in einzelne Stoffgruppen unterteilt gegeben. Die Einteilung der erfolgte mit Ausnahme der Sulfonate und Sulfonamide, die nach chemischen Gesichtspunkten (nach der funktionellen Gruppe) zusammengefasst wurden, aufgrund ihrer Anwendungsgebiete.

1.3.2.1 Schwefelhaltige Pestizide

Schwefelhaltige Pestizide finden sich in allen Verbindungsklassen. Insgesamt wurden in der Bundesrepublik Deutschland im Jahr 1992 ca. 30.000 t Pflanzenschutzmittel abgesetzt, wo-

bei 34 Prozent auf Herbizide, 20,6 Prozent auf Fungizide und 21,4 Prozent auf Insektizide und Akarizide entfielen [Hupke, Koch u. a., 1997]. Die für das Jahr 1994 mengenmäßig bedeutendsten schwefelhaltigen Wirkstoffe sind in Tab. 1 aufgeführt [Industrieverband Agrar, 1995]:

Die theoretische Durchschnittsapplikation je Hektar landwirtschaftlicher Nutzfläche liegt diesen Daten zufolge bei etwa 2,4 kg Wirkstoff, sie wird jedoch auf ackerbaulich bewirtschafteten Flächen mit 10 kg/ha bei weitem überschritten. Unter Feldbedingungen gelangen etwa 1 Prozent der ausgebrachten Wirkstoffmenge in das aquatische System [Schlichtig, 1996]. Der größte Teil davon findet sich aufgrund von Oberflächenabschwemmung (run off) in Oberflächengewässern wieder. Durch Bodenpassage erreichen die ausgebrachten Pestizide aber auch das Grundwasser [Flinspach, 1989].

Tab. 1 Nach Absatzmengen im Jahr 1994 bedeutendste schwefelhaltige Pflanzenschutzmittel in der BRD nach [Industrieverband Agrar, 1995]

Abgesetzte Menge	Herbizide	Fungizide	Insektizide
> 500 t		Schwefel Metiram	
> 200 t	Bentazon EPTC Prosulfcarb Pyridat	Maneb	
> 100 t	Triallat Methabenzthiazuron	Dichlofluanid Carboxin	
> 50 t			Dimethoat Methiocarb Methiocarb Methamidophos Parathion Oxydemetonmethyl

Der am stärksten dominierende Eintrag von Pflanzenschutzmitteln in die Umwelt ist aber auf die unsachgemäße Handhabung der Spritzmittel durch die Landwirte zurückzuführen. Insbesondere die Reinigung der Geräte und die fehlende oder mangelhafte Entsorgung von Restmengen stellen wichtige Eintragsquellen dar. Sind die landwirtschaftlichen Betriebe an die Mischkanalisation angeschlossen, gelangen die Pflanzenschutzmittel in kommunale Kläranlagen. Die Belastung von Gewässern durch Einträge aus kommunalen Kläranlagen wurde aufgrund der im allgemeinen geringen biologischen Abbaubarkeit der Pflanzen-

schutzmittel höher als der Oberflächenabfluß (run off) von behandelten landwirtschaftlichen Flächen eingeschätzt [Seel u. a., 1996].

Da die Datenlage über das Vorkommen und das Abbauverhalten von Pestizide sehr umfangreich ist, wurde in dem vorliegenden Forschungsprojekt der Schwerpunkt auf andere Substanzklassen gelegt. Vergleicht man in der Literatur angegebene Median-Konzentrationen der schwefelhaltigen Pestizide in Gewässern [Herrchen u. a., 1997]. mit den mittleren AOS-Konzentrationen von Rheinwasserproben (400 – 700 µg/l), errechnet sich ein Anteil der Pestizide am AOS, der weit unter einem Prozent liegt [Frimmel, 1996]. Damit kann die Belastung von Oberflächengewässern mit Pestiziden nicht summarisch, durch AOS-Bestimmungen, sondern nur über Einzelsubstanzeanalytik erkannt werden.

1.3.2.2 Desinfektions- und Konservierungsmittel

Der Übergang von den Pestiziden zu den Desinfektions- und Konservierungsmitteln ist aufgrund ihrer Wirkung gegen zum Teil gleiche oder ähnliche Schadorganismen fließend. So werden als Desinfektionsmittel im allgemeinen Sinne Stoffe oder Stoffgruppen bezeichnet, die Krankheitserreger außerhalb des Organismus abtöten (Pilze, Bakterien, Parasiten) oder inaktivieren (Viren). Im engeren Sinne werden Desinfektionsmittel nur auf unbelebten Flächen angewendet. Konservierungsstoffe sollen die Haltbarkeit von natürlichen oder synthetischen Produkten (z.B. Lebensmittel, Kosmetika, Holz, Textilien, Leder) gegenüber Einwirkung von Mikroorganismen, Insekten und anderen Kleinlebewesen verlängern. Die Konservierungsmittel sind eine Untergruppe der Biozide. Zu dieser Gruppe gehören Schutzmittel gegen Verrottung, Fäulnis, Fraß, Motten und Schimmel. Zum Teil werden in allen drei Produktgruppen gleiche Wirkstoffe verwendet [Hupke, Koch u. a., 1997]. Organische Schwefelverbindungen spielen in diesen beiden Produktgruppen zahlenmäßig nur eine untergeordnete Rolle [Hausam, 1975].

Desinfektionsmittel

Die einzigen schwefelhaltigen Desinfektionsmittel von Bedeutung sind aus der Gruppe der Chlor abspaltenden Substanzen die N-Chlorarylsulfonamidsalze (Chloramin B und T; siehe unten). Ihre Wirkung beruht auf der langsamen Freisetzung von hypochloriger Säure bzw. von Chlor. Dabei entsteht Toluol- bzw. Benzolsulfonamid. Chloramine dienen der Trinkwasser- und Grobdesinfektion, der Händedesinfektion und der Desinfektion im medizinischen Bereich (Wunddesinfektion etc.) [Mutschler, 1991].

Konservierungsmittel

Zur Konservierung werden Isothiazoline, Thiodiazinthione, Pyridinthiole, Mercaptobenzothiazol, dessen Derivate und Dithiocarbamatderivate zugelassen [Wallhäußer, 1995]:

Isothiazoline dienen der Konservierung von Kosmetika und chemisch-technischen Produkten wie Farben, Kühlschmierstoffen, Textilien, technischen Emulsionen und Waschrohstoffen.

Von den Thiodiazinthionen sind die Tetrahydro-1,3,5-thiodiazin-2-thion die einzigen Wirkstoffe dieser Gruppe, die in relevanten Mengen produziert werden. Die Applikation der Verbindung liegt in der Konservierung chemisch-technischer Produkte, vor allem von Dispersionen. Außerdem wird es zur Schleimbekämpfung vor allem in der Papierindustrie eingesetzt. Die Wirkung der Thiadiazine beruht auf der Abspaltung von Senfölen unter biologischen Bedingungen.

Die schwefelhaltigen Pyridinthiolderivate werden zur Konservierung von Kosmetika, vor allem von Seifen und Haarwaschmitteln, sowie von chemisch-technischen Produkten verwendet.

Mercaptobenzothiazol dient als Inhibitor von Biokorrosionsprozessen in industriellen Kühlsystemen und in der Galvanikindustrie. Im medizinischen Bereich werden Derivate dieser Verbindung als Chemotherapeutika eingesetzt. Das Fungizid 2-(Thiocyanomethylthio)-benzothiazol wird in der Holz- und Lederindustrie als Substitut für Chlorphenole benutzt. Die wichtigste Applikation von Mercaptobenzothiazol und einiger Derivate liegt aber in der Verwendung als Vulkanisationsbeschleuniger. Gleichzeitig dienen diese Substanzen aber auch der Konservierung.

Gewisse Bedeutung haben auch Dithiocarbamatderivate, die in der Papierindustrie zur Schleimbekämpfung und zur Konservierung von Papier benutzt werden. Ähnlich wie Mercaptobenzothiazol spielt Thiram auch als Vulkanisationsbeschleuniger eine wichtige Rolle. Aus der Gruppe der Polyhalogenalkylmercaptane wird Captan sowohl im kosmetischen wie im technischen Bereich eingesetzt, Fluorolpet und Dichlofluorid dagegen werden nur als Zusatzstoffe für Farben und Anstriche verwendet. Alkylquecksilbersulfide (Ethylmercurithiosalicylat und 4-Ethylmercurithiobenzolsulfonat) sind in kleinen Mengen in Augentropfen und Seren, selten in Kosmetika zu finden.

Ohne Berücksichtigung der Pflanzenschutzmittel wurden 1983 47.000 t mikrobizide Stoffe zur Konservierung und Desinfektion in den verschiedenen Applikationsbereichen eingesetzt [Kunz u. a., 1986 b].

Die mikrobiziden Wirkkonzentrationen dieser Stoffe liegen im Bereich zwischen 0,2 µg/ml für Ethylquecksilberthiosalicylat und 200 µg/ml für Isothiazoline [Wallhäußer, 1995]. In vergleichbaren Konzentrationen ist damit auch ein ökotoxikologischer Effekt zu erwarten. Aller-

dings stehen gerade für die schwefelhaltigen mikrobiziden Substanzen nur sehr wenige Daten zur Verfügung. Die akute Toxizität von 2-(Thiocyanomethylthio)benzothiazol gegenüber aquatischen Organismen, ermittelt mit einem Leuchtbakterientest nach DIN 38412 L341, lag bei ca. 7 µg/l. Dieser Wert erhöht sich für Mercaptobenzothiazol um eine, für Methylthiobenzothiazol um zwei Zehnerpotenzen und für Benzothiazol nochmals um den Faktor 3. In vergleichbaren Größenordnungen lagen die EC_{50} -Werte für Fische. Auch nitrifikationshemmende Wirkung wurde für Mercaptobenzothiazol in Konzentrationen von 1 µmol festgestellt. Die Substanz erwies sich zudem als Allergen und als Auslöser von Tumorbildungen [Reemtsma u. a., 1995].

Bei stoßweisem Eintrag in Konzentrationen oberhalb der Wirkkonzentration sowie bei kontinuierlichen Einträgen in geringeren Konzentrationen wurden allgemein für biozide Stoffe Hemmungen des biologischen Abbaus auf Kläranlagen beobachtet [Kunz u. a., 1986 c]. Oft stellen gerade persistente und akkumulierbare Wirkstoffe aus dem chemisch-technischen Bereich ein latentes Problem dar. Zum Teil wird das Problem durch Inaktivierungsreaktionen oder Zersetzung während der Anwendung bzw. im Abwassersammler entschärft. Von den aufgeführten schwefelhaltigen Desinfektions- und Konservierungsmitteln sind nur die Isothiazoline und Mercaptobenzothiazolderivate im Wasser über längere Zeit stabil und damit abwasserrelevant. Zur Relevanz der Isothiazoline trägt auch ihre Verwendung in Kosmetikartikeln wie Seifen und Haarshampoos bei, wodurch diese Stoffe zwangsläufig ins Abwasser gelangen. Durch Chloramin B und T entstehen in organisch belastetem Wasser chlorierte Verbindungen (Chloramine, chlorierte Aromaten und Haloforme), die ihrerseits wieder toxisch wirken [Kunz u. a., 1986 a].

Über die biologische Abbaubarkeit von schwefelhaltigen Substanzen, die auch im Abwasser in aktiver Form vorliegen, wurden eingehende Studien durchgeführt. Die gute biologische Abbaubarkeit der Isothiazoline konnte von einer der Herstellerfirmen, Rohm & Haas, in Testreihen nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse sind aber nur teilweise in allgemeinen Produktinformationen veröffentlicht. Für 1,2-Benzisothiazol-3-on findet man in diesen Datenblättern zusätzlich eine Angabe über Effektkonzentrationen in bezug auf Belebtschlamm [Rohm & Haas, 1990]. Im Falle einer fortlaufenden Dosierung liegt die Obergrenze derjenigen Konzentration, bei der keine nachteilige Wirkung zu beobachten war, unter aeroben Bedingungen bei 10 ppm, unter anaeroben Bedingungen bei 2 ppm [Wallhäuser, 1995].

Untersuchungen zum mikrobiellen Abbau von 2-(Thiocyanomethylthio)benzothiazol und Mercaptobenzothiazol in Kläranlagen wurden von Reemtsma [Reemtsma, Fiehn u. a., 1995] durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass 2-(Thiocyanomethylthio)benzothiazol im Abwasser sofort hydrolysiert wird. Die Substanz konnte bereits in Proben von Kläranlagenzuläufen

nicht mehr nachgewiesen werden. Bei der hydrolytischen Spaltung entstand vorwiegend Mercaptobenzothiazol und als Nebenprodukt auch Benzothiazol. Mercaptobenzothiazol wird aerob zu Benzothiazol und Methylthiobenzothiazol und weiteren nicht identifizierten Metaboliten transformiert. Während Benzothiazol in einem langsam verlaufenden Prozess vollständig biologisch abbaubar ist, gilt Methylthiobenzothiazol als schwer abbaubar. Von den identifizierten Benzothiazolderivaten in den Proben des Kläranlagenablaufes ist der Anteil des Mercaptobenzothiazols ca. 40 Prozent. Das Verhältnis von Benzothiazol zu Methylthiobenzothiazol, die zusammen die restlichen 60 Prozent bilden, schwankt sehr stark. Insgesamt wurden in den beprobten Kläranlagen zwischen 60 und 80 Prozent der Benzothiazolderivate eliminiert.

Angaben über Umweltkonzentrationen findet man für Benzothiazol mit 18 µg/l in Proben von Abläufen kommunaler Kläranlagen. In denselben Proben konnte auch 2-Methylthiobenzothiazol identifiziert werden [Grohmann, 1994]. Auch in einer anderen Arbeit wurden diese Stoffe nach der biologischen Reinigung von kommunalem Abwasser nachgewiesen [Elsäßer, 1990]. In Abläufen industrieller Kläranlagen wurden Konzentrationen für Mercaptobenzothiazol von ca. 80 µg/l, für Benzothiazol von ca. 100 µg/l und für Methylthiobenzothiazol von ca. 140 µg/l gemessen.

1.3.2.3 Tenside

Schwefelhaltige Substanzen finden sich ausschließlich in der Klasse der Aniontenside, die als funktionelle Gruppen in der Regel Carboxyl-, Sulfonat- oder Sulfatgruppen aufweisen. Hauptvertreter sind die linearen Alkylbenzolsulfonate (LAS), die sekundären Alkansulfonate (SAS), die Fettalkoholsulfate (AS) und die Fettalkoholethersulfate (AES). Die Aniontenside hatten 1990 einen Anteil von 59 Prozent auf dem Weltmarkt, wobei alleine die Seifen mit ca. 34 Prozent und die LAS mit ca. 22 Prozent verbucht wurden [Falbe u. Regitz, 1995].

Das Einsatzgebiet von Tensiden und damit auch von Aniontensiden ist überaus vielfältig. Etwa ein Drittel des Tensidverbrauchs ist auf den Textilmarkt zurückzuführen, vor allem auf Anwendungen, die sich auf das Waschen und Reinigen von Textilien beziehen. Aber auch in der Textilfärbung kommen große Mengen Tenside zum Einsatz. Zweitgrößter Abnehmer ist mit 12 Prozent die Kosmetikindustrie. Tenside werden in Schaumbädern und Haarschampoos und als Emulgatoren in Cremes und Lotionen verwendet. Eine ebenso große Menge wird im Bergbau zur Flotation benötigt. Im Bereich Farben und Lacke spielen Tenside als Emulgatoren und Verdickungsmittel mit 8 % am Gesamtaniontensidverbrauch eine wichtige Rolle.

Aufgrund der geschilderten Anwendungen von Tensiden gelangen diese zwangsläufig in vergleichsweise hohen Konzentrationen ins Abwasser. Die Elimination von Tensiden in Kläranlagen erfolgt überwiegend über aeroben mikrobiellen Abbau. Zwischen 15 und 30 Prozent werden aber durch Adsorption an Partikel über den Überschussschlamm aus dem Wasser entfernt [Field u. a., 1995]. Daten über Konzentrationen in Kläranlagenabläufen und in Oberflächengewässern sind nur für LAS in ausreichendem Maße vorhanden. Für diese Tensidklasse wurde im Auftrag des "Environmental Risk Assessment Steering Management Committees (ERASM)" von der AIS/CESIO-Task-Force "Environmental Surfactant Analysis" ein europaweites Tensidmonitoring durchgeführt [Schöberl u. a., 1994] [Schöberl, 1995]. Für die SAS sind mehrere Untersuchungen von Giger u. a. veröffentlicht [Field u. a., 1992] [Field u. a., 1994] [Field u. Field, 1995]. Angaben über Emissionen der vier wichtigsten Aniontensidgruppen (LAS, SAS, AS, AES) von zwei Kläranlagen, die in die Ruhr einleiten, fanden sich in einem Artikel der Firma Henkel Düsseldorf [Schröder, 1995]. In Tab. 2 sind die Konzentrationsbereiche der wichtigsten Aniontenside im Abwasser vor und nach der biologischen Reinigungsstufe sowie im Vorfluter und in abwasserbelasteten Oberflächengewässern aus den zitierten Studien zusammengefaßt.

Tab. 2 Konzentrationsbereiche der mengenmäßig bedeutendsten Aniontensidgruppen vor und nach der biologischen Abwasserreinigung sowie im Vorfluter und in abwasserbelasteten Oberflächengewässern [Field u. a., 1994] [Field u. Field, 1995].

Tensid- klasse	Kläran- lagenzulauf [µg/l]	Ablauf Vor- klärung [µg/l]	Ablauf Nach- klärung [µg/l]	Vor- fluter [µg/l]	Oberflächen- gewässer [µg/l]	Elimina- tionsgrad [%]
LAS	1400 - 5500		0,6 - 196	0,5 - 45	0-12	98-99,9
SAS [†]		545 - 890	0 - 14			99
SAS	45 - 183		1,0	1,0	1 - 3,5	99,7
AS	90 - 1028		2 - 7,4	1,5 - 4,7	1,4 - 4	98,9
AES	90 - 515		1 - 4,9	1 - 3,5	1 - 4	98,9

[†] Kläranlage ohne Denitrifikation

Wie Tab. 2 zeigt, lagen die Aniontensidkonzentrationen in den Proben der Kläranlagenabläufe in der Regel weit unterhalb der PNEC von 100 µg/l. Innerhalb des LAS-Monitorings wurde aber auch eine Kläranlage mit biologischer Reinigungsstufe beprobt, deren Ablaufkonzentrationen nur um einen Faktor zwei bis drei unterhalb der 100 µg/l lagen. Hier wurde

dieser Wert auch an einem Meßtag mit 196 µg/l überschritten. Bei einer gleichzeitigen Erhöhung der Ablaufwerte der anderen Tensidgruppen wäre trotz eines Verdünnungsfaktors von 10 im Vorfluter die PNEC erreicht. Dies zeigt, dass aufgrund ihres hohen Eintrages ungeachtet ihrer guten biologischen Abbaubarkeit eine Überwachung dieser Substanzklasse notwendig ist. Positiv auf das Gefährdungspotential wirkt sich aus, dass in den belasteten Fließgewässern eine weitere Metabolisierung stattfindet.

1.3.2.4 Sulfonierte Aromaten

Sulfonierungen von Aromaten haben hauptsächlich das Ziel, ihnen eine bessere Wasserlöslichkeit zu verleihen. Das Einsatzgebiet und die strukturelle Vielfalt dieser Sulfonate ist entsprechend groß.

Aromatische Sulfonsäuren haben eine große industrielle Bedeutung. Benzolsulfonsäuren werden breit gefächert als Zwischenprodukte eingesetzt, z.B. bei der Herstellung von optischen Aufhellern, Farbstoffen, Ionenaustauschern, Weichmachern und Pharmazeutika [Lindner, 1975]. Naphthalinsulfonsäuren sind wichtige Ausgangsstoffe zur technischen Darstellung von Farbstoffen, Netz- und Dispergiermitteln sowie von Pharmazeutika. In der Textilindustrie werden monomere aromatische Sulfonate als Zusatzstoffe in Farbbädern eingesetzt. Kondensate dieser aromatischen Sulfonsäuren mit Formaldehyd werden ebenfalls großtechnisch hergestellt und unter anderem als Betonverflüssiger, Netz- und Dispergiermittel, Papierchemikalien, Formulierungshilfsstoffe für Pflanzenschutzmittel und synthetische Gerbstoffe verwendet [Collin u. a., 1975]. Lignin- und Chlorligninsulfonate fallen in großen Mengen bei der Zellstoffproduktion als Nebenprodukte an [Bastian u. a., 1994]. Diese werden wiederum nach ihrer Reinigung und Veredelung aufgrund ihrer dispergierenden Eigenschaften in gleicher Weise wie die Formaldehydkondensate genutzt. Hinzu kommen die Stilbensulfonate, die als optische Aufheller verwendet werden [Gold u. a., 1975].

Während die LAS, wie in Kapitel 1.3.2.3 erwähnt, in der Kläranlage nahezu vollständig aus dem Wasser eliminiert werden, ist die biologische Abbaubarkeit vor allem der mehrfach sulfonierten Naphthaline und ihrer Formaldehydkondensate, der Stilbenderivate sowie der Lignin- und Chlorligninsulfonsäuren gering [Reemtsma, Jochimsen u. a., 1993] [Greim u. a., 1994]. Diesen Sulfonsäuren wird in Flüssen, die mit industriellem Abwasser belastet sind, ein Anteil von zwei bis drei Prozent am gelösten organisch gebundenen Schwefel (DOS) zugeschrieben [Frimmel, 1991]. Da etliche Vertreter dieser Stoffgruppe bei neutralen pH-Werten an Aktivkohle schwer adsorbierbar sind, ergibt sich auch eine Trinkwasserrelevanz. Für opti-

sche Aufheller gilt diese Aussage nicht, da sie vom Tageslicht abiotisch durch Photooxidation weiter abgebaut werden [Hochberg, Kasching u. a., 1997].

Die derzeit zur Verfügung stehenden Daten über die toxikologischen Eigenschaften dieser Stoffgruppe lassen den Schluss zu, dass diese Substanzen nur eine geringe systemische Toxizität zeigen und weder mutagen noch carcinogen wirken. Dies gilt auch für Langzeitexpositionen. Sowohl ihre Toxizität als auch ihre Ökotoxizität ist weitaus geringer als die der Tenside. Wirkungen der bisher untersuchten Stoffe waren erst bei 30 - 100 mg/l festzustellen [Greim, Ahlers u. a., 1994].

1.3.2.5 Arylsulfonamide

Arylsulfonamide werden in großen Mengen von der chemischen und pharmazeutischen Industrie hergestellt. Benzolsulfonsäureamide dienen als Zwischenprodukte zur Herstellung von Polysulfonamiden. Um ein Zwischenprodukt der Farbstoffherstellung handelt es sich bei Aminobenzolsulfonsäureamiden. Dies gilt auch für Toluolsulfonamide, die zudem als Ausgangsprodukt für Pharmaka Bedeutung haben. Substituierte Benzolsulfonamide werden als wachstumshemmende Mittel im Pflanzenschutz eingesetzt. Alkylamide der Benzol- und Toluolsulfonsäuren, z.B. N-Butylbenzolsulfonamid, verwendet man als Polyamidweichmacher in Kunststoffen. N-Methyl-N-(phenylsulfonyl)-ε-aminocapronsäure (PSC) dient als Zusatzstoff in Korrosionsschutzmitteln. Arylsulfonamide mit einer Aminogruppe in para-Stellung wirken antibakteriell. Auch als Antidiabetica und Diuretica kommen Sulfonamide in großen Mengen zum Einsatz. N-Chlor-arylsulfonamidsalze wurden bereits im Kapitel Desinfektions- und Konservierungsmittel besprochen [Lindner, 1975] [Falbe u. Regitz, 1995] [Mutschler, 1991]. Zum biologischen Abbauverhalten von Sulfonamiden können keine einheitlichen Aussagen getroffen werden. Während p-Toluolsulfonamid biologisch sehr gut abbaubar ist, ist o-Toluolsulfonamid vermutlich aufgrund sterischer Hinderung nicht biotransformierbar [Nörtemann u. Knackmuss, 1988]. Auch N-Phenylsulfonylsarkosin (SPS) gilt als persistente Verbindung [Knepper, Weber u. a., 1995]. SPS kann durch Aktivkohlefilter nicht vollständig aus dem Wasser entfernt werden und ist daher trinkwasserrelevant. Über das Umweltverhalten der Sulfonamidantibiotika ist bisher nichts bekannt. Allerdings wurden diese bisher nur in jeweils einer Probe von größeren Messreihen nachgewiesen [Hirsch u. a., 1998]. Auch über das toxikologische und ökotoxikologische Verhalten von Sulfonamiden ist wenig bekannt. SPS wurde mit negativem Befund auf Gentoxizität untersucht. Die Fischtoxizität lag für diese Substanz über 1000 mg/l.

1.3.2.6 Weitere Schwefelverbindungen

Sulfonierte Farbstoffe bilden im wesentlichen die bedeutendste Gruppe der anionischen Farbstoffe, die über 2000 Einzelstoffe zählt. Im Jahr 1988 wurden in Deutschland 156.000 t Farbstoffe produziert. Die meisten Farbstoffe werden in der Textil-, Papier-, Pelzfärberei, Druckerei, Papier- und Tapetenfabrikation verbraucht [Falbe u. Regitz, 1995].

Da im Färbeprozess die Ausbeute nie quantitativ ist, kommen Farbstoffe zwangsläufig mit der Restflotte ins Abwasser. Bei der Behandlung von Abwässern aus der Textilindustrie wird daher versucht, zusätzliche physikalisch-chemische Reinigungsstufen zu etablieren, die eine vollständige Elimination der Farbstoffe einschließlich ihrer zahlreichen toxischen Metabolite gewährleisten. Bei den meisten der durchgeführten Untersuchungen fehlte es aber an einer entsprechenden Begleitanalytik, die die Reststoffe nach Struktur und Wirkung charakterisiert. In vielen Studien wurde lediglich die Färbung und der DOC als Abbaukriterien herangezogen [Lambert u. a., 1997] [Liakou u. a., 1997] [Karcher u. a., 1998].

Thioharnstoffe werden als Vulkanisationsbeschleuniger eingesetzt. Thioharnstoff selbst wird als Katalysator, Zusatzstoff in Ätz-, Reinigungs- und Poliermitteln und als Inhibitor in Sparbeizen. Dies sind Metall-Beizen auf Säure-Basis, die einen geeigneten Inhibitor enthalten, der das Grundmetall schützt, aber die Auflösung der zu entfernenden Oberflächenschichten wie Oxide oder Kesselstein zulässt. Des Weiteren wird Thioharnstoff als Schwermetallfänger z.B. in der Chlor-Alkalielektrolyse, Färbemittel in der Textilindustrie, zur Modifikation von wärmehärtenden Kondensationsprodukten, zur Viskositätsstabilisierung von wasserlöslichen Polymeren und als Ausgangsprodukt von Farbstoffen, Pharmazeutika und weiteren Produkten verwendet [Falbe u. Regitz, 1995]. Diphenylthioharnstoff dient als Thermostabilisator für PVC. Die Verbindungen sind für den Menschen hochtoxisch und erwiesen sich in Tierversuchen als cancerogen, mutagen und teratogen.

Sulfone dienen als Ausgangsmaterial zur Kunststoffherstellung, als Flammschutzmittel für Kunststoffe und Textilien sowie als Arzneimittel. Die Verbindungen sind im allgemeinen wenig toxisch [Jeblick, 1975].

Sulfoxide haben Bedeutung als Pflanzenbehandlungsmittel und werden daneben als Arzneimittel, Stimulantien mit coffeinähnlicher Wirkung, Initiatoren für Photopolymerisation von UV-härtbaren Kunststoffüberzügen, Stabilisatoren für Polyolefine und Extraktionsmittel zur Trennung von Öl/Wassergemischen verwendet. Dimethylsulfoxid ist ein gängiges Lösungsmittel in der organischen Chemie. Auch die Toxizität der Sulfoxide wird als gering eingestuft [Jeblick, 1975].

2,4,6-Trimercaptotriazin wird aufgrund seiner guten Komplexbildungskonstante gegenüber Schwermetallen in der Abwasserreinigung zum Abfangen dieser Ionen aus komplexbildnerhaltigen Abwässern [Falbe u. Regitz, 1995].

Thioglycolsäure ist Ausgangsprodukt bei der Herstellung von Keratolytika (Inhaltsstoffe von Dermatika und Hautpflegemitteln, die verhärtete Haut entfernen.), wird aber vor allem in Form seiner Natrium- und Ammoniumsalze als Haarbehandlungsmittel und zur Permanentverformung von Wollwaren sowie in der Gerberei zur Enthaarung von Fellen eingesetzt. Höhere Ester dienen als Weichmacher in Polyolefinen und als Antioxidantien in der Textil-, Kunstharz- und Kautschukindustrie [Falbe u. Regitz, 1995].

1.4 Stickstoff

Nach Kohlenstoffverbindungen sind Stickstoffverbindungen im kommunalen Abwasser nach Menge und Bedeutung die wichtigste Stoffgruppe. Es treten sowohl organische als auch anorganische Stickstoffverbindungen auf. Elementar gelöst hat Stickstoff keine Bedeutung für das Abwasser. Stickstoff liegt in unterschiedlichen Oxidationsstufen vor. Die Oxidationsstufen der anorganischen Verbindungen sind in Abb. 1 aufgeführt. Die niedrigste Oxidationsstufe - III liegt in Form von Ammoniumverbindungen vor und die höchsten Oxidationsstufe + V in Form von Nitraten.

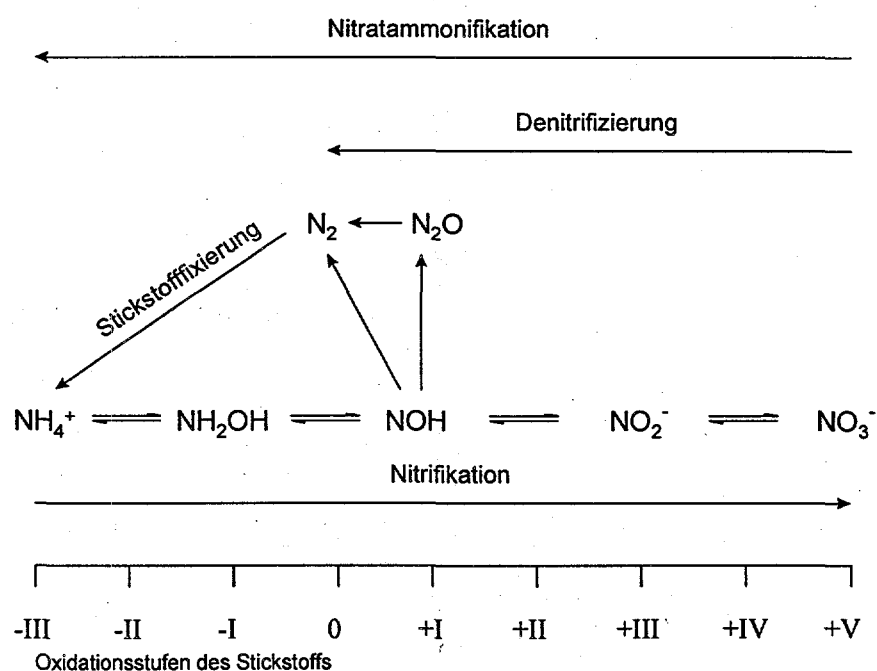


Abb. 1 Oxidationsstufen anorganischer Stickstoffverbindungen

Ins kommunale Abwasser gelangt Stickstoff hauptsächlich in Form reduzierter Stickstoffverbindungen, wie Harnstoff und Proteine. Der Haupteintragspfad sind die menschlichen Ausscheidungen. Harnstoff wird teilweise schon im Kanalnetz zu Ammonium abgebaut. Ammonium und Harnstoff machen einen Anteil von ca. 70 % am Gesamtstickstoff des kommunalen Abwassers aus. Weitere häufig auftretende natürliche organische Stickstoffverbindungen im kommunalen Abwasser sind Creatinin, Hippursäure, Aminosäuren, Amin-, Indol-, Porphyrin- und Purinderivate [Koppe u. Stozek, 1993]. Die Aminosäuren liegen im ungereinigten Abwasser größtenteils gebunden als Bausteine von Proteinen und Polypeptiden vor. Als Einzelsubstanzen treten Glycin, Leucin und Glutaminsäure in Konzentrationen von 1 - 20 mg/l auf [Koppe u. Stozek, 1993].

Die Konzentrationen von natürlichen Stickstoffverbindungen, die in Konzentrationen größer 1 mg/l ins kommunale Abwasser eingetragen werden, sind in Tab. 3 aufgeführt.

Tab. 3 Natürlich gelöste organische stickstoffhaltige Makrostoffe (Konzentrationen > 1mg/l) im kommunalen Abwasser [Koppe u. Stozek, 1993]

Einzelsubstanz	Summenformel	Konzentrationsbereich [mg/l]
Harnstoff	CH_4ON_2	50-300
Creatinin	$\text{C}_4\text{H}_7\text{ON}_3$	5-30
Hippursäure	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3\text{N}$	4-16
Harnsäure	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4$	2-10
Glycin	$\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{N}$	2-10
Leucin	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}$	1-2
Glutaminsäure	$\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_4\text{N}$	1-2

Nitrat und Nitrit im Zulauf kommunaler Kläranlagen stammen hauptsächlich aus dem gewerblichen, industriellen und landwirtschaftlichen Bereich. Die Einträge der oxidierten Stickstoffverbindungen ins kommunale Abwasser sind im Vergleich zu den reduzierten Verbindungen in der Regel sehr gering.

Stickstoffverbindungen können je nach Oxidationsstufe und pH-Wert als Nährstoffe, Zehrstoffe und Giftstoffe auf das Oberflächengewässer und die aquatische Lebensgemeinschaft wirken. Stickstoff ist ein essentielles Element zum Aufbau organischer Materie, da es zur Bildung von Aminosäuren benötigt wird. Gelangen Stickstoffverbindungen in das Gewässer, so wirken sie als Nährstoffe, die in Form von Nitrat und Ammonium von den Pflanzen aufgenommen werden und somit zur Eutrophierung der Gewässer beitragen. Ammonium ist des

Weiteren stark sauerstoffzehrend. Ammonium liegt mit freiem Ammoniak in einem temperatur- und pH-Wert-abhängigen Gleichgewicht vor. Liegt bei pH 8 der Anteil des freien Ammoniaks lediglich bei 4 %, so beträgt der Anteil bei pH 9 schon 30 %. Ein pH-Wert von 9 kann in den Sommermonaten in Gewässern mit geringer Pufferkapazität durch verstärkte Photosynthese und der damit verbundenen Verringerung an freier Kohlensäure erreicht werden. Konzentrationen von 0,4 mg/l freiem Ammoniak sind für Jungfische bereits toxisch [Neitzel u. Iske, 1998]. Höhere Konzentrationen an Nitrit, die durch eine gestörte Nitrifikation auftreten können, sind ebenfalls stark fischtoxisch.

Hohe Nitratwerte in Oberflächenwässern können zu hohen Nitratwerten im Trinkwasser führen. Dies ist aus gesundheitlichen Gründen unerwünscht. Das Reduktionsprodukt des Nitrats, das Nitrit, kann im Magen/Darmtrakt mit organischen sekundären Aminen zu krebserregenden, mutagenen und teratogenen N-Nitrosaminen reagieren. Mit Nitrit kommt es auch zur Bildung von Methämoglobin. An das im Methämoglobin enthaltene dreiwertige Eisen kann kein Sauerstoff mehr angelagert werden. Ab einem Methämoglobingehalt im Blut von 20 % entsteht das Krankheitsbild der Methämoglobinämie, auch Blausucht genannt. Davon sind vor allem Säuglinge in den ersten Lebensmonaten betroffen, da bei ihnen die Methämoglobin-Reduktaseaktivität gehemmt ist.

Vor allem diese sauerstoffzehrenden, fischtoxischen und eutrophierend wirkenden Eigenschaften der Stickstoffverbindungen machen eine weitergehende Abwasserreinigung notwendig.

Die Stickstoffeliminierung in der Kläranlage erfolgt durch die Denitrifikation. Die Denitrifikation wird mit der Nitrifikation kombiniert. Bei der Nitrifikation wird der reduzierte Stickstoff über Nitrit zum Nitrat oxidiert. In der anschließenden Denitrifikationsstufe wird das Nitrat zu elementarem Stickstoff reduziert.

Die Effektivität der Nitrifikation und Denitrifikation wird im Abwasser des Ablaufs der Kläranlage über die Messung von Nitrat, Nitrit und Ammonium überwacht. Die Messung von Nitrat, Nitrit und Ammonium zur Überwachung der Einleitungsstelle ist in der Abwasserverordnung vorgegeben. Die Einhaltung des Stickstoffeintrags in die Kläranlage ist aber auch über die Messung des Summenparameters Gesamtstickstoff, also unter Berücksichtigung des Anteils an organischen Stickstoff möglich.

1.4.1 Stickstoffhaltige Xenobiotika im kommunalen Abwasser

Neben den in Kapitel 1.4 aufgeführten natürlichen, organischen Stickstoffverbindungen, die vor allem über die menschlichen Ausscheidungen ins Abwasser gelangen, finden sich im

Abwasser auch viele stickstoffhaltige Xenobiotika. Die Herkunft und Verwendung einiger der wichtigsten Vertreter dieser Substanzklassen werden im folgenden kurz dargestellt.

1.4.1.1 Nitroverbindungen

Nitrophenole und Nitrobenzole finden als Zwischenprodukte bei der Herstellung von Farben, Pestiziden, Pharmaka und anderen chemischen Produkten eine breite Anwendung, die nach der Anwendung der Wirksubstanzen [Lacorte u. Barceló, 1994] und bei der Abwasserreinigung wieder freigesetzt werden können [Nishikawa u. Okumura, 1995]. Diese Substanzen können zu einer kontinuierlichen Belastung des Vorfluters führen. Bei einem Screening nach 2-Nitrophenol und 4-Nitrophenol in Berliner Oberflächengewässern wurden diese beiden Substanzen in mehr als der Hälfte der Proben in Konzentrationen von 40 ng/l bis zu 340 bzw. 600 ng/l nachgewiesen. Ein direkter Zusammenhang zwischen den hohen Konzentrationen und der Einleitung von kommunalen Kläranlagengewässern konnte bei dieser Studie jedoch nicht erkannt werden. Die hohe Belastung der Oberflächengewässer mit diesen beiden einfach substituierten Nitrophenolen wurde auf die Belastung der Atmosphäre mit Autoabgasen zurückgeführt [Schmidt-Bäumler u. a., 1999].

Nitromoschusverbindungen

Strukturell handelt es sich bei den Nitromoschusverbindungen um mehrfach substituierte Nitroaromaten, die in Waschmitteln, Seifen, Detergentien und Lotionen als Duftzusatzstoffe Anwendung finden. In der Ruhr wurden von Eschke u. a. Maximalwerte an Moschus-Keton von 80 ng/l und von Moschus-Xylol von 30 ng/l nachgewiesen [Eschke u. a., 1994]. Heberer u. a. konnte in Berliner Oberflächengewässern in 19 von 30 Proben maximal 390 ng/l Moschus-Keton nachweisen, Moschus-Mosken und Moschus-Xylen wurden nur in einer Probe mit 170 bzw. 180 ng/l nachgewiesen [Heberer u. a., 1999]. Die analysierten Konzentrationen in biologisch gereinigten Abwässern betrugen im Mittel für Moschus-Xylol 120 ng/l und für Moschus-Keton 630 ng/l. Akute Toxizität der Nitromoschusverbindung tritt erst bei Konzentrationen auf, die über der Wasserlöslichkeit der Verbindungen liegen [Schramm u. a., 1996]. Aufgrund ihrer hohen Lipophilie kommt es bei Nitromoschusverbindungen zur Bioakkumulation, wodurch auch geringe Konzentrationen im Wasser chronische Toxizitäten verursachen können. Die lipophilen Verbindungen belasten bei der kommunalen Abwasserreinigung vor allem den Klärschlamm und reichern sich dort an. Bei der anaeroben Schlammstabilisierung kommt es zur partiellen Reduktion der Nitrogruppen. Die entstehenden Aminoverbindungen weisen eine wesentlich erhöhte Toxizität auf [Behechti u. a., 1998]. Aufgrund der genannten Nachteile der Nitromoschusverbindungen geht die Industrie dazu über

diese Verbindungen durch polycyclische Moschusverbindungen zu ersetzen [Heberer u. a., 1999].

Nitroverbindungen aus Rüstungsalzlasten

Hohe Belastungen an relativ unpolaren Nitroverbindungen, wie z.B. Nitrobenzol, Nitrotoluol und Nitroanilin finden sich im Grundwasser und Boden in der Nähe von Rüstungsalzlast-Standorten [Schmidt u. a., 1997], [Schmidt u. a., 1998], [Levsen u. a., 1993]. Levsen u. a. konnten bis zu 11 µg/l 2,4,6-Trinitrotoluol in Oberflächengewässern in der Nähe einer ehemaligen Munitionsfabrik nachweisen [Levsen u. a., 1993].

1.4.1.2 Amine

Auch die Vielzahl der aliphatischen, cyclischen und aromatischen Amine sind zum großen Teil anthropogenen Ursprungs. Sie können als Metabolite von chemischen Produkten, wie z. B. den PBSM in Gewässern nachgewiesen werden [Börnigk u. a., 1996]. Amine weisen zum Teil ein hohes gentoxisches und kanzerogenes Potential auf [Börnigk u. a., 1996]. Bei Anwesenheit von nitrosierenden Reagenzien, wie z. B. Nitrit, kann es mit sekundären Aminen - wie oben erwähnt - zur Bildung von cancerogenen Nitrosaminen kommen. Für eine Vielzahl weiterer Industriechemikalien werden Amine als Rohstoffe eingesetzt oder bilden Zwischenprodukte bei der Herstellung unterschiedlicher Produkte aus den Bereichen der pharmazeutischen Produktion, Farbstoffproduktion, Polymersynthese, Kosmetika- und Korrosionsschutzherstellung. Die aus diesen Produkten wieder freigesetzten Amine weisen in der Regel eine höhere Polarität als die ursprünglichen Substanzen auf und besitzen daher eine erhöhte Löslichkeit in der wässrigen Phase. Von Sacher u. a. liegen Werte bezüglich von niedermolekularen aliphatischen und alicyclischen Stickstoffverbindungen in industriellem Abwasser vor. So konnte er nach Derivatisierung mit 2,4-Dinitrofluorbenzol bis zu 70 µg/l des sekundären Dimethylamins, 30 µg/l des acyclischen Morpholins und 60 µg/l Ethanolamin nachweisen [Sacher u. a., 1997].

1.4.1.3 Komplexbildner

Eine weitere Gruppe von Stickstoffverbindungen, die im kommunalen Abwasser vorzufinden sind, sind Aminopolycarbonsäuren, wie z. B. Ethylendiamintetraacetat (EDTA), Nitrilotriacetat (NTA) und Diethylentriaminpentaacetat (DTPA), die als Komplexbildner vor allem in Waschmitteln und Körperpflegemitteln, aber auch in Lebensmitteln eingesetzt werden. Wei-

terhin finden sie Anwendung in der Foto-, Textil- und Papierindustrie. Aminopolycarbonsäuren werden in Waschmitteln als Ersatzprodukte für die früher verwendeten Triphosphate eingesetzt. Besonders häufig werden dabei EDTA und inzwischen NTA eingesetzt. Aufgrund der breiten Anwendung und der geringen biologischen Abbaubarkeit, vor allem von EDTA und DTPA [Kari, 1994], werden die Komplexbildner ubiquitär in der aquatischen Umwelt im µg/l Bereich nachgewiesen. Die schlechte Abbaubarkeit von EDTA führte zum teilweisen Ersatz durch das biologisch besser abbaubare NTA.

Die Konzentrationen im Abwasser kommunaler Kläranlagen liegen für EDTA zwischen 0,6 bis 150 µg/l [Fooker u. a., 1997]. Humantoxikologisch ist EDTA unbedenklich, es wird z. B. bei Schwermetallvergiftungen als Antidot intravenös gespritzt [Kari, 1994], jedoch ist es wasserwerks- und trinkwassergängig [Fooker u. a., 1997]. Anthropogene Verunreinigungen des wichtigsten Lebensmittels Wasser sind grundsätzlich zu vermeiden.

1.4.1.4 Quartäre Ammoniumverbindungen

Quartäre Ammoniumverbindungen (QAV) werden wegen ihrer sowohl hydrophilen Eigenschaften - polare Ammoniumgruppen, als auch ihren gleichzeitig hydrophoben Eigenschaften - unpolarer Alkylreste am Stickstoff, als oberflächenaktive Substanzen vielfältig eingesetzt. Der Verbrauch in Deutschland an kationischen Tensiden betrug im Jahr 1997 11.000 t [Nitschke, 1999]. Im gleichen Zeitraum wurden 128.000 t anionische und 78.000 t nichtionische Tenside verwendet.

Kationische Tenside aus der Gruppe der Alkyldimethylbenzylammoniumverbindungen und kurzkettige Dialkyldimethylammoniumverbindungen wirken bakterizid und werden in Desinfektionsmitteln und Fungiziden eingesetzt [Emmrich u. a., 1990], [Fabry, 1991]. Sie sind giftig für die Fischfauna. Der LC₅₀-Wert für Alkyl(C14-C16)dimethylbenzyl-ammoniumchlorid liegt nach Richardson zwischen 0,62 und 2,45 mg/l.

Ein Hauptabsatzmarkt für kationische Tenside ist die Waschmittelindustrie. Hier werden die QAV als Weichspüler eingesetzt. Der überwiegende Rohstoff für Weichspüler war bis 1991 zu 80 % Ditalg(C16-C18)dimethylammoniumchlorid (DTDMAC). Da DTDMAC unter anoxischen Bedingungen nicht biologisch abbaubar ist und es zur Anreicherung von DTDMAC in anaerob stabilisierten Schlämmen kam, wurde nach Ersatzstoffen gesucht [Fernandez u. a., 1996]. Bei den seit 1991 in Waschmitteln eingesetzten Ersatzstoffen handelt es sich um quartäre Ammoniumverbindungen mit langen Alkylresten, die über Esterbindungen an das Restmolekül gebunden sind [Puchta u. a., 1993] und als „Esterquats“ bezeichnet werden. Die Esterbindungen stellen chemische 'Sollbruchstellen' dar, so dass die Esterquats in leicht abbaubare Fettsäuren und die entsprechenden Ammoniumalkohole gespalten werden.

Da die QAV aufgrund ihrer Oberflächenaktivität stark an Oberflächen adsorbieren, was sich auch in dem hohen Verteilungskoeffizienten von 10^6 l/kg bezogen auf das System Schwebstoff/Wasser [Hellmann, 1995] zeigt, finden sich in der Literatur in erster Linie Arbeiten, die sich mit der Quantifizierung der QAV in Klärschlamm, Schwebstoffen und Sedimenten beschäftigen [Hellmann, 1995], [Fernandez u. a., 1996]. In Arbeiten von vor 1991 findet man auch Angaben zu einzelnen QAV im Kläranlagenablauf. Die angegebenen Konzentrationen liegen zwischen 1 µg/l [Matthijs u. Henau, 1987] bis 20 µg/l [Wee, 1984], [Kupfer, 1982].

1.4.1.5 Azofarbstoffe

Azofarbstoffe entstehen durch Diazotierung von Aminen mit substituierten aromatischen Phenylringen bzw. Naphthalinsystemen. Bei den Substituenten handelt es sich um saure Sulfonsäuregruppen, die für die gute Wasserlöslichkeit dieser Verbindungen sorgen sind (siehe Kapitel 1.3.2.6). Mit aufgestocktem kommunalen Abwasser konnten Edlund u. a. mit LC-MS für drei Azofarbstoffe Nachweisgrenzen von 50 - 150 µg/l erreichen [Edlund u. a., 1989]. Durch Reduktion der Azofarbstoffe in der Umwelt entstehen Amine. Aufgrund des hohen Toxizitätsgrades, der starken allergenen Wirkung sowie des nachgewiesenen kanzerogenen Potentials vieler Amine gilt seit dem 15. Juli 1994 die 2. Verordnung zur Änderung der Bedarfsgegenständeverordnung im Sinne des § 5 Abs.1 Nr. 6 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-Gesetzes. Nach einer Übergangszeit wird die Verwendung von Azofarbstoffen, bei denen bestimmte Amine mit cancerogenem Potential entstehen, verboten [Bundesgesetzblatt, 1994].

1.4.1.6 Stickstoffhaltige Pflanzenbehandlungs- und Schädlingsbekämpfungsmittel (PBSM)

Stickstoffhaltige Verbindungen finden sich auch zahlreich unter den PBSM, wobei besonders die große Gruppe der Carbamate und Phenylharnstoffderivate und die heterocyclischen Stickstoffverbindungen wie z.B. die Triazine zu erwähnen sind. Im Verzeichnis der Wirkstoffe in zugelassenen Pflanzenschutzmitteln finden sich von den insgesamt etwa 240 Wirkstoffen 178 stickstoffhaltige, mit Stickstoff sowohl in reduzierter als auch oxidierte Form [Hoffmann, 1995]. Ein erheblicher Eintrag von PBSM in die Kläranlagen ist auf die unsachgemäße Handhabung der PBSM seitens der landwirtschaftlichen Anwender zurückzuführen [Mohaupt u. a., 1997] (siehe Kapitel 1.3.2.1).

Im Rahmen eines Forschungsvorhabens am Institut für Siedlungswasserbau wird die Bedeutung des punktförmigen Eintrags von PBSM aus landwirtschaftlichen Hofabläufen für die PBSM-Belastung des Bodensee-Zuflusses Seefelder Aach untersucht [Projekt LfU, 1999]. Hierzu wird unter anderem der Ablauf mehrerer kommunaler Kläranlagen kontinuierlich beprobt. In Voruntersuchungen konnten im Ablauf der Kläranlage Frickingen bis zu 14 µg/l des Totalherbizides Diuron und in der Kläranlage Grasbeuren bis zu 4 µg/l Pirimicarb, ein Insektizid aus der Gruppe der Carbamate, nachgewiesen werden. Dies entspricht einer PBSM-Fracht von 34 bzw. 12 g/d.

Neben den Wirkstoffen können auch die Abbauprodukte der PBSM eine Umweltbelastung darstellen. So wirkt z. B. das Abbauprodukt des Organophosphorpestizides Fenitrothion, 3-Methyl-4-nitrophenol, toxisch auf aquatische Organismen [Jauregui u. a., 1997], [Tesarova u. a., 1995], [Lacorte u. Barceló, 1994].

2 Summarische Bestimmung Schwefel

2.1 Stand der Technik

In den letzten Jahren wurden bereits Verfahren zur Bestimmung eines Gruppenparameters AOS (Summe an Aktivkohle adsorbierbarer organischer Schwefelverbindungen) entwickelt [Brandt u. a., 1987] [Schnitzler u. a., 1982]. Die existierenden Verfahren zur AOS-Bestimmung lehnen sich in allen Schritten an das praktizierte AOX-Verfahren an. Die Inhaltsstoffe einer Wasserprobe (20-100 ml Probenvolumen) werden dementsprechend an Aktivkohle adsorbiert, die Aktivkohle zur Verdrängung von Sulfat mit Nitrat- bzw. Oxalatlösung gewaschen und die beladene Aktivkohle unter Normaldruck im Sauerstoffstrom verbrannt. Die Verbrennungsgase werden durch eine alkalische Wasserstoffperoxidlösung geleitet, in der das bei der Verbrennung entstehende SO_2/SO_3 -Gemisch absorbiert und vollständig in Sulfat überführt werden soll. Die Detektion des Sulfates erfolgt entweder ionenchromatographisch oder mikrocoulometrisch durch Überführung des Sulfats in SO_2 , dessen Konzentration über eine Reduktion von Chlorat zu Chlorid bestimmt werden kann.

Aus folgenden Gründen gab es aber Probleme bei der Wiederfindung sowie bei der Präzision und der Vergleichbarkeit von Messwerten, die bei Anwendung unterschiedlicher, zum Teil aber auch bei Anwendung identischer Verfahren erhalten wurden [Randt u. a., 1997] [DIN NAW1/W1-UA 3 AK 10 "AOS", 1996]:

Der Adsorptionsgrad schwefelorganischer Verbindungen an Aktivkohle variiert in Abhängigkeit von strukturbedingten Eigenschaften (zum Beispiel der Polarität) und von den Anreicherungsbedingungen (vor allem des pH-Wertes) von 0 bis 100 Prozent. Durch die Wahl einer bestimmten Adsorptionsphase, hier Aktivkohle, und der Anreicherungsbedingungen wird bereits die Erfassung einiger Substanzklassen ausgeschlossen. Nach einer Vorauswahl von Substanzen bzw. Substanzklassen, die aufgrund ihrer Gewässerrelevanz bevorzugt zu erfassen sind, kann aber versucht werden, die Anreicherungsbedingungen für diese zu optimieren. Eine sicherlich relevante Stoffgruppe stellen aufgrund ihrer Eintragsmenge und der geringen biologischen Abbaubarkeit mehrerer Einzelkomponenten die aromatischen Sulfonsäuren dar.

Auch bei Substanzen, die sich nahezu vollständig auf Aktivkohle anreichern lassen, konnte bezüglich des Gesamtverfahrens keine quantitative Wiederfindung erreicht werden. Bei der Verbrennung der Schwefelorganika entsteht ein SO_2/SO_3 -Gemisch, aber nur SO_2 ist unter

Normaldruck im wässrigen Medium absorbierbar und damit coulometrisch bzw. ionenchromatographisch detektierbar. Das SO_2/SO_3 -Gleichgewicht ist im wesentlichen von der Temperatur, dem Sauerstoffpartialdruck, von der Struktur der Substanzen sowie der Probenmatrix abhängig. Auf der Basis theoretischer Berechnungen kann die Temperatur und der Sauerstoffpartialdruck mit entsprechendem technischen Aufwand so eingestellt werden, dass die SO_2 -Ausbeute maximal wird [Sander u. a., 1975]. Dagegen ist die Abhängigkeit von der Struktur und der Matrix in den Verbrennungsöfen, wie sie auch für das AOX-Verfahren verwendet werden, weder steuer- noch reproduzierbar. Zudem führt die Adsorption von Schwefelverbindungen an das Quarzrohr der Verbrennungsapparatur zu Verlusten. Durch Veränderungen an den herkömmlichen AOX-Apparaturen, wie die Verkleinerung und Beheizung der Glasoberflächen der Überführungskapillaren vom Verbrennungsrohr in die Absorptionslösung, konnten diese Effekte vermindert, aber nicht beseitigt werden.

Ein weiteres Problem stellt die Verfügbarkeit und der Preis von schwefelarmer Aktivkohle dar. Allerdings existiert ein Verfahren, das von Schnitzler entwickelt wurde, mit dem aus Zucker eine Aktivkohle hergestellt wird, die den methodisch bedingten Anforderungen hinsichtlich Korngrößenverteilung, Iodzahl und Schwefelgehalt genügt [Schnitzler, 1989]. Dieses Verfahren wurde auch großtechnisch umgesetzt, aber die Produktion aufgrund der mangelnden Nachfrage wieder eingestellt.

Einen anderen Ansatz zur summarischen Bestimmung von organischen Schwefelverbindungen wählten Binde und Rüttinger [Binde u. a., 1997]. Sie isolierten die Schwefelorganika durch Ionenpaarextraktion aus der wässrigen Matrix und quantifizierten den organisch gebundenen Schwefel nach thermischer Hydrierung im Wasserstoffstrom zu Schwefelwasserstoff mittels flammenphotometrischer Detektion (FPD). Über die Robustheit und etwaige Störungen dieser Detektionsmethode gibt es außer den Erkenntnissen der obengenannten Entwickler keine weiteren Erfahrungen. Die Ionenpaarextraktion wurde auch in dieser Arbeit getestet. Die Ergebnisse sind im Kapitel 7.3.3 zusammengefasst.

2.2 Neue Verbrennungstechnik zur Erzielung quantitativer Wiederfindungsraten für den adsorbierten organisch gebundenen Schwefel

Die Anreicherung auf Aktivkohle wurde im Rahmen dieser Arbeit beibehalten, da Aktivkohle eine der universellsten Anreicherungsphasen ist, die derzeit zur Verfügung stehen. Dies haben die Anreicherungsversuche, die in anderen Forschungsarbeiten durchgeführt wurden [Brandt, 1987], und eigene Versuche, die in Kapitel 7.3.3 und 2.5.7 beschrieben werden,

bewiesen. Deshalb wurde versucht, die Bedingungen bei der Verbrennung der beladenen Aktivkohle so zu verändern, dass quantitative Wiederfindungsraten für den adsorbierten organischen Schwefel gewährleistet sind. Der Aufschluss der Aktivkohle wurde bei hohem Sauerstoffpartialdruck in einer Kalorimeterbombe durchgeführt, die bereits erfolgreich zur Schwefelgehaltsbestimmung von Feststoffen eingesetzt wurde [Albrich u. a., 1994] [Albrich u. a., 1995]. Theoretisch sollte sich unter diesen Bedingungen das SO_2/SO_3 -Gleichgewicht vollständig auf die SO_3 -Seite verlagern, wobei aufgrund des hohen Drucks und der hohen Temperatur eine quantitative Absorption von SO_3 in der am Boden des Aufschlussgefäßes vorgelegten Natriumhydroxidlösung zu erwarten ist [Sander, Rothe u. a., 1975]. Die Verlagerung des Gleichgewichts wird nach den bisherigen Erfahrungen durch das katalytische Inlet aus V_2O_5 (Katalysator des Kontaktverfahrens) noch unterstützt.

2.3 Materialien und Methoden

Materialien

Schwefelarme Aktivkohle

Haberkorn & Braun, München

Die Iodzahl und die Korngrößenverteilung der Aktivkohle entspricht den in der DIN H14 gestellten Anforderungen an Aktivkohle, die für das AOX-Verfahren verwendet werden sollte.

Quarzcontainer

IDC-Produktentwicklungs GmbH,
Langewiesen

Adsorptionsmodule

IDC-Produktentwicklungs GmbH,
Langewiesen

Zünddraht

Ident.-Nr 0749601, IKA-Werke, Staufen

Sauerstoff 5.0

AGA Gas-GmbH, Hamburg

Amicon Ultrafiltrationsmembranen:

YC 500 NMGG, Ø 90 mm, Zelluloseacetat

Best.-Nr. 13051, Millipore GmbH,
Eschborn

YM 1000 NMGG, Ø 90 mm, regenerierte
Zellulose

Best.-Nr. 13051, Millipore GmbH,
Eschborn

GF6 Glasfaser Rundfilter, Ø 55 mm

Schleicher & Schuell, Dassel

Anionenaustauschersäule zur Ionenchromatographie A 14A (4x250 mm)

P/N 46124, Dionex, Idstein

Geräte

Spritzenpumpe AP-3

IDC-Produktentwicklungs GmbH,
Langwiesen*Aufschlusssystem AOD 1 für den Halogen-
und Schwefelaufschluss*
bestehend aus:

Ident.-Nr. 8800800, IKA-Werke, Staufen

AOD 1.1 IKA-Aufschlussgefäß

Ident.-Nr. 7058000

C 7048 IKA-Sauerstoffstation zum Befüllen

Ident.-Nr. 7039000

und Entlüften der Aufschlussgefäße

AOD 1.2 IKA-Fernzündgerät

Ident.-Nr. 7062100

C 7048.1 Gaswaschflasche, zur Absorption

Ident.-Nr. 7037400

der Verbrennungsgase beim Entlüften des
Aufschlussgefäßes

Ionenchromatograph DX-100

Dionex, Idstein

2.4 Praktische Durchführung des Gesamtverfahrens

Zur Bestimmung des AOS wurden Proben aus Abläufen verschiedener kommunaler Kläranlagen aus dem Raum Stuttgart gesammelt. Dabei handelte es sich sowohl um Stich- als auch um 24-Stunden-Mischproben. Die Proben wurden mit einem neu entwickelten Verfahren, das aus folgenden Schritten besteht, gemessen:

1. Adsorptionsschritt nach der Säulenmethode

Die Extraktion der organischen schwefelhaltigen Verbindungen erfolgt in Anlehnung an die "Säulenmethode", wie sie nach DIN 38409 H14 zur Bestimmung des AOX durchgeführt wird. Die Proben werden vor der Adsorption mit konzentrierter Salpetersäure auf pH 2 angesäuert.

Die Packung der Quarzsäulchen mit Aktivkohle für den Adsorptionsschritt ist in Abb. 2 dargestellt. Die Quarzsäulchen werden dann in ein Adsorptionsmodul eingelegt (siehe Abb. 3). Das obere Röhrchen ist mit ca. 50 das untere Röhrchen mit ca. 30 mg schwefelarmer Aktivkohle gefüllt. Die Aktivkohle wird exakt in die Quarzcontainer eingewogen und die Einwaagewerte zur späteren Berechnung des Blindwertes notiert. Die wässrige Probe wird mit einer 50 ml Polyethylenspritze aufgenommen und mit einer Spritzenpumpe über die Aktivkohle-

säulchen gedrückt. Das Anreicherungsvolumen beträgt 100 ml bei DOC-Werten bis 10 mg/l und 50 ml bei höheren Werten.

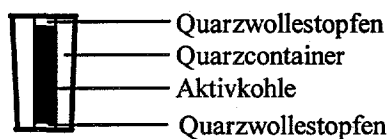


Abb. 2 Packung der Quarzcontainer mit Aktivkohle

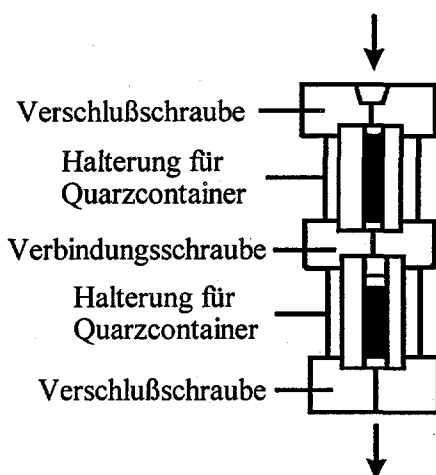


Abb. 3 Adsorptionsmodul mit gepackten Quarzcontainern

2. Waschschrift

Um das anorganische Sulfat, das zu Überbefunden führt, von der Aktivkohle zu verdrängen, werden die Aktivkohlesäulchen mit 50 ml einer 100 mM Acetatlösung gewaschen. Der Waschschrift erfolgt entsprechend dem Anreicherungsschrift, mit dem Unterschied, dass die Waschlösung über die Aktivkohlesäulchen gedrückt wird.

3. Gefriertrocknung der feuchten beladenen Aktivkohle

Um beim Aufschluss reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, muss die Kohle jeweils den gleichen Trocknungsgrad aufweisen. Dies wird durch eine Gefriertrocknung der beladenen Aktivkohle erreicht. Dazu werden die Aktivkohlesäulchen aus dem Adsorptionsmodul genommen und eine Stunde in der Probenkammer der Gefriertrocknungsanlage bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ Stellflächentemperatur eingefroren. Danach wird in der Probenkammer ein Vakuum von 0,220 mbar erzeugt. Die Stellflächentemperatur wird auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ erhöht. Vor der Gefriertrocknung wird die überschüssige Feuchtigkeit mit Stickstoff von den Aktivkohlesäulchen gepresst, wodurch der Gefriertrocknungsprozess beschleunigt wird.

4. Oxidativer Druckaufschluss der beladenen Aktivkohle

Die trockene Aktivkohle wird aus den Quarzcontainern in einen Quarztiegel überführt. In der Bombe werden 20 ml 0,125 N Natronlauge und 200 µl 35%ige H_2O_2 -Lösung als Absorptionslösung vorgelegt. Das Verbrennungsgut wird mit einem Zünddraht kontaktiert und die Bombe nach Verschluss mit 30 bar Sauerstoff beaufschlagt. Die für die Zündung der Probe notwendige Energie wird von einem Transformator (230 V; 50/60 Hz) erzeugt, der über einen Zündkopf mit den Zündelektroden verbunden ist.

5. Sulfatbestimmung mit Ionenchromatographie

Um eine Überladung der Anionenaustauschersäule mit Hydroxydionen zu vermeiden, wird die Absorptionslösung 1:2 verdünnt. Die ionenchromatographische Trennung wird isokratisch mit einem wässrigen $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Eluenten (1/3,5 mM) durchgeführt.

Eine Übersicht über das Gesamtverfahren gibt Abb. 4. Zur Blindwertbestimmung der eingesetzten schwefelarmen Aktivkohle werden nur die Schritte 4 und 5 durchgeführt. Dazu werden 100 mg Aktivkohle eingesetzt. Zur Bestimmung des Verfahrensblindwertes sind nur die Schritte 2 bis 5 notwendig.

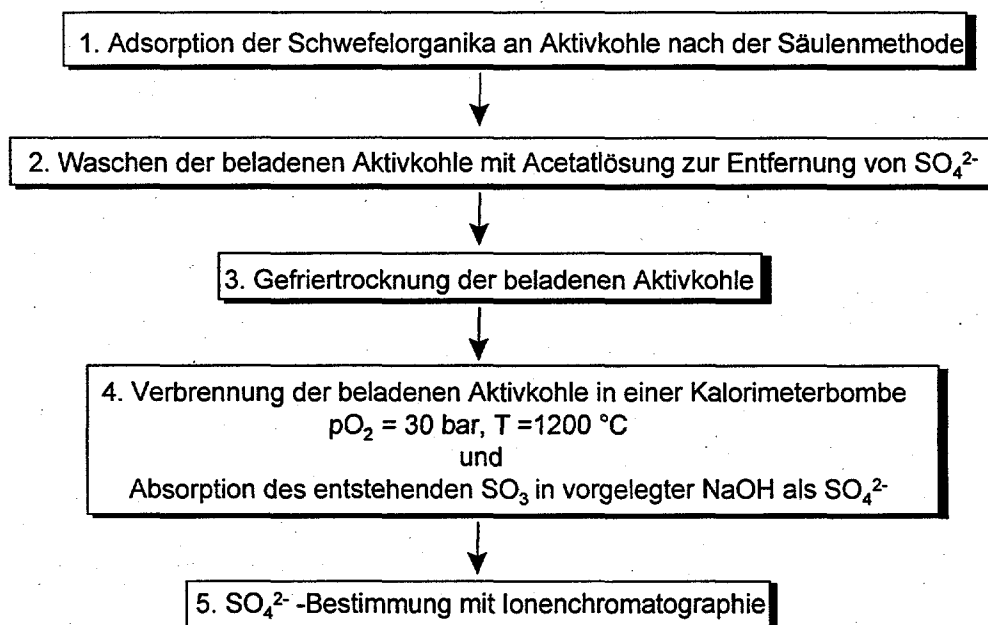


Abb. 4 Schema des Verfahrens zur Bestimmung des AOS mit dem oxidativen Druckaufschluss

Optional wird zur Abtrennung von Feststoffen eine Filtration über Glasfasermaterial und zur Fraktionierung der Wasserinhaltsstoffe nach Molekülgröße eine Ultrafiltration durchgeführt.

Vor Gebrauch ist die Ultrafiltrationsmembran zur Entfernung von Stabilisatoren wie Azid zunächst zu reinigen. Dies geschieht in einer Ultrafiltrationszelle unter 3,9 bar Druck, indem durch die Membran destilliertes Wasser strömt. Die zu filtrierende Probe wird, um Verluste von hydrophoben Substanzen durch Adsorption an die Membran zu vermeiden, mit 7,5 Volumenprozent Methanol versetzt. Es werden 200 ml Probe vollständig bei 3,9 bar Druck filtriert, um zeitabhängige An- bzw. Abreicherungs effekte von Substanzen im Filtrat aufgrund molekulargewichtsabhängiger Diffusionskoeffizienten zu vermeiden.

2.5 Ergebnisse zum Gruppenparameter AOS

2.5.1 *Blindwert für die eingesetzte Aktivkohle*

Der Blindwert für die verwendete Aktivkohle bezüglich Schwefel betrug $0,24 \pm 0,02 \mu\text{g}/\text{mg}$. Der im Vergleich zu Messungen nach dem AOX-Verfahren hohe Blindwert resultiert daraus, dass auch schwerlösliche Sulfate, die sich als Verunreinigungen in der Kohle befinden, unter diesen Verbrennungsbedingungen miterfasst werden.

2.5.2 *Verfahrensblindwert*

Es zeigte sich, dass mit Acetatwaschlösungen weitaus bessere Verfahrensblindwerte zu erzielen sind als mit Nitratwaschlösungen, wie sie beim AOX-Verfahren verwendet werden. Der Verfahrensblindwert war mit $0,26 \mu\text{g}/\text{mg} \pm 2,1\%$ nur unwesentlich höher als der Blindwert, der aus dem Schwefelgehalt der Aktivkohle resultiert.

Aufgrund des hohen Blindwertes der Aktivkohle war es notwendig, diese für jede Messung exakt einzuwiegen. Der Blindwert für eine Messung ergibt sich aus der Einwaage multipliziert mit dem Verfahrensblindwert (siehe Tab. 4, Spalte 2).

2.5.3 *Test des Gesamtverfahrens*

Das Gesamtverfahren wurde mit einem Toluolsulfonsäurestandard getestet. Toluolsulfonsäure lässt sich auf Aktivkohle mit einer Wiederfindungsrate größer 95% anreichern. Die Messwertverteilung und die daraus resultierende Standardabweichung sind in Tab. 4 dargestellt.

Die relativ hohe Standardabweichung des Verfahrens kommt dadurch zustande, dass der Blindwert des Verfahrens und die absolute Schwefelkonzentration der beladenen Kohle die

gleiche Größenordnung haben. Durch die Verwendung einer reineren Aktivkohle könnte sowohl die Präzision als auch die Nachweisgrenze verbessert werden.

Tab. 4 Anreicherung von 50 ml eines 1,2 mg/l Toluolsulfonsäurestandards auf 85 mg Aktivkohle (BW: Blindwert, WF: Wiederfindung, MW: Mittelwert, s: Standardabweichung)

	S-Konz. abs. (BW Kohle + AOS) [µg]	BW Kohle [µg]	Differenz (AOS abs.) [µg]	WF [µg]	MW WF (Messung 1-3) [µg]	S (Messung 1-3) [µg]
1	32,9	22,7	10,2	101,8		
2	32,3	22,7	9,6	94,7	95,5	6,0
3	31,7	22,7	9	89,9		

2.5.4 Nachweisgrenze des Verfahrens

Um in einer Probe den AOS zweifelsfrei nachweisen zu können, sollte die Differenz der absoluten Schwefelkonzentration und des Verfahrensblindwertes größer als die Summe der dreifachen Standardabweichungen der absoluten Schwefelkonzentration und des Verfahrensblindwertes sein. Legt man für die Bestimmung der absoluten Schwefelkonzentration und für den Verfahrensblindwert eine mittlere Standardabweichung von 2 Prozent zugrunde (s des Verfahrensblindwertes = 2,1 %, s der absoluten Schwefelkonzentration = 1,8 %), ergibt sich eine absolute Nachweisgrenze von 2,86 µg bezogen auf adsorbierten organisch gebundenen Schwefel. Diese relativ hohe Nachweisgrenze kann nur durch Einsatz einer Aktivkohle mit höherer Reinheit gesenkt werden, die zum Zeitpunkt der Durchführung dieser Arbeit nicht kommerziell verfügbar war. Die relative Nachweisgrenze liegt damit für ein Anreicherungs-volumen von 50 ml bei 57 µg/l AOS. Durch eine Erhöhung des Anreicherungs-volumens kann die relative Nachweisgrenze aber noch herabgesetzt werden. Dies ist aber nur solange möglich, wie die für die Adsorption zur Verfügung stehende Oberfläche bei gleicher Menge an Adsorbens für eine nahezu vollständige Adsorption der Analyten ausreicht. Die Ermittlung des Durchbruchverhalten der Aktivkohle muss anhand von repräsentativen, matrixbelasteten Proben erfolgen. Eine Steigerung des Anreicherungs-volumens bei gleichzeitiger Erhöhung der Adsorbensmenge bringt aufgrund des hohen Blindwertes der Aktivkohle nur eine vergleichsweise geringe Absenkung der Nachweisgrenze mit sich und ist daher aus Zeit- und Kostengründen nicht sinnvoll.

2.5.5 Überprüfung der quantitativen Verdrängung von Sulfat im Waschschrift

Zur Überprüfung, ob bei der Behandlung der beladenen Aktivkohle mit Acetatwaschlösung eine quantitative Verdrängung des SO_4^{2-} erfolgt, wurde eine AOS-freie SO_4^{2-} -Lösung (100 mg/l) extrahiert und eine AOS-Bestimmung durchgeführt. Der Mittelwert der AOS-Bestimmung war von null nicht signifikant verschieden, so dass von einer quantitativen Verdrängung von SO_4^{2-} durch Acetat ausgegangen werden kann.

2.5.6 Verluste an organischen Schwefelverbindungen durch Gefrier-trocknung

Die Gefriertrocknung der beladenen Aktivkohle ist notwendig, weil für einen quantitativen Aufschluss der Aktivkohle diese keine Feuchtigkeit enthalten darf. Bei dem Verfahren wird die feuchte Aktivkohle zunächst tiefgefroren, so dass sich Eiskristalle bilden. Danach wird der Probenraum evakuiert und die Stellfläche des Probenraumes beheizt, so dass das Eis sublimiert. An der Aktivkohle adsorbierte Substanzen sublimieren nicht, auch wenn sie einen niedrigeren Sättigungsdampfdruck als Wasser aufweisen, weil zu ihrer Verdampfung zusätzlich zu ihrer Sublimationsenergie Desorptionsenergie aufgebracht werden muss, die stets höher ist als die Sublimationsenergie des Eises. Eine Sättigung des Vakuumraumes mit Wasserdampf ist nicht möglich, da durch einen auf $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlten Eiskondensator der Wasserdampf auf den Kühlschleifen ausgefroren und damit aus dem Gleichgewicht entfernt wird. Für eine verlustfreie Trocknung der beladenen Aktivkohle sind die Trocknungstemperatur (Stellflächentemperatur des Probenraumes) und der Druck im Probenraum so einzustellen, dass das Eis möglichst schnell sublimiert, die zugeführte Energie aber nicht ausreicht, die schwefelhaltigen Stoffe von der Aktivkohle zu desorbieren.

Einen Anhaltspunkt über die einzustellenden Trocknungsparameter lieferte eine Arbeit, in der diese Methode bei der Bestimmung des AOX eingesetzt wurde [Twiehaus u. a., 1997]. Dabei wurden auch für flüchtige Substanzen quantitative Wiederfindungsraten erzielt. Ausgehend von den veröffentlichten Parametern wurden die Trocknungsbedingungen für die Bestimmung des AOS in Realproben optimiert. Dabei zeigte sich, dass die Trocknungstemperatur bzw. der Druck für die untersuchten Proben keine kritischen Parameter darstellen. Daher wurde der Druck zugunsten einer schnelleren Trocknung erniedrigt, ohne dass sich die AOS-Werte signifikant voneinander unterschieden. Ein Vorteil dieses Verfahrens gegenüber der herkömmlichen AOX-Bestimmung, bei denen eine Trocknung erst nach der Verbrennung durch Einleiten der Verbrennungsgase in konzentrierte Schwefelsäure durchgeführt wird, liegt darin, dass eine Absorption von SO_2 oder SO_3 , wie sie in Schwefelsäure zu erwarten ist, ausgeschlossen werden kann. Bei den Verfahren, die sich an die AOX-

Bestimmung anlehnen; wird aus diesem Grund auf einen Trocknungsschritt verzichtet. Allerdings besteht dabei die Gefahr von Minderbefunden durch Absorption von SO_2 oder SO_3 vor der Detektion in Kondenswassertröpfchen.

2.5.7 Optimierung der Anreicherungsbedingungen

Ein weiterer Optimierungsschritt zur Senkung der relativen Nachweisgrenze und zur Erhöhung der Präzision erfolgte anhand von Proben des Kläranlagenablaufs, die mit technisch relevanten Sulfonsäuren aufgestockt wurden. Dabei stand die vollständige Erfassung der Sulfonsäuren im Vordergrund. Durch Bestimmung der Sulfonsäuren im Filtrat wurde der Adsorptionsgrad an der Aktivkohle ermittelt. Bei diesen Tests betrug die Konzentration der technischen Sulfonsäuren zwischen 50 und 100 $\mu\text{g/l}$ je Einzelsubstanz. Eine Gesamtkonzentration von 500 $\mu\text{g/l}$ wurde jedoch nicht überschritten. Bei den Versuchen wurde das Anreichervolumen und der pH-Wert variiert. Die eingesetzte Aktivkohlemenge betrug 80 mg.

A) Optimierung des Anreichervolumens

Die AOS-Werte waren bei Anreichervolumina von 50 und 100 ml für Proben des Kläranlagenablaufes (TOC 6-10 mg/l) identisch. Es kann daher auch bei 100 ml Anreichervolumen von einer vollständigen Adsorption ausgegangen werden.

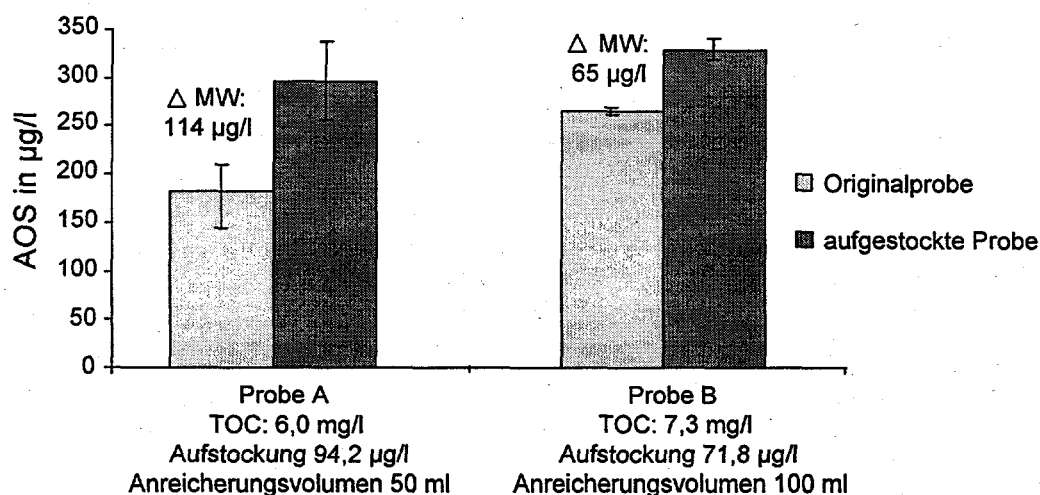


Abb. 5 AOS-Bestimmung von Proben des Kläranlagenablaufes, die mit technisch relevanten Sulfonsäuren aufgestockt wurden (Anreicherung der Probe bei pH 2; Δ MW: Differenz der Mittelwerte der AOS-Bestimmungen vor und nach der Aufstockung) Optimierung des pH-Wertes bei der Anreicherung

Abb. 5 zeigt deutlich, dass sich mit der Vergrößerung des Anreicherungs Volumens die Präzision steigern lässt. Eine weitere Vergrößerung des Anreicherungs Volumens ist aber nicht sinnvoll, weil die Gefahr eines Aktivkohledurchbruchs der Adsorbentien steigt. Zudem können die im Ablauf einer kommunalen Kläranlage anzutreffenden AOS-Gehalte bei diesem Anreicherungs faktor bereits mit ausreichender Genauigkeit und Präzision erfasst werden. Die relative Nachweisgrenze betrug bei einem Anreicherungs volumen von 100 ml 29 µg/l.

B) Optimierung des pH-Wertes bei der Anreicherung

Mit einem Summenparameter sollen möglichst viele der zugehörigen Stoffe erfasst werden. Deshalb wurde untersucht, bei welchem pH-Wert der AOS maximal wird. Da pH-Wert-abhängige Adsorptionsraten von organischen Schwefelverbindungen an Aktivkohle hauptsächlich für saure Verbindungen (Sulfonate, Schwefelverbindungen mit Carboxylgruppen) zu erwarten sind, wurde der pH-Wert ausgehend vom Originalwert der Probe abgesenkt. Die Adsorption auf Aktivkohle wurde bei pH 1, 2 und 7 durchgeführt. Bei pH 7 liegt der AOS-Wert deutlich niedriger als bei pH 1 oder 2. Die Messwerte bei pH 1 und 2 sind nicht signifikant unterschiedlich (siehe Abb. 6).

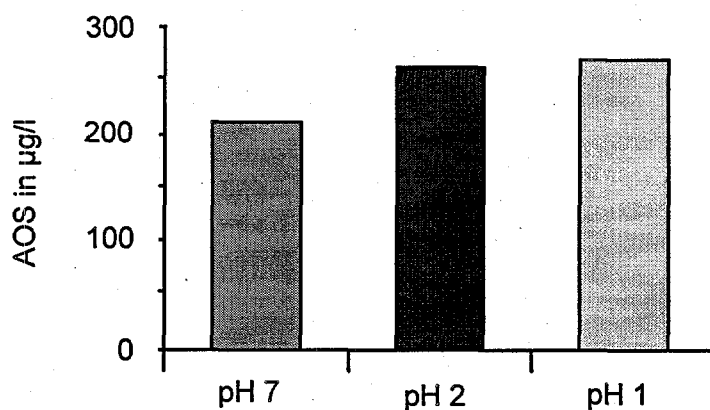


Abb. 6 Anreicherung einer Probe eines kommunalen Kläranlagenablaufes bei verschiedenen pH-Werten und anschließende AOS-Bestimmung

Das Ergebnis zeigt, dass im Abwasser kommunaler Kläranlagen ein beträchtlicher Anteil an sauren schwefelhaltigen Organika vorliegt. Bei der vorliegenden Probe waren es 20,5 Prozent. Allerdings muss bei der Interpretation berücksichtigt werden, dass die Änderung des pH-Wertes auch einen Effekt auf die Größe von Huminstoffen und damit auch auf die Adsorbierbarkeit dieser Moleküle auf Aktivkohle hat [Johannsen u. a., 1993]. Es wurde nachgewiesen, dass durch Senkung des pH-Wertes die Aggregation der Huminstoffe abnimmt und sie dadurch besser adsorbiert werden. Da aber auch bei pH 7 keine Huminstoffe im Fil-

trat nachzuweisen waren, dürfte dieser Effekt hier eine untergeordnete Rolle spielen. Ein ähnliches Ergebnis zeigt die Bestimmung der Anreicherungsrate von Sulfonsäuren auf Aktivkohle (siehe Abb. 7). Dazu wurden vor der Anreicherung dieselben Proben des Kläranlagenablaufs mit technischen Sulfonsäuren aufgestockt. Die Anreicherungsfaktoren zeigen, dass bei pH 7 keine vollständige Anreicherung stattfindet. Naphthalin-2,6-sulfonsäure bricht selektiv durch. Die Differenzen der parallel durchgeführten AOS-Messungen der Originalprobe und der aufgestockten Probe korrelieren nur für pH 1 und 2 mit den Anreicherungsrate der Sulfonsäuren. Bei pH 7 werden bei der Anreicherung bedingt durch die Aufstockung offensichtlich andere schwefelhaltige Substanzen verdrängt. Vergleicht man die Anreicherungsrate für Sulfonate auf Aktivkohle bei einem pH-Wert der Probe von 2 mit den Wiederfindungsrate bei der Ionenpaarextraktion zeigt sich, dass die Werte vergleichbar, für 2-Naphthol-3,6-disulfonsäure bei Verwendung der Aktivkohle als Adsorptionsphase sogar höher sind.

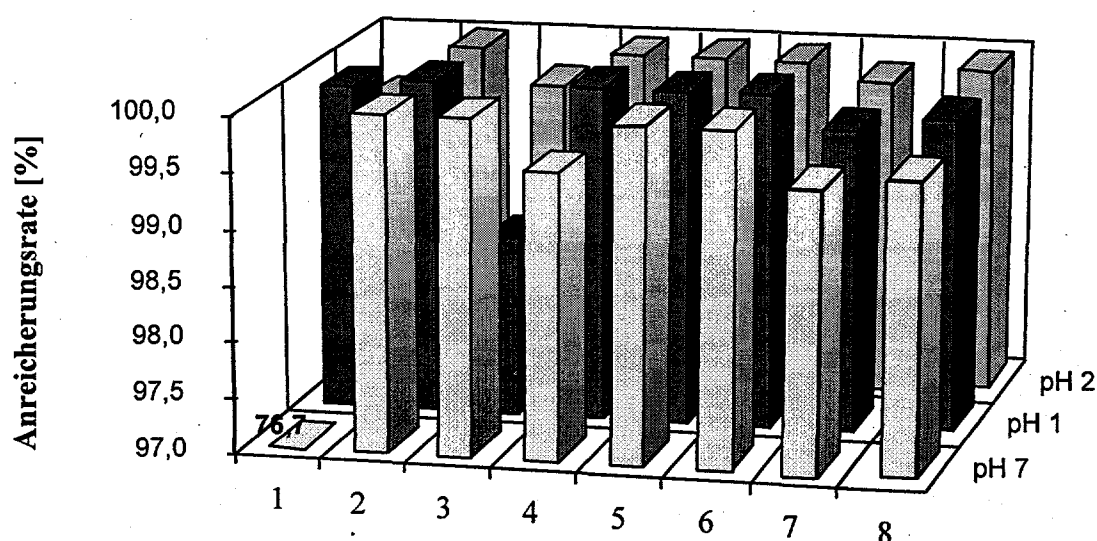


Abb. 7 Anreicherung einer mit technischen Sulfonsäuren aufgestockten Probe des Kläranlagenablaufes auf Aktivkohle bei verschiedenen pH-Werten (aufgestockte Konzentration 100 µg/l je Verbindung) 1: Naphthalin -2,6-disulfonsäure; 2: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; 3: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; 4: Toluol-4-sulfonsäure, 5: 2-Naphthol-3,6-disulfonsäure; 6: Naphthalin-1,3,6-trisulfonsäure; 7: Naphthalin-2-sulfonsäure

Schwierigkeiten ergaben sich, wie auch in der Literatur beschrieben [Randt u. R.Altenbeck, 1997], für Sulfanilsäure und auch für 3-Aminobenzolsulfonsäure, die nur mit Rate von 51 bzw. 53 Prozent adsorbiert wurden. Es konnte gezeigt werden, dass dies durch die relativ

hohen Salzkonzentrationen im Abwasser hervorgerufen wird. Dies ist aber kein generelles Problem von Sulfonaten mit basischen Aminogruppen, sondern auf Aminobenzolsulfonate beschränkt. 2-Aminonaphthalinsulfonsäure adsorbiert bei allen pH-Werten sehr gut an Aktivkohle. Vermutlich sind für diese Verbindung aufgrund des größeren aromatischen Ringsystems die hydrophoben Wechselwirkungen stärker und damit die Adsorptionsraten höher. Zum Adsorptionverhalten von hydrophoben und mäßig hydrophilen Stoffen sind umfangreiche Untersuchungen veröffentlicht [Brandt, 1987]. Diese wurden deshalb im Rahmen dieses Forschungsprojektes nicht untersucht.

2.5.8 *Fraktionierung des AOS nach der Molekülgröße und Bestimmung der partikulär gebundenen Anteilen*

Zur Bestimmung des Anteiles des partikulär gebundenen AOS von Abwasserproben aus Abläufen kommunaler Kläranlagen wurde eine Glasfaserfiltration durchgeführt und der AOS vor und nach der Filtration gemessen. Nach diesem Verfahren wurde der partikulär gebundene Anteil des AOS im Ablauf von drei kommunalen Kläranlagen bestimmt. Die Werte vor und nach der Filtration (jeweils Dreifachbestimmung) waren im Rahmen der Messgenauigkeit identisch. Der partikulär gebundene AOS trägt offensichtlich nicht signifikant zur Gesamtsumme bei.

Zur Fraktionierung des AOS nach Molekülgröße wurde die Ultrafiltration eingesetzt. Es wurden Membranen mit Ausschlussgrenzen für Molekulargewichte größer 500 bzw. größer 1000 verwendet. Im Unterschied zu bisherigen Arbeiten wurden den Proben 7,5 Volumenprozent Methanol zugesetzt, um hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Membran und Analyten zu minimieren. Zur Kontrolle wurde mit einem Standardgemisch aus 3-Acetylthiophen, Benzothiazol, Chlorbenzothiazol, Toluolsulfonamid und Diphenylsulfon, die nach ihren Wechselwirkungen mit RP-C18-Material zu urteilen unterschiedliche Hydrophobizitäten aufweisen (siehe Kapitel 4.4.4) und alle ein Molekulargewicht kleiner 220 haben, die Wiederfindung nach der Ultrafiltration bestimmt. Durch Zugabe von Methanol konnte eine Adsorption an die Membran für alle Substanzen ungeachtet ihrer Ausschlussgrenze verhindert werden, während ohne Lösungsmittelzugabe deutliche Adsorptionseffekte für hydrophobere Verbindungen wie 3-Acetylthiophen, Benzothiazol und Chlorbenzothiazol zu beobachten waren. Die von der Firma angegebenen Ausschlussgrenzen der Membranen stellen nominelle Trenngrenzen dar. Die in verschiedenen Arbeiten durchgeführten Kalibrierungen der Membranen, die mit organischen Substanzen verschiedener Molekülgröße durchgeführt wurden, ergaben weitaus geringere tatsächliche Ausschlussgrenzen [Eberle u. a., 1979]. Aus diesem Grund wurden eigene Versuche zur Ermittlung der Ausschlussgrenzen durchgeführt. Dazu wurden

Sulfonate mit Molekülmassen von 172 bis 1083 g/mol verwendet. Die Ergebnisse sind in Abb. 8 dargestellt.

Man erkennt deutlich, dass bereits für Moleküle mit Molekulargewichten um 300 bei beiden Membranen mit deutlichen Minderbefunden zu rechnen ist. Dabei hängt die Wiederfindungsrate offensichtlich auch von der jeweiligen Struktur der Substanzen ab. Die etwas höheren Konzentrationen in den Filtraten der 500 MG-Membranen für Stoffe mit generell hohen Wiederfindungsraten ist wohl darauf zurückzuführen, dass diese Membranen aus einem anderen Material bestehen. Während die Membranen mit der Ausschlussgrenze 500 aus Zelluloseacetat produziert werden, verwendet man für die die Membranen mit der Ausschlussgrenze 1000 regenerierte Zellulose. Für Verbindungen mit Molekulargewicht zwischen 300 und 600 werden die unterschiedlichen Ausschlussgrenzen der Membranen sichtbar. Die vom Hersteller angegebenen Ausschlussgrenzen sind so zu verstehen, dass Moleküle die ein höheres Molekulargewicht haben nicht membrangängig sind.

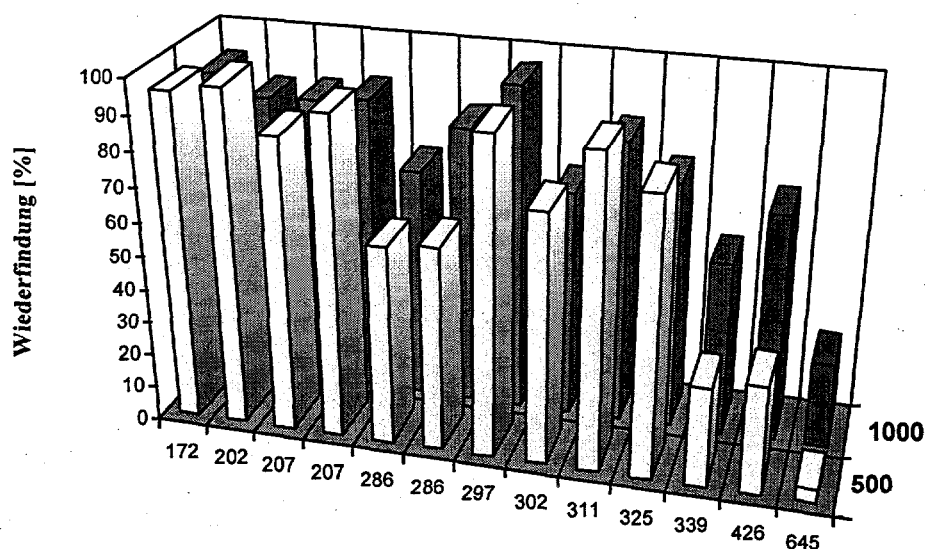


Abb. 8 Wiederfindung von Standardsubstanzen mit unterschiedlichem Molekulargewicht nach Ultrafiltration bei Verwendung von Membranen mit den nominellen Ausschlussgrenzen 500 und 1000.

Für Moleküle mit kleinerem Molekulargewicht sind Minderbefunde nach der Filtration aber nicht auszuschließen. Je näher ihr Gewicht an der Ausschlussgrenze liegt, desto höher ist die Menge die zurückgehalten wird. In diesem Fall scheinen auch hydrophobe Wechselwirkungen mit dem Polymer der Membran eine Rolle zu spielen. Für Moleküle weit unterhalb der Ausschlussgrenze konnten die aus Adsorptionen an die Membran resultierenden Minderbefunde durch Zugabe von Methanol weitgehend vermieden werden. Die Ergebnisse korrelieren sehr gut mit den Firmenangaben [Amicon, 1995].

Die Fraktionierung der Wasserinhaltsstoffe von Abwasserproben des Ablaufes kommunaler Kläranlagen mit Ultrafiltration und die Bestimmung des AOS in den Fraktionen erbrachten die in Tab. 5 und Abb. 8 aufgelisteten Ergebnisse.

Tab. 5 Fraktionierung des AOS von Proben kommunaler Kläranlagenabläufe nach Molekülgröße AOS-Konzentrationen absolut (mit Angabe der Standardabweichungen einer Drei-fachbestimmungen für die 6. Messung) und prozentual (bezogen auf den Wert der un-filtrierten Probe)

Probe	AOS der unfiltrierten Probe	AOS im Filtrat UF 1000 NMGG	AOS im Filtrat UF 500 NMGG
1	1068 µg/l 100 %	782 µg/l 73,2 %	453 µg/l 42,3 %
2	694 µg/l 100%	651 µg/l 93,8%	570 µg/l 82,1%
3	535 µg/l 100%	490 µg/l 91,6%	320 µg/l 59,8%
4	465 µg/l 100%	375 µg/l 80,7%	247 µg/l 53,2%
5	491 µg/l 100%	384 µg/l 78,2%	53 µg/l 51,5%
6	358 µg/l ± 8 100 %	320 µg/l ± 7 89,4 %	273 µg/l ± 5 76,1 %

UF 1000 NMGG: Ultrafiltration mit Membranen, deren nominelle Molekulargewichtsgrenze 1000 U beträgt.

UF 500 NMGG: Ultrafiltration mit Membranen, deren nominelle Molekulargewichtsgrenze 500 U beträgt.

Nach der Ultrafiltration mit einer Membran, deren nominelle Molekulargewichtsgrenze 1000 U beträgt, ist die AOS-Konzentration bereits signifikant vom Wert der unfiltrierten Probe verschieden. Eberle definierte Wasserinhaltsstoffe mit einem Molekulargewicht größer 1000 als "hochmolekular" und setzte den Anteil, der durch eine Ultrafiltrationsmembran mit einer nominellen Ausschlussgrenze von 1000 nicht diafiltrierbar ist, damit gleich [Eberle, Knobel u. a., 1979]. Nach dieser Definition beträgt der Anteil an "hochmolekularem" AOS bei den vorliegenden Proben 6 bis 22 Prozent. Dieser Anteil besteht nach Eberle hauptsächlich aus Huminsäuren, Ligninsulfonsäuren, die in kommunalen Kläranlagen eine eher untergeordnete Rolle spielen dürften, und anderen organischen Säuren. Der prozentuale Schwefelanteil von Huminsäuren in aquatischen Systemen schwankt zwischen 0,18 und 3 Prozent [Abbt-Braun

u. a., 1990]. Ein großer Schwefelanteil in Huminstoffen resultiert aus gebundenen Aminosäuren, die durch Säurehydrolyse freigesetzt werden können [Jahnel u. a., 1993]. Durch die Membran mit einer nominellen Ausschlussgrenze von 1000 U sind aber in den hier untersuchten Proben nicht alle Huminstoffe abzutrennen. Bei einer Anreicherung auf RP-C18-Festphasenmaterial ist dies durch die charakteristische Färbung des Eluats deutlich zu erkennen. Diese Beobachtung stimmt mit den Untersuchungen zur Molekülmassenverteilung von Huminstoffen überein [Abbt-Braun, 1997]. Dabei zeigte sich, dass eine Fraktion, die Fulvinsäuren zugeordnet wurde, eine Molekülmasse zwischen 1000 und 500 g/mol mit einem deutlichen Maximum bei etwa 700 g/mol aufweist. Eine vollständige Abtrennung der Huminstoffe von Stoffen anthropogenen Ursprungs ist daher nicht möglich, da bei Verwendung der Membran mit der nächst niedrigeren nominellen Ausschlussgrenze (500 U) davon auszugehen ist, dass auch andere Substanzen zurückgehalten werden. Der Anteil freier schwefelhaltiger Aminosäuren am AOS ist nach Veröffentlichungen von Jahnel zu vernachlässigen [Jahnel, Schmiedel u. a., 1993].

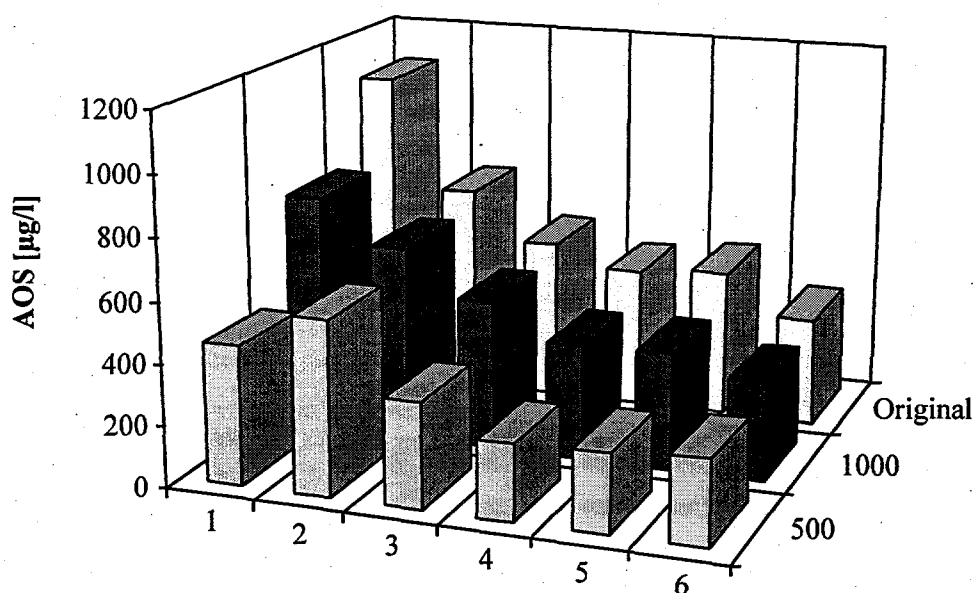


Abb. 9 AOS-Konzentrationen von Proben kommunaler Kläranlagenabläufe vor und nach Ultrafiltration (Membranen mit nominellen Ausschlussgrenzen 500 und 1000 U)

Die Filtration mit Membranen mit einer nominellen Ausschlussgrenze von 1000 zeigt, dass der überwiegende Anteil der schwefelhaltigen organischen Substanzen Molmassen aufweist, die sehr viel kleiner als 1000 sind. Eine Korrelation des AOS mit dem DOC war bei diesen Experimenten nicht möglich, weil den Proben aus den oben genannten Gründen Methanol

zugegeben wurde. Vergleicht man diese Ergebnisse mit der gelchromatographischen Fraktionierung von Inhaltsstoffen eines biologisch gereinigten Abwassers aus der Chemieindustrie, ergeben sich ähnliche Molekülgrößenverteilungen [Fuchs, 1985 a] [Fuchs, 1985 b]. In hochmolekularen Fraktionen sind die Gehalte an AOS eher gering (Anteil am gesamten AOS kleiner 15 Prozent), während im mittelmolaren Bereich (700 bis 300 g/mol) ein deutliches Maximum mit einem Anteil am gesamten AOS von über 40 Prozent festzustellen ist. Im kommunalen Abwasser scheint das Maximum zu noch kleineren Molekülmassen verschoben zu sein.

Eine Ausnahme bildet die Abwasserprobe, die von einem Ablauf einer kommunale Kläranlage mit einer Textilfärberei als Indirekteinleiter stammt (Abb. 9, Messreihe 1; Tab. 5, Zeile 1). Da hier in großen Mengen höhermolekulare sulfonierte Substanzen wie Farbstoffmetaboliten und Dispersionsmittel ins Abwasser gelangen (siehe Kapitel 5.3.4, Tab. 17 Spalte 3), ist der AOS-Wert der Originalprobe sehr hoch und die Fraktionierung zeigt, dass der Anteil der höhermolekularen schwefelhaltigen Stoffe im Vergleich zu den anderen Abwasserproben ansteigt. Die hohe AOS-Konzentration dieser Probe unterstreicht die Aussagekraft dieses Parameters.

2.6 Zusammenfassung

Im Gegensatz zu anderen AOS-Bestimmungsmethoden konnte mit dem oben beschriebenen Verfahren eine quantitative Wiederfindung des an Aktivkohle adsorbierten Schwefels nach der Verbrennung erreicht werden. Unter diesen Verbrennungsbedingungen waren bisher keine Störungen der Messungen durch die Matrix beobachtbar. Für die meisten technisch relevanten Sulfonsäuren wurden beim Ansäuern der Probe auf pH-Werte kleiner gleich 2 quantitative Wiederfindungsraten erzielt. Es besteht die Möglichkeit der Parallelbestimmung von AOX, AOB_r, AOI und AOS.

Die Aussagekraft des Parameters wird deutlich, wenn man die AOS-Konzentration einer Abwasserprobe des Ablaufes einer Kläranlage mit einer Textilfärberei als Indirekteinleiter mit den Werten von Klärwerken, die weniger belastet sind, vergleicht. Die Konzentration ist aufgrund des Eintrages von großen Mengen an sulfonierten Substanzen entsprechend höher.

Die Fraktionierung des AOS mit Ultrafiltration zeigte, dass der überwiegende Anteil (76 Prozent) in Proben von kommunalen Kläranlagenabläufen aus niedermolekularen Stoffen besteht. Mit Membranen, die eine nominellen Ausschlussgrenze von 1000 g/mol aufweisen, kann der hochmolekulare Anteil des AOS (etwa 11 Prozent) abgetrennt werden. Dieser besteht hauptsächlich aus Huminstoffen und anderen organischen Säuren. Eine vollständige Abtrennung der Huminstoffe ist aber nicht möglich.

3 Summarische Bestimmung Stickstoff

Im folgenden wird die Optimierung eines Analysengerätes zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs erläutert und Ansätze zur Erfassung des summarischen Parameters 'Organischer Stickstoff' nach Abtrennung des anorganischen Stickstoffs aufgeführt.

3.1 Gesamtstickstoff - Stand der Technik

Zur Bestimmung des Gesamtstickstoffes TN gibt es unterschiedliche Methoden, die sich in nasschemische Bestimmungsmethoden und Hochtemperaturaufschlussmethoden unterteilen lassen. Für beide Möglichkeiten gibt es eine oxidative und reduktive Methode, um den gesamten anorganischen und organischen Stickstoff zu NO_3^- bzw. NO_x zu oxidieren oder zu Ammonium zu reduzieren.

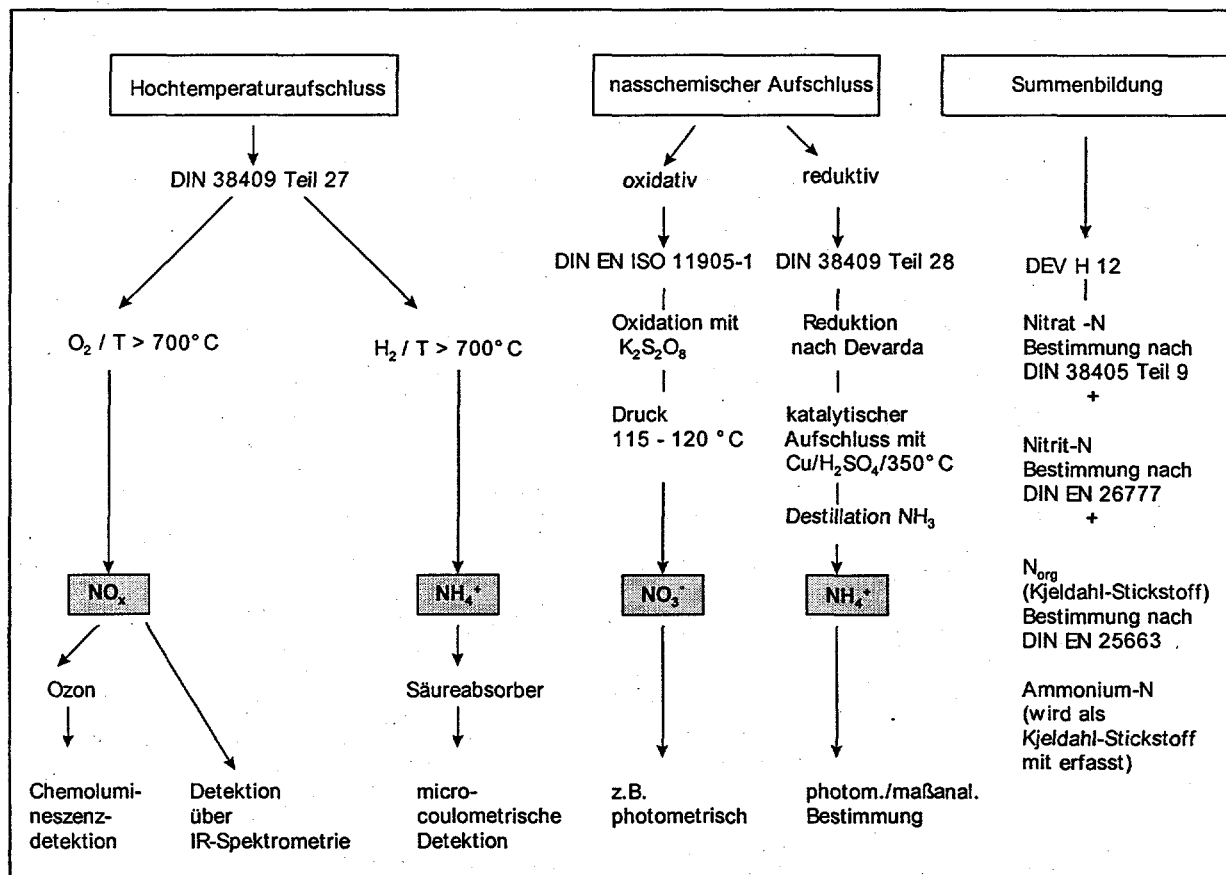


Abb. 10 Verfahren zur Gesamtstickstoffbestimmung

Des Weiteren wird in den Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung noch ein summarisches Verfahren aufgeführt. Hierbei werden die

Verbindungen Nitrat, Nitrit, Ammonium und organischer Stickstoff einzeln bestimmt und die Summe bezogen auf Stickstoff als Gesamtstickstoff angegeben. Bei allen Verfahren zur Gesamtstickstoffbestimmung wird der elementare Stickstoff nicht mit bestimmt. Daher werden Verfahren zur Gesamtstickstoffbestimmung auch als TN_b -Bestimmungen (Total bound nitrogen) bezeichnet. Die einzelnen Verfahren sind schematisch in Abb. 10 aufgeführt.

3.1.1 Prinzip des nasschemischen Aufschlusses unter oxidierenden Bedingungen

Stickstoffverbindungen mit Stickstoff in einer Oxidationsstufe kleiner fünf werden in alkalischer Lösung mit Peroxodisulfat unter Druck bei etwa 110 °C aufgeschlossen und zu Nitrat oxidiert (Koroleff-Methode [Koroleff, 1969/1970]), welches sodann mit geeigneten Analyseverfahren quantifiziert wird (DEV H 36 / DIN EN ISO 11905-1).

3.1.2 Prinzip des nasschemischen Aufschlusses unter reduzierenden Bedingungen

Oxidierter Stickstoff wird in saurer Lösung durch Devardasche Legierung zu Ammoniak bzw. Aminen reduziert. Organisch gebundener Stickstoff wird katalytisch aufgeschlossen und in Ammoniumsalze überführt. Durch Zugabe von Natriumhydroxid-Lösung wird Ammoniak aus der Reaktionsmischung ausgetrieben, in einer borsäurehaltigen Vorlage aufgefangen und maßanalytisch bestimmt (DEV H 28 / DIN 38409 Teil 28).

3.1.3 Prinzip der TN_b -Bestimmung nach dem Hochtemperaturaufschluss

Die Probe wird bei Temperaturen über 700°C unter reduzierenden (Verwendung von Wasserstoff) oder oxidierenden (Verwendung von Sauerstoff) Bedingungen pyrolysiert. Der gebundene Stickstoff wird dabei, gegebenenfalls durch Katalysatoren unterstützt, quantitativ in das Reduktionsprodukt NH_3 bzw. das Oxidationsprodukt NO_x überführt. Diese werden durch geeignete Verfahren wie Acidimetrie, Infrarotspektroskopie oder Chemolumineszenz-Messung quantitativ bestimmt (DIN 38409 Teil 27). Das Verfahren unter oxidierenden Bedingungen mit anschließender Chemolumineszenzdetektion liegt seit Juni 1996 als Euro-norm vor (DEV H 34 / DIN V ENV 12260). Da nur der gebundene Stickstoff erfasst wird und nicht der elementare Stickstoff wird von der Erfassung des gesamt gebundenen Stickstoffs TN_b gesprochen.

3.2 Optimierung eines TN_b -Gerätes zum Einspritzen großer Volumina

Die Bestimmung nach dem Hochtemperaturaufschlussprinzip zeichnet sich im Vergleich zu den nasschemischen Aufschlüssen durch einen geringeren Chemikalienverbrauch aus. Beim Hochtemperaturaufschluss wird die Probe ohne Einsatz weiterer Chemikalien direkt verbrannt. Es kann zu keiner Kontamination der Probe mit eingesetzten Aufschlusschemikalien kommen und es fallen somit keine schwermetallhaltige Katalysatorabfälle an. Die Methode ist leicht automatisierbar und für einen hohen Probendurchsatz geeignet.

Dies sind Gründe, weshalb im Rahmen einer von der Bund-Länder-Sitzung zu § 7a WHG gegründeten Arbeitsgruppe der Parameter 'Gesamter gebundener Stickstoff (TN_b)' nach DIN 38409-H27 als Summenparameter für Stickstoffverbindungen ausgewählt wurde [Mehlhorn, 1996].

Teilziel der Arbeit war es, ein TN_b -Gerät zu optimieren, welches das Einspritzen großer Probenvolumina bis 1000 μ l erlaubt. Bei bestehenden Systemen wurden teilweise wesentlich kleinere Probenvolumina injiziert. Die Injektion von 1000 μ l Probenvolumen im Vergleich zu 50 μ l erlaubt eine repräsentativere Analytik wässriger Proben, besonders bei partikelhaltigen Wässern. Bei Injektionsvolumina von 50 μ l ist eine Bestimmung der Probe ohne vorherige Filtration praktisch nicht möglich. Somit wird nicht der TN_b bestimmt, sondern der DN_b (gesamter gelöster Stickstoff).

Die Optimierung des Gerätes wurde in Kooperation mit der Firma IDC (Instrument Development Company) in Illmenau durchgeführt. IDC stellte die Hochtemperaturverbrennungseinheiten zur Verfügung.

3.2.1 Durchführung

Die Optimierung des TN_b Gerätes erfolgte in drei Phasen.

3.2.1.1 Phase 1 - Testreihen mit dem Prototyp

In der ersten Phase stand eine Hochtemperaturverbrennungseinheit zur Verfügung, bestehend aus einem Ofen, einem Verbrennungsrohr mit Einspritzblock, Sauerstoffzuleitung und Flussregler. Die Probenaufgabe erfolgte manuell mit einer Druckspritze. Das Verbrennungsrohr aus Quarz wurde mit einer 5 cm hohen Katalysatorschicht befüllt. Der bei der Verbrennung entstehende Wasserdampf wurde größtenteils über eine Kupferkühlschlange auskondensiert in einem Kondensationsgefäß gesammelt und die Restfeuchte über ein mit Trockenmittel gefülltes U-Glasrohr entfernt. Die Detektion des Stickstoffmonoxids wurde mit

dem Chemolumineszenzdetektor 720 C der Firma Antek durchgeführt. Die Datenauswertung erfolgte über einen angeschlossenen Integrator.

In der Phase 1 wurden Reproduzierbarkeitsmessungen vor allem mit Harnstofflösungen durchgeführt. Die Reproduzierbarkeit des Verfahrens wurde unter Einsatz unterschiedlicher Katalysatormaterialien und Trockenmittel, Veränderung der Temperatur und des Sauerstoffflusses im System und Änderung der Injektionsvolumina getestet.

3.2.1.2 Phase 2 - Kombination eines TOC-Gerätes mit einem Chemolumineszenz-detektor

In der zweiten Versuchsphase wurden die Proben im TOC - Analysator der Firma IDC verbrannt und die Abluft des Gerätes dem Chemolumineszenzdetektor zugeführt. Die Probenaufgabe erfolgte hierbei automatisch über den im TOC - Analysator integrierten Autosampler. Die Daten wurden weiterhin über einen angeschlossenen Integrator erfasst.

In der Phase 2 wurden Konzentrationsreihen mit unterschiedlichen N-Verbindungen aufgenommen. Es sollte untersucht werden, inwieweit die Verbrennung und anschließende Detektion mit dieser Gerätekombination von der Bindungsform des Stickstoffs abhängig ist und ob es zu Memoryeffekten im System kommt.

Es wurden Kalibriergeraden von den Einzelsubstanzen Natriumnitrat, Nicotinsäure, Ammoniumsulfat und Harnstoff in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen aufgenommen. Die Kalibrierungen erfolgten in der Regel im Konzentrationsbereich von 0,1 mg/l N bis 1 mg/l N mit 5 Messpunkten und im Konzentrationsbereich von 1 mg/l N bis 10 mg/l N mit ebenfalls 5 Messpunkten. Für den Mischstandard wurden die Stammlösungen der vier Einzelsubstanzen zu gleichen Volumenteilen gemischt und entsprechende Verdünnungen hergestellt. Von jedem Messpunkt erfolgte eine Dreifachbestimmung.

3.2.1.3 Phase 3 - Multi TN+C-Gerät

In der Phase 3 stand das Multi TN+C-Gerät der Firma IDC zur Verfügung. Dies ist ein Gerät zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach DIN 38409 Teil 27 bzw. DIN V ENV 12260, bei dem Verbrennungsofen, Detektor, Autosampler und Auswerteprogramm zu einer Einheit verbunden wurden.

Mit diesem Gerät wurden die unter Phase 2 beschriebenen Wiederfindungsversuche wiederholt. Des Weiteren wurde an einem Ringversuch zur Bestimmung von Nitrat in Reinstwasser teilgenommen, der von der AQS-Leitstelle Baden-Württemberg, durchgeführt wurde.

Weiterhin wurde das Gerät zur Bestimmung des TN_b bzw. DN_b in Abwasser aus Kläranlagenabläufen eingesetzt, mit dem auch die Einzelstoffanalytik durchgeführt wurde. Über die Differenzmethode wurde nach Bestimmung des DN_b in den Proben der DON (Dissolved organic nitrogen) berechnet. Versuche zur direkten Messung des DON wurden ebenfalls wie in Kapitel 3.7 beschrieben mit diesem Gerät durchgeführt.

3.2.2 Chemikalien, Geräte und Methoden

Chemikalien und Verbrauchsmaterialien

Gase:

medizinischer Sauerstoff, > 99,95 %, Kraiss und Friz, Stuttgart

Stickstoffmonoxid, 48,8 ppm, Messer Griesheim

Katalysatoren:

Kupferoxid Drahtform 0,65 mm x 6 mm zur Elementaranalyse, Oberfläche CuO, Kern Cu₂O, Merck

Platin Katalysator Träger: 5/64 Aluminiumoxid Kugeln, Shimadzu

Cer (IV) - oxid 1 - 2 mm zur Elementaranalyse, Merck

eingesetzte Trockenmittel:

Sicapent mit Indikator, Phosphorpentoxid, Merck

Trockenperlen blau, Solvay

Calciumchlorid, gekörnt, 5 - 15 mm, Merck

Aluminiumoxid, 90 aktiv, basisch, 0,063 - 0,2 mm, Merck

Calciumsulfat, > 70 %, Merck

weitere Chemikalien:

Harnstoff, > 99,5 %, Merck

Natriumnitrat zur Analyse, > 99,5 %, Merck

Ammoniumsulfat zur Analyse, > 99,5 %, Merck

Nicotinsäure, > 99 %, Aldrich Chemie

Natriumazid, reinst, > 99 %, Merck

ortho-Phosphorsäure, 85 %, Merck

Magnesiumperchlorat-Hydrat, gekörnt, Merck

Wasser aus einer Reinstanlage, Nanopure-ultrapure-water-system, Barnstead

Verbrauchsmaterialien:

Verbrennungsrohre, Länge 30 cm, Durchmesser 3,5 cm, Quarzglas, IDC Instrument Development Company, Illmenau

Quarzbruch, IDC

Magnetrührer, kreuzförmig, Höhe 8 mm, Durchmesser 10 mm, Laborfachhandel Bender & Hobein GmbH, Bruchsal

Hamilton Spritze CR 700-200 Hamilton Deutschland GmbH, Darmstadt

Hamilton Gasspritze, 10 ml

Gasbeutel

Geräte

Chemolumineszenzdetektor 720 C, Antek Instruments GmbH, Düsseldorf

Chemolumineszenzdetektor 700 AL, Eco Physics AG, Dürnten, Schweiz

Chemolumineszenzdetektor CLD 70 E, Eco Physics AG, Dürnten, Schweiz

TOC - Analysator, IDC Instrument Development Company, Illmenau

TN/TC - Analysator multi N-C, IDC Instrument Development Company, Illmenau

xyz-Probengeber für TOC-Analysator, IDC Instrument Development Company, Illmenau

Integrator CR 18, Shimadzu

3.2.2.1 Stammlösungen

Stammlösungen mit jeweils 1g/l N der einzelnen Stickstoffverbindungen wurden hergestellt. Die Lösungen wurden bei 4 °C im Dunkeln aufbewahrt.

Aus den Stammlösungen wurden Verdünnungsreihen mit deionisiertem Wasser in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen angesetzt.

Das NO-Prüfgas wurde aus der Gasflasche in einen Gasbeutel abgefüllt. Zum Einspritzen des NO-Prüfgases in das System stand eine 10 ml Gasspritze zur Verfügung.

3.2.2.2 Nitratbestimmung

Nitrat wurde mittels Ionenchromatographie nach EN ISO 10304-2 bestimmt. Detektiert wurde über Leitfähigkeitsmessung mit vorgeschalteter Suppressor - Technik. Das Verfahren ist für einen Arbeitsbereich von 0,1 - 50 mg/l Nitrat geeignet, das entspricht 0,02 - 11,30 mg/l $\text{NO}_3\text{-N}$.

3.2.2.3 Nitritbestimmung

Die Nitritbestimmung erfolgte mit dem Schnelltest Spectroquant 14776 der Firma Merck, Darmstadt Deutschland. Nitrit reagiert mit Sulfanilsäure zu 4-Diazobenzolsulfonsäure, welches anschließend mit N-[Naphthyl-(1)]-ethylen-diammoniumdichlorid zu einem violettroten Farbstoff kondensiert. Die Absorptionsmessung erfolgte bei 525 nm. Der Test ist für Konzentrationen von 0,03 - 3 mg/l Nitrit geeignet. Höher konzentrierte Proben wurden entsprechend verdünnt.

3.2.2.4 Ammoniumbestimmung

Die Ammoniumbestimmung erfolgte mit dem Schnelltest Spectroquant 14752 der Firma Merck, Darmstadt Deutschland. Ammoniumionen reagieren mit Hypochlorit und Phenol in alkalischer Lösung zu Indophenol. Die Absorptionsmessung erfolgte bei 690 nm. Der Test ist für Konzentrationen von 0,03 - 3 mg/l Ammonium geeignet. Höher konzentrierte Proben wurden entsprechend verdünnt.

3.3 Ergebnisse - Gesamtstickstoff

3.3.1 Ergebnisse zu den Reproduzierbarkeitstests

In der ersten Phase, in der mit einer Hochtemperaturverbrennungseinheit gearbeitet wurde, bestehend aus einem Ofen, einem Verbrennungsrohr mit Einspritzblock, Sauerstoffzuleitung und Flussregler (Abb. 11) sollte der Einfluss größerer Injektionsvolumina auf die Reproduzierbarkeit der Verbrennung grundlegend getestet werden. Die Versuche wurden mit Harnstofflösungen durchgeführt. Im Falle von Harnstoff ist von einer vollständigen Verbrennung auch bei niedrigen Temperaturen auszugehen. Außerdem entstehen keine Salze, die die Aktivität des Katalysatormaterials durch Ablagerungen einschränken.

Vor der Optimierung des Gerätes konnte mit Harnstofflösungen im Bereich von 0,1 - 10 mg/l N mit einem Injektionsvolumen von 200 µl, entsprechend einer Absolutkonzentration von 0,02 µg bis 2 µg, ein Variationskoeffizient von 2 % bei 0,1 mg/l N, von etwa 10 % bei 1 mg/l N und von annähernd 30 % bei 10 mg/l N erzielt werden.

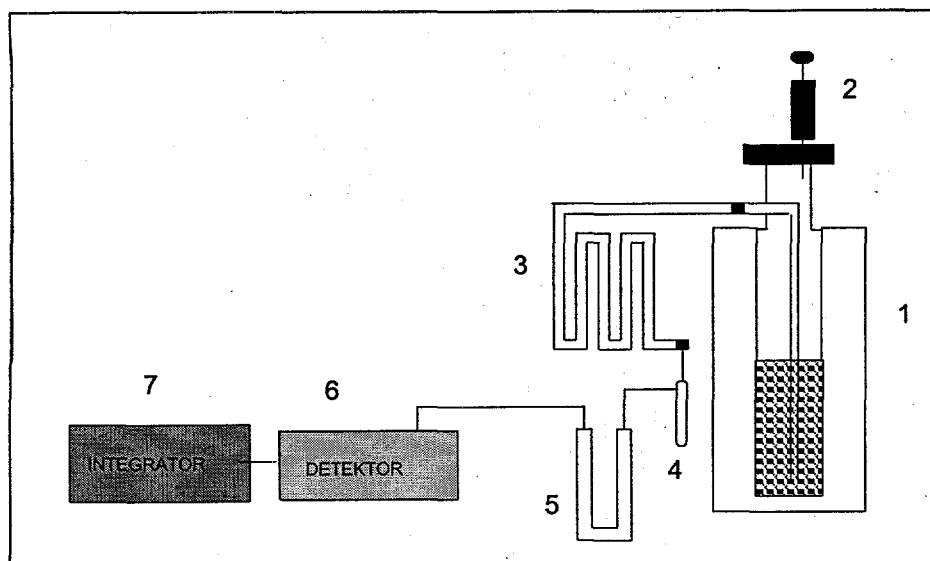


Abb. 11 Schemazeichnung des Prototyps zur TN_b -Bestimmung

3.3.1.1 Einfluss der Injektion auf die Reproduzierbarkeit der TN_b -Messung

Die Injektion der Probe musste bei diesem ersten Verbrennungsmodul manuell erfolgen. Als Spritze wurde eine Spezi­alspritze von Hamilton verwendet, mit der es möglich war, konstante Volumina in jeweils gleicher Geschwindigkeit zu injizieren. Die reproduzierbare Einspritzgeschwindigkeit wurde durch einen Federdruck erreicht und mittels Knopfdruck ausgelöst. Das maximale Injektionsvolumen in den Verbrennungsofen wurde mit 200 μ l durch die Spritze vorgegeben. Bei der Probenaufgabe musste gewährleistet sein, dass die Probe vollständig und so schnell wie möglich die Katalysatoroberfläche und somit die heiße Zone des Ofens erreicht. Dies war nur mit der Druckspritze möglich. Nachteilig an der Druckspritze war die mit ca. 7 cm zu kurze Nadelspitze. Die Spitze reichte nur bis 1 cm unterhalb des Injektionskopfes, wodurch eine vollständige Probenaufgabe direkt auf die Katalysatoroberfläche nicht immer gegeben war. Teilweise gelangte ein Teil der Probe an die noch kältere obere Ofenrohrwandung. Die Reproduzierbarkeit bei der manuellen Probenaufgabe war somit stark von der Handhabung der Spritze abhängig.

3.3.1.2 Einfluss des Sauerstoffdrucks auf die TN_b -Bestimmung

Der Sauerstoffdruck im Ofen wirkte sich entscheidend auf das NO-Messsignal aus. Bei zu geringem Druck war die Reproduzierbarkeit der Messung unzureichend. Das Maximum an Signalpeakfläche wurde mit dem Prototyp bei 1,1 bar erreicht (Abb. 12). Eine weitere Erhöhung des Sauerstoffdrucks bewirkte keine Erhöhung des Messsignals, wirkte sich jedoch

wiederum negativ auf die Reproduzierbarkeit aus. Um den Druck im System konstant zu halten und Druckschwankungen zu vermeiden, wurde ein weiteres Nadeldruckventil eingebaut.

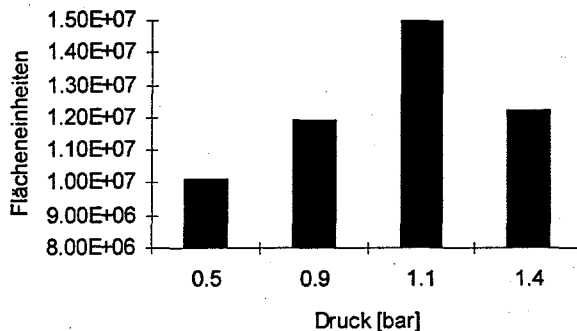


Abb. 12 Abhängigkeit des NO-Messsignals vom Sauerstoffdruck

3.3.1.3 Einfluss der Temperatur

Entscheidend auf die Verbrennung wirkte sich auch die Temperatur aus. Die Verbrennung der Probe fand unter Sauerstoff und Zusatz eines Katalysators statt. Als Katalysatormaterial stand Platin auf Aluminiumoxid und CuO/Cu₂O zur Verfügung. Die einzustellende Ofentemperatur richtete sich nach der thermischen Stabilität des Katalysatormaterials. Für den Platin-Katalysator lag die maximale Temperatur bei 780°C. Bei höherer Temperatur würde der Al₂O₃-Kern zerstört. Die Verwendung von CuO/Cu₂O als Katalysatormaterial ermöglichte Ofentemperaturen von bis zu 1000°C. Je höher die Temperatur war, um so vollständiger war die Verbrennung. Eine kurzzeitige Erhöhung der Ofentemperatur von 780°C auf 880°C bewirkte bei Verwendung des Platin-Katalysators eine annähernde Verdoppelung des Integratorsignals. Durch den Katalysatorwechsel konnte die Reproduzierbarkeit der Messungen schon deutlich verbessert werden. Traten mit dem Platin-Katalysator noch Wiederholungsvariationskoeffizienten von bis zu 20 Prozent bei einem Injektionsvolumen von 200 µl auf, wurden nach dem Austausch des Katalysatormaterials für die gleichen Konzentrationsniveaus Variationskoeffizienten von 5 Prozent erreicht.

3.3.1.4 Überprüfung des Prototyps mit NO-Prüfgas

Die Überprüfung der Umsetzung von Harnstoff zu Stickstoffmonoxid bei der Verbrennung im Hochtemperaturofen wurde über den Vergleich der dabei gebildeten Stickstoffmonoxidkonzentration mit entsprechenden Konzentrationen an NO-Prüfgas durchgeführt.

Die Verbrennungsgase aus dem Ofen wurden bei diesem Versuch über die Kupferschlange, durch das Trockenrohr, gefüllt mit Quarzbruch, und das Kondensgefäß zum Detektor geleitet. Das Injektionsvolumen der Harnstofflösungen betrug nur 50 µl, da ohne Trockenmittel gearbeitet wurde. Die Konzentrationen lagen zwischen 1 und 10 mg/l N. Absolut wurden somit zwischen 0,05 ng und 0,5 µg N eingespritzt. Die Absolut-Konzentrationen an NO-Prüfgas sollten ebenfalls in diesen Bereich fallen. Daher wurden 3 ml, 6 ml und 10 ml Prüfgas mit der Gasspritze in den Ofen injiziert.

Abb. 13 gibt die Kalibriergerade, basierend auf Harnstoff- und NO-Prüfgas-Messwerten, wieder. Es erfolgten jeweils 5 Einspritzungen pro Messpunkt. Der Korrelationskoeffizient für diese Kalibriergerade liegt bei 0,9993, die Wiederholungsvariationskoeffizienten liegen größtenteils deutlich unter 1 Prozent. Dieser Versuch lässt die Vermutung zu, dass die mangelnde Reproduzierbarkeit auf die verhältnismäßig hohen Injektionsvolumina von 200 µl und die damit verbundene Problematik der Trocknung des Verbrennungsgases zurückzuführen ist.

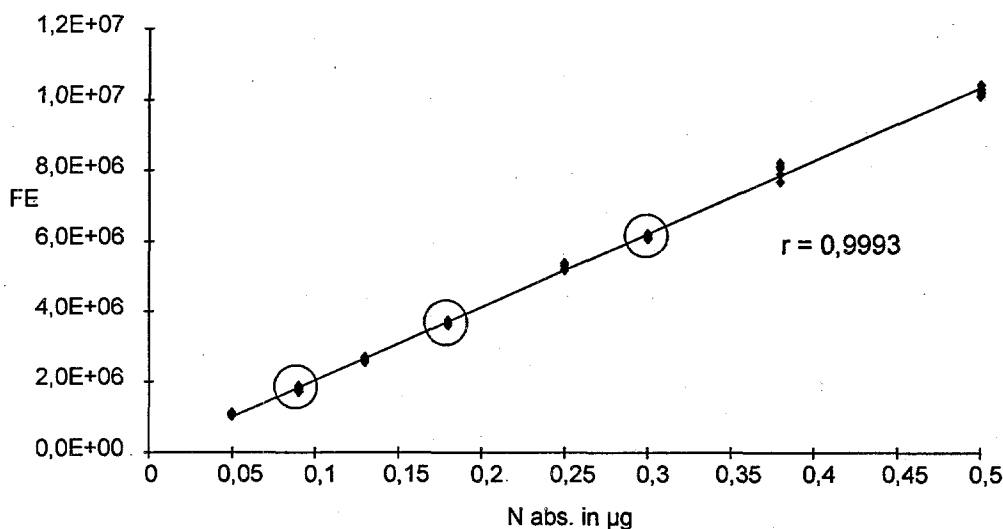


Abb. 13 Kalibriergerade im Bereich von 1 - 10 mg/l N, aufgenommen mit Harnstofflösung und NO-Prüfgas (eingekreist)

3.3.1.5 Einfluss unterschiedlicher Trockenmittel auf die TN_b -Bestimmung

Der Chemolumineszenzdetektor reagiert empfindlich auf Wasser. Im Chemolumineszenzdetektor 720 C der Firma Antek war ein Membrantrockner integriert. Dieser war für eine maximale Kapazität von 50 µl Wasser ausgelegt. Da das Probenvolumen maximiert werden sollte, war es notwendig, die Verbrennungsgase zusätzlich zu trocknen. Nach der Verbrennung der wässrigen Probe im Ofen wurde das Wasser in der ersten Stufe mit Hilfe einer

Kupferkühlschlange kondensiert, und die Verbrennungsgase anschließend über ein mit Trockenmittel gefülltes U-Rohr geleitet.

Mit NO-Prüfgas wurde getestet, ob Stickstoffmonoxid in der Trockeneinheit des Prototyps adsorbiert. Absolut konnte mit der dazu verwendeten Gasspritze ein Maximalvolumen von 10 ml bzw. 0,03 bis 0,30 µg N injiziert werden. Als erster Schritt wurde vom Ofen aus das injizierte Gas direkt in den Detektor überführt, also unter Umgehung der Kühlschlange, des Kondensationsgefäßes und des Trockenrohres. Der Wiederholvariationskoeffizient lag um 1 Prozent.

Danach wurde das NO-Prüfgas nach dem Ofendurchtritt zusätzlich über die Kupferschlange, das entleerte Kondensgefäß und das leere Trockenrohr in den Detektor geleitet. Der Fluss erniedrigte sich durch die zusätzlichen Volumina, wurde jedoch entsprechend dem vorherigen Versuch reguliert.

Die vom Integrator aufgenommenen Signalpeaks waren im Vergleich zu vorher kleiner, dafür aber breiter, die Retentionszeit erhöhte sich. Die resultierenden Peakflächen veränderten sich jedoch nicht. Mit diesem Versuch konnte gezeigt werden, dass kein Stickstoffmonoxid in der noch feuchten Kupferschlange bzw. in dem noch feuchten Kondensgefäß adsorbiert wurde. Der Variationskoeffizient lag wiederum bei 1 Prozent.

Wurde das Prüfgas über das mit Sicapent gefüllte Trockenrohr geleitet, traten erneut Variationskoeffizienten deutlich höher als 1 Prozent auf.

Die Verwendung von Sicapent führte somit zu hohen Wiederholungsvariationskoeffizienten (V_k). Sicapent war in der Lage, Stickstoffmonoxid zu adsorbieren und zeitverzögert wieder zu desorbieren. Dieser Sachverhalt konnte auch mit dem leihweise zur Verfügung gestellten Immissionsmeßgerät CLD 700 AL der Firma eco physics gezeigt werden. Der CLD misst die Konzentration an NO und NO_x im Messgas und zeigt schließlich die Konzentration an NO, NO_x und NO₂ an. Der Anschluss des Chemolumineszenzdetektors an die Ofeneinheit zeigte, dass im Vergleich zur Raumluft ein erhöhter Wert an NO, NO_x und NO₂ gemessen wurde. Dieser Wert verdoppelt sich nach beendeter Injektion. Dies liess die Vermutung zu, dass Adsorptionseffekte im System auftraten. Wurde die Abluft aus dem Ofen unter Umgehung der Kühlschlange und des Trockenrohres direkt in den Detektor geleitet, wurden NO_x-Gehalte ≤ 0,01 ppm gemessen (Tab. 6.).

Die Adsorption von Stickstoffmonoxid an Sicapent wurde auch bei der Peakdetektion erkennbar. Beim Einspritzen der Lösungen in den Ofen kam es zu einem kurzfristigen Druckanstieg im System. Dieser bewirkte offensichtlich eine Desorption des am Trockenmittel adsorbierten Stickstoffmonoxids. Dieser Effekt wurde als kleiner Vorpeak im Chromatogramm sichtbar.

Tab. 6 Einfluß von Sicapent auf den Blindwert

	NO/ppm	NO ₂ /ppm	NO _x /ppm
Nach der Aufheizphase (Trockenrohr mit Sicapent gefüllt)	0.144	0.061	0.205
Blindwert nach vorherigem Einspritzen von 200 µl Harnstofflg. (0,75 mg/l N)	0.21	0.19	0.40
Direkter Einlaß Ofen->Detektor (ohne Kühlschlange, Trockenrohr)	0.005	0.005	0.010
Laborluft	0.004	0.012	0.016

An Stelle von Sicapent wurden daher folgende Trockenmittel getestet: Trockenperlen blau der Fa. Solvay, $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 gekörnt, Al_2O_3 (90 aktiv) und $\text{CaSO}_4 \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ (feingepulvert, gebrannt). Für diese Untersuchungen stand der Antek-Detektor zur Verfügung. Die Eignung des Trockenmittels wurde über den Wiederholungsvariationskoeffizient mehrerer Messungen bestimmt. Das U-Rohr wurde mit dem jeweiligen Trockenmittel gefüllt und an den Enden mit Glaswolle abgedeckt. Bei besonders feinkörnigen Trockenmitteln, wie im Falle des Calciumsulfates, kam es aufgrund der Verdichtung mit der Glaswolle beim Einspritzen der Probe zur Verpuffung. Daher wurde anschließend nur grobkörniges Materialien getestet. Die Trockenperlen zeigten für 11 aufeinanderfolgende Messungen einen Variationskoeffizienten von annähernd 9 Prozent. Die beste Reproduzierbarkeit wurde mit Magnesiumperchlorat erzielt, welches letztendlich als Trockenmittel eingesetzt wurde.

3.3.2 Ergebnisse zu der Kombination des Chemolumineszenzdetektors mit dem TOC-Gerät

Die Bestimmung des gesamten organisch gebundenen Kohlenstoffs (TOC) erfolgt entsprechend der Bestimmung des TN_b (DIN 38409) nach Verbrennung der Probe im Hochtemperaturofen. Damit kann aus einer Probe parallel der TN_b und der TOC bestimmt werden. Die Detektion erfolgt einmal über Chemolumineszenz und zum anderen über NDIR-Detektion.

Somit lag es nahe, das vorhandene TOC-Gerät der Firma IDC zu modifizieren. Nach der nichtdispersiven Infrarotdetektion (NDIR-Detektion) werden die Verbrennungsgase normalerweise der Raumluft zugeführt. Diese Verbrennungsgase können jedoch auch direkt dem Chemolumineszenzdetektor zugeführt werden (Abb. 14). Die Kombination des TOC-Gerätes mit einem Chemolumineszenzdetektor bringt im Vergleich zum Prototyp die in Tab. 7 aufgeführten Vorteile.

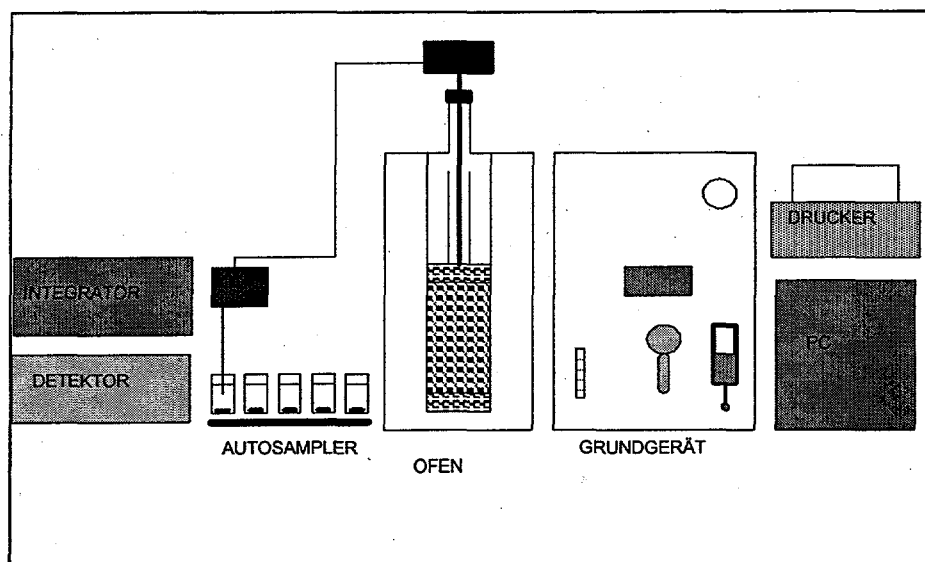


Abb. 14 Kombination des TOC-Gerätes mit dem Chemolumineszenzdetektor

Zur TOC-Bestimmung wurden 1000 µl Probe injiziert (Mindesteinspritzvolumen 200 µl). Nach der Injektion der Probe wurde das System mit 750 µl deionisiertem Wasser gespült. Die Oberfläche der Kupferkühlschlange wurde im Vergleich zum Prototyp wesentlich erhöht, das Kondensgefäß wurde nach jeder Messung automatisch entleert. Als weitere Trockeneinheit war ein Trockenrohr gefüllt mit Sicapent vorhanden. Dies war aufgrund der "großen" Einspritzvolumina auch erforderlich. Beim Anschluss des Stickstoffdetektors musste aufgrund des Sicapents wiederum mit hohen V_k -Werten gerechnet werden. Durch die gleichzeitige Erfassung der TOC-Werte konnte mit diesem Gerät nochmals gezeigt werden, dass die Verbrennung der organischen Verbindungen im Ofen an sich nicht für die schlechte Reproduzierbarkeit verantwortlich war. Für die TOC-Bestimmung wurden Variationskoeffizienten kleiner 1 Prozent bestimmt.

Da auf die Trocknung bei den hohen Injektionsvolumina nicht verzichtet werden konnte, wurde das Sicapent durch das in Phase 1 getestete $Mg(ClO_4)_2$ ersetzt. Mit Magnesiumperchlorat als Trockenmittel wurden nun auch für Stickstoff Variationskoeffizienten unter 1 Prozent gefunden. Die N-Konzentrationen lagen bei den Versuchen im Bereich von 0,1 - 10 mg/l N und im Bereich von 10 - 100 mg/l N. Für den erstgenannten Konzentrationsbereich wurde ein linearer Verlauf mit einem Korrelationskoeffizienten größer 0,9991 gefunden. Für den Konzentrationsbereich von 10 - 100 mg/l N wurde mit einer exponentiellen Funktion eine bessere Angleichung gefunden.

Tab. 7 Vorteile der N-Bestimmung mit Hilfe des TOC-Gerätes im Vergleich zum Prototyp

TOC kombiniert mit N-Analysator	Prototyp N-Analysator
• automatische Probenaufgabe - Zeitersparnis - Personalaufwand geringer - reproduzierbare Probenaufgabe - Injektionslanze reicht bis in die heiße Zone im Ofen • Der Gasfluß in die IR-Zelle wird konstant gehalten, und somit auch der Gasfluß zum Detektor • Neben dem TN_b-Wert erhält man eine Aussage über den TOC-Wert der Probe → doppelter Informationsgehalt • Über den TOC-Wert ist eine Beurteilung über die Vollständigkeit der Verbrennung der Probe möglich • Einspritzvolumina bis 1000 μl	• manuelle Probenaufgabe - Nadelspitze der Druckspritze nur 7cm lang - mit Abrieb vom Septum muß gerechnet werden • Druckschwankungen bis in den Detektor, Druckschwankungen entstehen vor allem beim Einspritzen der Probe • Druckspritze nur bis 200 μl

3.3.2.1 Wiederfindung für unterschiedliche Stickstoffverbindungen

In Abb. 15 und Abb. 16 sind für zwei Konzentrationsbereiche die Wiederfindungen für mehrere Stickstoffverbindungen aufgeführt. In Abb. 15 wird die prozentuale Wiederfindung von Ammoniumsulfat und Nicotinsäure im Vergleich zum Mischstandard, bestehend aus gleichen Volumenteilen Ammoniumsulfat, Nicotinsäure, Harnstoff und Natriumnitrat für den Konzentrationsbereich von 0,1 bis 1 mg/l N dargestellt. Für den Mischstandard ist zusätzlich die Streuung der Dreifachbestimmung für jedes Konzentrationsniveau über die Fehlerbalken angegeben. Der Variationskoeffizient V_k lag für die Dreifachbestimmung in diesem Konzentrationsbereich bei maximal 3,5 Prozent. Für den Konzentrationsbereich von 1 bis 10 mg/l N konnte für den Mischstandard ein V_k von kleiner 1 Prozent für alle Konzentrationsniveaus erzielt werden.

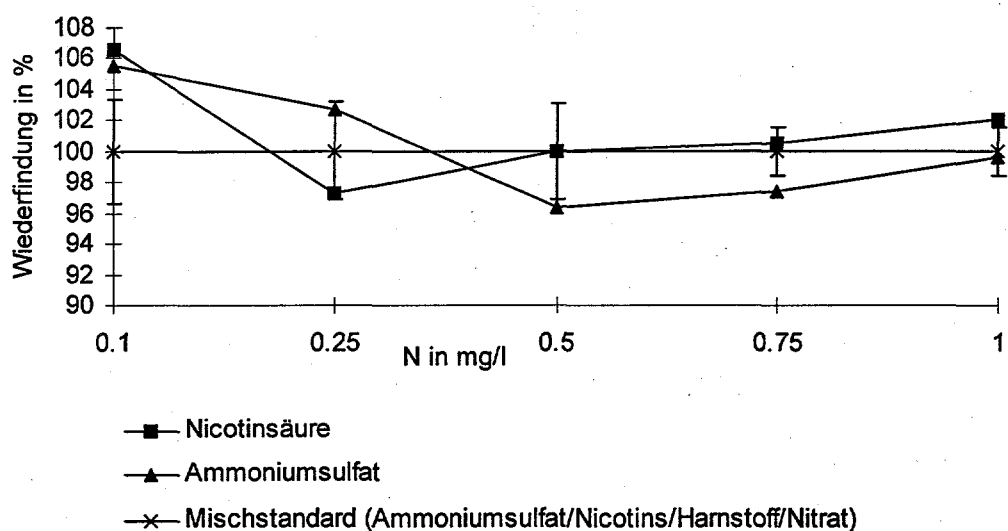


Abb. 15 Wiederfindung von Nicotinsäure und Ammoniumsulfat im Vergleich zum Mischstandard für den Konzentrationsbereich von 0,1 bis 1 mg/l N

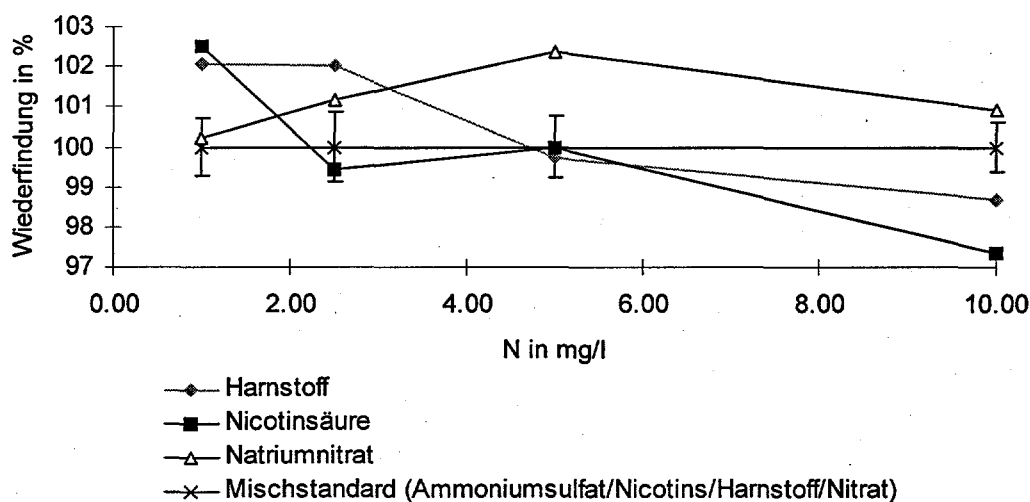


Abb. 16 Wiederfindung von Nicotinsäure, Harnstoff und Natriumnitrat im Vergleich zum Mischstandard für den Konzentrationsbereich von 1 bis 10 mg/l N

Aus Abb. 17 wird deutlich, dass Memoryeffekte im System auch nach Austausch des Trockenmittels Sicapent durch Magnesiumperchlorat auftraten. So wurden in dem Versuch drei Harnstoffkalibrierungen im Konzentrationsbereich von 1 bis 10 mg/l N in Reihe gemessen. Die Abweichungen der 2. und 3. Messreihe für das erste Konzentrationsniveau waren mit 3 bis 6 % im Vergleich zu den anderen Messwerten verhältnismäßig hoch. Obwohl nach der

Messung des höchsten Messwertes, hier 10 mg/l N, jeweils eine Blindwertmessung mit Reinstwasser erfolgte, traten Memoryeffekte auf, die zu den Mehrbefunden führten.

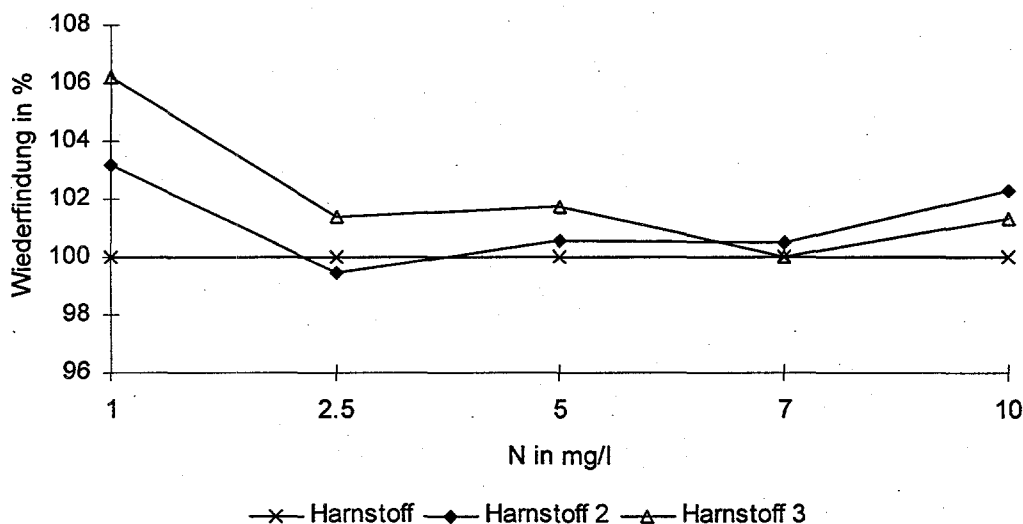


Abb. 17 Reproduzierbarkeit der TN Messung am Beispiel von Harnstoff

3.3.3 Ergebnisse zu Messungen mit dem Multi TC+N-Gerät

Die Ergebnisse der Vorversuche mit dem Prototyp des Hochtemperaturofens, den verschiedenen Chemolumineszenzdetektoren und der Kombination des TOC-Gerätes mit dem Chemolumineszenzdetektor führten bei der Firma IDC zur Entwicklung des Multi TN+C-Gerätes. Mit dem Multi TN+C kann gleichzeitig der TC und TN_p einer Probe bestimmt werden. Als Stickstoffdetektor enthält das Multi TN+C-Gerät den Chemolumineszenzdetektor CLD 70 E der Firma eco physics. Der eingebaute Konverter ermöglicht es neben der direkten Chemolumineszenzmessung von NO aus den Verbrennungsgasen auch den Beitrag von NO_x , nach Konvertierung zu NO, quantitativ zu erfassen.

An Stelle des Trockenrohres, welches bei der Kombination TOC + N-Detektor mit Magnesiumperchlorat gefüllt wurde, enthält das Multi TN+C einen wartungsfreien Membrantrockner.

Zur Verbesserung der Reproduzierbarkeit und Verhinderung von Memoryeffekten wurde das Injektionsverfahren in zwei Punkten verändert. Die Edelstahlnadel wird beim Multi TN+C in eine Quarzglashülse mit einem Durchmesser von 0,5 cm und einer Länge von 10 cm geführt. Diese Schutzhülse steht auf der Katalysatoroberfläche auf. Die Führung der Nadel durch die Hülse bewirkt, dass die Probe noch gezielter auf die Katalysatorfläche auftrifft. Weiterhin wird

das Injektionsvolumen unabhängig vom injizierten Probenvolumen auf 1,7 ml Gesamtvolumen mit Reinstwasser aufgestockt.

3.3.3.1 Wiederfindung für unterschiedliche Stickstoffverbindungen

Aus Abb. 18 wird deutlich, dass die Reproduzierbarkeit der Messungen mit dem Multi TN+C Gerät wesentlich verbessert werden konnten. Für Harnstoff sind in Abb. 18 die Fehlerbalken für eine Dreifachbestimmung pro Messpunkt aufgetragen. Der Variationskoeffizient liegt mit Ausnahme des niedrigsten Messpunktes unter 0,5 Prozent. Auch traten die in Kapitel 3.3.2.1 beschriebenen Memoryeffekte bei diesem Gerät in diesem Konzentrationsbereich nicht auf.

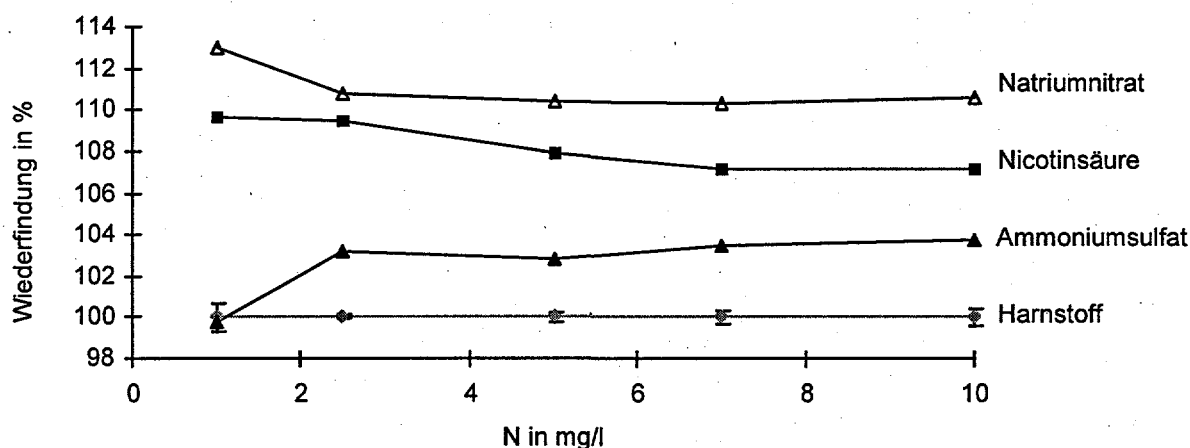


Abb. 18 Wiederfindung von Ammoniumsulfat, Natriumnitrat und Nicotinsäure im Vergleich zu Harnstoff für den Konzentrationsbereich von 1 bis 10 mg/l N

Die Wiederfindung für die einzelnen Stickstoffverbindungen variierte jedoch weiterhin. Das wurde aufgrund besserer Reproduzierbarkeit der einzelnen Messungen und dem fehlenden Memoryeffekte im Vergleich zu Abb. 16 besonders deutlich. Für die Nitratlösungen wurden bis zu 13 Prozent höhere Werte gefunden wie für die Harnstofflösungen bei gleichem Stickstoffgehalt.

Für Natriumazid wurde im Vergleich zu Nicotinsäure eine Wiederfindung von nur 30 Prozent im Konzentrationsbereich von 1 bis 10 mg/l N gefunden. Für die cyclische Stickstoffverbindung 2,4,6-Trimethylpyridin wurde eine Wiederfindung von 55 Prozent bezogen auf Nitrat nachgewiesen.

Die nicht quantitative Umsetzung mancher Stickstoffverbindungen zu NO wird in der DIN Vornorm ENV 12260 dadurch berücksichtigt, dass zur Kalibrierung des Gerätes eine Lösung bestehend aus unterschiedlichen Stickstoffverbindungen vorgegeben wird.

Allgemein kann gesagt werden, dass Bestimmungen von Gesamtstickstoff nach dem Hochtemperaturaufschluss einem gewissen Fehler unterliegen. Die Überprüfung des Analysensystems und auch die Wiederfindungsratenbestimmung können nur mit einigen ausgewählten Verbindungen durchgeführt werden, jede weitere in der Probe vorhandene Stickstoffverbindung stellt eine unbekannte Größe dar. Störungen, die sich aus der Probenmatrix ergeben und zu Analysenwertverfälschungen führen, sind nicht nachvollziehbar. Daher ist die Bestimmung des TN_b eine Konventionsanalytik. Das Analysenergebnis wird als richtig angesehen, wenn es unter strikter Einhaltung der Analysenvorschrift und ihrer Randbedingungen erstellt wurde. [Braun u. a., 1991]

3.3.3.2 Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze des Multi TN+C - Gerätes

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze wurde nach DIN 32645 bestimmt. Die Nachweisgrenze liegt bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 Prozent bei 0,03 mg/l N, die Bestimmungsgrenze bei 0,11 mg/l N (Anhang 1). Bei Konzentrationen größer 70 mg/l N liegt das maximale Einspritzvolumen bei 200 µl. Das geringere Einspritzvolumen erhöht den Wiederholungsvariationskoeffizienten geringfügig.

3.3.3.3 Ringversuch zur Nitratbestimmung

In der Abteilung Hydrochemie des Institutes für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft befindet sich die Leitstelle für Analytische Qualitätssicherung in Baden-Württemberg. In diesem Rahmen fand ein Ringversuch zur Bestimmung von Nitrat in Reinstwasser statt. An diesem Ringversuch wurde intern mit dem Multi TN+C Gerät teilgenommen. Da bekannt war, dass die Probe neben Nitrat keine weiteren Stickstoffverbindungen enthielt, wurde die Kalibrierung des Gerätes mit Nitratlösungen durchgeführt. In Tab. 8 sind die Ergebnisse des Ringversuches dargestellt. Die mit dem Sternchen gekennzeichneten Werte liegen im Vertrauensbereich des jeweiligen ausreißerbedingten Datensatzes. Die mit Sternchen und Ausrufezeichen gekennzeichneten Werte liegen im Bereich von plus/minus einer Standardabweichung.

Tab. 8 Ringversuch zur Nitrat-Bestimmung, Ausgabetag 8.03.1996

Probe Nr.		Nitrat- N mg/l	
153	vorgegeben	3,128	
	gefunden	3,103	* (!)
149	vorgegeben	6,945	
	gefunden	6,943	* (!)
193	vorgegeben	12,616	
	gefunden	12,47	* (!)
123	vorgegeben	43,371	
	gefunden	43,2	* (!)

* Werte liegen im Vertrauensbereich des jeweiligen ausreißerbedingten Datensatzes

* (!) Werte liegen im Bereich von ± 1 S

3.4 Organischer Stickstoff

3.4.1 Zusammensetzung des organischen Stickstoffs im kommunalen Abwasser

Der organische Reststickstoffanteil N_{org} beträgt im rein kommunalen Abwasser im Durchschnitt 2 - 3 mg/l [Mehlhorn, 1996]. Die Molekulargewichtsverteilung des DON's („Dissolved Organic Nitrogen“) für Abwasser von Kläranlagenabläufen nach biologischer Reinigungsstufe wurde von *Elsäßer* [Elsäßer, 1990] durch Trennung mit Membranfiltration bestimmt. Der DON ist von *Elsässer* definiert als der Stickstoff, der nach einer 0,45 μ m-Filtration und Austreiben des Ammoniaks über die Kjeldahlmessung erfasst wird.

50 Prozent des DON's wurden somit von *Elsäßer* in der hochmolekularen Fraktion gefunden, die jedoch nicht näher identifiziert wurde. Bei diesen Verbindungen handelt es sich wahrscheinlich um relativ feste Assoziate von Fulvinsäuren mit Peptiden, wodurch die Peptide vor Angriffen von Exoenzymen der Bakterien geschützt sind [Koppe u. Stozek, 1993]. Ein N_{org} -Gehalt von 2 mg/l entspricht rechnerisch einer Proteinkonzentration von 12 mg/l.

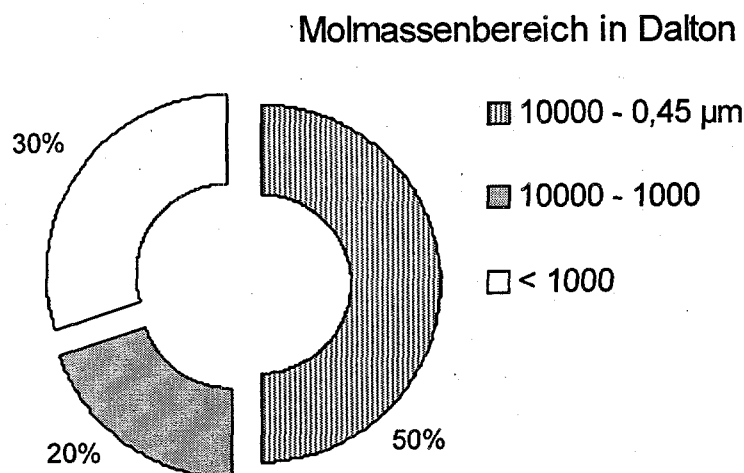


Abb. 19 Molmassenverteilung des DON im Abwasser eines Kläranlagenablaufes nach biologischer Reinigung [Elsäßer u. a., 1992].

Näher untersucht wurde von *Elsäßer* die Fraktion < 1000 Dalton. *Elsäßer* konnte 4,1 Prozent des DON's in der Fraktion < 1000 Dalton über eine Quantifizierung von freien und gebundenen Aminosäuren nach Hydrolyse mit einem Gesamtgehalt von annähernd 100 µg/l bestimmen. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Ergebnisse sich auf drei Proben beziehen und bei der Analytik Konzentrationsschwankungen um den Faktor 10 bis 100 in Bezug auf einzelne Aminosäuren auftraten. Der Gehalt der Kernbasen Guanin, Thymin und Adenin, charakteristische Bestandteile der RNA, wurde von *Elsäßer* mit jeweils 1 - 10 µg/l bestimmt, dies entspricht 1 Prozent des DON's in der Fraktion < 1000 Dalton.

In der Arbeit von *Elsäßer* wurden weitere Ergebnisse mehrerer Publikationen über die Quantifizierung von Aminosäuren im kommunalen Abwasser biologisch gereinigter Kläranlagenabläufe zusammengefasst. Die Konzentration der Summe an freien und gebundenen Aminosäuren bewegt sich zwischen 100 und 260 µg/l. Es wird allerdings nicht die jeweilige Belastung des Ablaufs an N_{org} angegeben, so dass eine prozentuale Einschätzung nicht möglich ist.

Von *Bissen u. a.* [Bissen u. a., 1997] wurde das Aminosäuremuster nach 0,45 µm-Filtration in verschiedenen Aufbereitungsstufen einer kommunalen Kläranlage mit biologischer Reinigung untersucht. Im Ablauf der Kläranlage konnten 0,28 mg/l freie Aminosäuren, 2,45 mg/l säurehydrolytisch freisetzbare Aminosäuren und 1,5 mg/l enzymatisch freisetzbare Aminosäuren bestimmt werden. Die freie Aminosäure Leucin wurde mit ungefähr 30 µg/l Aminosäurestickstoff („AS-N“) gefunden. Nach Säurehydrolyse konnten noch Cystein, Glycin und Lysin nachgewiesen werden, während nach enzymatischer Spaltung auch noch Arginin

und Valin als Einzelsubstanzen identifiziert werden konnten. In der Summe wurden 0,5 mg/l AS-N gefunden. Der DOC des Abwassers aus dem Ablauf wurde mit 15 mg/l angegeben. Da das Verhältnis DOC/ N_{org} stark von der Abwasserzusammensetzung abhängig ist [Elsäßer, 1990; Koppe u. Stozek, 1993] und der N_{org} nicht weiter angegeben wurde, kann der prozentuale Anteil des AS-N an N_{org} nur geschätzt werden. Bei der Annahme von 2 - 3 mg/l N_{org} liegt der AS-N-Gehalt zwischen 17- 25 Prozent.

Eine Arbeit, die sich mit der näheren Identifizierung des N_{org} in Form von polaren und unpolaren Stickstoffverbindungen niedriger molarer Massen (< 1000 Dalton) in Abläufen kommunaler Kläranlagen mit biologischer Reinigungsstufe befasst hat, liegt von Grohmann vor [Grohmann, 1994]. In dieser Arbeit konnten 20 Prozent der niedermolekularen Stickstoffverbindungen mittels GC-MS identifiziert werden. Allerdings wird eingeräumt, dass von den 133 über eine Datenbank identifizierten Verbindungen nur 17 mit einer Übereinstimmung von > 90 Prozent gefunden wurden, wobei die Ergebnisse der Spektrensuche über die drei Referenzsubstanzen Benzothiazol, 1-Methyl-2-pyrrolidinon und Caprolactam abgesichert wurden.

3.4.2 Relevanz des organischen Stickstoffs

Der Vergleich der in der Literatur angegebenen Werte bezüglich der Zusammensetzung des Parameters N_{org} erweist sich als recht schwierig. Die Ergebnisse stammen von unterschiedlichen kommunalen Kläranlagen mit unterschiedlichen Verfahren sowohl in der Abwasserreinigung als auch in den angewandten Analyseverfahren zur Bestimmung des N_{org} -Anteils im Abwasser.

In der Abwasserverordnung [AbwV, 1997] wird der organische Stickstoff bei der Stickstoffbestimmung nicht mit berücksichtigt. Die Annahme, dass die Summe aus Nitrat-, Nitrit- und Ammoniumstickstoff gleich dem TN_b ist, kann annähernd nur unter der Voraussetzung gemacht werden, dass der Abbau von organischen Stickstoffverbindungen über anorganische Stickstoffverbindungen bis zum elementaren Stickstoff vollständig erfolgt. Schwer abbaubare Stickstoffverbindungen bleiben somit unberücksichtigt. Die Belastung an organischen Stickstoffverbindungen im Ablauf von biologischen Reinigungsverfahren, die aufgrund von Stoffwechselprodukten des belebten Schlammes auftreten, werden ebenso nicht berücksichtigt. Eine Restkonzentration an organischer Belastung ist jedoch beim Belebungsverfahren nicht zu vermeiden.

Eine Erhöhung der Konzentration an organischen Stickstoffverbindungen in vorwiegend kommunalem Abwasser kann auch durch Indirekteinleitungen von schwer abbaubaren organischen Stickstoffverbindungen (z. B. Textilindustrie) erfolgen [Mehlhorn, 1996].

Angaben zur Gewässerbelastung können nur gemacht werden, wenn alle Eintragspfade mengenmäßig erfasst werden. Daher sollte die Gesamtbelastung bestimmt werden und dies ist allein mit der Summe N_{anorg} nicht möglich [Rinne u. Seckert-Knopp, 1997].

3.4.3 Möglichkeiten zur Bestimmung des organischen Stickstoffs

In den Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung wird zur Bestimmung des organischen Stickstoffs das Kjeldahl-Verfahren und die Differenzmethode angegeben.

3.4.3.1 Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffs (DEV H11/ DIN EN 25 663)

Die in der Wasserprobe enthaltenen reduzierten Stickstoffverbindungen werden durch Aufschluss der Probe mit kaliumsulfathaltiger Schwefelsäure in Anwesenheit eines Katalysators zu Ammoniumsulfat umgesetzt. Nach Zugabe von Natriumhydroxidlösung wird das entstehende Ammoniak in eine Borsäure-Indikator-Lösung destilliert. Die Bestimmung des Ammoniums im Destillat erfolgt durch Titration mit einer Säure-Standardlösung.

Alternativ kann Ammonium direkt aus der Aufschlusslösung durch Photometrie bei 655 nm bestimmt werden.

3.4.3.2 Differenzmethode zur Berechnung des Organischen Stickstoffs

Eine weitere Methode zur Bestimmung des organisch gebundenen Stickstoffs ist die Differenzmethode. Hierbei wird der gesamte gebundene Stickstoff nach DIN 38409 DEV H 28, DIN 38409 DEV H27 bzw. DIN V ENV 12260 DEV H34 bestimmt und anschließend die Summe aus Nitrat-N, Nitrit-N und Ammonium-N subtrahiert.

3.4.4 Beurteilung der Methoden zur Bestimmung des organischen Stickstoffs

Bei der Bestimmung nach Kjeldahl wird nur reduzierter Stickstoff mit der Oxidationsstufe -III bestimmt. Organisch gebundener Stickstoff in Form von Azid, Azin, Azo, Hydrazon, Nitro, Nitroso, Oxim oder Semicarbazon wird nicht quantitativ erfasst. Stickstoff aus heterocyclischen Stickstoffverbindungen ist ebenfalls nicht vollständig bestimmbar. Die Anwesenheit von Nitrat und/oder Nitrit kann zu negativen und positiven Abweichungen führen. Nitrate und/oder Nitrite können unter den Bedingungen des Verfahrens zu Ammonium reduziert

werden und zu Überbefunden führen. Nitrate und Nitrite können mit dem Ammonium in der Probe Ammoniumsalze bilden, die bei der Aufschlusstemperatur zersetzt werden (Komproportionierung). Dabei entweicht gasförmiger Stickstoff, was zu Minderbefunden führt.

Mit diesem Verfahren kann somit der Gruppenparameter „organisch gebundener Stickstoff“ nicht hinreichend genau bestimmt werden.

Zur Berechnung des organischen Stickstoffs nach der Differenzmethode müssen vier Einzelbestimmungen für jede Probe durchgeführt werden. In die Berechnung des resultierenden Parameters fließen die Messfehler aus vier analytischen Verfahren ein. Aufgrund der in der Regel deutlich höheren Konzentration der anorganischen Ionen kann der Messfehler im kommunalen Abwasser bereits in der Größenordnung des organischen Stickstoffanteils liegen [Braun u. a., 1991].

Die gängigen Verfahren zur Ermittlung des organischen Stickstoffs können den Parameter nicht vollständig erfassen bzw. sind zeitaufwendig und/oder fehlerbehaftet.

Es sollte daher versucht werden, eine alternative Methode zur Bestimmung des organischen Stickstoffs zu entwickeln.

3.5 Modellansatz zur Entwicklung einer 'neuen' Methode zur Bestimmung des Parameters N_{org}

Der Modellansatz zur Entwicklung einer 'neuen' Methode zur Bestimmung des Parameters N_{org} sollte in Analogie zur TOC-Bestimmung erfolgen. Bei der TOC-Bestimmung nach DEV H3 / EN 1484 wird die Wasserprobe nach Entfernen des anorganischen Kohlenstoffs im Hochtemperaturofen verbrannt und die TOC-Konzentration über IR-Detektion bestimmt. Der anorganische Kohlenstoff in Form von Carbonat und Hydrogencarbonat wird durch Ansäuern der Probe und Austreiben des entstehenden Kohlendioxids entfernt.

Entsprechend wird für die N_{org} -Bestimmung die stickstoffhaltige Wasserprobe im Hochtemperaturofen verbrannt und die entstehenden Stickoxide werden nach Umsetzung mit Ozon über Chemolumineszenz detektiert. Die Entfernung des anorganischen Stickstoffs in Form von Nitrat, Nitrit und Ammonium ist jedoch wesentlich schwieriger und aufwendiger als die Entfernung des anorganischen Kohlenstoffs und stellt bei dieser Vorgehensweise das eigentliche Problem dar. Es wurde versucht, die anorganischen Stickstoffverbindungen vor der Injektion der Probe in den Ofen durch Ionenaustausch quantitativ zu entfernen.

Das Multi TN + C-Gerät sollte dahingehend modifiziert werden, dass die zu untersuchende Probe vor der Verbrennung über eine Ionenaustauscherpatrone geleitet wird, um den anorganischen Stickstoff in Form von Nitrat, Nitrit und Ammonium zu entfernen (Abb. 20). Somit sollte über die Verbrennung nur der organische Stickstoffanteil der Probe bestimmt werden. Da bei der Filtration über die Ionenaustauschersäule Partikel aus der Probe zurückgehalten werden, ist mit diesem Ansatz allerdings nur die Bestimmung des gelösten organischen Stickstoffs (DON) in der Probe realisierbar.

Die Kombination des TN + C-Gerätes mit der Ionenaustauschersäule sollte die Messung des DON in einem Analysenschritt ('one-step'-DON-Messung) ermöglichen. Dieses Gerät könnte auch als on-line-Gerät zur Kontrolle des Kläranlagenablaufes eingesetzt werden.

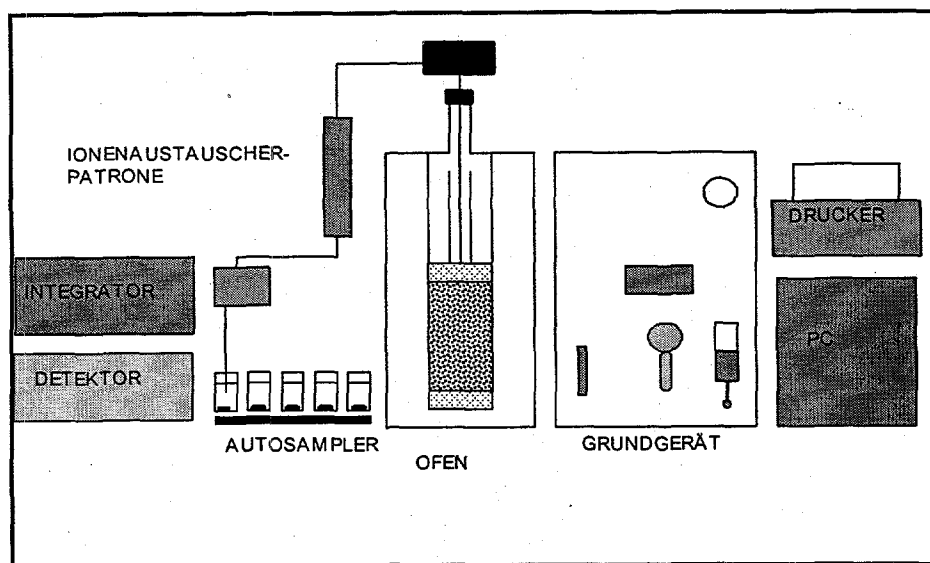


Abb. 20 Schematische Darstellung des Gerätes zur one-step DON Messung

3.5.1 Versuchsdurchführung

Eine Chromatographiesäule (Innendurchmesser 15 mm, Länge 200 mm) wurde mit 10 ml Ionenaustauschermaterial gefüllt. Ober- und unterhalb des Harzes befand sich eine dünne Schicht Glaswolle. Als Stammlösung wurden Lösungen unterschiedlicher N-Verbindungen mit 100 mg/l N verwendet. Die Bezugslösungen wurden nach vorherigem Waschen des Harzes mit einer Tropfgeschwindigkeit von 4 ml/min über die Chromatographiesäule geführt und in einem Probengläschen aufgefangen.

Die Probengläschen wurden in den Autosampler des Multi TN+C Gerätes überführt und die Probenlösungen auf den TN-Gehalt hin untersucht. Des Weiteren wurden die Bezugslösungen ohne vorherige Passage über das Harz, mit dem Multi TN+C Gerät vermessen.

3.6 Ergebnisse - Organischer Stickstoff

3.6.1 Entfernung von Nitrat und Nitrit mit Ionenaustauscher

Die Entfernung von Nitrat aus Wasser mittels Ionenaustauscher wird in der Trinkwasseraufbereitung bereits erfolgreich durchgeführt.

Als Anionenaustauschermaterial für die Entfernung von Nitrat wurde 'AMBERLITE Nitratharz selektiv' der Firma Rohm & Haas getestet. Das Material wird bevorzugt in der Trinkwasseraufbereitung verwendet. Für Trinkwasser gilt der Grenzwert von 50 mg/l Nitrat. Die Nitrationen werden gegen Chloridionen ausgetauscht. Das Harz zeichnet sich durch eine hohe Nitratselektivität aus, wenn hohe Sulfatkonzentrationen anwesend sind (über 150 mg/l). Hydrogencarbonat wird ebenfalls kaum gebunden und somit kommt es auch zu keiner wesentlichen pH-Wert-Änderung. Die Kapazität von 1 Liter Amberlite selektiv Harz beträgt 90 g Nitrat. Regeneriert wird das Harz mit NaCl-Lösung.

Allerdings muss bei der Entfernung des Nitrats mittels Anionenaustauscher aus dem Abwasser gewährleistet sein, dass die organischen Stickstoffverbindungen, vor allem die Verbindungen mit saurem bzw. amphoterem Charakter, nicht mit eliminiert werden.

Die in Abb. 21 gezeigten Datenreihen zeigen den Stickstoffgehalt der untersuchten Proben vor und nach Überführung der Proben über die mit Ionenaustauschermaterial gefüllte Chromatographiesäule. Die Nitratkonzentration der Ausgangsproben lag im Bereich von 1 -15 mg/l N. Der Ablauf der Chromatographiesäule weist keine relevanten Stickstoffkonzentrationen mehr auf. Die quantitative Entfernung von Nitrat mittels Anionenaustauscher ist, wie zu erwarten war, realisierbar.

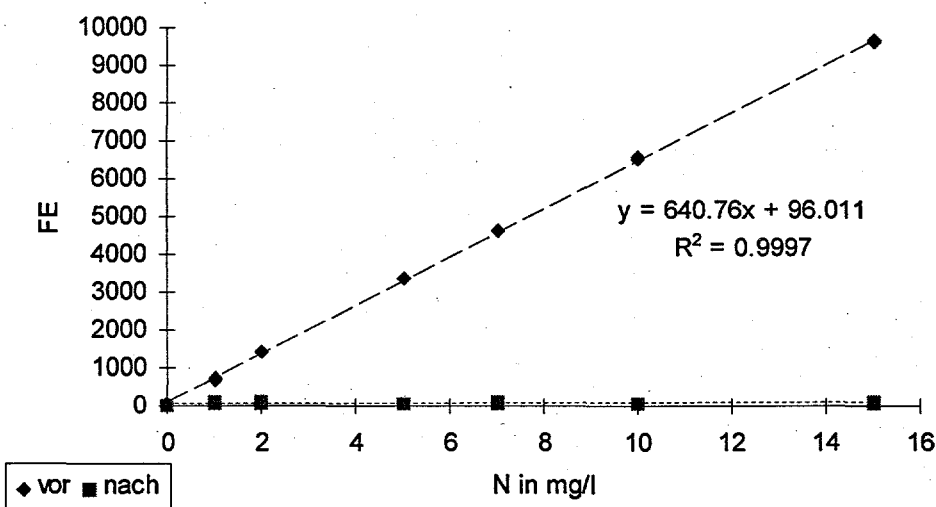


Abb. 21 Nitratentfernung aus wässriger Probe mittels Anionenaustauscher

Für Nitrit wurden die gleichen Ergebnisse wie für Nitrat gefunden. Auch Nitrit wurde im Konzentrationsbereich von 1-10 mg/l N am Ionenaustauschermaterial gebunden (Abb. 22) und wurde somit bei der TN-Bestimmung nicht mehr detektiert.

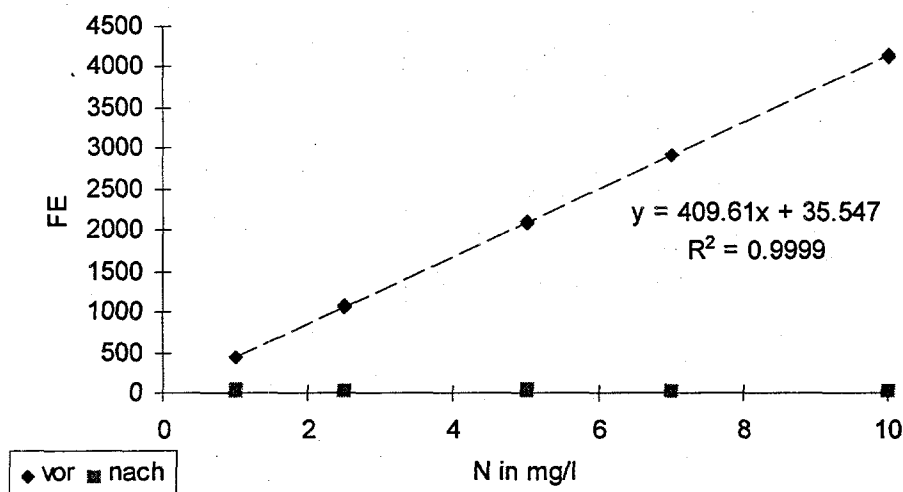


Abb. 22 Nitritentfernung aus wässriger Probe mittels Anionenaustauscher

Des Weiteren musste untersucht werden, inwieweit die Ammoniumkonzentration der Probe von dem Ionenaustauschermaterial beeinflusst wird. Da es sich bei dem Ionenaustauschermaterial um einen Anionenaustauscher handelt, sollte sich die Ammoniumkonzentration der Probe durch den Ionenaustauscher nicht verändern. Aus Abb. 23 wird ersichtlich, dass die Ammoniumkonzentration unverändert bleibt.

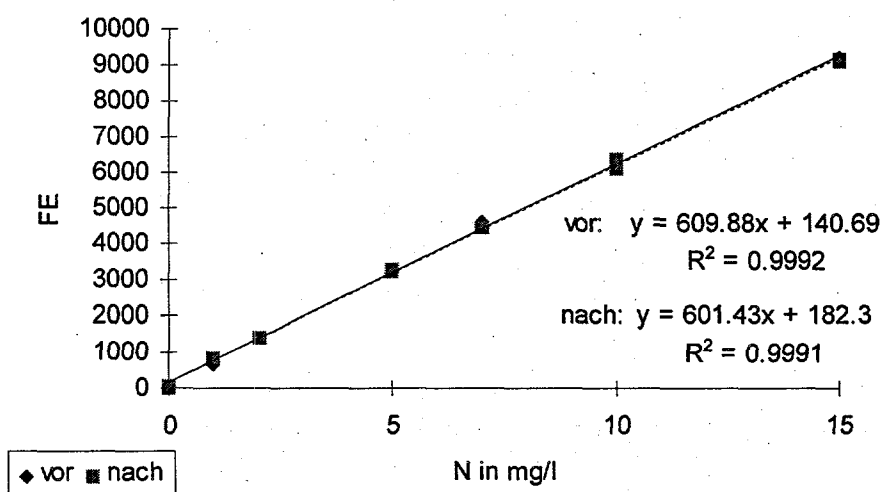


Abb. 23 Einfluss des Anionenaustauschers auf den Ammoniumgehalt

3.6.2 Entfernung von Ammonium mit Ionenaustauscher

Zur Abtrennung von Ammonium wurden Versuche mit einem Kationenaustauscher durchgeführt.

Als Kationenaustauscherharz wurde das von der Firma Rohm und Haas angebotene stark saure Austauscherharz Amberlite SR1L Na verwendet. Amberlite SR1L Na zeichnet sich durch eine gute Austauschkinetik und hohe Kapazität aus und wurde speziell für Anwendungen im Trinkwasserbereich entwickelt. In der H^+ -Form ist die Selektivität zur Entfernung von Ammonium laut Herstellerangaben erhöht.

Die Daten und empfohlenen Betriebsbedingungen sowohl für den Anionenaustauscher als auch den Kationenaustauscher sind in Tab. 9 aufgeführt.

Die Abtrennung von Ammonium mittels des Kationenaustauschers konnte nicht in der H^+ -Form durchgeführt werden, da von dem Material in dieser Form auch organische Stickstoffverbindungen extrem zurückgehalten wurden. Der Kationenaustauscher wurde daher in der gelieferten Na^+ -Form eingesetzt. Durch Hintereinanderschalten von Anionen- und Kationenaustauscher ist die Entfernung beider anorganischer Stickstoffspezies möglich, wie aus Abb. 24 ersichtlich wird.

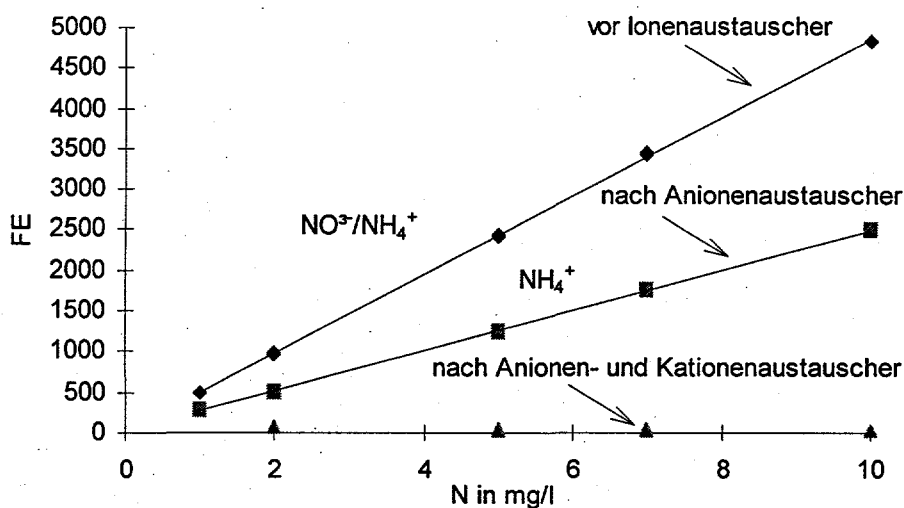


Abb. 24 Stufenweise Entfernung von Nitrat und Ammonium

Tab. 9 Eigenschaften und empfohlene Betriebsbedingungen für den Anionenaustauscher IMAC HP 555 und den Kationenaustauscher Amberlite SR1 L

Eigenschaften	IMAC HP 555	Amberlite SR1L Na
Matrix	Styrol-DVB	Styrol-DVB
Funktionelle Gruppen	quaternäres Ammonium	Sulfonsäure
Aussehen	beige Kugeln	hellbraune Kugeln
Lieferform	Cl ⁻	Na ⁺
Totale Kapazität	≥ 0,9 val/l (Cl ⁻ Form)	≥ 1,9 val/l (Na ⁺ -Form)
Feuchtigkeitsgehalt	50 bis 56 % (Cl ⁻ Form)	44 bis 48 % (Na ⁺ -Form)
Schüttgewicht	655 bis 730 g/l (Cl ⁻ -Form)	770 bis 865 g/l (Na ⁺ -Form)
Dichte	1,055 bis 1,085 (Cl ⁻ -Form)	1,26 bis 1,30 (Na ⁺ -Form)
<i>Korngröße</i>		
Effektive Korngröße	≥ 430 µm	≥ 450 µm
Mittlere Korngröße	600 bis 800 µm	600 bis 800 µm
Gleichheitskoeffizient	≤ 1,9	≤ 1,8
Volumenveränderung	Cl ⁻ → NO ₃ ⁻ zu vernachlässigen	keine Angaben
<i>Empf. Betriebsbedingungen</i>		
Max. Betriebstemperatur	80 °C (Cl ⁻ Form)	120 °C
Mindestschichthöhe	700 mm	700 mm
Spezifische Belastung	20 bis 40 BV*/h	5 bis 50 BV
Max. lineare Geschwindigkeit	50 m/h	keine Angaben
Regeneriermittel	NaCl	NaCl
Menge	125 bis 250 g/l	80 bis 250 g/l
Belastung*	2 bis 8 BV/h	2 bis 8 BV/h
Konzentration	5 bis 10 %	10 %
Mindestkontaktzeit	30 Minuten	20 Minuten
Verdrängen	2 - 5 BV	2 BV unter Regenerierbe- dingungen
Auswaschen	2 - 8 BV	2 bis 4 BV u. Arbeitsb.

* 1 BV (Bettvolumen) = 1 m³ Lösung per m³ Harz

3.6.3 Verhalten von organischen Verbindungen in den Ionenaustauschern

Die 'one-step'-DON-Bestimmung ist nur realisierbar unter der Voraussetzung, dass der organische Stickstoff bei der quantitativen Entfernung von Nitrat-N, Nitrit-N und Ammonium-N nicht entfernt wird. Da sich der organische Stickstoff im kommunalen Abwasser aus einer Vielzahl an Einzelverbindungen zusammensetzt, ist es nicht möglich für alle relevanten Einzelverbindungen das Verhalten am Ionenaustauschermaterial experimentell zu bestimmen. Es musste eine Auswahl von Modellsubstanzen getroffen werden.

Nicotinsäure und Harnstoff wurden ausgewählt, da sie als Standards zur TN-Messung verwendet wurden (Kapitel 3.2.1.). Diethyltoluolamid und p-Toluolsulfonsäureamid wurden bei der Einzelsubstanzanalytik (Kapitel 5) wiederholt im Abwasser kommunaler Kläranlagen nachgewiesen und wurden aus diesem Grunde in die Untersuchungen einbezogen. Als relativ polare Stickstoffverbindung wurde N-Methylpyrrolidon mit einem $\log P_{ow}$ -Wert von - 0,38 [Sasaski u. a., 1988] ausgewählt. Diese Verbindung wurde von Grohmann [Grohmann, 1994] im kommunalen Abwasser mit einer Konzentration von 55 µg/l nachgewiesen. Verbindungen, die als charakteristisch und als ubiquitäre Bestandteile des kommunalen Abwassers anzusehen sind, sind die Aminosäuren [Bissen u. a., 1997]. Daher wurde auch das Verhalten dieser Stoffgruppe in Bezug auf Adsorptionseffekte am Austauscherharz getestet.

Als erstes wurde das Sorptionsverhalten einer schwachen organischen Säure untersucht. Für Verbindungen mit sauren und basischen funktionellen Gruppen hat der pH-Wert der Probenlösung einen entscheidenden Einfluss auf das Sorptionsverhalten. Nicotinsäure ist eine mittelstarke Säure mit einem pK_s -Wert von 4,85 (25 °C). In deprotonierter Form wurde die Verbindung am Anionenaustauscher sorbiert und es wurden Minderbefunde bei der nachfolgenden TN-Messung festgestellt. Um die im Abwasser des Ablaufs vorkommenden dissoziierten stickstoffhaltigen organischen Säuren zu erfassen, musste die Probe vor der Aufgabe auf den Anionenaustauscher angesäuert werden.

Abb. 25 zeigt, dass Nicotinsäure in dem untersuchten Konzentrationsbereich aus einer mit H_3PO_4 angesäuerten Lösung vom Harz nicht sorbiert wurde.

Das Ansäuern der Probe hat die Erhöhung der Anionenkonzentration zur Folge. Dies führte zu Verdrängungsreaktionen am Anionenaustauscher. Nitrat wurde teilweise freigesetzt und bei der anschließenden TN-Bestimmung mit detektiert. (Abb. 26)

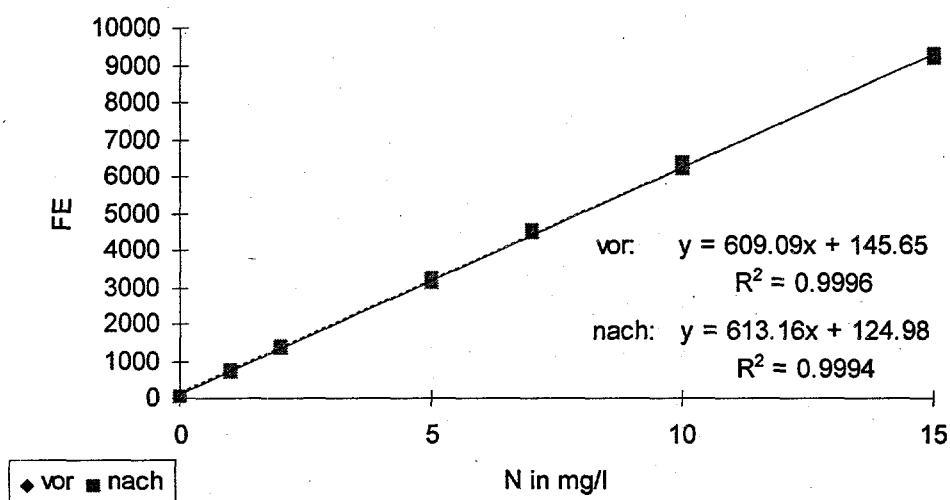
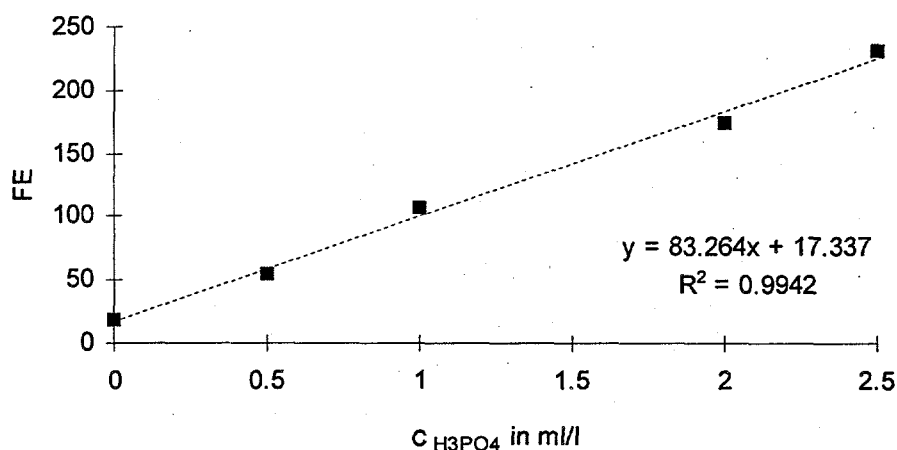


Abb. 25 Einfluss des Anionenaustauschers auf den Gehalt an Nicotinsäure

Abb. 26 Nitratauswaschung am Anionenaustauscher in Gegenwart von H_3PO_4

Die Untersuchungen des Adsorptionsverhaltens der im kommunalen Abwasser identifizierten Einzelverbindungen p-Toluolsulfonsäureamid, Diethyltoluolamid und N-Methyl-2-pyrrolidon führte zu unterschiedlichen Ergebnissen. Die zwei ersten Verbindungen tendierten dazu, am Ionenaustauschermaterial zu sorbieren, dagegen konnte für die Verbindung N-Methyl-2-pyrrolidon keine Sorption festgestellt werden (Abb. 27). Die $\log P_{ow}$ -Werte von p-Toluolsulfonsäureamid und Diethyltoluolamid liegen mit 0,92 bzw. 2,26 [Meylan u. Howard, 1995] höher als von N-Methylpyrrolidon mit -0,38. Dies wird ein Grund für das unterschiedliche Adsorptionsverhalten sein.

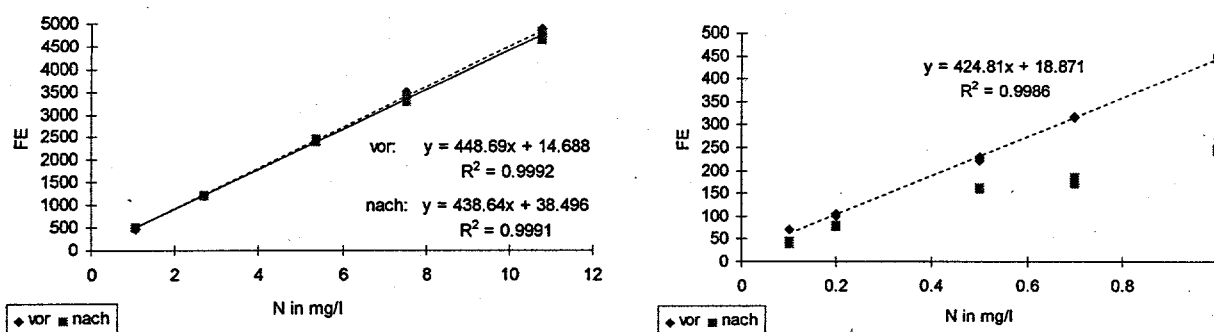


Abb. 27 Einfluss des Anionenaustauschermaterials auf die Wiederfindung von N-Methyl-2-pyrrolidon (rechte Graphik) und Diethyltoluolamid (linke Graphik)

Weiterhin wurde der Einfluss des Austauschermaterials auf Aminosäuren untersucht. In Abb. 28 sind die getesteten Aminosäuren aufgeführt.

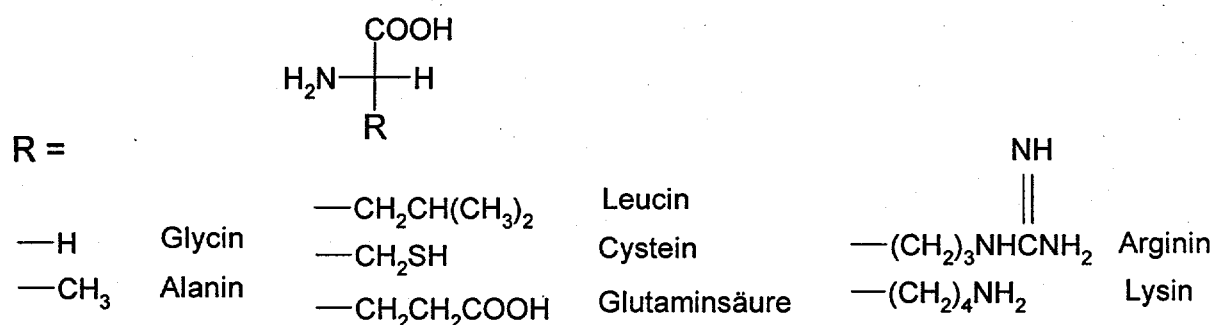


Abb. 28 Aminosäuren

Es wurde eine Mischung mit 5 mg/l N aus den sieben Aminosäurestammlösungen (100 mg/l N) hergestellt und diese Lösung mit Phosphorsäure angesäuert. Die Abweichungen zwischen den Gehalten vor und nach der Überführung über den Anionenaustauscher lagen unter 1 Prozent. Anschließend wurde die prozentuale Abweichung der im kommunalen Abwasser häufig auftretenden Aminosäuren Leucin und Lysin einzeln bestimmt. Die Abweichung lag unter 5 Prozent bei den beiden Einzelverbindungen. Zu bemerken ist hierbei, dass die Reproduzierbarkeit für das TN/TC-Gerät bei einem Standard mit der Konzentration 10 mg/l N kleiner 2 Prozent beträgt und für eine Konzentration kleiner 0,5 mg /l N mit 5 Prozent angegeben wird.

Weiterhin ist auch die Verbrennung unterschiedlicher Stickstoffverbindungen nicht einheitlich. In der DIN-Norm 38409 Teil 27 wird daher die Kalibrierung von TN-Geräten mit Mischstandards empfohlen.

Unter Berücksichtigung dieser Sachverhalte kann zusammengefasst werden, dass mit Hilfe des Anionenaustauschermaterials IMAC HP 555 die Entfernung von Nitrat ohne Beeinflussung des Aminosäuregehaltes der Probe möglich ist.

Tab. 10 Wiederfindung von Harnstoff nach Kontakt mit dem Kationenaustauscher

N	Kalibrierung des Multi TN + C mit Harnstoff	Messwert am Multi TN + C nach Überführung einer NH_4^+ /Harnstofflg. 1:1	Konzentration N nach Überführung einer NH_4^+ /Harnstofflg. 1:1 berechnet über die Ka- librierung der Spalte 2	Wieder- findung
[mg/l]	[FE]	[FE]	[mg/l]	[%]
2	1193	1208	2.03	101
2	1244	1249	2.01	100
2	1205	1243	2.06	103
5	2957	2961	5.01	100
5	3044	3019	4.96	99
5	3034	2991	4.93	99
7	4087	4041	6.92	99
7	4210	4140	6.88	98
7	4177	4195	7.03	100
8	4668	4695	8.05	101
8	4761	4628	7.78	97
8	4731	4727	7.99	100
10	5918	5893	9.96	100
10	5986	5966	9.97	100
10	5945	6120	10.29	103

Um das Sorptionsverhalten von Harnstoff am Kationenaustauscher zu testen wurde ein Mischstandard mit Ammoniumsulfat und Harnstoff im Verhältnis 1:1 bezogen auf Stickstoff untersucht. Nach Überführung der Lösung über den Kationenaustauscher wurde das Eluat am Multi TN + C untersucht. Die Ergebnisse dieser Messreihe sind in Tab. 10 für den Konzentrationsbereich von 2 bis 10 mg/l N angegeben. Die Wiederfindung liegt im Durchschnitt bei 100 Prozent. Die Werte lassen darauf schließen, dass Ammonium vollständig vom Kationenaustauscher adsorbiert wird, ohne Einfluss auf die Harnstoffkonzentration der Lösung zu nehmen.

3.7 Versuche mit realen Proben und daraus resultierende Schlussfolgerung

Nach den Vorversuchen mit Bezugslösungen wurden Abwasserproben mit dem 'one-step'-DON-Gerät untersucht. Gleichzeitig wurde von den Proben der DON über die Differenzmethode bestimmt. Bei den Abwasserproben handelte es sich um Abwasser des Ablaufs kommunaler Kläranlagen. Die Proben wurden über Glasfaserfilter filtriert und anschließend vermessen. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 aufgeführt. Der Vergleich der Werte zeigt, dass es zu erheblichen Abweichungen mit dem 'one-step'-DON-Gerät in Bezug auf die Differenzmethode kommt.

Tab. 11 DON bestimmt nach der Differenzmethode und nach Messung mit dem 'one-step'-DON-Gerät

	Proben- nahmedatum	DON berechnet nach der Differenzmethode	DON gemessen über das 'one-step-DON'-Gerät
Ditzingen	11.03.97	0.17	1.63
Möhringen	11.03.97	0.52	0.89
Mühlhausen	11.03.97	0.20	2.51
Fellbach	04.03.97	3.31	1.10
Hegnach	04.03.97	2.52	0.86

Obwohl die Vorversuche gute Ergebnisse geliefert hatten, war die Abtrennung des anorganischen Stickstoffanteils mit Ionenaustauschermaterial nicht ohne Auswirkung auf den organischen Stickstoff möglich. Die Schwierigkeit liegt vor allem in der pH-Abhängigkeit der Austauscherkapazität der Harze. So muss in Fall von aciden Verbindungen die Probe sauer eingestellt werden (Kapitel 3.6.3), um Adsorptionen zu verhindern. Basische Verbindungen hingegen benötigen einen höheren pH-Wert, um nicht protoniert in der Lösung vorzuliegen und somit über den Kationenaustauscher entfernt zu werden. Des Weiteren spielen wie in Kapitel 3.6.3 dargestellt auch Adsorptionseffekte von lipophileren Stoffen an das Harz eine Rolle.

Auch wenn die Harze sich durch eine erhöhte Selektivität auszeichnen, kommt es sicherlich zu Konkurrenzreaktion bei hohen Konzentrationen an Kationen bzw. Anionen in der Matrix, die dazu führen, dass Ammonium bzw. Nitrat vom Harz gelöst wird und es somit zu Überbefunden kommt.

4 Screening nach unpolaren und semipolaren Substanzen mit Gaschromatographie

4.1 Entwicklung eines Screening-Verfahrens

Zur Identifizierung polarer bis semipolarer Verbindungen im Ablauf kommunaler Kläranlagen wurde ein Screening-Verfahren entwickelt. Das Verfahren sollte geeignet sein, spezielle, insbesondere auch organische, stickstoff- und schwefelhaltige Verbindungen zu erfassen, da diese Verbindungen häufig zur Persistenz neigen [Franke u. a., 1995]. Im Folgenden wird diese Methodenentwicklung beschrieben. Zur Optimierung des Anreicherungs- und Nachweisverfahrens wurden polare bis semipolare Modellverbindungen ausgewählt, die bereits in Oberflächengewässern bzw. Abwässern nachgewiesen wurden [Franke u. a., 1995; Grohmann, 1994].

Für diese Verbindungen wurde zunächst die gaschromatographische Trennung optimiert und deren Nachweisgrenzen für die GC-MS-Analytik ermittelt.

Zusätzlich zur MS-Detektion wurde der AED zur Kenntlichmachung von Peaks, die schwefelhaltigen Verbindungen enthalten, eingesetzt. Die Entwicklung des Screening-Verfahrens mit MSD wurden anfangs hauptsächlich für Stickstoffverbindungen durchgeführt. Mit weiteren schwefelhaltigen Verbindungen wurde anschließend die Optimierung der AED-Methode fortgeführt.

Die Information über die in unbekannten Substanzen vorhandenen Heteroatome (S, N), die durch Aufnahme von Chromatogrammen auf Emissionslinien verschiedener Elemente durch GC-AED-Kopplung gewonnen werden kann, sollten neben den erhaltenen Massenspektren zur Identifizierung herangezogen werden. Eine Abschätzung der Atomzahlenverhältnisse von Kohlenstoff und Schwefel sollte für eine unbekannte Substanz aus Signalverhältnissen der entsprechenden Emissionslinien erfolgen.

4.1.1 Material und Methoden

4.1.1.1 Chemikalien und Geräte

Chemikalien

3-Acetylthiophen

> 98%

Fluka, Buchs, CH

Benzolsulfonylchlorid	>99%	Fluka, Buchs, CH
2 H-1,4 Benzothiazin-3(4H)-on	97%	Aldrich, Steinheim
Benzothiazol	> 95 %	Merck, Darmstadt
Benzolsulfonamid	98+%	Aldrich, Steinheim
4-Chloranilin	98 %	Aldrich, Steinheim
Chlorbenzothiazol	>99%	Fluka, Buchs, CH
1-Chlor-3-nitrobenzol	> 99 %	Merck, Darmstadt
2,6-Dimethylanilin	99 %	Aldrich, Steinheim
N,N-Diphenylacetamid	98 %	Merck, Darmstadt
Diphenylsulfon	>98%	Fluka, Buchs, CH
N-Ethyl-p-toluol-sulfonamid	98%	Aldrich, Steinheim
Kaliumhydroxidlösung	40 %	Merck, Darmstadt
2-Mercaptobenzothiazol	99%	Fluka, Buchs, CH
2-Methylmercaptobenzothiazol	97%	Aldrich, Steinheim
N-Methyl-N-nitroso-p-toluolsulfonamid	99 %	Aldrich, Steinheim
N-Methyl-2-pyrrolidon	> 99 %	Merck, Darmstadt
Nitrobenzol	> 99 %	Merck, Darmstadt
4-Nitroanilin	98 %	Merck, Darmstadt
4-Nitrophenol	> 99 %	Fluka, Deisenhofen
2-Nitrotoluol	> 99 %	Aldrich, Steinheim
Schwefelsäure	95 - 97 %	Merck, Darmstadt
o-Toluolsulfonamid	99%	Aldrich, Steinheim
p-Toluolsulfonamid	99%	Fluka, Buchs, CH

Lösungsmittel

Acetonitril	Gradient Grade	Mallinckrodt Baker B.V., Va Deventer, NL
Ethylacetat	99,8 %	Aldrich, Steinheim
Diethylenglycolmonoethylether	> 99 %	Aldrich, Steinheim
Diethylether		Merck, Darmstadt
Methanol	HPLC Gradient Grade	Mallinckrodt-Baker B.V., Va Deventer, NL
Reinstwasser		Nanopure-ultrapure-water-system, Barnstead

Gase

Helium 5.0	Messer-Griesheim, Krefeld
Wasserstoff 5.0	Aga Gas GmbH, Hamburg
Sauerstoff 5.0	Aga Gas GmbH, Hamburg

Festphasenkartuschen*Phasen auf C18 Basis:*

Baker polar plus C18	1000 mg
Merck RP Select B	500 mg
Resteck C18CN	500 mg
Varian C18	500 mg
Varian C18OH	500 mg
Varian Mega Bond Elut	1000 mg

Phasen auf Polystyroldivinylbenzol Basis:

Baker SDB 1	200 mg
ICT Isolute ENV+	200 mg
Merck Lichrolut EN	200 mg
Macherey-Nagel Chromabond Hr-P	200 mg
Varian Bond Elut ENV	200 mg
Varian Bond Elut LMS	200 mg
Varian Bondelut PPL	200 mg

weitere Verbrauchsmaterialien

Glassäulen leer 3 ml, Merck, Darmstadt
Fritten, PTFE für 3 ml Glassäulen, Porosität 10 µm, Merck, Darmstadt
LiChrolut EN, Pulver, Merck, Darmstadt
DB-5ms Säule, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, J & W
PressFit-Splitter, "Y" 0,25-0,25-0,25 mm ID, Poeck Analytik-Zubehör, Langen
Unbelegte Kapillarsäulen, 100 µm ID, Poeck Analytik-Zubehör, Langen

Geräte

GC 6890, Hewlett Packard, Waldbronn
MSD 5972A, Hewlett Packard, Waldbronn
Ion-Trap-Massenspektrometer Saturn 2000, Varian, Darmstadt

Atomemissionsdetektor, G2350A, Hewlett-Packard, Waldbronn

Absaugeeinheit Vac Elut 20, komplett, Varian, Darmstadt

Vacuumpumpe Heto SUE 300 Q, Laborfachhandel Bender & Hoheim, Ulm

Gaspurifier GC 50 zur Reinigung von Trägergasen, SAES Getters, Köln

4.1.1.2 Methylierung mit Diazomethan

Eine Mischung aus Diethylether und Diethylenglycolmonoethylether (5 ml; 1:1) werden in einer speziellen Methylierungsapparatur mit 40 %iger KOH (5 ml) versetzt. Nach Zugabe einer Spatelspitze N-Methyl-N-nitroso-p-toluolsulfonamid wird das entstehende Diazomethan mit leichtem Überdruck aus der Methylierungsapparatur in die Probe bis zur bleibenden Gelbfärbung überführt. Den Überschuss an Diazomethan, sichtbar durch die Gelbfärbung, lässt man im Abzug abdampfen.

4.1.1.3 Synthese von N-Phenylsulfonylsarkosin

Eine Lösung von 1,81 g Sarkosin in 30 ml 10%iger NaOH wurde unter Rühren tropfenweise mit einer Lösung von 5,5 g Benzolsulfonylchlorid in 10 ml Hexan versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde die Mischung 60 h bei 50°C gerührt. Die wässrige Phase wurde zur Ausfällung des Produktes mit 32%iger HCl-Lösung versetzt. Anschließend wurde der Niederschlag abfiltriert und zweimal aus Aceton/H₂O (1:1; v:v) umkristallisiert. Die Identität des Produktes wurde mit einem Electrospray-Massenspektrum nachgewiesen. Die Reinheit des Produktes wurde mit HPLC (analytische Säule RP-C18; Gradientenelution bei 25°C: 0 min, 20 % MeOH / 80 % H₂O; 10 min, 100 % MeOH) und DAD (230 nm) überprüft. Sie war größer 99 Prozent.

4.1.2 Durchführung

4.1.2.1 Chromatographische Trennung und massenspektrometrische Detektion

Die GC-Untersuchungen erfolgten mit Gaschromatographen HP 6890 der Firma Hewlett Packard mit Quadrupol-Massen-Detektor (MSD 5972A). Die Trennungen wurden auf einer DB-5ms Säule durchgeführt (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Die Injektion erfolgte splitlos unter 'electronic pressure control' (EPC). Die Geräteparameter und chromatographischen Bedingungen sind in Tab. 12 zusammengestellt.

Tab. 12 Geräteparameter und chromatographische Bedingungen

HP 6890	MSD 5972A
Injektion: Splitlos	Detektor: Quadrupol
Injektortemp.: 280 °C	Ionisation: EI
Temperaturprogramm:	Massenbereich:
60°C, 1min - 40°C/min -	47 - 350 u
80°C - 3°C/min - 100°C, 10 min -	
30°C/min - 250 °C, 5 min	
Fluss: 1 ml/min	

4.1.2.2 Festphasenextraktion

Einige der unter Kapitel 4.1.1.1 aufgeführten Modellsubstanzen (Benzothiazol, 4-Chloranilin, 1-Chlor-3-nitrobenzol, 2,6-Dimethylanilin, Diphenylacetamid, N-Methyl-2-pyrrolidon, 4-Nitroanilin, Nitrobenzol, 4-Nitrophenol und 2-Nitrotoluol) wurden in Methanol oder Ethylacetat gelöst, es wurde ein Mischstandard hergestellt und aus diesem einzelne Verdünnungen. Zur Anreicherung des Mischstandards wurden jeweils ein Milliliter der Verdünnungen einem Liter Wasser zugegeben. Von den einzelnen Versuchen wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

Die Anreicherung der Analyten aus einem Liter Wasser erfolgte über unterschiedliche Festphasen. Variiert wurden der pH-Wert der Probe und das Lösungsmittel zur Konditionierung und Elution der einzelnen Phasen.

Die C18 Phasen wurden in einem ersten Konditionierungsschritt mit 2 x 4 ml Lösungsmittel konditioniert und dann mit 4 ml deionisiertem Wasser gewaschen. Die Styroldivinylbenzolphasen wurden jeweils mit 3 ml konditioniert und gewaschen.

Nach der Anreicherung erfolgte die Trocknung im Stickstoffstrom. Für die Elution der Styroldivinylbenzolphasen wurden 2 x 2 ml Lösungsmittel verwendet und für die Elution der C18-Phasen 3 x 3 ml Lösungsmittel. Nach Einengen der Eluate auf 1 ml wurden diese mit GC-MS untersucht. Als Konditionierungs- und Elutionsmittel wurde Methanol, Hexan und Ethylacetat getestet.

4.2 Ergebnisse zur Optimierung der GC-MS Methode

4.2.1 Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen zur chromatographischen Trennung ausgewählter Modellsubstanzen

Das GC-MS-Verfahren zur Trennung der in Kapitel 4.1.2.2 aufgeführten Modellverbindungen wurde von 100 bis 2000 µg/l pro Einzelverbindung im Scan-Modus kalibriert. Die Quantifizierung der Modellverbindungen erfolgte über einzelne Ionenspuren. Die analytischen Grenzwerte wurden aus den linearen Kalibrierfunktionen nach DIN 32645 [DIN 32645, 1994] berechnet. In Tab. 13 sind für die Modellverbindungen die zur Quantifizierung verwendeten Ionen sowie die Nachweisgrenzen und Korrelationskoeffizienten aus der linearen Regression aufgelistet. Die Nachweisgrenzen für das GC-MS-Verfahren bewegen sich im Bereich von 75 - 150 pg/µl. Eine Empfindlichkeitssteigerung kann durch die Messung der Verbindungen im Single-Ion-Monitoring (SIM) erzielt werden; dadurch geht aber die Möglichkeit der Identifizierung über das Massenspektrum verloren.

Tab. 13 Diagnostische Ionen, Nachweisgrenze (NG) und Korrelationskoeffizient (r) für die Modellsubstanzen

Verbindung	Ionenspur m/z	NG in pg/µl	r
Benzothiazol	135	82	0,9979
4-Chloranilin	127	75	0,9980
1-Chlor-3-nitrobenzol	111	83	0,9981
2,6-Dimethylanilin	121	89	0,9978
Diphenylacetamid	169	118	0,9980
N-Methyl-2-pyrrolidon	99	75	0,9975
4-Nitroanilin	138	114	0,9956
Nitrobenzol	123	76	0,9979
4-Nitrophenol	139	143	0,9926
2-Nitrotoluol	120	80	0,9978

4.2.2 Auswahl der Festphasen

Zur Empfindlichkeitssteigerung der Methode für Realproben wurden die Modellverbindungen mittels Festphasenextraktion um den Faktor 1000 angereichert. Es wurden anfangs zehn Festphasen auf C18- bzw. Styroldivinylbenzolbasis getestet, die sich größtenteils bereits für die Anreicherung polarer Verbindungen bewährt haben. Für die Untersuchungen wurde jeweils 1 Liter deionisiertes Wasser, welches mit einem Mischstandard (Konzentration 1 µg/l pro Einzelverbindung) dotiert wurde, verwendet. Die Konditionierung und Elution erfolgte hierbei mit Ethylacetat. Die Doppelbestimmungen der Anreicherungen für die zehn Festphasen und die zehn Verbindungen sind im Anhang 3 aufgeführt. In Abb. 29 sind für drei Phasen die Wiederfindungsraten in Prozent, bezogen auf den Sollwert, angegeben. Die Versuchsreihe ergab, dass die Phasen auf Styroldivinylbenzolbasis, insbesondere LiChrolut EN der Firma Merck, zur Anreicherung der Modellverbindungen bei diesem Vergleich am besten geeignet waren.

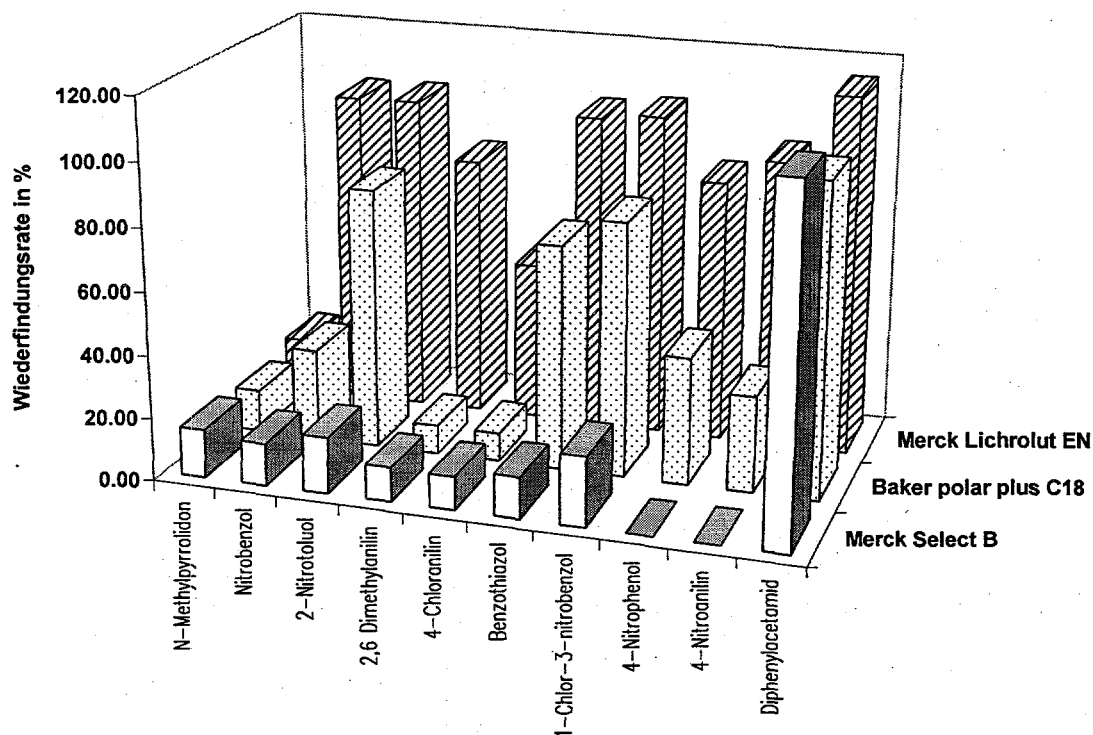


Abb. 29 Wiederfindungsraten für die Modellsubstanzen, schematisch für drei Festphasenmaterialien dargestellt

Zu einem späteren Zeitpunkt wurden zwei weitere Phasen auf Polystyroldivinylbasis, die neu auf den Markt gekommen waren, getestet. Dabei handelte es sich um die Bond Elut LMS-

und die Bond Elut PPL-Phase der Firma Varian. Verglichen wurden diese Phasen mit der LiChrolut EN-Phase, die zu diesem Zeitpunkt schon für das Screening eingesetzt wurde. Getestet wurde die Wiederfindung der Modellschubstanzen. In Abb. 30 ist die relative prozentuale Wiederfindung bezogen auf die LiChrolut EN-Phase graphisch dargestellt. Die Wiederfindung der LiChrolut EN-Phase wurde gleich 100 Prozent gesetzt. Die Anreicherung auf der LMS-Phase führte bei den meisten der neun Modellschubstanzen zu einer reduzierten Wiederfindung. Besonders geringe Wiederfindungen wurden für die polaren Verbindungen Nitrophenol und Chloranilin gefunden. Bezogen auf den Standard lag die Wiederfindungsrate unter 30 Prozent. Die PPL-Phase zeigte hingegen nur für 2,6-Dimethylanilin und für 4-Chloranilin eine reduzierte Wiederfindung im Vergleich zur LiChrolut Phase. Für sechs der untersuchten Verbindungen ist die Anreicherung vergleichbar mit der LiChrolut-Phase. Für Nitrophenol konnten hingegen mit der PPL-Phase wesentlich bessere Ergebnisse erzielt werden. Mit der LiChrolut EN-Phase konnten für Nitrophenol bei einer Anreicherung der Probe bei einem pH-Wert von 6,7 nur eine Wiederfindung von annähernd 50 Prozent bezogen auf den Standard erreicht werden. Mit der PPL-Phase wurden dagegen 75 Prozent gefunden.

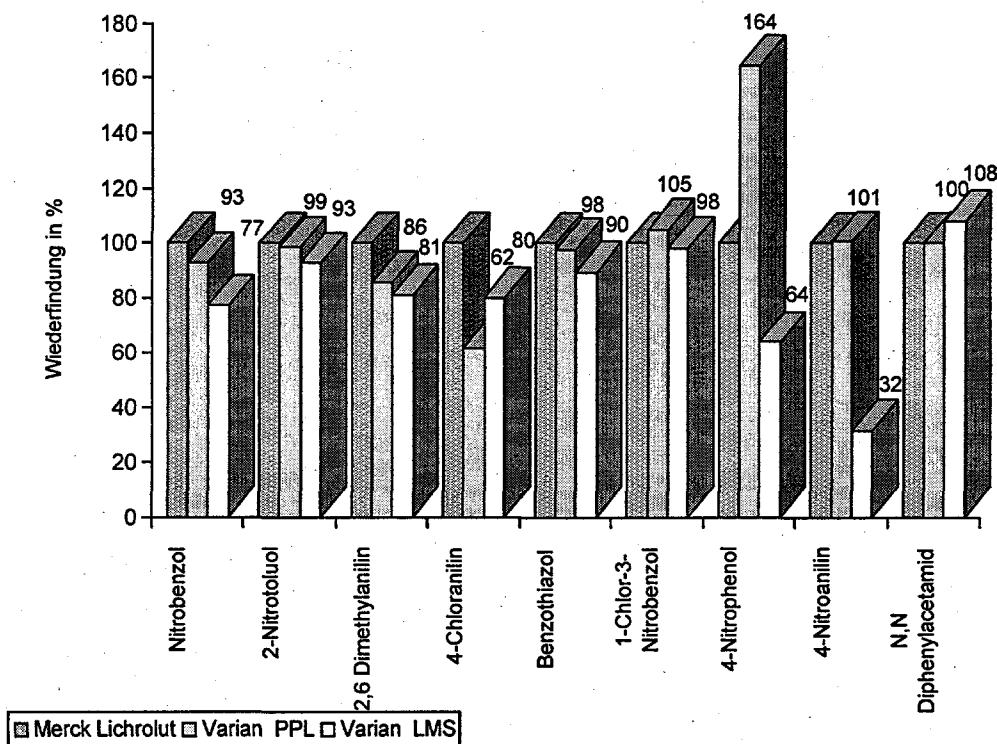


Abb. 30 Relative Wiederfindung von zwei Polystyroldivinylbenzolphasen bezogen auf die Merck-LiChrolut-Phase

4.2.3 Einfluss von Lösungsmittel und pH-Wert auf die Festphasenanreicherung

Die Konditionierung der Festphasen zur Anreicherung von wässrigen Proben soll im ersten Konditionierungsschritt mit einem Lösungsmittel erfolgen, welches wasserlöslich ist. Durch diesen ersten Solvatationsschritt wird eine reproduzierbare Adsorption der Analyten sichergestellt. Die Konditionierung erfolgt in der Regel mit dem Lösungsmittel, mit dem nach der Adsorption aus der wässrigen Probe die Elution erfolgt. Da es das Ziel war, hydrophilere Substanzen anzureichern, wurde anfangs mit Methanol sowohl konditioniert als auch eluiert. Methanol ist jedoch nicht das ideale Lösungsmittel für die GC-MS. Daher wurde nach einem Ersatzlösungsmittel gesucht und die Versuche mit Ethylacetat wiederholt. Mit der Ethylacetat-Elution konnten trotz der geringen Wasserlöslichkeit von Ethylacetat gute und reproduzierbare Wiederfindungsraten für die gewählten Modellschubstanzen gefunden werden. Die Wiederfindung war im Vergleich zur Methanol-Elution für alle Substanzen mit Ausnahme von 4-Nitrophenol wesentlich besser. (Abb. 31)

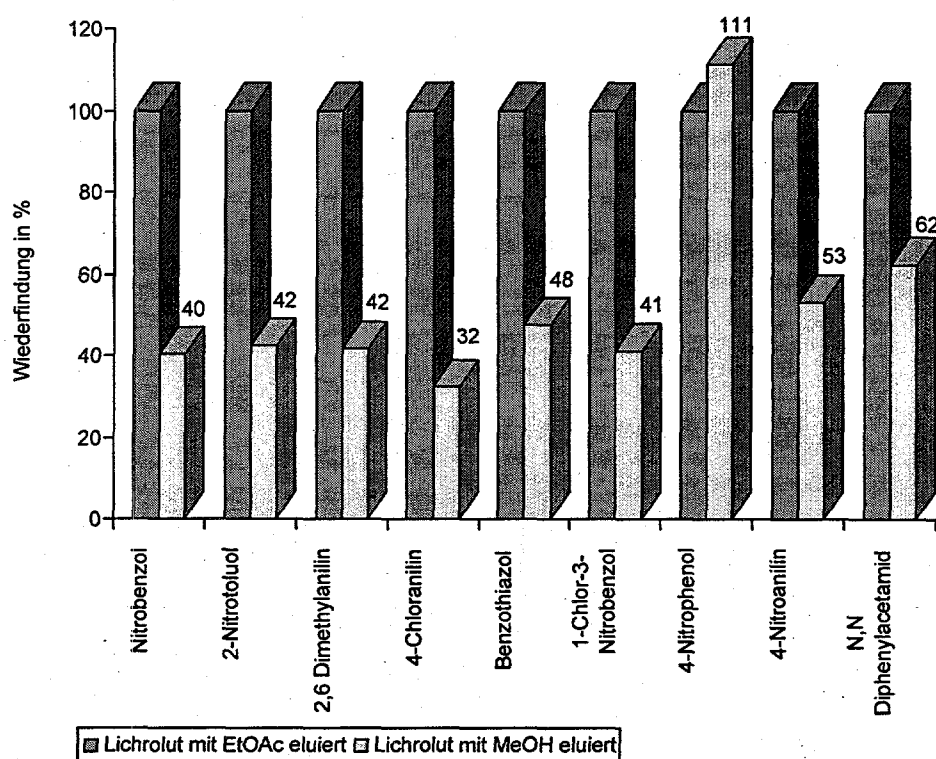


Abb. 31 Lösungsmiteleinfluss auf die Wiederfindungsrate

Bei der Extraktion großvolumiger Wasserproben kann die benetzende Schicht des bei dem ersten Konditionierungsschrittes verwendeten Lösungsmittels, während des Aufgebens der Probe nach und nach entfernt werden. Der für die Extraktion notwendige Kontakt zwischen Probe und stationärer Phase kann dadurch zumindest teilweise aufgehoben werden. Aus

diesem Grund wird der Zusatz von 0,5 - 2 % (v/v) des zur Konditionierung verwendeten Lösungsmittels empfohlen. Das üblicherweise von der Probe langsam entfernte, die stationäre Phase benetzende Lösungsmittel wird so über die Anreicherung der Probe 'dynamisch' nachgeliefert. Die 'dynamische Solvatisierung' soll nicht zur Diskriminierung von Verbindungen führen. Die Auswirkung der dynamischen Solvatisierung auf die Wiederfindung wurde mit den Modellsubstanzen getestet. Ein Liter Probe wurde vor der Anreicherung mit 1 bzw. 2 % (v/v) Ethylacetat versetzt und entsprechend des in Kapitel 4.1.2.2 beschriebenen Verfahrens auf LiChrolut EN angereichert. Als Kontrollprobe wurde eine Probe ohne Lösungsmittelzusatz angereichert. In Abb. 32 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Die Wiederfindung wurde auf die Probe ohne Lösungsmittelzusatz bezogen. Die Wiederfindung dieser Probe wurde gleich 100 % gesetzt. Für 1-Chlor-3-nitrobenzol, N,N-Diphenylacetamid und 2-Nitrotoluol konnte bei Zugabe von 1% (v/v) Lösungsmittelzusatz eine um annähernd 10 % erhöhte Wiederfindung festgestellt werden. Für die übrigen Verbindungen wurde hingegen Minderbefunde festgestellt. Die Zugabe von 2 % (v/v) Lösungsmittelzusatz wirkte sich auf die Wiederfindung aller neun Verbindungen negativ aus. 4-Nitrophenol konnte unter diesen Bedingungen nicht mehr angereichert werden. Es wurde daher bei den weiteren Aufarbeitungsschritten auf den Lösungsmittelzusatz verzichtet.

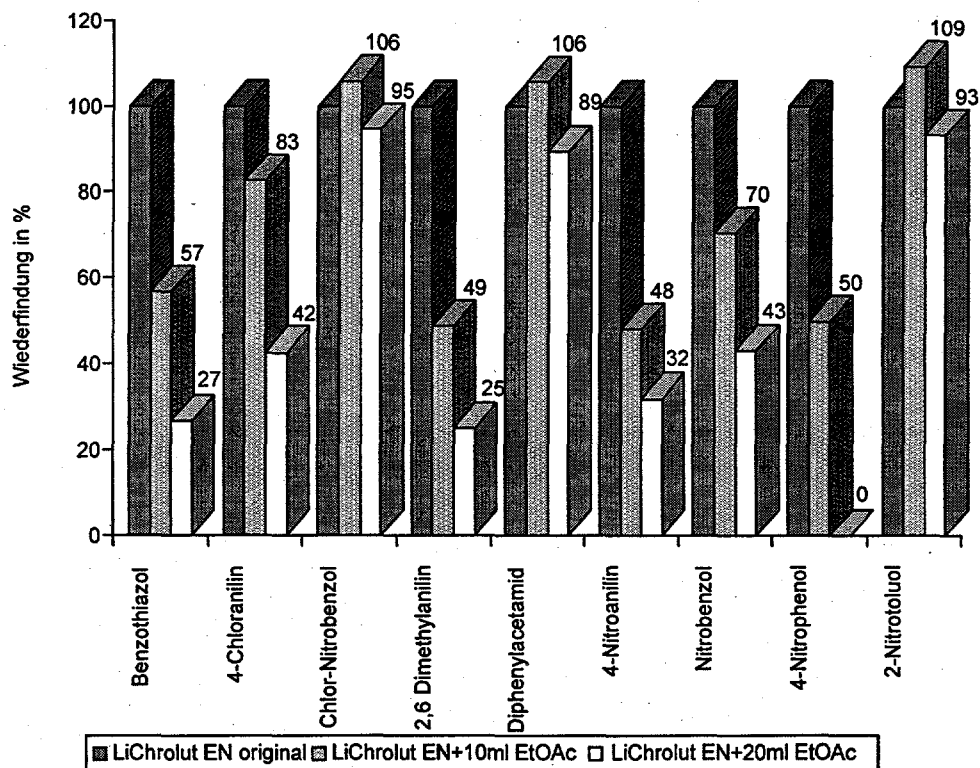


Abb. 32 Einfluss eines Lösungsmittelzusatzes zur Probe vor der Extraktion

Einen entscheidenden Einfluss auf die Wiederfindungsrate von hydrophilen Verbindungen hat der pH-Wert der Wasserprobe, in der die Analyten gelöst vorliegen. Bei der Anreicherung der Analyten aus deionisiertem Wasser wurden für die Aniline, hier vor allem Chloranilin, und für Nitrophenol erhebliche Minderbefunde festgestellt. Die Festphasenextraktion wurde daher bei unterschiedlichen pH-Werten durchgeführt. Der Einfluss des pH-Wertes der Probe auf die Wiederfindungsrate dieser Verbindungen wird in Abb. 33 nochmals graphisch dargestellt. Für Nitrophenol wird bei pH 2 erwartungsgemäß eine wesentlich höhere Wiederfindungsrate als bei pH 6,7 gefunden. Für Stickstoffverbindungen mit freier Aminogruppe ist die Anreicherung bei pH >9 durchzuführen.

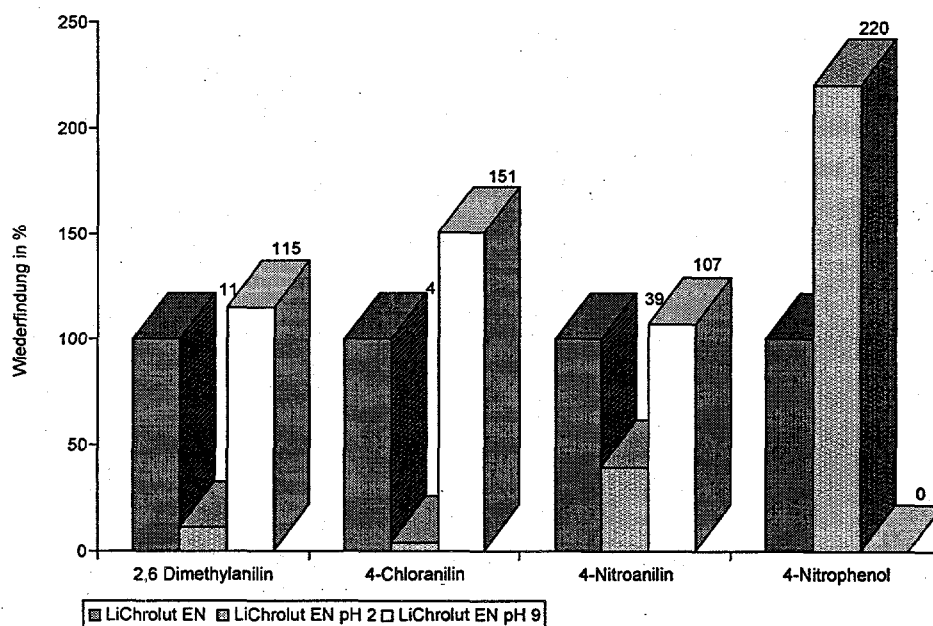


Abb. 33 Einfluss des pH-Wertes auf die Wiederfindung

4.2.4 Bestimmung der Wiederfindungsrate mit LiChrolut EN

Die Wiederfindungsrate der zehn Modellschubstanzen in deionisiertem Wasser wurde bestimmt, indem zuerst eine externe Kalibrierung über fünf Konzentrationsniveaus im Bereich von 300 bis 4000 µg/l aufgenommen wurde. Von den einzelnen Konzentrationsniveaus wurde jeweils 1 ml zu 1 Liter deionisiertem Wasser zugegeben und anschließend auf LiChrolut EN angereichert. Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt. Da kein konzentrationsabhängiger Trend bei der Wiederfindung der Einzelschubstanzen sichtbar war, wurden die prozentualen Wiederfindungen der einzelnen Konzentrationsniveaus in Bezug auf die externe Kalibrierung gemittelt. Die sich daraus ergebende prozentuale Wiederfindung für die Einzel-

verbindungen sind in Abb. 34 dargestellt. Die angegebene Standardabweichung wurde für das dritte Konzentrationsniveau, 1000 µg/l Einzelsubstanz, durch sechs parallele Anreicherungsversuche ermittelt. Die Reproduzierbarkeitstests zeigten, dass mit der LiChrolut EN-Phase eine gute Reproduzierbarkeit für sieben der zehn Einzelverbindungen erzielt werden konnte. Der Variationskoeffizient der sechs Anreicherungsversuche lag unter 3 Prozent. Lediglich bei 4-Chloranilin und 4-Nitrophenol und insbesondere bei der relativ polaren Verbindung N-Methylpyrrolidon ergaben sich weniger gute Wiederfindungsraten. Die ist aber wie unter Abschnitt 4.2.3 erwähnt auf den nicht optimal eingestellten pH-Wert zurückzuführen.

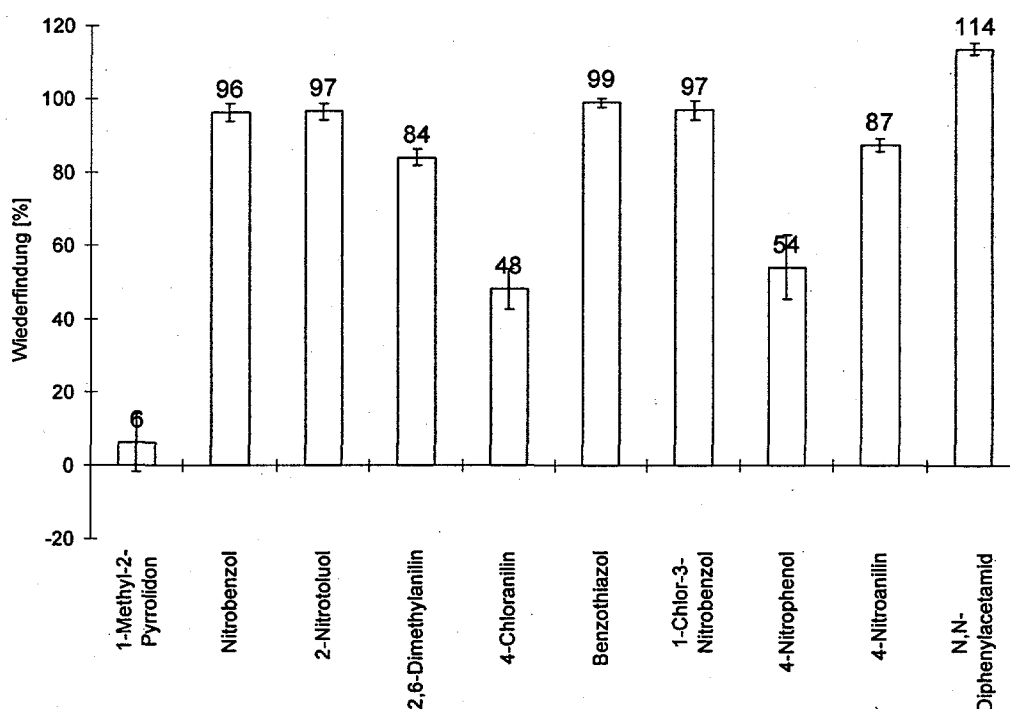


Abb. 34 Wiederfindung mit LiChrolut EN

Die GC-MS-Totalionen-Chromatogramme der Modellsubstanzen zeigten ein erhebliches Grundrauschen. Die Massenspektren der Peaks zeigten, dass dieses vor allem durch Kohlenwasserstoffe und Weichmacher (2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethyl-phenol, butyliertes Hydroxytoluol (BHT)) verursacht wurde. Da das Auftreten der Weichmacher im Totalionen-Chromatogramm auf die Verwendung der Polypropylenkartuschen zurückgeführt werden konnte, wurden diese gegen Glaskartuschen ausgetauscht. Durch die Verwendung von LiChrolut gefüllten Glaskartuschen konnte das Grundrauschen erheblich reduziert werden.

4.2.5 Resultate aus der Methodenentwicklung für das Screening

Mit Hilfe des Screening-Verfahrens sollten vor allem polarere Verbindungen, die aufgrund ihrer geringeren Lipophilie tendenziell weniger dazu neigen, an Klärschlamm zu adsorbieren und deshalb in Lösung bleiben, erfasst werden. Da nicht gezielt nach speziellen Substanzklassen gesucht wurde, sondern allgemein nach polareren organischen Stickstoff- und Schwefelverbindungen, war man bei der Identifizierung der Probenbestandteile vor allem auf eine massenspektrometrische Detektion angewiesen. Die Massenspektrometrie verbunden mit der Elektronenstoßionisierung bei 70 eV ermöglicht die reproduzierbare Aufnahme von Spektren auch mit unterschiedlichen Geräten. Somit gibt es kommerziell erhältliche, umfangreiche Spektrenbibliotheken mit mehreren tausend Einzelverbindungen. Die in dieser Arbeit verwendete NIST-Bibliothek umfasst Spektren von mehr als 60.000 Einzelverbindungen. Mit Hilfe dieser Bibliothek konnten die Spektren der Probeneluate nach gaschromatographischer Trennung auf unbekannte Einzelsubstanzen hin untersucht werden.

Für API-Spektren liegen bisher keine umfassenden Spektrenbibliotheken vor, da die Reproduzierbarkeit aufgrund der Komplexität der einfließenden Parameter und insbesondere bei Verwendung unterschiedlicher Gerätetypen nicht ausreichend ist. Somit ist ein Screening ohne vorherige Kenntnis über die zu ermittelnden Substanzen auf GC-MS beschränkt. Diese Einschränkung bringt jedoch eine Selektivität in Bezug auf die detektierbaren Verbindungen mit sich. Über die Gaschromatographie können nur Substanzen identifiziert werden, die sich unzersetzt in den Gaszustand überführen lassen. Aus diesem Grunde müssen polarere Verbindungen in der Regel derivatisiert werden. Derivatisierungsreagenzien in der Probe führen jedoch - falls sie nicht vorher abgetrennt werden können - zu einem hohen Grundsignal im Massenspektrometer. Derivatisierte Analyten im Spurenbereich ergeben im Scan-Modus deshalb häufig kein aussagekräftiges Massenspektrum mehr, welches über die Spektrenbibliothek einer Substanz zugeordnet werden könnte.

Die einzige Derivatisierungsmethode, die daher in dieser Arbeit angewendet wurde, ist die Derivatisierung mit Diazomethan. Bei der hierzu angewandten Methode wird das Eluat mit gasförmigem Diazomethan in Kontakt gebracht und der Überschuss des Reagenzes im Anschluss vollständig verdampft.

Für das qualitative Screening wurden von jeder Probe jeweils drei Liter Wasser bei unterschiedlichen pH-Werten aufgearbeitet. Zur Erfassung der basischen Verbindungen wurde der pH-Wert der Probe auf pH 12, zur Erfassung der sauren Verbindungen auf pH 2 eingestellt. Ein Liter Probe wurde ohne Veränderung des pH-Wertes aufgearbeitet. Um das Ausfallen von Calciumcarbonat beim Einstellen der realen Proben auf pH 12 zu verhindern, wurden diese zuvor mit 3 g EDTA pro Liter versetzt. Nach Einstellen des pH-Wertes wurden die

Proben über Glasfaserfilter filtriert. Die untersuchten Proben aus dem Zulauf zu einer biologischen Reinigungsstufe einer kommunalen Kläranlage wurden vor der Filtration noch zusätzlich zentrifugiert.

Angereichert wurden die Proben auf LiChrolut EN, gefüllt in Glaskartuschen, um das Grundrauschen zu minimieren (s. Kapitel 4.2.4). Konditioniert wurden die Phasen zuvor mit Ethylacetat und Wasser, eluiert wurde mit Ethylacetat analog der Beschreibung in Kapitel 4.1.2.2. Die Eluate der pH-2 Fraktion wurden anschließend mit Diazomethan derivatisiert.

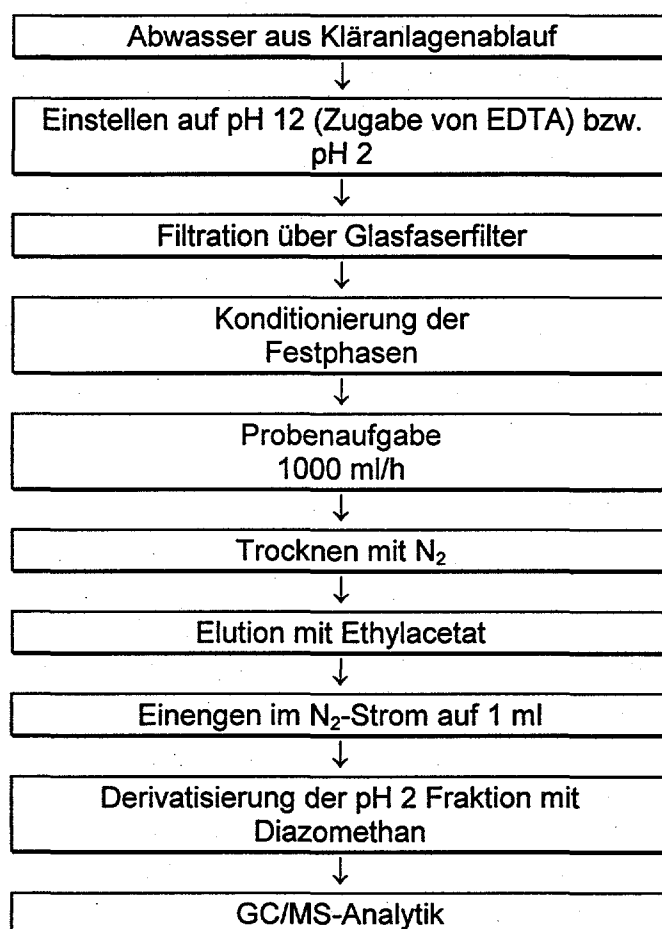


Abb. 35 Probenaufarbeitung der Abwasserproben aus Kläranlagenabläufen

Nach chromatographischer Trennung wurden die Proben massenspektrometrisch analysiert. Zur besseren Auftrennung des Substanzgemisches wurde das Temperaturprogramm im Vergleich zur Methodenentwicklung mit den Modellsubstanzen verlängert und die Maximaltemperatur um 50 °C erhöht. Injiziert wurde ein Mikroliter des auf 1 ml eingengten Eluates. In Abb. 35 ist die Probenaufarbeitung nochmals schematisch für Abwasser aus dem Klär-

anlagenablauf dargestellt. Das Temperaturprogramm und die MS-Bedingungen für die Realproben sind im Anhang 4 aufgeführt.

4.2.5.1 Quantifizierung über das Standardadditionsverfahren am MSD

Die Quantifizierung einzelner Verbindungen am MSD erfolgte über einzelne GC-MS-Ionenspuren, in der Regel über die Spur des Basispeaks im Massenspektrum der jeweiligen Verbindung. Um Matrixeffekte zu minimieren, wurde das Standardadditionsverfahren angewendet. Hierzu wurden die Proben vor der Anreicherung mit jeweils drei Konzentrationsniveaus aufgestockt, wobei die Höhe der Konzentrationsniveaus entsprechend der zu erwartenden Konzentrationen gewählt wurde. Die zu erwartenden Konzentrationen ergaben sich aus externen Kalibrierungen mit der jeweiligen Referenzverbindung. Jede aufgestockte Probe wurde dreifach am GC-MS bestimmt.

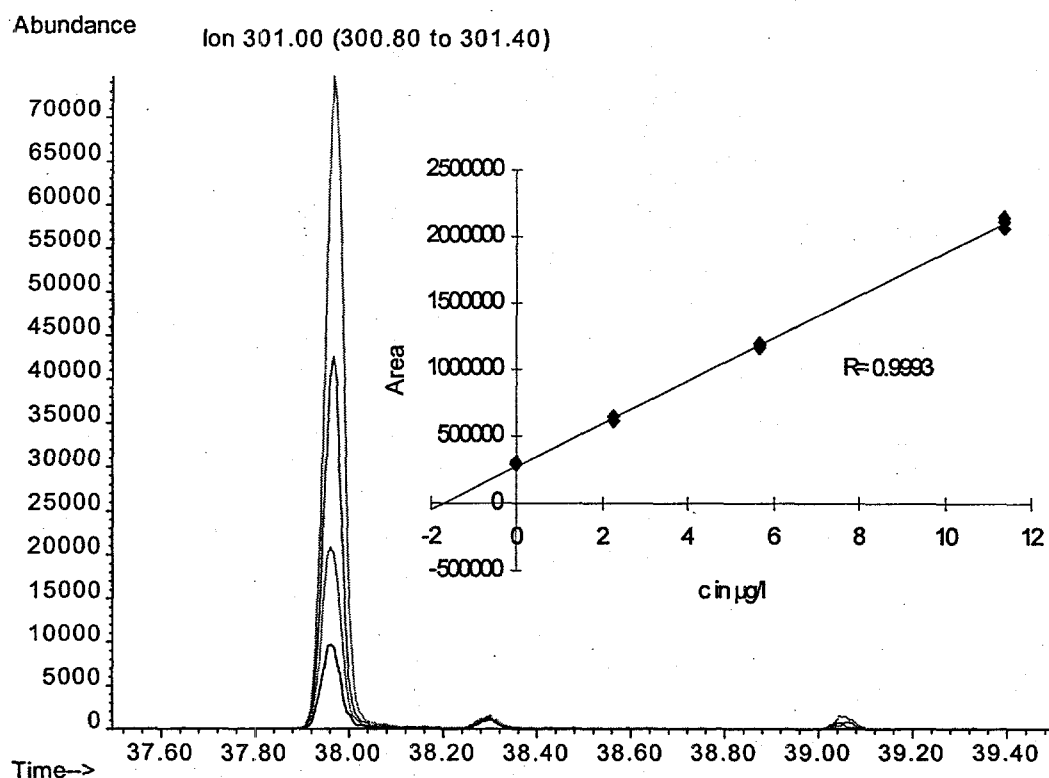


Abb. 36 Standardadditionsverfahren für die Bestimmung von Dihydrocodein. Probe aus der Kläranlage Hoheneck

Abb. 36 zeigt die Auswertung über das Standardadditionsverfahren am Beispiel von Dihydrocodein. Für die Bestimmung der Nachweisgrenzen für die identifizierten Verbindungen wurde ein Signal-zu-Rausch-Verhältnis von drei zu eins zugrunde gelegt. Als Bestimmungsgrenze wurde die dreifache Nachweisgrenze angegeben.

4.3 Atomemissionsdetektion als wichtige Ergänzung zur massenselektiven Detektion von schwefelhaltigen Verbindungen

Eine EPA-Studie, in der die intensivsten Peaks der GC/MS-Totalionenchromatogramme von 3000 Umweltproben manuell ausgewertet wurden, zeigte, dass mehr als 50% der detektierten Verbindungen gesättigte Kohlenwasserstoffe sind, die geringe toxikologische Relevanz haben [Gurka u. a., 1997]. Daraus zog man den Schluss, dass eine Screening-Technik, die alle auf heteroatomhaltige Verbindungen zurückzuführenden TIC-Peaks markiert, den Zeitaufwand für die Auswertung der GC-MS-Analysen erheblich senken und die Gefahr des "Übersehens" einer relevanten Verbindung minimieren würde.

Darüber hinaus liefert der AED wertvolle Zusatzinformationen zu einem Massenspektrum, die eine Identifikation unbekannter Substanzen wesentlich erleichtern. Durch die Kenntnis über die in einer unbekannten Substanz vorhandenen Heteroatome können Strukturvorschläge, die durch den Vergleich des Massenspektrums der zu identifizierenden Verbindung mit Referenzspektren aus einer Spektrenbibliothek mittels eines Suchalgorithmus gewonnen werden, schneller und mit größerer Sicherheit untermauert oder verworfen werden. Außerdem wird die Ableitung der richtigen Struktur aus ähnlichen Massenspektren erleichtert. Die Signalverhältnisse verschiedener Atomemissionslinien zueinander lassen eine Abschätzung der Summenformel der unbekannten Substanz zu.

Bisher gibt es nur wenige Veröffentlichungen, in denen GC/AED als Screening-Methode im Umweltbereich eingesetzt wurde. Dabei konzentrierte man sich im Umweltbereich auf das Screening von Pestiziden und metallorganischen Verbindungen wie Zinn-, Blei-, Arsen- und Quecksilberorganen [Frischenschlager u. a., 1997] [Paneli u. a., 1997] [van Stee u. a., 1998] [Thurow, 1998] [Mothes, 1998]. Bei Anwendung von elementselektiver und massenselektiver Detektion wird der Atomemissionsdetektor häufig in einer Parallelschaltung mit einem massenselektiven Detektor betrieben. Das "Splitten" des Gasstromes wurde sowohl vor als auch nach der chromatographischen Trennung vorgenommen. Untersucht wurde auch das Potential des AED bezüglich der Berechnung empirischer Summenformeln aus den Signalverhältnissen der verschiedenen Emissionslinien [Gurka, u. a., 1997]. Über die Genauigkeit und damit die Aussagekraft solcher Kalkulationen gibt es sehr konträre Meinungen. In Kombination mit der Interpretation von Massenspektren ist die Ableitung von Summenformeln aus den Signalverhältnissen am AED aber ein Verfahren, das auch in der Umweltanalytik immer häufiger Verwendung findet [Struppe, 1998] [Stoll, 1998]. Der Aufbau des Gerätes von Hewlett-Packard und seine Arbeitsweise sind in Veröffentlichungen von Sullivan und Quimby beschrieben [Sullivan u. a., 1990] [Quimby u. a., 1990].

4.3.1 *Chromatographie und Detektion*

4.3.1.1 *Parallelschaltung des AED mit dem PND*

Das Splitten des Trägergasstromes wurde nach der chromatographischen Trennung auf der belegten Kapillarsäule vorgenommen. Dazu wurde eine Pressfitverbindung verwendet. Als Verbindungskapillaren zu den Detektoren wurden unbelegte desaktivierte Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 100 µm verwendet. Das Splitverhältnis wurde über die Länge der Verbindungskapillaren, durch deren Veränderung die Restriktion der Kapillare variiert wird, eingestellt. Die Restriktion der Kapillaren wurde mit dem "flow calculator" errechnet, einem Computerprogramm, das die Firma Hewlett Packard kostenlos zur Verfügung stellt. Die exakten Längen wurden durch Analyse einer Benzothiazollösung mit der Konzentration 10 mg/l ermittelt. Dabei sollte an beiden Detektoren gemäß dem Verhältnis von Stickstoff zu Schwefel, das nach der Summenformel dieser Substanz 1:1 ist, ein vergleichbares Signal erhalten werden.

4.3.1.2 *Chromatographische Bedingungen am GC-AED-Systems*

Die Eluate nach der Festphasenanreicherung der wässrigen Standardlösungen sowie der Abwasserproben wurden an zwei identischen Gaschromatographen, die mit einem massenselektiven Detektor bzw. mit einem Atomemissionsdetektor (mikrowelleninduziertes Plasma) gekoppelt sind, untersucht. Bei den Parallelmessungen an beiden Systemen wurden identische Parameter an den beiden Geräten eingestellt. (s. 4.1.2.1 und Anhang 4)

4.3.1.3 *Detektor-Einstellungen:*

Der massenselektive Detektor wurde im "Scan-modus" betrieben. Die Einstellungen am AED waren wie folgt:

Helium "supply-pressure": 30 psi

"purge flow": 40 ml/min

"cavity pressure": 1,5 psi

cavity vent flow 65 ml/min

Auxiliary-Gase: H₂: 5 psi, O₂: 60 psi

4.3.1.4 Standardlösungen für die GC-Analytik

Als Modellsubstanzen für die Entwicklung des Verfahrens zur Trennung schwefelhaltiger Substanzen dienten 3-Acetylthiophen, Benzothiazol, Chlorbenzothiazol, Diphenylsulfon, Mercaptobenzothiazol und 4-Toluolsulfonamid. Die ausgewählten Verbindungen gehören zu den wichtigsten schwefelhaltigen Substanzklassen, die der Literaturrecherche nach zu urteilen (siehe Kapitel 1.3.2) in Abläufen kommunaler Kläranlagen zu finden und aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften mit Gaschromatographie erfassbar sind. Die einzigen Substanzklassen, die nicht berücksichtigt wurde, sind Sulfide und Mercaptane. Das Verhalten dieser Substanzklassen während der Abwasserreinigung wurde von Kümmerer [Kümmerer, 1990] intensiv untersucht. Die Relevanz der Sulfide im Ablauf von Kläranlagen ist zudem als gering zu beurteilen. Die für die GC-Analytik hergestellten Standardlösungen wurden in Acetonitril bzw. Ethylacetat angesetzt. Es wurden jeweils 0,1 g eingewogen und in 10 ml Lösungsmittel gelöst. Aus den Einzelstandards wurde ein Mischstandard und daraus eine Verdünnungsreihe im Kalibrationsbereich von 50 µg/l bis 2 mg/l hergestellt.

4.4 Ergebnisse zur Methodenentwicklung GC-AED

4.4.1 *Erstellung einer Methode zur gaschromatographischen Trennung der schwefelhaltigen Modellsubstanzen mit GC-AED*

Zunächst wurde ein Verfahren zur gaschromatographischen Trennung der schwefelhaltigen ausgewählten Standardsubstanzen ausgearbeitet und die Nachweisgrenzen ihrer Detektion am massenselektiven Detektor, der im Scan-Modus betrieben wurde, sowie am Atomemissionsdetektor ermittelt. Auffällig ist das leichte Tailing aller Peaks im Chromatogramm der Schwefelemmission (Abb. 37). Das generelle Tailing im Schwefelemmissionschromatogramm ist auf Wechselwirkungen des atomaren Schwefels mit dem Silicamaterial des Entladungsröhrchens zurückzuführen. In den Chromatogrammen der anderen Emissionslinien dagegen zeigen nur 4-Toluolsulfonamid und Mercaptobenzothiazol aufgrund ihrer polaren funktionellen Gruppen ein Tailing. Für diese Verbindungen ist die Auswahl der Kapillarsäule nicht optimal. Mit den optimierten Parametern für die Trennung wurde für jede Substanz eine Kalibrierung durchgeführt. Die Korrelationskoeffizienten der Kalibriergeraden bewegten sich für die Messungen mit GC-MSD je nach Substanz zwischen 0,99 und 0,999. Zur Auswertung am GC-AED wurde die Schwefelemmissionslinie herangezogen. Die Korrelationskoeffizienten lagen durchweg größer 0,999. Die Nachweisgrenzen lagen nach der Berechnung nach DIN

32 645 bei einem Vertrauensbereich von 99 Prozent [DIN 32 645, 1994] für alle Substanzen mit Ausnahme von Mercaptobenzothiazol unter dem angestrebten Wert von 1 mg/l, woraus für das Gesamtverfahren (bei einem Anreicherungsfaktor von 1000) Nachweisgrenzen kleiner 1 µg/l resultieren. Bei Mercaptobenzothiazol ergaben sich sowohl Schwierigkeiten bezüglich der Empfindlichkeit als auch der Präzision. Diese Substanz wird am besten vor der Chromatographie zum Sulfid alkyliert. Eine Derivatisierung zum 2-Methylthiobenzothiazol ist durch Umsetzung mit Diazomethan möglich.

Um an beiden Systemen vergleichbare Retentionszeiten zu erzielen, müssen die Trägergasflüsse an beiden Systemen angeglichen werden. Da aus technischen Gründen der größtmögliche Trägergasfluss am GC-MSD 1 ml/min (bei "constant flow") beträgt, musste die für den AED optimale Einstellung von 1,5 ml/min entsprechend reduziert werden. Trotz identischer Parameter und gleicher Trennsäule traten Retentionszeitverschiebungen zwischen den beiden Systemen auf. Grund dafür sind die unterschiedlichen Auslassdrücke am Ende der Kapillarsäulen, die aus den differierenden Druckverhältnissen im jeweiligen Detektor resultieren und unterschiedliche Flussbedingungen in den Kapillaren erzeugen. Während am GC-MSD ein Vakuum (10^{-5} mbar) anliegt, herrscht am GC-AED ein positiver Druck (1,5 psi) am Detektoreingang vor. Aufgrund des Temperaturgradienten ist die Verschiebung der Retentionszeiten nicht konstant, sondern ändert sich mit der Zeit. Für eine exakte Zuordnung von Peaks aus dem AED-Chromatogramm zu den entsprechenden Peaks des MSD-Chromatogramms ist es deshalb nötig, mit Hilfe von Standardsubstanzen diese Verschiebungen in Abhängigkeit der Zeit zu ermitteln. Wie Abb. 38 zeigt, ergab sich dabei ein linearer Zusammenhang zwischen den Retentionszeiten am MSD und denen am AED. Die Verschiebungen konnten aus der Geradengleichung mit einer Standardabweichung kleiner 0,1 min ermittelt werden.

Die Zuordnung der Peaks aus den verschiedenen Chromatogrammen war mit der dargestellten Beziehung in allen Fällen ohne Schwierigkeit möglich. Somit erhält man von unbekannten Substanzen sowohl das Massenspektrum mit den dazugehörigen Strukturvorschlägen aus der Spektrenbibliothek, als auch die Information über die in der Substanz enthaltenen Heteroatome mit Ausnahme von Sauerstoff. Für die Erfassung von Sauerstoff wäre eine andere Reaktandgas Mischung notwendig gewesen, die jedoch nicht zur Verfügung stand. Durch die zusätzliche Information wird die Sicherheit bei der Identifizierung unbekannter Substanzen deutlich erhöht. Zudem können bei schlechterer Qualität der Massenspektren (verursacht durch Hintergrundsignale) Strukturvorschläge, die nicht mit dem Gehalt an Heteroatomen übereinstimmen, verworfen werden und somit die Struktur der Verbindung auf einige wenige Möglichkeiten eingegrenzt werden.

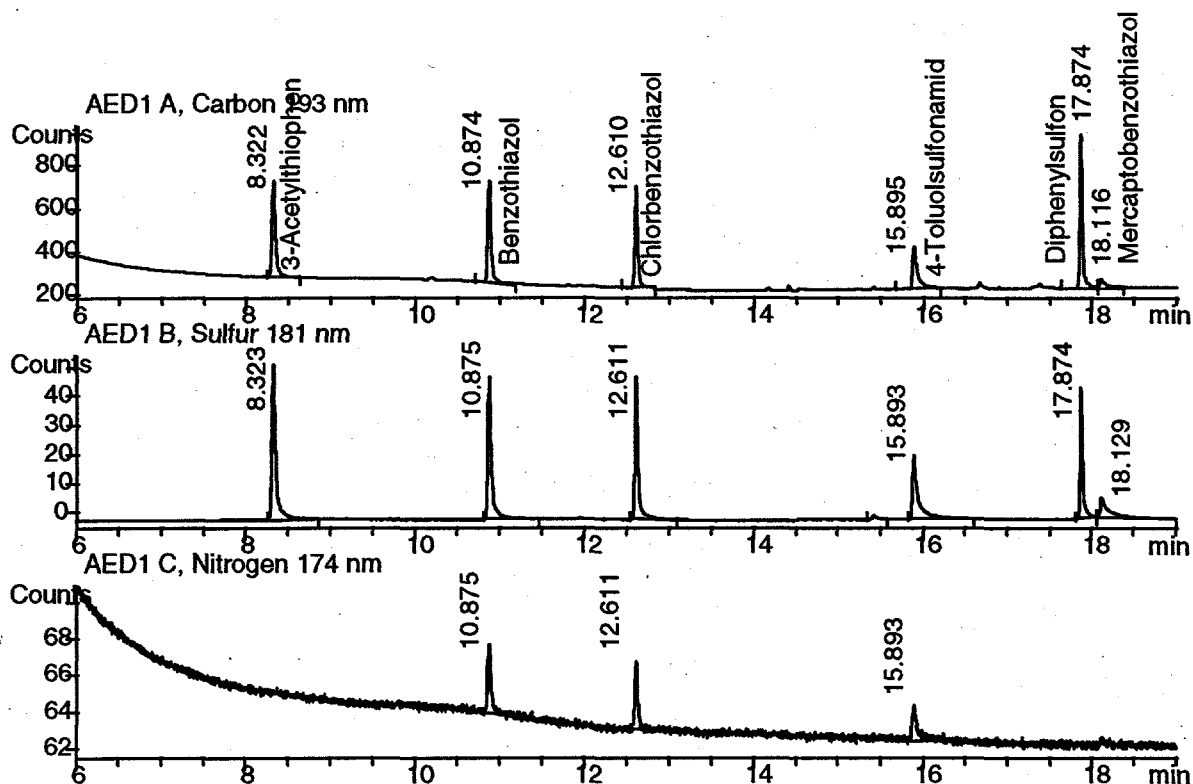


Abb. 37 GC-AED-Chromatogramm eines Mischstandards (ca. 1 mg/l je Einzelsubstanz); Detektion der Kohlenstoff-, Schwefel- und Stickstoffemissionslinien

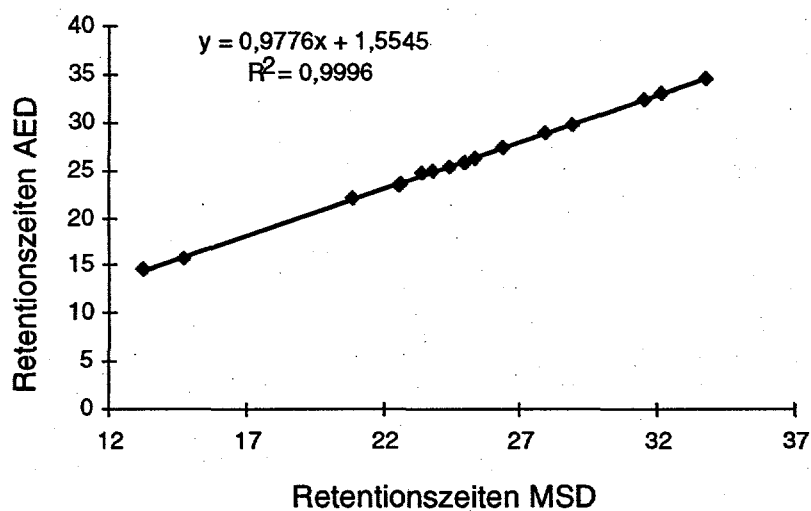


Abb. 38 Korrelation der Retentionszeiten am MSD und AED unter Einbeziehung der Daten aller im Verlauf der Arbeit mit GC identifizierten Substanzen (siehe Tab. 21)

4.4.2 Optimierung der Empfindlichkeit und Ermittlung der Nachweisgrenzen sowie des Linearitätsbereichs des Atomemissionsdetektors für ausgewählte Schwefelverbindungen

In erster Linie sollten durch die Messung am AED alle Peaks, die schwefelhaltigen Substanzen entsprachen, sichtbar gemacht werden. Daher stand die Optimierung der Empfindlichkeit der Schwefelemission im Vordergrund. Die Einstellungen sollten aber so gewählt werden, dass die Empfindlichkeit der anderen Emissionslinien nicht zu sehr beeinträchtigt wird. Im AED werden die chromatographierten Substanzen in einem Entladungsröhrchen durch ein durch Mikrowellen induziertes Plasma atomisiert und die entstandenen Atome durch das Plasma angeregt. Die angeregten Atome emittieren bei charakteristischen elementspezifischen Wellenlängen. Das vom Plasma emittierte Licht wird im Spektrometer zerlegt und die Intensität der einzelnen Wellenlängen über einen Dioden-Array detektiert.

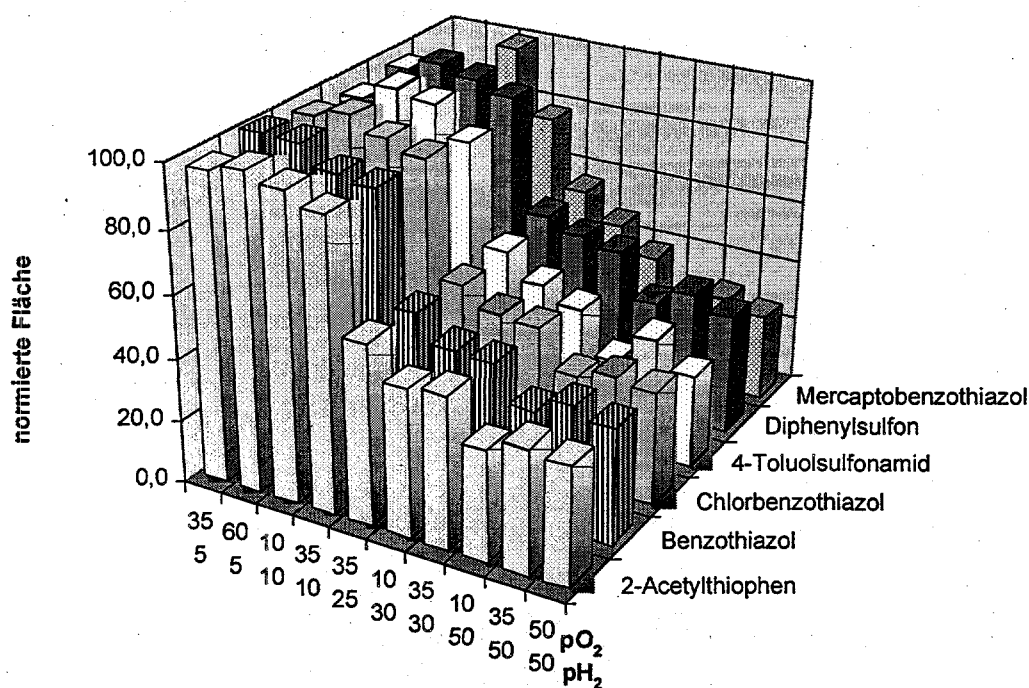


Abb. 39 Detektorsignale für ausgewählte Schwefelverbindungen in Abhängigkeit der "scavenger"-Gase

Für den Plasmagasfluss und die Spülflüsse werden vom Hersteller Einstellungen vorgegeben, die bei der Optimierung nicht verändert wurden. Durch Reduzierung des "make up"-Gasflusses könnte zwar die Empfindlichkeit erhöht werden, aber gleichzeitig wird vor allem bei der Detektion der Schwefelemission ein starkes Peaktailing hervorgerufen. Grund dafür

ist die Adsorption des Schwefels aber auch anderer Elemente am Quarzglas des Entladungsröhrchens bei reduziertem Plasmagasfluss.

Optimiert wurde hingegen der Fluss der Reaktandgase Sauerstoff und Wasserstoff. Sauerstoff verhindert eine Kohlenstoffablagerung auf dem Entladungsröhrchen. Wasserstoff wird zugesetzt, um die Bildung stabiler Oxide zu verhindern [Schmid, 1991]. Auch hier existieren zwar vom Hersteller vorgegebene Werte, allerdings sind diese so gewählt, dass alle messbaren Elemente in ausreichender Empfindlichkeit zu detektieren sind. Für die Detektion ausgewählter Emissionswellenlängen kann die Empfindlichkeit stark erhöht werden. Abb. 39 zeigt die für die Schwefelemission durchgeführte Optimierung.

Für die Messungen beim Screening betrug der Wasserstoffpartialdruck 5 psi und der Sauerstoffpartialdruck 60 psi. Die Empfindlichkeit der Stickstoffemission war dabei im Vergleich zu den vom Hersteller vorgegebenen Werten (35 psi O₂/ 8,9 psi H₂) unwesentlich. Andere Emissionslinien erwiesen sich im Laufe des Forschungsprojektes als nicht relevant.

Unter den optimierten Bedingungen wurden für ausgewählte Schwefelverbindungen die in Tab. 14 angeführten Nachweisgrenzen ermittelt. Die Nachweisgrenzen liegen damit im Bereich von denen des MSD im SIM-Modus.

Tab. 14 Nachweisgrenzen am GC/AED für ausgewählte Schwefelverbindungen nach DIN 32 645 [DIN 32 645, 1994] bei einem Vertrauensbereich von 95 Prozent.

Substanz	Nachweisgrenze [$\mu\text{g/l}$]
3-Acetylthiophen	164
Benzothiazol	40
Chlorbenzothiazol	43
Diphenylsulfon	53
4-Toluolsulfonamid	200

Probleme bereitet unabhängig von den Einstellungen der Reaktandgase die Empfindlichkeit und Selektivität des Detektors gegenüber Stickstoff. Gründe dafür sind die Intensität der Stickstoffemissionslinie und das hohe Hintergrundsignal, das durch Stickstoffspuren im verwendeten Helium hervorgerufen wird. Das eingesetzte Trägergas der Qualität 5.0 sollte durch ein Gasreinigungssystem zu einer Qualität besser 6.0 aufgereinigt werden. Je nach Zustand des Gasreinigungssystems ist die Empfindlichkeit gegenüber Stickstoff um den Faktor 4 bis 8 niedriger als gegenüber Schwefel, wobei sich an unserem Gerät die Empfind-

lichkeiten um den Faktor 5 unterscheiden. Die Selektivität gegenüber Kohlenstoff ist beim Stickstoffsignal etwa um den Faktor 10 geringer.

Da viele relevante Verbindungen sowohl Schwefel als auch Stickstoff enthalten, entstehen dadurch Probleme bei der vollständigen Identifizierung der Heteroatome einer unbekannten Substanz im Spurenbereich. Da eine Erhöhung der Gasqualität aus finanziellen Gründen nicht möglich und auch durch eine Optimierung der Reaktandgasflüsse die Empfindlichkeit nicht wesentlich zu steigern war, wurde das Problem durch eine Parallelschaltung von AED und einem für Stickstoffverbindungen wesentlich empfindlicheren Stickstoff-Phosphor-Detektor (PND) gelöst. Durch das Splitten des Gasstromes nach der Trennsäule erhöhten sich die Nachweisgrenzen für die in Tab. 14 aufgeführten Substanzen um den Faktor 2, lagen aber für alle Substanzen immer noch deutlich unterhalb von 1 mg/l. Für die Auswertung des Stickstoffsignals ergaben sich vergleichbare Signalintensitäten. Die Querempfindlichkeit gegenüber Phosphor war kein Problem, weil Phosphor am AED mit genügender Empfindlichkeit detektiert werden kann und somit im Zweifel zwischen Signalen, die von Stickstoff bzw. Phosphor hervorgerufen werden, unterschieden werden kann. Der Nachteil des PND liegt darin, dass das Ansprechverhalten auf verschiedene Schwefel-Stickstoffverbindungen stark variierte. Eine Korrelation der Signalverhältnisse zur Abschätzung der Atomzahlenverhältnisse von Stickstoff zu Schwefel war daher nicht möglich.

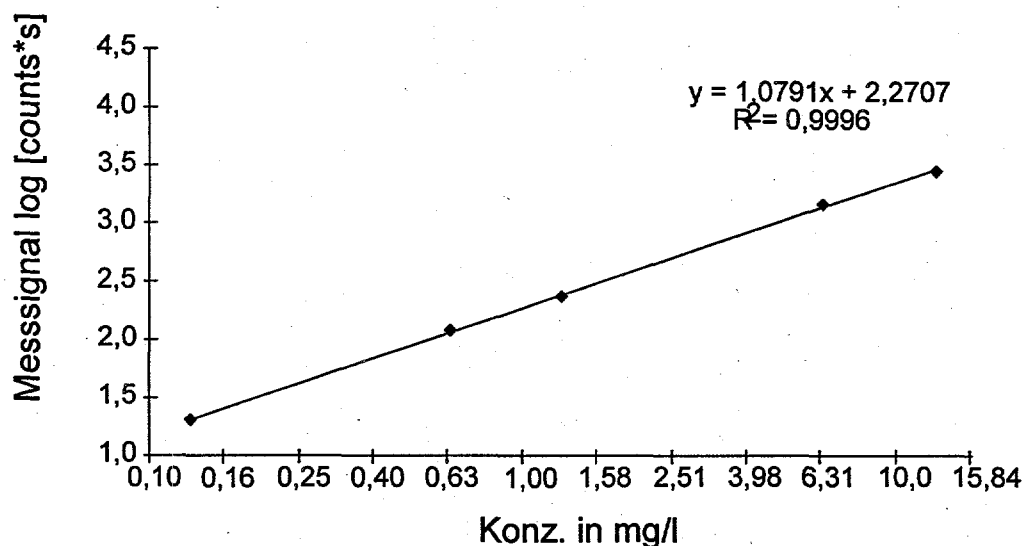


Abb. 40 Ansprechverhalten des AED am Beispiel von 3-Acetylthiophen

Die optimierten technischen Einstellungen wurden auch bei der Ermittlung des Linearitätsbereichs des Detektors verwendet. Der untersuchte Bereich lag zwischen 100 µg/l (Nachweisgrenze für die untersuchten Substanzen) und 15 mg/l. Im gesamten Bereich war

das Ansprechverhalten des Detektors linear. Damit unterscheidet sich dieser Detektor von anderen schwefelselektiven Detektoren, die ein quadratisches Ansprechverhalten zeigen. Beispielhaft ist der Zusammenhang von Konzentration und Messsignal in Abb. 40 für 3-Acetylthiophen dargestellt.

4.4.3 Aussagekraft der Signalverhältnisse von Kohlenstoff zu Schwefel am AED bezüglich der Kakulation der Atomzahlenverhältnisse unbekannter Verbindungen

Nach der Theorie sollte das Ansprechverhalten des AED auf ein Element im Vergleich zum Kohlenstoffsignal aufgrund der vollständigen Atomisierung der Moleküle im Plasma unabhängig von der organischen Bindungsform sein. Dies wurde für einige Standardsubstanzen mit Hilfe des relativen elementaren Responsefaktors (RRF_{el}) bezogen auf das Signal der Kohlenstoffemissionslinie 193 nm überprüft. Dazu ist es nötig, dass alle Parameter in der gesamten Apparatur konstant gehalten werden. Der relative elementare Responsefaktor ist wie folgt definiert:

$$RRF_{el} = \frac{\text{Peakfläche des Elements}}{\text{Peakfläche von C 193}} \times \frac{\text{Zahl der Kohlenstoffatome}}{\text{Zahl der Elementatome}}$$

Die relativen Responsefaktoren von Schwefel (181 nm) sind für einige Standardverbindungen, die bei der Messung von Realproben ermittelt wurden, in Tab. 15 aufgelistet. Sie erwiesen sich im relevanten Konzentrationsbereich von 0,01 bis 10 mg/l als konzentrationsunabhängig.

Tab. 15 Relative Responsefaktoren (RRF_s) für organische Schwefelverbindungen in Realproben

Substanz	RRF_s	Atomzahlenverhältnis C/S
Methylthiobenzothiazol	0,77	4
Benzolsulfonamid	0,82	6
Benzothiazol	0,51	7
2-Methylbenzolsulfonamid	0,79	7
N-Phenylsulfonylsarkosin	0,76	9
N-Butylbenzolsulfonamid	0,73	10

Wäre das Ansprechverhalten für jede Substanz gleich, müssten auch die relativen Responsefaktoren identisch sein. Die Faktoren variieren mit einer Standardabweichung von 0,1, dies entspricht einer prozentualen Abweichung von 14 Prozent vom Mittelwert, der 0,73 beträgt. Im Vergleich dazu wurden für die Analyse von Reinsubstanzen Standardabweichungen von 10 Prozent angegeben [Struppe, 1998]. Stark abweichend ist nur der Wert für Benzothiazol. Um das Signalverhältnis der Schwefel- zur Kohlenstoffemission exakt ermitteln zu können, muss sichergestellt sein, dass keine Koelutionen von Substanzen zu dieser Retentionszeit auftreten, die dieses Verhältnis verschieben. Während dies bei der sehr selektiven Detektion der Schwefelemission sehr selten der Fall ist, kommt dies bei der universellen Detektion des Kohlenstoffsignals häufig vor. Deshalb ist es notwendig, die Peakform des auszuwertenden Signals im Schwefel- und im Kohlenstoffdiagramm genau zu vergleichen und nur bei vergleichbarer Breite sowie ähnlichem Anstiegs- und Abklingverhalten das Signal für diese Auswertung heranzuziehen. Dabei ist das leichte Tailing der Peaks im Schwefelchromatogramm zu berücksichtigen. Außerdem sollten die Signale in ihrer Intensität so hoch sein, dass eine exakte Integration der Peakfläche möglich ist. Unter den genannten Voraussetzungen konnte nicht für alle Substanzen das Verhältnis vom Kohlenstoff- zum Schwefelsignal ermittelt werden. Trotzdem war es möglich, für Substanzen mit unterschiedlichen Atomzahlenverhältnissen die in Abb. 41 dargestellte Kalibrationsgerade zu berechnen. Die in der Abbildung schwarz eingezeichneten Punkte wurden für die Kalibrierung herangezogen. Dabei entspricht ein Punkt dem Mittelwert von mindestens 3 Messungen. In der Regel wurden zur Kalibrierung für jedes Atomzahlverhältnis mehrere Substanzen verwendet (Ausnahme C/S = 10).

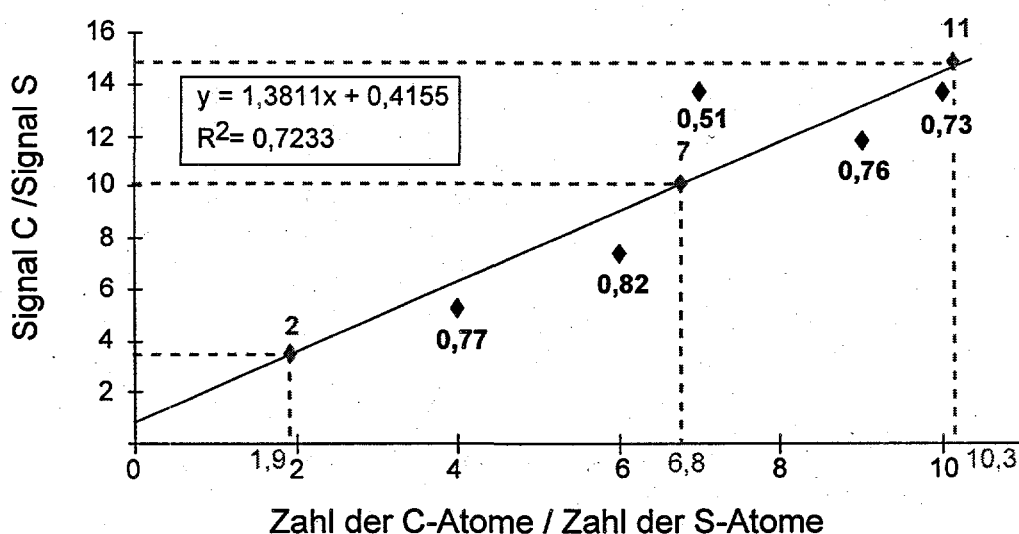


Abb. 41 Kalibration des Atomzahlen- zu Signalverhältnis bezüglich S und C

Trotz des um 14 Prozent variierenden Responseverhältnissfaktors wird der lineare Zusammenhang zwischen dem Atomzahlen- und dem Signalverhältnis deutlich. Die Standardabweichungen sind mit denen der relativen Responsefaktoren identisch. Die maximale, absolute Abweichung für die vorliegenden Messdaten betrug 2.

Auf der Basis dieser Kalibration wurde das Atomzahlenverhältnis von Kohlenstoff zu Schwefel für einige unbekannte schwefelhaltige Substanzen berechnet. Die Messwerte für das Signalverhältnis sind in Abb. 41 grau eingezeichnet. Die erhaltenen Atomzahlenverhältnisse (graue Zahlen am Schnittpunkt des Lots mit der x-Achse) werden mit den erwarteten Werten (graue Zahlen über den Messpunkten) aus den Strukturvorschlägen, die durch Vergleich der Massenspektren mit Referenzspektren gewonnen wurden, verglichen.

4.4.4 Festphasenanreicherung der durch Gaschromatographie erfassbaren Modellschubstanzen

Zur Auswahl des bestmöglichen Festphasenmaterials für die Anreicherung schwefelhaltiger Substanzklassen wurden die Modellschubstanzen, die sich in ihrer Lipophilie stark voneinander unterschieden, auf C18- und Styrol-Divinylbenzol-Phasen angereichert. Die Wiederfindungsraten sind in Abb. 42 dargestellt.

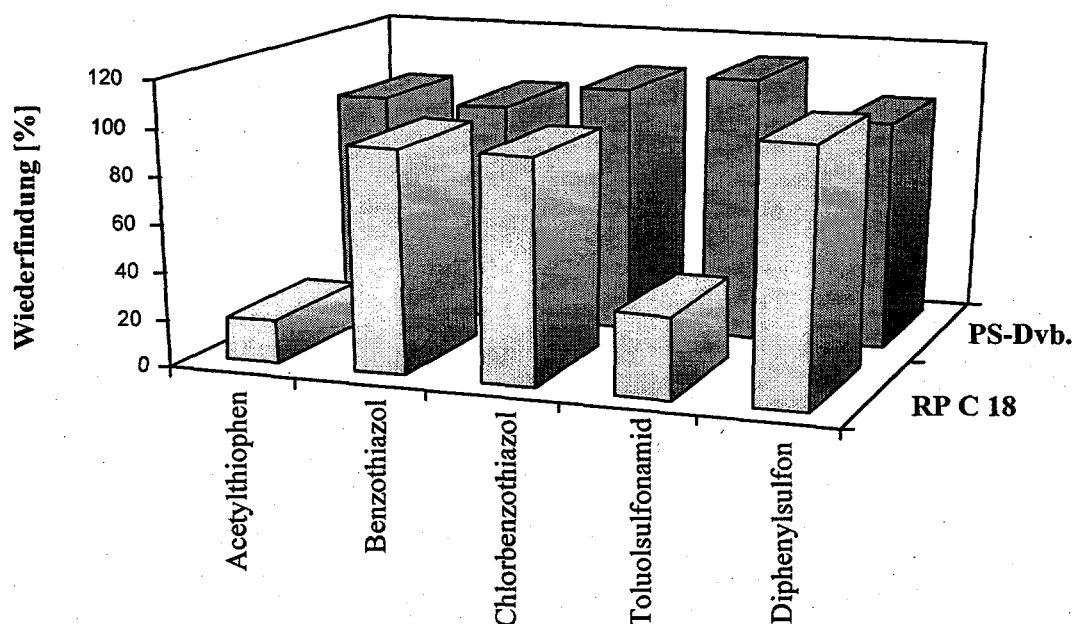


Abb. 42 Wiederfindung von schwefelhaltigen Modellschubstanzen nach der Festphasenanreicherung auf RP-C 18- und Styrol-Divinylbenzol-Phasen

Es zeigte sich, dass bei Anreicherungen auf den Styrol-Divinylbenzol-Phasen für alle Substanzen Wiederfindungen größer 86 Prozent zu erzielen sind, während auf den RP-C18-Phasen nur hydrophobe Substanzen mit ausreichend hohen Wiederfindungen anzureichern waren. Für hydrophobe Substanzen konnten zwar auf RP-C18-Material höhere Wiederfindungsraten erzielt werden, aber die Unterschiede zu den Harzen waren so gering, dass auf die Verwendung von Mischphasen aus beiden Materialien zugunsten einer besseren Abtrennung der Matrix verzichtet wurde. Huminstoffe, die ein Hauptbestandteil der Matrix sind, werden auf der RP-C18-Phase angereichert und mit Acetonitril oder Ethylactat auch eluiert und würden damit bei Analyse der Eluate am GC die Analytik stören. Diese Makromoleküle lagern sich aufgrund ihrer geringen Flüchtigkeit im Einlaßsystem (Glasliner) ab, wodurch die Reproduzierbarkeit der Messwerte aufgrund aktiver Stellen nach wenigen Messungen nicht mehr gegeben ist. Außerdem wird die Lebenszeit der Kapillarsäulen stark verkürzt.

Auch bei der Aufstockung von Realproben mit 1 µg/l je Einzelsubstanz änderten sich die Wiederfindungsraten bei Verwendung der Harze nicht wesentlich. Für die Modellsubstanzen wurde das Gesamtverfahren bestehend aus Anreicherung und GC/AED-Messung (ohne Parallelschaltung des PND) in einem Bereich von 60 ng/l bis 10 µg/l auf Linearität untersucht und die Nachweisgrenzen ermittelt. Die Linearität des Verfahrens war über den gesamten untersuchten Bereich gewährleistet. Die Nachweisgrenzen sind in Tab. 16 dargestellt. Bei einer Parallelschaltung des AED mit dem PND wären die Nachweisgrenzen um den Faktor 2 höher.

Tab. 16 Nachweisgrenzen für das Gesamtverfahren nach DIN 32 645 [DIN 32 645, 1994] bei einem Vertrauensbereich von 95 Prozent

Substanz	Nachweisgrenze [ng/l]
3-Acetylthiophen	164
Benzothiazol	40
Chlorbenzothiazol	43
Diphenylsulfon	53
4-Toluolsulfonamid	205

4.4.5 Abschätzung von Konzentrationen unbekannter Substanzen und des erfassbaren Schwefels

Zur weiteren Charakterisierung des AOS sollte abgeschätzt werden, wie hoch die Menge an organisch gebundenem Schwefel ist, die mit dem oben beschriebenen Festphasenanreicherungsverfahren und anschließender GC-Messung erfasst wird. Zudem sollte abgeschätzt werden, wie hoch die Konzentrationen an Substanzen sind, für die kein Standard käuflich war oder synthetisiert worden war. Dies ist möglich, weil der Atomemissionsdetektor für alle Substanzen nahezu identisches Ansprechverhalten auf den verschiedenen Emissionslinien zeigt.

Unterschiede im Ansprechverhalten bezüglich des Gesamtsystems (Gaschromatographie und Detektion) resultieren aus den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Substanzen (z.B. Lipophilie), die die Gaschromatographie beeinflussen. Die Unterschiede werden deutlich, wenn die Kalibrierungen von schwefelhaltigen Standardverbindungen mit stark unterschiedlichen Nachweisgrenzen auf die Konzentration des Schwefels normiert werden. Die normierten Kalibrationsgeraden für Benzothiazol, 3-Acetylthiophen und 4-Toluolsulfonamid, deren Nachweisgrenzen in Tab. 14 aufgeführt sind, sind in Abb. 43 dargestellt.

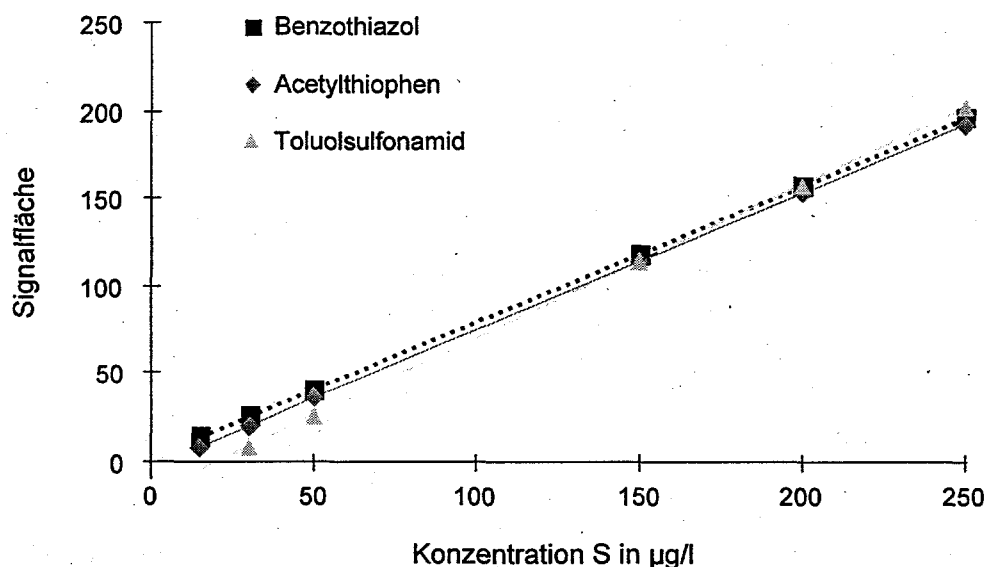


Abb. 43 Kalibrationen verschiedener Standardsubstanzen umgerechnet auf Schwefelkonzentrationen

Der Fehler bei der Berechnung des organisch gebundenen Schwefels einer Substanz mittels der Kalibrierung mit einer anderen schwefelhaltigen Verbindung ist danach mit einer maximalen Standardabweichung von 18 Prozent möglich. Zur Abschätzung der Konzentrationen

von Substanzen, für die kein Standard zur Verfügung stand, wurden, wenn möglich, strukturverwandte Verbindungen verwendet, wodurch der Fehler weitaus geringer wird. Konnte keine strukturverwandte Verbindung eingesetzt werden, wurde ein Standard derjenigen Substanz verwendet, dessen Retentionszeitdifferenz im Gaschromatogramm am kleinsten war.

Zur Abschätzung des mit dem Gesamtverfahren erfassbaren Schwefels wurden alle Signale der Schwefelemissionlinie (181 nm) integriert und diese Flächen aufsummiert. Aus der Gesamtfläche wurde mit den in Abb. 43 dargestellten 3 Kalibrationsgeraden die Schwefelkonzentration errechnet und der Mittelwert gebildet. Die Standardabweichung betrug 15 Prozent. Die Ergebnisse sind in Kapitel 6 zusammengefasst.

4.5 Probennahme

Abwasserproben des Zu- und Ablaufes wurden von kommunalen Kläranlagen im Großraum Stuttgart untersucht. Die beprobten Anlagen mit Angabe der Größe und den weitergehenden Reinigungsstufen sind im Anhang 5 aufgeführt. Die Ablaufproben wurden über automatische Probennehmer als 24-h-Mischprobe aus dem Zulauf zur biologischen Reinigungsstufe und dem Ablauf der Nachklärung genommen.

Über das Jahr 1997 erfolgte eine qualitative Probennahme. Neun Kläranlagen wurden im März, Juni, September und Dezember beprobt. Die Ergebnisse dieser Beprobungen wurden in Bezug auf die Einzelsubstanzen vor allem qualitativ ausgewertet. Zur quantitativen Bestimmung einzelner Verbindungen wurden im Zeitraum von Januar 1997 bis März 1998 weitere Probennahmen von einzelnen Kläranlagen durchgeführt.

5 Identifizierung von Umweltkontaminanten im Abwasser

Die von den Proben aufgenommenen GC-MS-Totalionen-Chromatogramme (TIC) wurden Peak für Peak analysiert. Für die nähere Betrachtung wurden Peaks ausgewählt, für die das entsprechende Massenspektrum eine gute Übereinstimmung mit Verbindungen aus der NIST-Bibliothek ergab (Abb. 44).

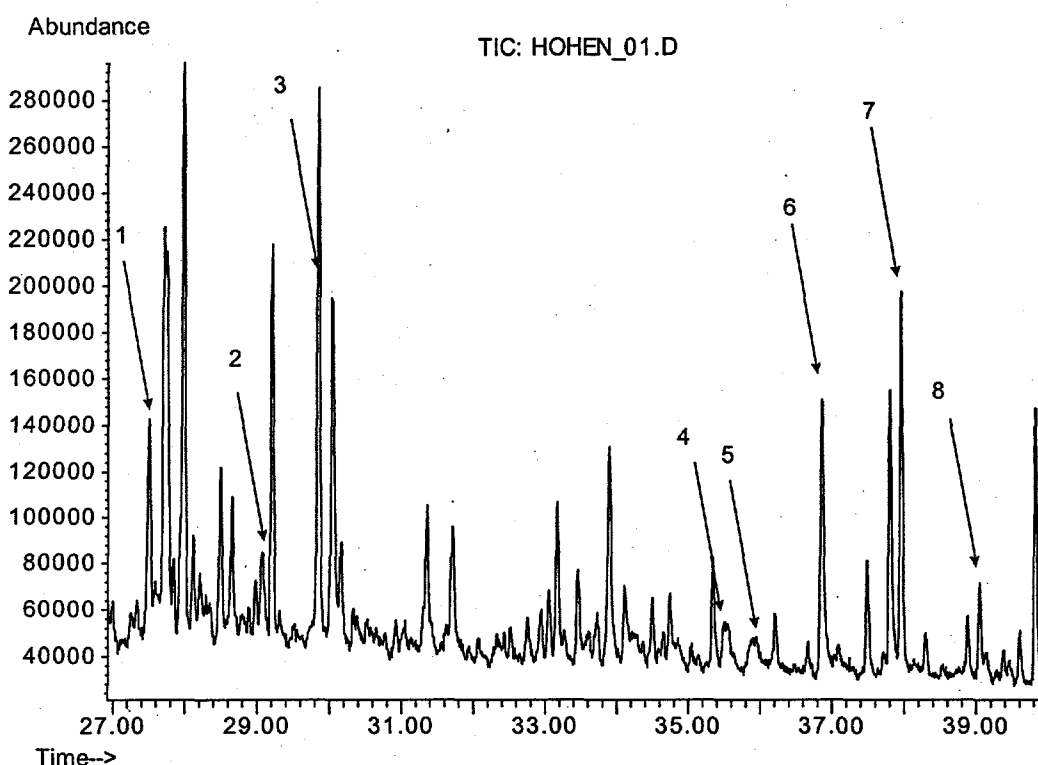


Abb. 44 GC-MS-Totalionenchromatogramm (TIC) einer Probe aus dem Kläranlagenablauf Hoheneck vom 7.10.97. 1 Coffein (RT 27,52 min); 2 Pheneturid (RT 29,10 min); 3 Propyphenazon (RT 29,87 min, coeluiert mit m/z 149); 4 Primidon (RT 35,50 min); 5 Novalginmetabolit (RT 35,90 min); 6 Carbamazepin (RT 36,86 min); 7 Dihydrocodein (RT 37,95 min); 8 Hydrocodon (RT 39,04 min).

Die Identifizierung der Abwasserinhaltsstoffe erfolgte somit zunächst über das Massenspektrum. Mit der beschriebenen Methode konnten unterschiedliche Substanzklassen im Abwasser erfasst werden. In Tabelle 13 sind die identifizierten Stickstoff- und Schwefelverbindungen mit den Namen der NIST-Bibliothek aufgeführt. In Kapitel 6 werden weitere Verbindungen aufgeführt, die durch die Kombination GC-MS mit GC-AED identifiziert werden konnten.

Die in Tab. 17 aufgeführten Verbindungen konnten fast alle mit einer Wahrscheinlichkeit größer 90 % über die NIST-Bibliothek identifiziert werden. Für einige Verbindungen wurde eine geringere Wahrscheinlichkeit gefunden. Dies liegt daran, dass diese Verbindungen charakteristische Massen kleiner m/z 47 aufweisen. Die Messungen erfolgten gerätebedingt jedoch erst ab der Masse 47. In Tab. 17 sind diese Verbindungen mit '< 47' gekennzeichnet. Die Massenspektren der Verbindungen, die regelmäßig detektiert werden konnten, sind mit dem entsprechenden Vergleichsspektrum der NIST-Bibliothek in alphabetischer Reihenfolge (entsprechend der NIST-Nomenklatur) im Anhang 9 aufgeführt. Unter den Spektren ist das

Probennahmedatum mit dem Probennahmeort aufgeführt. Des Weiteren ist die Übereinstimmung zwischen dem Probenspektrum und der NIST-Bibliothek in Prozent vermerkt.

Tab. 17 Identifizierte Stickstoff- und Schwefelverbindungen im Abwasser kommunaler Kläranlagen

Stoffgruppen	
Amine	
< 47*	1-Propanamine, N,N-dipropyl- Benzenamine, N-propyl 1,4-Benzenediamine Benzenemethanamine, N,N-dimethyl-
R**	2H-1-Benzopyran-2-one, 7-(diethylamino)-4-methyl- Cyclohexanamine, N-cyclohexyl-
P***, R	Diclofenac, methyl ester 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, 2-aminobenzoate
P, R	Tricyclo[3.3.1.1 ^{3,7}]decan-1-amine
Isocyanate	
< 47	Benzene, 1-isocyanato-2-methyl 2,6-Dimethylphenyl isocyanate
Amide	
R	Benzenesulfonamide
R	Benzenesulfonamide, 2-methyl-
R	Benzenesulfonamide, 4-methyl- Benzenesulfonamide, N-butyl- Carbamodithioic acid, diethyl-, methyl ester
P, R	Crotamiton
R	Diethyltoluamide
< 47	Formamide, N,N-dibutyl-
< 47	Formamide, N-(1,1-dimethylethyl)-
P, R	Pheneturide Urea, N,N'-Dicyclohexyl- N-(phenylsulfonyl)-sarcosin (SPS)
cyclische Stickstoffverbindungen	
P, R	Acetamide, N-(2,3-dihydro-1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)- 2H-1,4-Benzothiazin-3(4H)-one
R	Benzothiazole
R	Benzothiazole, 2-(methylthio)- 1H-Benzotriazole 2H-Benzotriazole, 2-methyl-
P, R	Carbamazepine
P	1-(2,6-Dichlorophenyl)-2-indolinone
P, R	Dihydrocodeine
P, R	Hydrocodone
P	Lupanine

Fortsetzung von Tab. 17

Stoffgruppen	
P, R	Pentoxifylline
P, R	Primidone
P, R	Propyphenazone
< 47	Pyrazine, 2,3-dimethyl- 2,4,6(1H,3H,5H)-Pyrimidinetrione, 5-ethyl-1,3-dimethyl-
Pyridine	
	Pyridine, 3-ethyl-
< 47	Pyridine, 3-ethenyl- Pyridine, 2-(methylthio)- 2-Pyridinamine, 5-methyl- Pyridine, 3-(1-methyl-2pyrrolidinyl)-, (s)- [Nicotin]
Purine	
P, R	Caffeine
P	1H-Purine-2,6-dione, 3,7-dihydro-8-methoxy-1,3,7-trimethyl- 1,3,7,9-Tetramethyluric acid

* < 47: Verbindungen weisen charakteristische Massen kleiner m/z 47 auf

** R: Referenzsubstanz stand zur Verfügung

*** P: bei der Substanz handelt es sich um einen pharmazeutischen Wirkstoff bzw. um einen Metaboliten eines pharmazeutischen Wirkstoffes

N-(phenylsulfonyl)-sarcosin (SPS) wurde nicht über die Bibliothekssuche gefunden, sondern das Massenspektrum wurde mit Literaturangaben verglichen [Heberer, 1995].

Abgesichert wurden die Ergebnisse über den Vergleich der Retentionszeiten der identifizierten Verbindungen mit den Retentionszeiten der Referenzverbindungen. Für 21 der 47 aufgeführten Verbindungen standen Referenzsubstanzen zur Verfügung. Die Bezugsquellen der Referenzsubstanzen finden sich im Anhang 8. Es fällt auf, dass es sich bei den identifizierten Verbindungen zu einem großen Teil um Substanzen mit pharmazeutischer Wirkung handelt. Insgesamt 15 der 47 Verbindungen sind pharmazeutische Wirkstoffe bzw. Metabolite davon (in Tab. 17 mit P gekennzeichnet).

Als sicher identifiziert können nur die Verbindungen bezeichnet werden, für die Referenzsubstanzen zur Verfügung standen. Das in Tab. 17 nicht aufgeführte 9-Methylacridin wurde wiederholt über die NIST-Bibliothek mit einer Wahrscheinlichkeit von größer 90 Prozent vorgeschlagen. Eine Verbindung mit fast identischem Massenspektrum entsteht bei der GC-Analyse von Carbamazepin. In der Literatur wird Iminostilben als ein Zersetzungsprodukt von Carbamazepin beschrieben. Mit der Referenzsubstanz Iminostilben konnte über den Retentionszeitvergleich gezeigt werden, dass die von der NIST vorgeschlagene Verbindung 9-Methylacridin in Wirklichkeit Iminostilben ist.

Viele der oben aufgeführten Verbindungen konnten nur in vereinzelten Proben nachgewiesen werden. Bei einigen der Verbindungen handelt es sich um Metabolite, deren Herkunft nicht eindeutig ermittelt werden konnte.

Für einige der Verbindungen konnten mögliche Quellen identifiziert werden, die im folgenden beschrieben werden.

Arylsulfonamide werden in großen Mengen von der chemischen und pharmazeutischen Industrie hergestellt. Benzolsulfonsäureamide dienen als Zwischenprodukte zur Herstellung von Polysulfonamiden. Um ein Zwischenprodukt der Farbstoffherstellung handelt es sich bei Aminobenzolsulfonsäureamiden. Dies gilt auch für Toluolsulfonamide, die zudem als Ausgangsprodukt für Pharmaka Bedeutung haben. Substituierte Benzolsulfonamide werden als wachstumshemmende Mittel im Pflanzenschutz eingesetzt. Alkylamide der Benzol- und Toluolsulfonsäuren, z.B. N-Butylbenzolsulfonamid, verwendet man als Polyamidweichmacher in Kunststoffen.

1 H-Benzotriazol findet Verwendung als korrosionsverhütendes Mittel für Kupfer. Es ist ein Pflanzenwuchsstoff und ist Zwischenprodukt bei organischen Synthesen [Falbe u. Regitz, 1995]. In der Liste der Wirkstoffe in zugelassenen Pflanzenschutzmitteln von 1995 werden jedoch keine Benzotriazole mehr aufgeführt. Somit ist die Wahrscheinlichkeit gering, dass die identifizierten Benzotriazole aufgrund der Anwendung als PBSM im kommunalen Abwasser auftreten. Aufgrund des hohen Absorptionsvermögens für ultraviolette Strahlung werden substituierte Benzotriazole als UV-Absorber in technischen Produkten wie Lacke und Kunststoffe eingesetzt [Falbe u. Regitz, 1995]. 1H-Benzotriazol hat die Wassergefährdungsklasse 1 (schwach wassergefährdender Stoff).

Alkylierte und cyclische Harnstoff-Derivate werden als Lösungsmittel für viele technische Zwecke verwendet. N,N'-Dicyclohexylharnstoff konnte vereinzelt nachgewiesen werden.

Diethyltoluolamid (DEET) ist eine natürlich in weiblichen Baumwollspinnern vorkommende Verbindung, die als Repellent Einsatz findet in Fliegen- und Mückenabwehrmitteln. Diethyltoluolamid ist z. B. Bestandteil von 'Autan®'. Diethyltoluolamid konnte in allen untersuchten Proben nachgewiesen werden. Die Konzentrationen lagen bei durchschnittlich 200 ng/l. Von Franke u. a. wurde DEET in Oberflächengewässern nachgewiesen [Franke u. a., 1995].

Alkyl-substituierte Pyrazine finden sich als geschmacksgebende Stoffe in rohen Kartoffeln, Paprika und Erbsen und sind Aromastoffe in Röstkaffee und anderen Lebensmitteln. 2,3-Dimethylpyrazin konnte nur mit einer Wahrscheinlichkeit von 53 % nachgewiesen werden. Im Massenspektrum fehlt die charakteristische Ionenspur bei m/z 40, da die Aufnahme des Massenspektrums erst ab 47 Masseneinheiten erfolgte und die Substanz stark mit anderen nicht näher zuzuordnenden Ionenspuren koeluiert. 2,3-Dimethylpyrazin, mit der molaren Masse von 108 amu ist relativ polar und wird als eine der ersten Substanzen im Chromatogramm mit einer Retentionszeit kleiner 5 min erfasst. Da die Substanz natürlichen Ursprungs ist, wurde der NIST-Vorschlag nicht weiter über die Referenzsubstanz abgesichert.

Bei 7-(Diethylamino)-4-methyl-2H-1-benzopyran-2-on handelt es sich um ein Cumarinderivat, welches sowohl als Laserfarbstoff als auch als optischer Aufheller für Wolle, Viskose und Polyamide verwendet wird [Ullmann, 1998]. Das Derivat wurde unter anderem auch von Franke u. a. in der Elbe nachgewiesen [Franke u. a., 1995]. Auf die Identifizierung und Quantifizierung dieser Verbindung wird in Kapitel 5.2 noch näher eingegangen.

Mercaptobenzothiazolderivate dienen als Inhibitor von Biokorrosionsprozessen in industriellen Kühlsystemen und in der Galvanikindustrie. Im medizinischen Bereich werden die Derivate als Chemotherapeutika eingesetzt. Die wichtigste Applikation von Mercaptobenzothiazolderivaten liegt in der Verwendung als Vulkanisationsbeschleuniger. Gleichzeitig dienen diese Substanzen aber auch der Konservierung.

Eine Stickstoffverbindung, die regelmäßig im Abwasser gefunden wurde, ist Nicotin.

Zahlreiche der identifizierten Stickstoffverbindungen finden Verwendung als pharmazeutische Wirkstoffe in der Humanmedizin und Veterinärmedizin. Da diese Verbindungsklasse noch verhältnismäßig wenig untersucht wurde, im Vergleich z.B. zu den PBSM, und einige der Verbindungen im kommunalen Abwasser in dieser Arbeit erstmals detektiert oder quantifiziert wurden [Möhle u. a., 1996, Möhle u. a., 1999 a], wurden diese Verbindungen schwerpunktmäßig untersucht.

5.1 Pharmakarückstände

Mit der Screening-Methode konnten im Abwasser kommunaler Kläranlagen mehrere pharmazeutische Wirkstoffe bzw. Metabolite nachgewiesen werden (Abb. 45). Die detektierten Arzneimittelrückstände sind unterschiedlichen Indikationsgruppen zuzuordnen.

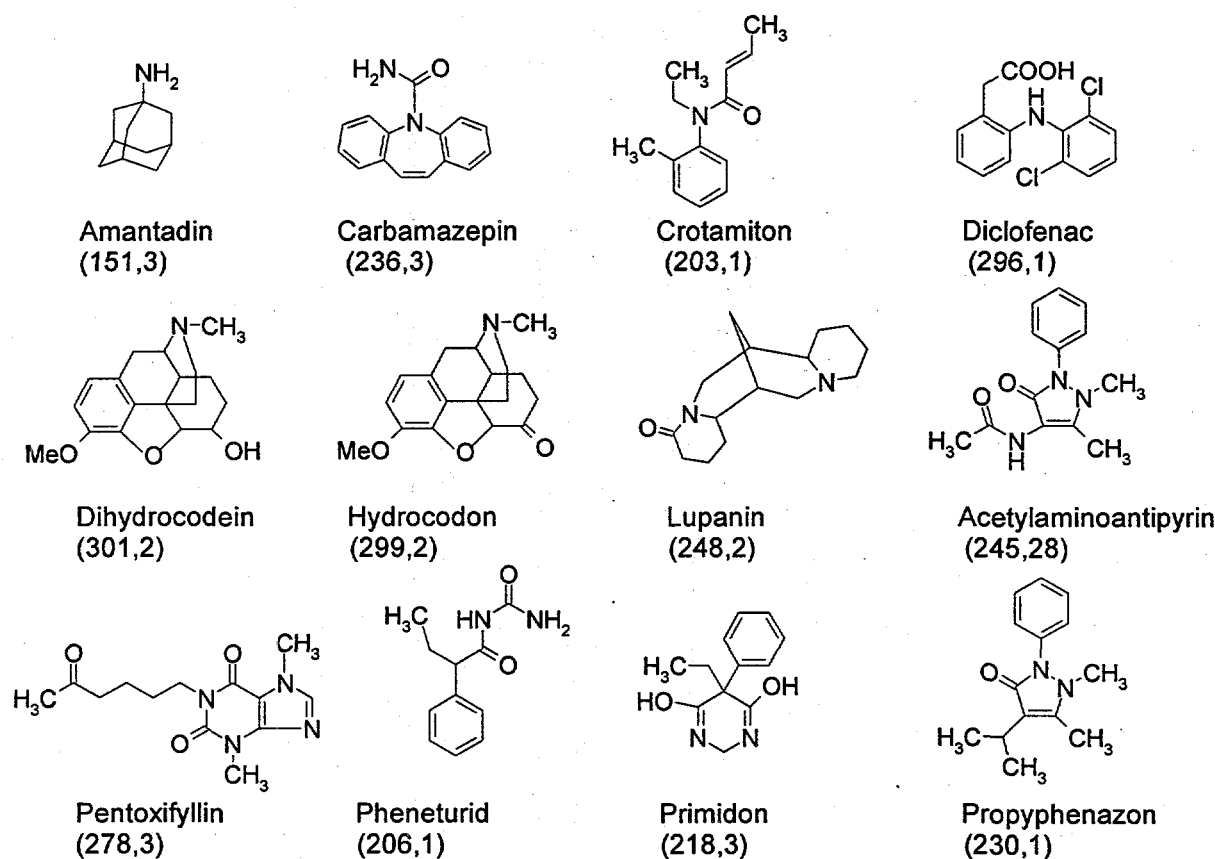


Abb. 45 Strukturformeln der über die NIST-Bibliothek identifizierten Pharmaka (molare Massen [g/mol] in Klammern)

Aus der Gruppe der Antiepileptika wurden Carbamazepin [Franke u. a., 1995; Möhle u. a., 1996; Sacher u. a., 1998], Primidon und Pheneturid detektiert. Neben dem Analgetikum (Schmerzmittel) Diclofenac [Stumpf u. a., 1996], [Sacher u. a., 1998] konnte noch Propyphenazon [Franke u. a., 1995] und ein Metabolit von Metamizol (bekannt als das Schmerzmittel Novalgin) identifiziert werden. Des Weiteren wurden die Antitussiva (hustenreizstillende Mittel) Dihydrocodein und Hydrocodon, Pentoxifyllin [Sacher u. a., 1998] aus der Gruppe der Vasodilatoren (gefäßerweiternde Mittel) sowie das Antipruriginosum (juckreizstillendes Mittel) Crotamiton quantifiziert. Das Grippeprophylaxemittel Amantadin konnte über den Vergleich seiner Retentionszeit mit der Referenzverbindung und über das Massenspektrum ebenfalls im Kläranlagenablauf identifiziert werden. Lupanin, eventuell ein

Metabolit des Herzkreislaufmittels Spartein, konnte nur auf Basis des Massenspektrums identifiziert werden. Die Referenzverbindung stand hier ebensowenig wie beim Antiepileptikum Pheneturid zur Verfügung. In Tab. 18 sind die über das Standardadditionsverfahren maximal gefundenen Konzentrationen für acht Pharmaka aufgeführt.

Anhang 6 belegt, dass das Auftreten dieser Verbindungen keinen Einzelfall darstellt. Die Verbindungen traten in neun Kläranlagen zu unterschiedlichen Jahreszeiten wiederholt auf. Die Übereinstimmung mit der NIST-Spektrenbibliothek lag in der Regel über 90 Prozent, soweit keine Koelutionen wie z. B. im Fall von Propyphenazon auftraten. Die zugehörigen Massenspuren zeigen, dass Propyphenazon mit einer hier nicht näher charakterisierten Substanz koeluiert (Abb. 46). Dies führte bei der Bibliothekssuche zu einer Übereinstimmung von nur 40 Prozent.

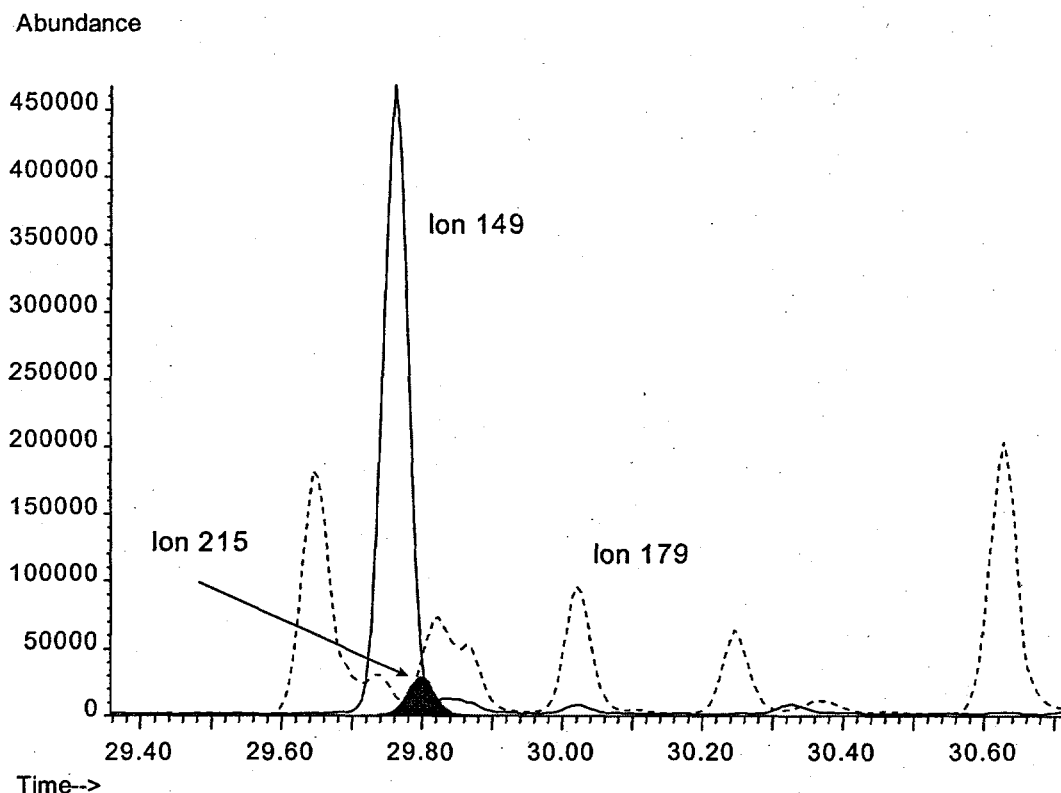


Abb. 46 Quantifizierung von Propyphenazon im Abwasser des Ablaufs der Kläranlage Fellbach über das Ion m/z 215

5.1.1 Quantitative Bestimmung der Pharmaka im Abwasser

Pharmaka, für die Referenzsubstanzen zur Verfügung standen, wurden über das Standardadditionsverfahren quantifiziert. Die Nachweisgrenzen und Bestimmungsgrenzen für acht Pharmaka sind in Tab. 18 aufgeführt. Für die Nachweisgrenze wurde bei diesen Messungen ein Signal-zu-Rausch-Verhältnis von drei zu eins zugrunde gelegt. Als Bestimmungsgrenze wurde die dreifache Nachweisgrenze angegeben. Weiterhin kann der Tabelle, die Ionenspur, die zur Quantifizierung herangezogen wurde, entnommen werden. Die Anzahl der Messungen, der Median und die maximal gemessene Konzentration der einzelnen Verbindungen beziehen sich auf Proben von kommunalen Kläranlagenabläufen.

Tab. 18 Quantifizierung von Pharmaka über das Standardadditionsverfahren

	Ionenspur m/z	N*	N > BG**	Median in ng/l	C _{max} in ng/l	NG** in ng/l	BG** in ng/l
Carbamazepin	193	8	8	1310	1760	50	150
Crotamiton	120	3	1		130	40	120
Diclofenac	214	9	9	1040	6220	70	210
Dihydrocodein	301	8	8	1470	4060	100	300
Hydrocodon	299	8	7	720	1940	100	300
Pentoxifyllin	221	8	1		230	70	210
Primidon	146	8	7	560	670	80	240
Propyphenazon	215	4	4	270	420	20	60

*N: Anzahl der Proben für das Standardadditionsverfahren

**BG: Bestimmungsgrenze, NG: Nachweisgrenze

5.1.2 Analgetika

Unter den Analgetika findet man die Gruppe der Phenazone. Hierbei handelt es sich um Pyrazol-Derivate. In den untersuchten Abwässern wurde Propyphenazon und ein Metabolit von Metamizol, bekannt als das Schmerzmittel Novalgin, nachgewiesen.

Das Auftreten von 4-Acetylaminoantipyrin im Abwasser kann auf die Metabolisierung von Metamizol zurückgeführt werden [Mutschler, 1991]. Metamizol wird nach oraler Einnahme im Gastrointestinaltrakt rasch zu 4-Methylaminoantipyrin gespalten und vollständig resorbiert. Durch Entalkylierung am Aminostickstoff wird es zu 4-Aminoantipyrin biotransformiert, welches dann teilweise durch Acetylierung in 4-Acetylaminoantipyrin überführt wird (Abb. 47).

Die Halbwertszeit beträgt 4-7 Stunden. Die Ausscheidung erfolgt vorwiegend über die Nieren (renal).

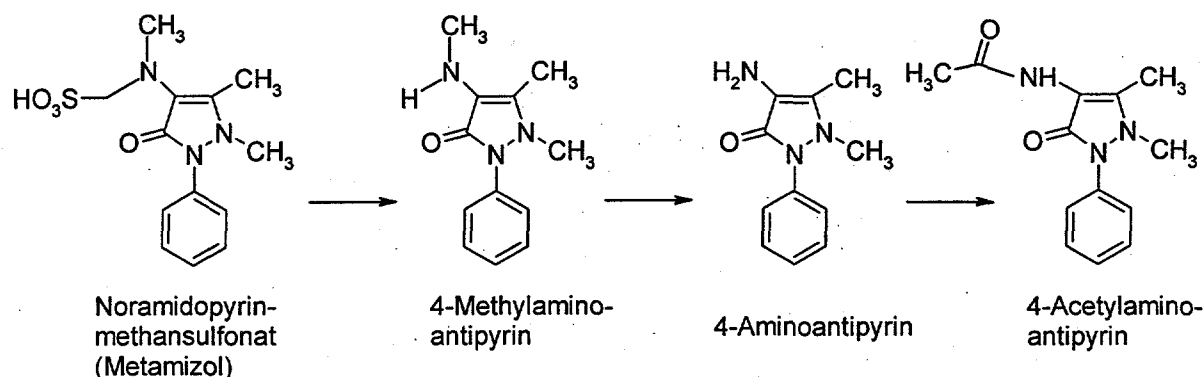


Abb. 47 Metabolisierung von Noramidopyrinmethansulfonat

Dieser Metabolit konnte in 26 der 32 untersuchten Proben über das Massenspektrum nachgewiesen werden (Anhang 6). Die Übereinstimmung mit der NIST-Bibliothek beträgt 95 Prozent. Die Massen 169 und 184 stammen von einer koeluerenden Verbindung. Die Retentionszeit der Probe stimmt mit der Referenzverbindung überein. Obwohl Acetaminoantipyrin, wie die Peakhöhe zeigt, in höheren Konzentrationen im Abwasser vorkommt, konnte es mit der beschriebenen gaschromatographischen Methode nicht reproduzierbar quantifiziert werden. Möglicherweise zersetzt sich die Verbindung bei der Injektion.

Zu den Analgetika gehört des Weiteren Diclofenac, welches als Antirheumatikum eingesetzt wird. Die Substanz wird nach Mutscher rasch und gut resorbiert. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt 1,5 Stunden. Die Ausscheidung erfolgt sowohl renal als auch biliär (über die Galle). Die Tagesdosis liegt zwischen 75 und 150 mg. Diclofenac konnte nach Methylierung mit Diazomethan als Diclofenacmethylester bis zu Konzentrationen größer 6 µg/l in den kommunalen Kläranlagen detektiert werden. Diclofenac zählt somit zu den Pharmaka, die mit den höchsten Einzelkonzentrationen im Abwasser gefunden wurden.

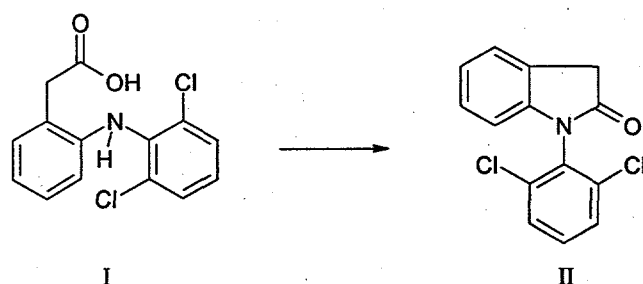


Abb. 48 Bildung von 1-(2,6-Dichlorphenyl)indolin-2-on (II) aus 2-(2,6-Dichloranilin)phenylacetat (I)

Im aufgearbeiteten Probeneluat der pH 12-Fractionen des Ablaufs Mühlhausen vom 10.12.97 wurde 1-(2,6-Dichlorphenyl)indolin-2-on über das Massenspektrum mit 98 %iger Wahrscheinlichkeit identifiziert. 1-(2,6-Dichlorphenyl)indolin-2-on kann durch Cyclisierung von Diclofenac entstehen (Abb. 48). Des Weiteren wurde es in den Abläufen Hoheneck und Eglosheim bei der qualitativen Probennahme im Dezember detektiert.

5.1.3 Antiepileptika

Antiepileptika werden zur symptomatischen Behandlung verschiedener Epilepsieformen angewendet. Viele der zu den Antiepileptika gehörenden Pharmaka besitzen als gemeinsames Strukturelement die Gruppierung - C(R₂,R₃)-C(O)-N(R₁)-C(O)-, mit R₂ und R₃ Alkyl- bzw. Aryl-Reste und R₁ ein Wasserstoff oder ein Alkylrest (Abb. 49). Hierzu gehören die Barbiturate, Hydantoine, Oxazolidindione und Succinimide. Das nachgewiesene Antiepileptikum Primidon gehört zu der Gruppe der Desoxybarbiturate, es ist ein Hexahydropyrimidin-4,6-dion-Derivat. Im Organismus wird es zu 5 - 15 % zu dem ebenfalls antiepileptisch wirkenden Phenobarbital metabolisiert [Mutschler, 1991]. Die Tagesdosis beträgt 500 bis 1500 mg. Die im Kläranlagenablauf maximal nachgewiesene Konzentration von Primidon lag bei 670 ng/l. Phenobarbital konnte nicht nachgewiesen werden.

In der pH2-Fraktion konnte wiederholt ein weiteres Barbitursäurederivat identifiziert werden. Dabei handelt es sich laut NIST-Bibliothek um 5-Ethyl-1,3-dimethyl-pyrimidin-2,4,6-trion (I) (Abb. 49).

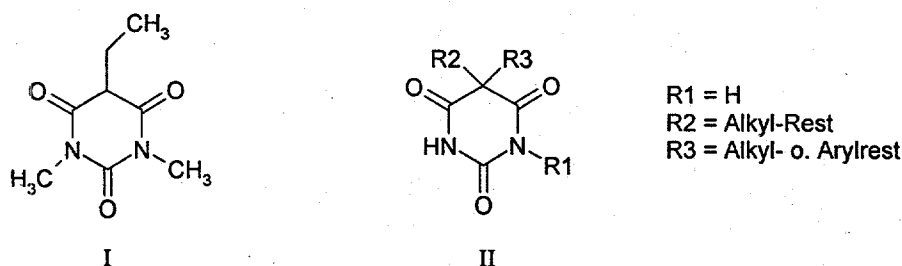


Abb. 49 5-Ethyl-1,3-dimethyl-pyrimidin-2,4,6-trion (I), ein Barbitursäurederivat (II)

Diese Verbindung wird vermutlich durch Methylierung mit Diazomethan aus 5-Ethyl-pyrimidin-2,4,6-trion entstanden sein. Durch die hohe Acidität der protonierten N-Atome ist eine Methylierung der Barbitursäure mit Diazomethan möglich. Der pK_s-Wert der underivatierten Barbitursäure beträgt 4,01 bei 25 °C [Weast, Handbook 1986-1987]. Barbiturate (II) finden neben der Anwendung als Antiepileptika auch Verwendung als Narkosemittel. Die Verwendung als Schlaf- und Beruhigungsmittel steht nicht mehr im Vordergrund.

Als weiteres Antiepileptikum wurde Carbamazepin gefunden. Diese Verbindung weicht von dem oben beschriebenen Strukturelement ab. Es handelt sich um ein Dibenzazepin-Derivat. Es ist eines der wichtigsten und am meisten verwendeten Antiepileptika. Weiterhin wird es bei Trigeminusneuralgie, diabetischer Neuropathie und bei akuter Symptomatik des Alkohollentzugs angewendet [Mutschler, 1991]. Die Eliminationshalbwertszeit liegt bei 12-24 Stunden. Etwa 1 - 2 Prozent werden nach Mutschler unverändert renal ausgeschieden. Als Metabolite entstehen im Körper das noch wirksamere Carbamazepin-10,11-epoxid und das inaktive Diol und dessen Konjugate.

Die Tagesdosis beträgt 150 - 1200 mg. Daraus errechnet sich für die im Jahr 1997 verordneten 114,9 Millionen Tagesdosen ein Jahresverbrauch von 17 - 138 Tonnen [Schwabe, 1997], [Rote Liste, 1996]. Carbamazepin wurde in allen 32 der im Jahr 1997 im Rahmen des Forschungsprojektes genommenen Abwasserproben gefunden.

Des Weiteren wurde über das Massenspektrum 2-Phenylbutyrylharnstoff identifiziert. Diese Substanz wird unter dem Namen Pheneturid als Antiepileptikum verschrieben [Blank, 1990]. In Abb. 50 sind die Ionenspuren 148 und 163 (I) und das dazugehörige Massenspektrum (II) mit dem Vergleichsspektrum aus der NIST-Bibliothek (III) abgebildet. Die Übereinstimmung wurde mit 87 Prozent angegeben. In dem Massenspektrum der zu identifizierenden Verbindung ist die Massenspur m/z 205 noch verhältnismäßig intensiv. Hierbei handelt es sich jedoch um eine Coelution, so dass die Wahrscheinlichkeit der möglichen Identifizierung noch höher einzuschätzen war. Da das Mittel offiziell nicht auf dem Deutschen Arzneimittelmarkt angeboten wird, wurde die Referenzsubstanz Pheneturid aus Holland bezogen. Mit Hilfe von GC-MS-MS, wie im folgenden Kapitel 5.2 beschrieben wird, wurde die Referenzsubstanz Pheneturid mit der zu identifizierenden Substanz im Kläranlagenablauf verglichen. Es konnte jedoch keine Übereinstimmung gefunden werden. Als zweiten Vorschlag mit einer Übereinstimmung von ebenfalls 87 Prozent lieferte die NIST-Bibliothek 2-Ethyl-2-Phenyl-Propandiamid (Phenylethylmalonamid PEMA) (IV in Abb. 50). Hierbei handelt es sich um einen Metaboliten des Antiepileptikums Primidon [Frerranti u. a., 1998]. Auch für die untersuchte Referenzsubstanz PEMA konnte im Nachhinein keine eindeutige Übereinstimmung mit der zu identifizierenden Verbindung gefunden werden.

Da die Referenzsubstanzen nicht zeitgleich mit der Probe vermessen wurden, besteht die Möglichkeit, dass es sich bei der zu identifizierenden Substanz dennoch um Pheneturid handelt. Aufgrund der langen Probenlagerung ist es nicht auszuschließen, dass sich die Verbindung im Probeneluat zersetzt hat. Die mit Pheneturid angenommene Verbindung konnte in 22 der 32 qualitativen Proben (Anhang 6) über das Spektrum nachgewiesen werden.

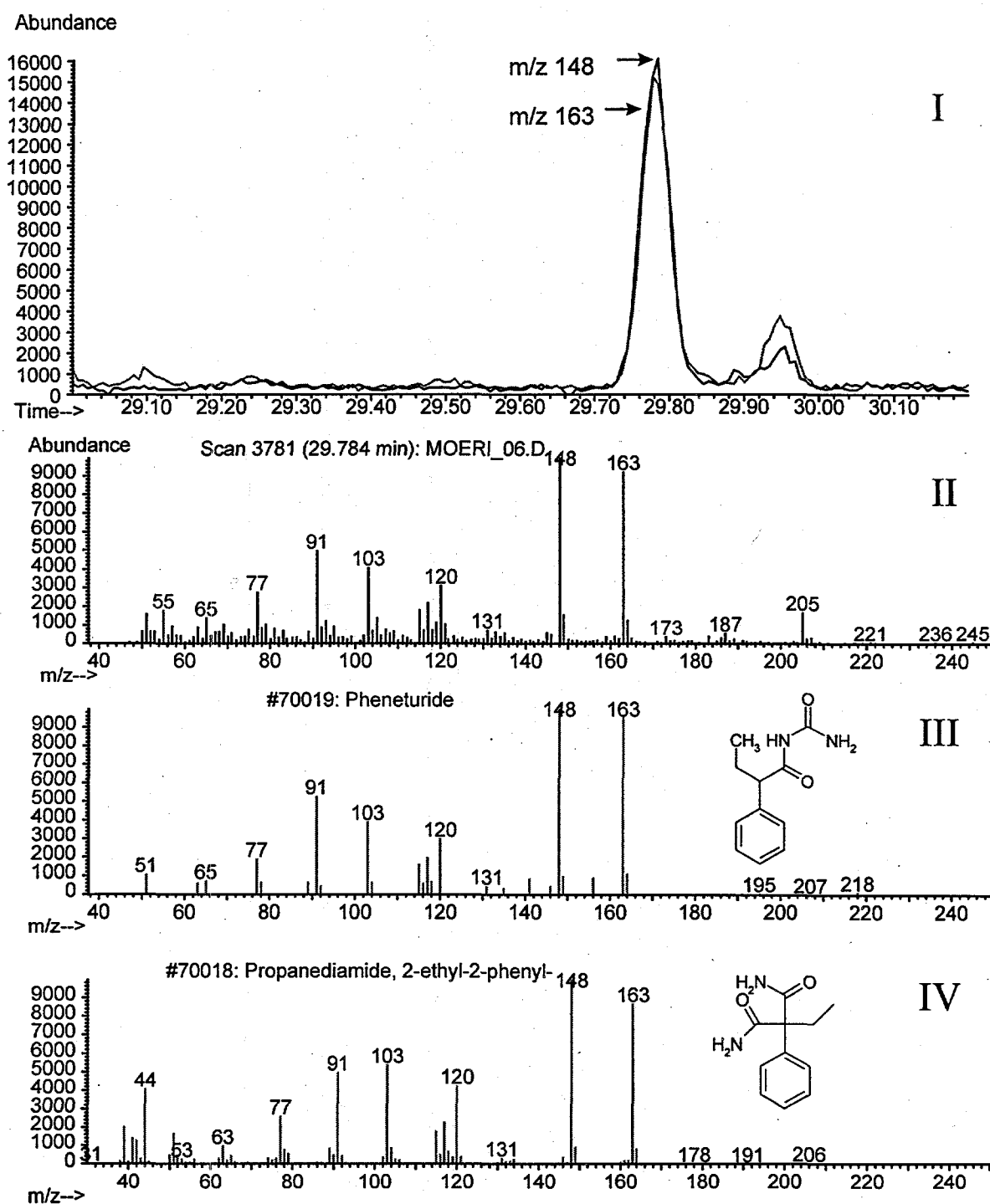


Abb. 50 I Ionenspuren m/z 148 und 163 im Kläranlagenablauf Möhringen vom 9.12.97.

II Massenspektrum der Probe bei der Retentionszeit von 29,8 min. III Pheneturid als Vergleichsspektrum der NIST Bibliothek (87 % Wahrscheinlichkeit). IV 2-Ethyl-2-phenyl-propanediamid als Vergleichsspektrum der NIST-Bibliothek (87 % Wahrscheinlichkeit)

5.1.4 Pharmaka aus weiteren Indikationsgruppen

Pentoxifyllin mit dem Handelsnamen Trental gehört zu der Gruppe der Vasodilatoren. Diese gefäßerweiternden Mittel werden zur Therapie bei peripheren Durchblutungsstörungen eingesetzt [Mutschler, 1991]. Das Xanthinderivat Pentoxifyllin ist chemisch mit Coffein verwandt. Ein Methylrest von Coffein ist hier durch einen 5-Oxo-hexyl-Rest ersetzt. Pentoxifyllin weist ein Abbauverhalten vergleichbar mit dem des Coffeins auf [Möhle u. a., 1999 b]. Es wurde in neun der 32 untersuchten Proben detektiert.

Coffein wird rasch und vollständig resorbiert und im Organismus über die Xanthinoxidase oxidiert und teilweise demethyliert. Die Hauptausscheidungsprodukte sind Di- und Monomethylxanthin, sowie Trimethyl-, Dimethyl- und Monomethylharnsäure. Neben Coffein konnte auch Trimethylharnsäure (2,3) chromatographisch im Abwasser des Ablaufs detektiert werden. In der angesäuerten Probe wurde nach der Methylierung mit Diazomethan Trimethylharnsäure methyliert (4) nachgewiesen (Abb. 51). Besonders deutliche Peaks wurden von Proben aus der Kläranlage Hoheneck im Dezember 97 erhalten.

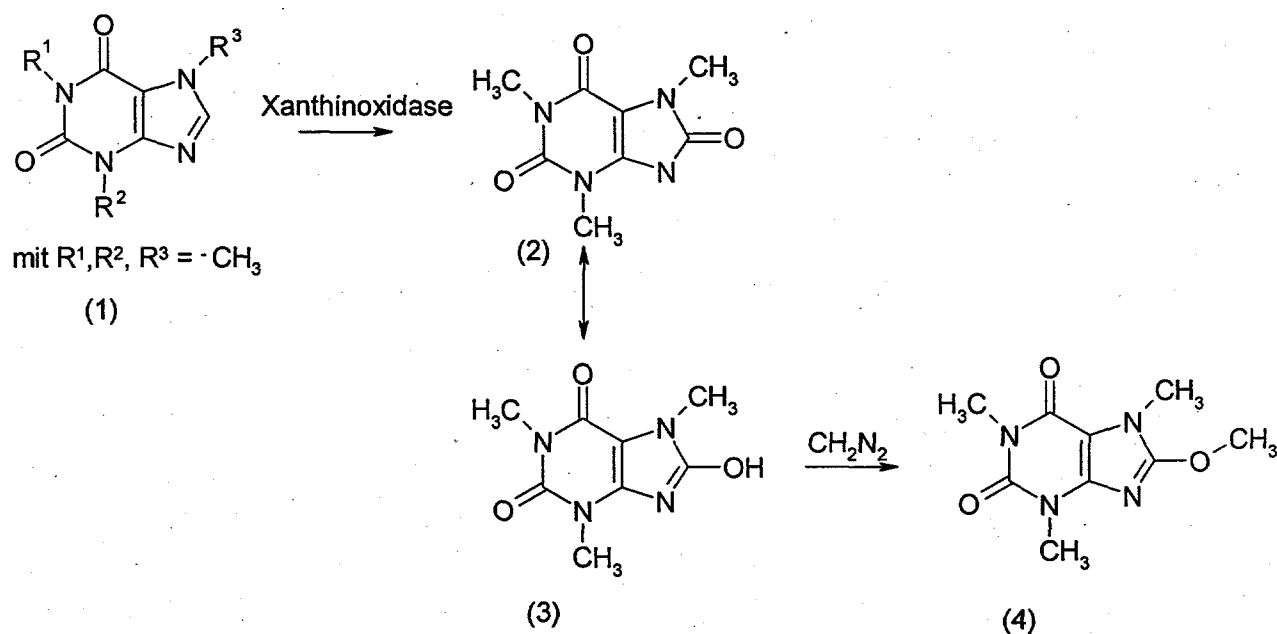


Abb. 51 Metabolisierung von Coffein (1) zu Trimethylharnsäure (2,3), welche nach Derivatisierung mit Diazomethan detektiert wurde (4)

Auch Crotamiton, ein Oberflächenanästhetikum, welches als juckreizstillendes Mittel in Form von Salben und Lotionen zur Anwendung kommt [Mutschler, 1991], konnte mit Hilfe des Screening-Verfahrens in sechs der 32 Abwasserproben über das Massenspektrum de-

tektiert werden. In den untersuchten drei Proben, bei denen das Standardadditionsverfahren zur Quantifizierung angewendet wurde, lag die Crotamitonkonzentrationen nahe an der Nachweisgrenze des Verfahrens.

Die detektierten Verbindungen Hydrocodon und Dihydrocodein werden als Antitussiva eingesetzt und fallen, da es sich um Dihydromorphinderivate handelt, unter das Betäubungsmittelgesetz. Die verordnete Tagesdosis liegt mit ca. 7-30 mg/d im Vergleich zu den anderen im Abwasser gefundenen Pharmaka sehr niedrig [Rote Liste, 1996].

Die Anwendung von Dihydrocodein (DHC) als Substitutionsmittel für Drogenabhängige führt jedoch zu wesentlich höheren Tagesdosen von 1200 mg/d bis hin zu 4500 mg/d [Roeder u. a., 1996]. Die Substitution mit DHC unterlag bis zum 1.2.98 nicht den betäubungsmittelrechtlichen Bestimmungen. Somit war es möglich, DHC im Gegensatz zu Methadon ohne staatliche Kontrolle als Substitutionsmittel zu verschreiben. 99 Prozent der Dihydrocodeinverschreibungen werden zur Substitution verwendet.

Bei der Gegenüberstellung von Zulauf- zu Ablaufkonzentrationen fiel auf, dass die Ablaufkonzentrationen von Hydrocodon höher als die Konzentrationen im Zulauf waren (Tab. 19).

Tab. 19 Konzentrationen von Dihydrocodein und Hydrocodon im Abwasser der Zu- und Abläufe kommunaler Kläranlagen

Kläranlage	Probennahme	Dihydrocodein		Hydrocodon	
		Zulauf in µg/l	Ablauf in µg/l	Zulauf in µg/l	Ablauf in µg/l
Stuttgart-Mühlhausen	09.10.97	1,96	0,71	n.n.	n.n.
Fellbach	27.11.97	5,04	3,59	0,45	1,94
Fellbach	05.03.98	3,49	2,23	n.n.	0,77
Stuttgart-Mühlhausen	19.03.98	1,06	n.n.	0,40	0,44
Ludwigsburg-Hoheneck	26.03.98	1,42	1,13	n.n.	n.n.

n.n. = nicht nachweisbar

Es wurde daher angenommen, dass Hydrocodon in der Kläranlage gebildet wird und vermutlich nur in geringem Umfang aufgrund humanmedizinischer Anwendung ins Abwasser gelangt. Mit den in Kapitel 9 aufgeführten Abbaustudien konnte gezeigt werden, dass Hydrocodon durch Oxidation von Dihydrocodein entsteht [Möhle u. a., 1999 b].

Amantadin (Adamantylamin) zählt zu der Gruppe der Antiinfektiva und ist ein Grippeprophylaxemittel, welches jedoch auch als wirksames Antiparkinsonmittel Anwendung findet. Es wird bei oraler Gabe nahezu vollständig resorbiert. Die Ausscheidung erfolgt in unveränderter Form über die Niere [Mutschler, 1991]. Die Halbwertszeit liegt bei ca. 15 Stunden. Die Ta-

gesdosie beträgt 200 mg. Amantadin wurde über das Massenspektrum identifiziert, und das Ergebnis über den Retentionszeitvergleich mit der Referenzverbindung abgesichert (s. Kapitel 5.2).

Des Weiteren konnte Lupanin mit 99 %iger Wahrscheinlichkeit über das Massenspektrum im Probeneluat des Ablaufs der Kläranlage Eglosheim identifiziert werden. Lupanin könnte durch Oxidation aus Spartein hervorgegangen sein. Spartein kommt natürlich in Schmetterlingsblutern und Besenginstern vor und findet als Monosulfat therapeutische Anwendung bei Herz-Kreislauf Krankheiten [Mutschler, 1991]. Da die Referenzverbindung bisher nicht zur Verfügung stand, konnte die Verbindung nicht quantifiziert werden. Das Massenspektrum von Lupanin und das entsprechende Spektrum aus der NIST-Bibliothek sind im Anhang 9 dargestellt.

5.2 Identifizierung mit GC-MS-MS

Bei der beschriebenen ‚Non-target‘-Analyse wurden verschiedene Verbindungen identifiziert, für die Referenzsubstanzen nicht direkt zur Verfügung standen. Um die Ergebnisse abzusi-
chern, wurden mit den eingefrorenen Probeneluaten MS-MS-Analysen zu einem späteren Zeitpunkt am Ion-Trap-Massenspektrometer Saturn 2000 der Firma Varian durchgeführt.

Von der Referenzsubstanz wurde das Spektrum aufgenommen. Zur Aufnahme des Produktionspektrums wurde das dem Basispeak entsprechende Ion aus dem Precursorspektrum isoliert und über Einstrahlung einer Resonanzfrequenz fragmentiert. Das erhaltene Produktionspektrum ist für die Ausgangsverbindung charakteristisch und erleichtert die Identifizierung einer Substanz in komplexer Matrix. Stimmen die Retentionszeit und das Produktionspektrum der Probe mit dem der Referenzsubstanz überein, kann die Substanz als eindeutig identifiziert gelten.

Mit Hilfe dieser Vorgehensweise konnten Adamantylamin und 7-Dimethylamino-4-methylcumarin in Proben aus dem Ablauf kommunaler Kläranlagen nachgewiesen werden. Die Konzentrationen wurden für diese Verbindungen mit Hilfe externer Kalibrierpunkte nur abgeschätzt.

Für Adamantylamin wurde für die Ablaufprobe vom 9.12.97 der Kläranlage Fellbach eine Konzentration von 240 ng/l ermittelt (Abb. 52) und für die Ablaufprobe vom 10.12.97 der Kläranlage Hoheneck 100 ng/l.

Cumarin wurde im Kläranlagenablauf Mühlhausen in der 24 Mischprobe mit 440 ng/l detektiert (Abb. 53).

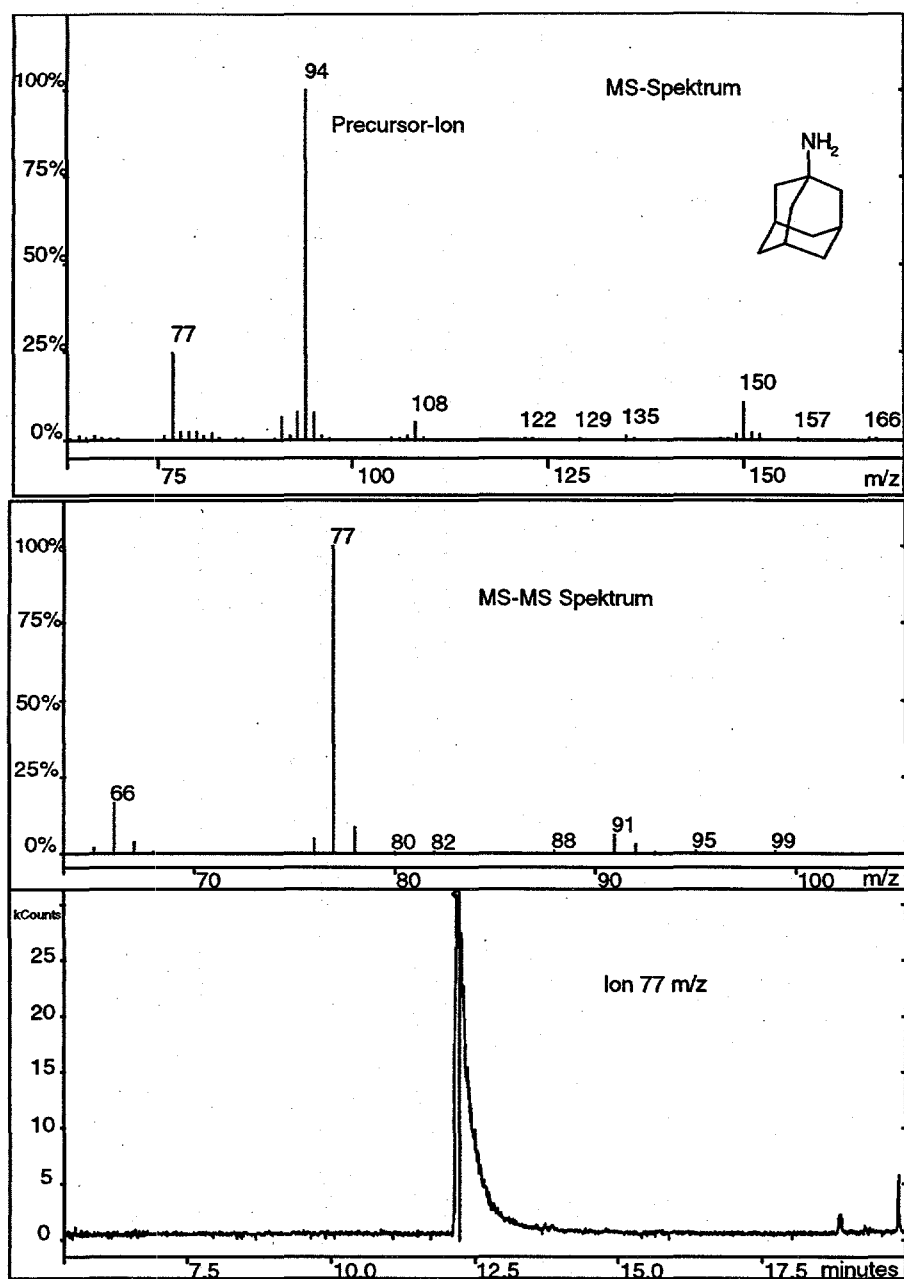


Abb. 52 EI-MS-Spektrum der Referenzsubstanz Adamantylamin (oben), Produktionenspektrum des Ions m/z 94 (Mitte), Ionenchromatogramm des Ions m/z 77 (Kläranlagenablaufprobe Fellbach vom 9.12.97; Anregungsenergie 1 Volt; unten)

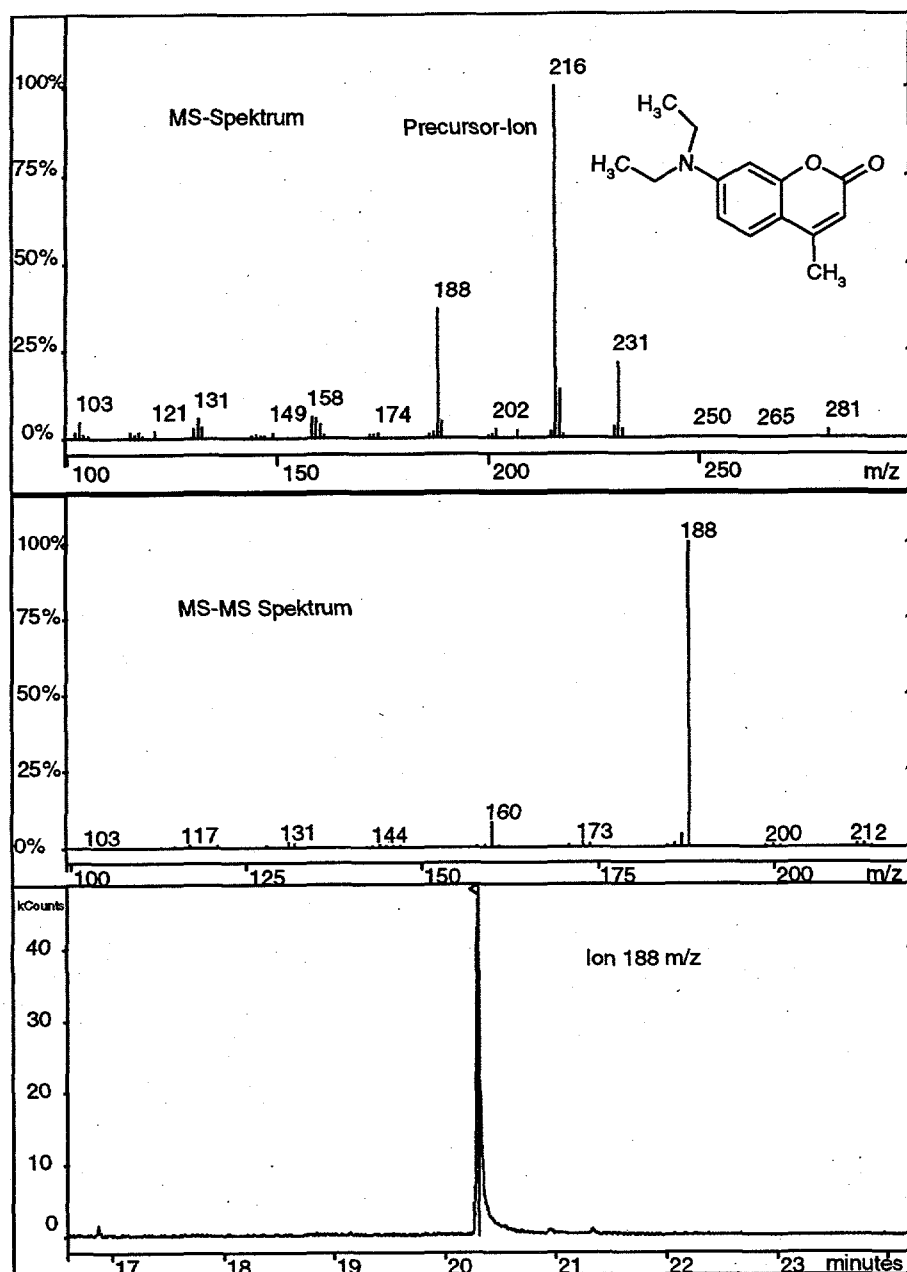


Abb. 53 EI-MS-Spektrum der Referenzsubstanz 7-Dimethylamino-4-methylcoumarin (oben), Produktionenspektrum des Ions m/z 216 (Mitte), Ionenchromatogramm des Ions m/z 188 (Kläranlagenablaufprobe Mühlhausen vom 10.12.97; Anregungsenergie 1 Volt; unten)

5.3 Bedeutung der Pharmakarückstände für die Abwasserreinigung

Die Identifizierung der Clofibrinsäure im Grundwasser durch *Stan u. a.* [Stan u. a., 1992; Stan u. a., 1994], zog die Suche nach weiteren Arzneimitteln im aquatischen System nach sich. Diese wurden dann auch zahlreich in Konzentrationen bis in den unteren µg/l-Bereich gefunden [Hirsch u. a., 1998; Heberer u. a., 1998; Sacher u. a., 1998; Stumpf u. a., 1996; Ternes u. a., 1998].

Tab. 20 Pharmaka, die im Abwasser von Kläranlagenabläufen nachgewiesen wurden

Wirkstoff bzw. Metabolit	Indikationsgruppe	Konzentrationen im Abwasser [ng/l]	Literaturquelle
4-Acetylaminoantipyrin	Analgetikum	qualifiziert	[Möhle u. a., 1999 a]
Acetylsalicylsäure	Analgetikum	≤ 95620	[Hignite u. Azarnoff, 1977]
		290	[Ruhrverband, 1995]
		< 50 - 1510	[Stumpf u. a., 1996]
Betaxolol	β-Rezeptorblocker	< 25 - 190	[Hirsch u. a., 1996]
Bezafibrat	Lipidsenker	3320	[Ruhrverband, 1995]
		< 250 - 4560	[Stumpf u. a., 1996]
Bisoprolol	β-Rezeptorblocker	< 25 - 370	[Hirsch u. a., 1996]
Carazolol	β-Rezeptorblocker	< 25 - 120	[Hirsch u. a., 1996]
Carbamazepin	Antiepileptikum	≤ 1760	[Möhle u. a., 1999 a]
		5000 - 46000	[Sacher u. a., 1998]
		≤ 1760	[Möhle u. a., 1999 a]
Clenbuterol	Broncholytikum	< 25 - 180	[Hirsch u. a., 1996]
Clofibrinsäure	Lipidsenker	2540 - 9740	[Hignite u. Azarnoff, 1977]
		≤ 4550	[Heberer u. Stan, 1997]
		250 - 2050	[Heberer u. a., 1998]
		460 - 1030	[Ruhrverband, 1995]
		< 50 - 1560	[Sacher u. a., 1998]
Crotamiton	Antripruriginosum	≤ 130	[Möhle u. a., 1999 a]
Cyclophosphamid	Zytostatikum	146	[Steger-Hartmann u. a., 1996]
Diclofenac	Analgetikum	1000	[Ruhrverband, 1995]
		> 5 - 1590	[Stumpf u. a., 1996]
		≤ 6220	[Möhle u. a., 1999 a]
Dihydrocodein	Antitussivum	≤ 4060	[Möhle u. a., 1999 a]
Fenofibrinsäure	Lipidsenker	680	[Ruhrverband, 1995]
		< 50 - 1190	[Stumpf u. a., 1996]
Fenoprofen		< 50	[Ruhrverband, 1995]
Fenoterol	Broncholytikum	< 25 - 70	[Hirsch u. a., 1996]
Gemfibrozil	Lipidsenker	1320	[Ruhrverband, 1995]
		< 50 - 1460	[Stumpf u. a., 1996]
Hydrocodon	Antitussivum	≤ 1940	[Möhle u. a., 1999 a]
Ibuprofen	Antirheumatikum	3350	[Ruhrverband, 1995]
		< 50 - 3350	[Stumpf u. a., 1996]
Ifosfamid	Zytostatikum	24	[Steger-Hartmann u. a., 1996]
Indometacin	Antirheumatikum	290	[Ruhrverband, 1995]
		> 50 - 520	[Stumpf u. a., 1996]

Fortsetzung von Tab. 20

Wirkstoff bzw. Metabolit	Indikationsgruppe	Konzentrationen im Abwasser [ng/l]	Literaturquelle
Ketoprofen	Antirheumatikum	< 50	[Ruhrverband, 1995]
		< 50 - 380	[Stumpf u. a., 1996]
Metoprolol	β -Rezeptorblocker	< 25 - 2200	[Hirsch u. a., 1996]
Nadolol	β -Rezeptorblocker	< 25 - 290	[Hirsch u. a., 1996]
Pentoxifyllin	Vasodilator	≤ 230	[Möhle u. a., 1999 a]
Pheneturid	Antiepileptikum	qualifiziert	[Möhle u. a., 1999 a]
Primidon	Antiepileptikum	≤ 670	[Möhle u. a., 1999 a]
Propanoprolol	β -Rezeptorblocker	< 25 - 290	[Hirsch u. a., 1996]
Propyphenazon	Analgetikum	≤ 1900	[Heberer u. a., 1998]
		≤ 420	[Möhle u. a., 1999 a]
Salbutamol	Broncholytikum	< 25 - 170	[Hirsch u. a., 1996]
Terbutalin	Broncholytikum	< 25 - 120	[Hirsch u. a., 1996]
Timolol	β -Rezeptorblocker	< 25 - 70	[Hirsch u. a., 1996]

In Tab. 20 sind die Pharmaka aufgelistet, die bisher im Abwasser detektiert wurden. Die Gesamtmenge an verordneten Pharmaka in der BRD beläuft sich auf einige tausend Tonnen im Jahr [Schwabe, 1997]. Humanpharmaka und Tierarzneimittel werden nach der therapeutischen Anwendung in metabolisierter oder in unveränderter Form ausgeschieden und gelangen über das kommunale Abwasser bzw. über die landwirtschaftliche Verwendung der Gülle in das aquatische System. Daneben stellt sicherlich auch noch die unsachgemäße Entsorgung von Medikamenten über die Toilette einen potentiellen Eintragspfad über die Kläranlage dar.

Die Elimination vieler Pharmaka im Körper erfolgt vorrangig durch Biotransformation [Mutschler, 1991]. Hauptmetabolite sind in der Regel gut wasserlösliche Verbindungen, die renal ausgeschieden werden. Die Konjugate werden teilweise im Abwasser wieder hydrolytisch gespalten [Ternes u. a., 1999; Belfroid u. a., 1999]. Aufgrund des Anwendungsbereiches der Pharmaka, handelt es sich bei diesen Stoffen um verhältnismäßig stabile Verbindungen.

Bei dem in dieser Arbeit durchgeführten Screening nach organischen stickstoff- und schwefelhaltigen Verbindungen fiel die hohe Zahl der identifizierten Pharmaka bzw. Pharmakametabolite auf. Insgesamt 15 der 47 mit hoher Wahrscheinlichkeit identifizierten Stickstoffverbindungen sind pharmazeutische Wirkstoffe bzw. Metabolite. Einige der Pharmaka wie Primidon, Dihydrocodein und Hydrocodon konnten erstmals im Abwasser kommunaler Kläranlagen nachgewiesen werden.

Die Belastung des Abwasser errechnet sich aus der Konzentration der Einzelstoffe multipliziert mit dem Volumen des Kläranlagenabflusses. Im Anhang 7 sind die Einzelkonzentrationen für unterschiedliche Kläranlagen, die mit Hilfe des Standardadditionsverfahrens ermittelt wurden, aufgeführt. Für die Tagesmischprobe der Kläranlage Fellbach vom 4.03.1998 wird im folgenden die Abwasserfracht der Pharmaka berechnet. Aus den Einzelkonzentrationen Carbamazepin (1320 ng/l), Coffein (460 ng/l), Crotamiton (130 ng/l), Dihydrocodein (2230 ng/l), Hydrocodon (770 ng/l), Pentoxifyllin (230 ng/l), Primidon (610 ng/l) und Propyphenazon (340 ng/l) berechnet sich eine Gesamtkonzentration von 6090 ng/l. Die Fracht beträgt somit, bei dem an dem Tag der Probennahme vorliegenden Trockenwetterabfluss von 4567 m³/d, 28 g/d. Als Vorfluter der Kläranlage Fellbach dient der Schüttelgraben mit einer eigenen Wasserführung von 3 - 4 l/s. Die Kläranlage liefert bei einem Tagesablauf von 4567 m³/d 53 l/s. Die Wasserbeschaffenheit des Bachlaufes, der nach ca. 4 km in die Rems mündet, entspricht somit der Wasserqualität des Ablaufs der Kläranlage. Zusätzlich fließt unterhalb der Kläranlage Fellbach noch der Ablauf der Kläranlage Waiblingen in den Schüttelgraben. Auch hier konnten Pharmakarückstände nachgewiesen werden.

Während Pharmaka zu den toxikologisch am besten untersuchten Verbindungen überhaupt zählen, besteht zur Klärung des ökotoxikologischen Verhaltens, welches für die Zulassung von Humanpharmaka bisher nicht berücksichtigt wird, noch erheblicher Forschungsbedarf. Die Prüfanforderungen für Tierarzneimittel beinhalten dagegen zum größten Teil Ökotoxizitätsuntersuchungen [Richtlinie 92/18/EWG]. Zweck der Ökotoxizitätsprüfungen ist die Beurteilung einer potentiell schädlichen Wirkungen, die sich durch Anwendung der Pharmaka für die Umwelt ergeben können sowie die Feststellung gegebenenfalls erforderlicher Vorsichtsmaßnahmen zur Herabsetzung solcher Risiken.

Da es entsprechende Untersuchungen für die zahlreichen Humanpharmaka in Europa bisher nicht gibt, bleibt die Frage offen, welchen Einfluss der permanente Eintrag von geringen Konzentrationen an Arzneimitteln auf das Ökosystem hat.

Ein in den USA bestehendes Umwelt-Risk Assessment für die Neuzulassung von Arzneimitteln hat allerdings ergeben, dass der Nutzen der in den USA jahrzehntelang durchgeführten Umwelt-Risk Assessments nicht in einem angemessenem Verhältnis zu den Kosten steht. Die Anforderungen wurden daher in den USA 1997 stark reduziert. Grundsätzlich wird heute in den USA davon ausgegangen, dass eine Substanz für die Umwelt keine Gefahr darstellt, wenn Wirkstoff-Konzentrationen im Kläranlagenablauf voraussichtlich unter 1 µg/l (entsprechend 0,1 µg/l im Gewässer) liegen. Auch hochwirksame Stoffe sind davon nicht ausgenommen [Food and Drug Administration, 1997].

In Tab. 18 sind mit Carbamazepin, Diclofenac und Dihydrocodein drei Pharmakawirkstoffe aufgeführt, deren Median-Werte in den untersuchten Abwasserproben aus Kläranlagenabläufen über 1 µg/l lagen. Auch Tab. 16 belegt, dass weitere Pharmaka in Konzentrationen größer 1 µg/l im Kläranlagenablauf vorkommen und somit Wirkstoffe darstellen, die in den USA im Falle einer Neuzulassung über das Umwelt-Risk Assessment geprüft werden müssten.

5.4 Anteil der identifizierten stickstoffhaltigen Einzelverbindungen am Organischen Stickstoff

Die identifizierten Einzelsubstanzen stellen nur einen geringen Bruchteil des Organischen Stickstoffes im Abwasser der untersuchten kommunalen Kläranlagen dar. Für 11 Stickstoffverbindungen, die regelmäßig in Ablaufproben gefunden wurden, wurde die Stickstofffracht mit durchschnittlich 400 ng/l N quantifiziert. Für 4 Kläranlagenproben sowohl des Zu- als auch des Ablaufes sind die Einzelkonzentrationen in Anhang 7 aufgeführt. Berechnet man den Mittelwert des organischen Stickstoffs aus den Ergebnissen der Probennahmen, die in Anhang 2 aufgeführt sind, so ergibt sich ein Wert von 1,8 mg/l N_{org}. Als Maximalwert wurde 3,99 mg/l N_{org} gefunden, als niedrigste Konzentration 0,17 mg/l N_{org}. Auf diese Werte bezogen liegt der identifizierte N-Anteil der Summe der elf Verbindungen deutlich unter einem Prozent.

6 Identifizierung schwefelhaltiger Substanzen im Kläranlagenablauf in Kombination von GC-MS und GC-AED

Bei der Identifizierung der schwefelhaltigen Substanzen wurde folgendermaßen vorgegangen:

Zunächst wurden den im AED-Chromatogramm auftretenden Peaks, die von Schwefelverbindungen stammten, Massenspektren im MSD-Chromatogramm zugeordnet. Die erhaltenen Spektren wurden mit Referenzspektren aus der NIST-Bibliothek bzw. mit Spektren eigener Standardsubstanzen verglichen. Die Übereinstimmung des gemessenen Massenspektrums der unbekannten Substanz mit dem Spektrum der Bibliothek, das die höchste Kongruenz aufwies, musste größer 90 Prozent sein, damit dieser Vorschlag angenommen

wurde. Zudem wurde überprüft, ob die am AED detektierten Heteroatome in diesem Strukturvorschlag vorhanden waren. Stand eine Standardsubstanz zur Verfügung, wurde ein Retentionszeitvergleich durchgeführt. War dies nicht der Fall, wurde am AED, wenn möglich, aus den Signalverhältnissen der Kohlenstoff- zur Schwefelemission das Atomzahlenverhältnis abgeschätzt und als weiteres Identifizierungskriterium herangezogen. Die Abweichung des aufgrund des Strukturvorschlages erwarteten Wertes vom errechneten Wert durfte 1 nicht überschreiten. Wenn bei der Bibliothekssuche kein nahezu identisches Massenspektrum gefunden wurde, aber charakteristische Fragmentierungsmuster im Massenspektrum der unbekannten Substanz zu erkennen waren, wurde eine eigene Interpretation durchgeführt. Dabei konnte in allen Fällen das Fragmentierungsverhalten strukturverwandter Substanzen herangezogen werden. Alle anderen oben genannten Kriterien wurden danach zur Überprüfung des ermittelten Strukturvorschlags angewandt.

Durch die Anreicherung bei pH 2 und Methylierung mit Diazomethan konnte das Spektrum der mit der Methode erfassten Substanzen auf azide Substanzen, wie Arylphenylcarbonsäuren, sowie aromatische und aliphatische Sulfonate erweitert werden.

In Tab. 21 sind alle schwefelhaltigen Substanzen zusammengefasst, die mit GC-AED und GC-MSD in Abwässern von kommunalen Kläranlagenabläufen identifiziert werden konnten. Die Bestimmungs- und Nachweisgrenzen für die Substanzen wurden nach DIN 32 645 berechnet [DIN 32 645, 1994] bei einem Vertrauensbereich von 95 Prozent. Die Nachweisgrenzen lagen für die meisten Substanzen kleiner 0,06 µg/l und die Bestimmungsgrenzen kleiner 0,25 µg/l. Eine Ausnahme bildeten die nicht am Stickstoffatom alkylierten Sulfonamide. Hier lagen die Nachweisgrenzen bei 0,2 µg/l und die Bestimmungsgrenzen bei 0,9 µg/l. Bei der Erstellung der Tabelle wurden alle Messwerte, die über der Nachweisgrenze lagen, berücksichtigt. Messwerte, die zwischen Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze lagen, gingen trotzdem mit dem ermittelten Wert ein, weil dadurch bei der Bildung der Mediane ausgekräftigere Werte zustande kamen als bei Nichtberücksichtigung oder bei Eingabe der Nachweisgrenze. Mercaptobenzothiazol wird nach Derivatisierung mit Diazomethan als 2-Methylthiobenzothiazol nachgewiesen. Da letzteres als solches auch im Abwasser vorkommt, musste die Konzentration von Mercaptobenzothiazol aus der Differenz einer derivatisierten und einer underivatisierten Probe ermittelt werden. Diese Vorgehensweise stellt nur eine Abschätzung dar, weil Methylthiobenzothiazol zwar als Hauptprodukt der Methylierungsreaktion zweifelsfrei nachgewiesen werden konnte (Nachweis erfolgte mit GC-MS im Scan-Modus), aber nicht bekannt ist, ob bei der Methylierung mit GC nicht nachzuweisende Nebenprodukte entstehen.

Auf den folgenden Seiten wird die Identifizierung der in Tab. 21 aufgeführten schwefelhaltigen Verbindungen näher erläutert. Die MS-Spektren der Substanzen, die über ein Referenzspektrum der NIST-Bibliothek eindeutig identifiziert werden konnten und teilweise in Kapitel 5 schon erwähnt wurden, sind im Anhang 9 aufgeführt. Die Substanzen sind in Tab. 21 mit einem * gekennzeichnet. Für Substanzen, deren Struktur durch Interpretation der Massenspektren unter zu Hilfe nahme der AED-Signale aufgeklärt wurde, wird die Identifizierung auf den folgenden Seiten näher diskutiert. Für diese Substanzen stand entweder keine Referenzsubstanz zur Verfügung oder es kam zu Abweichungen zwischen dem Referenzspektrum und dem Spektrum der realen Probe.

Tab. 21 In Abwasser von kommunalen Kläranlagenabläufen identifizierte schwefelhaltige Substanzen (BG: Bestimmungsgrenze; nb.: es wurde keine Messung durchgeführt; nn.: nicht nachweisbar)

Substanz	Zahl der Messwerte	Zahl der positiven Befunde	Median -Konz. [µg/l]	Maximale Konz. [µg/l]	Konz. im Zulauf	Proben-aufbereitung
2/3-Aminophenyl-methylsulfon	9	7	0,05 ¹	0,15 ¹	< Ablauf	pH 7,5 ⁶
4-Aminophenylmethylsulfon *	10	1	0,51 ¹	0,51 ¹	nb.	pH 7,5 ⁶
1,2-Benzisothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid *	10	8	> BG ²	0,86 ²	nb.	pH 2 + Meth. ⁷
Benzolsulfonamid *	12	10	0,45	2,92	nn.	pH 7,5 ⁶
Benzothiazol *	12	12	0,28	4,6	> Ablauf	pH 7,5 ⁶
N,N-Dimethylcarbamidsäuremethylester	9	8	0,13 ²	1,05 ²	> Ablauf	pH 7,5 ⁶
N-Ethyl-p-toluolsulfonamid	12	11	0,05	0,5	≡ Ablauf	pH 7,5 ⁶
2-Mercaptobenzothiazol ¹⁰	9	3	0,07	0,26	nb.	pH 2 + Meth. ⁷
2-Methylbenzolsulfonamid *	12	11	0,27	35	< Ablauf	pH 7,5 ⁶
4-Methylbenzolsulfonamid *	12	11	0,23	0,6	nn.	pH 7,5 ⁶

Fortsetzung von Tab. 21

Substanz	Zahl der Mess- werte	Zahl der positi- ven Befunde	Median -Konz. [µg/l]	Maxi- male Konz. [µg/l]	Konz. im Zulauf	Proben- aufbereitung
N-Methylbenzol- sulfonamid	12	12	0,62 ³	2 ³	nn.	pH 7,5 ⁶
N-2-Methylphenyl- benzolsulfonamid	9	9	0,27 ³	0,65 ³	nb.	pH 2 + Meth. ⁷
2-Methylthiobenzothiazol *	12	12	0,32	3,1	> Ablauf	pH 7,5 ⁶
N-Sulfonylphenyl- N-Methyl-γ-amino- buttersäure	10	5	1,17 ⁴	22,43 ⁴	nb.	pH 2 + Meth. ⁷
N-Sulfonylphenyl- N-methyl-β-amino- propionsäure	10	3	0,22 ⁴	7,7 ⁴	nb.	pH 2 + Meth. ⁷
N-Sulfonylphenyl-sarkosin	10	10	1,9	81	nb.	pH 2 + Meth. ⁷
4-Toluolsulfonsäure	10	5	0,29 ⁵	0,38 ⁵	nb.	pH 2 + Meth. ⁷
4, N,N-Trimethyl- benzolsulfonamid	9	9	0,23 ³	0,35 ³	> Ablauf	pH 7,5 ⁶
S-Gesamt neutral ⁸	9	9	1,33	4,98	nb.	pH 7,5
S-Gesamt sauer ⁹	9	9	3,04	11,35	nb.	pH 2 + Meth.

¹ Abgeschätzt mit einer Kalibration für Diphenylsulfon.

² Abgeschätzt mit einer Kalibration für Benzothiazol.

³ Abgeschätzt mit einer Kalibration für N-Butylbenzolsulfonamid.

⁴ Abgeschätzt mit einer Kalibration für N-Phenylsulfonylsarkosin.

⁵ Abgeschätzt mit einer Kalibration für 4-Toluolsulfonamid.

⁶ Festphasenanreicherung bei pH 7,5

⁷ Festphasenanreicherung bei pH 2 und Methylierung mit Diazomethan

⁸ Gesamter durch Festphasenanreicherung bei pH 7,5 und Analyse des Eluats mit GC erfasster Schwefel.

⁹ Gesamter durch Festphasenanreicherung bei pH 2, anschließender Methylierung und Analyse des Eluats mit GC erfasster Schwefel.

¹⁰ Differenzbildung zwischen derivatisierter und underivatisierter Probe.

* Spektren der Substanzen sind in Anhang 9 aufgeführt

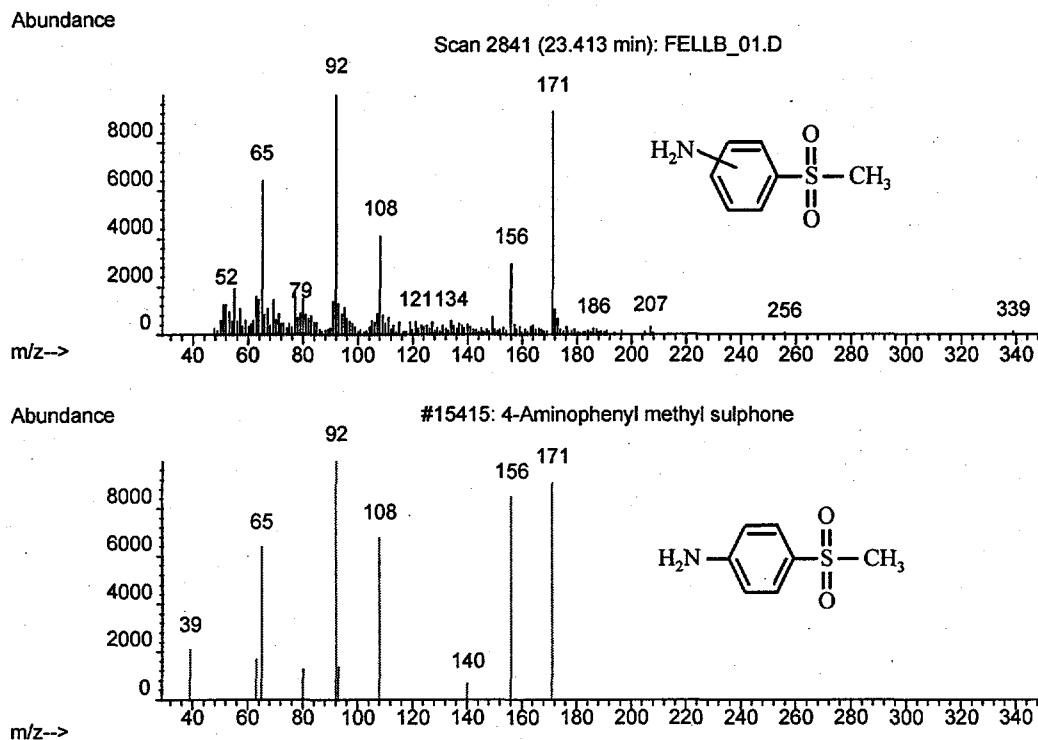
2/3-Aminophenylmethylsulfon

Abb. 54 Vergleich des Massenspektrums von 2/3-Aminophenylmethylsulfon mit einem Referenzspektrum von 4-Aminophenylmethylsulfon aus der NIST-Bibliothek

GC-AED:

Peak bei 24,60 min: Abweichung von der errechneten Retentionszeit 0,13 min; S und N vorhanden; Atomzahlenverhältnis C/S 8 (Erwartungswert 7).

Interpretation:

Im Vergleich zu 4-Aminophenylmethylsulfon sind alle auftretenden Massen identisch. Die fehlende Masse 39 ist darauf zurückzuführen, dass dieser Massenbereich aufgrund der Untergrundsignale bei keiner Messung mitgescannt wurde. Die Intensität der Masse 156 [M - CH₃] weist einen signifikanten Intensitätsunterschied auf. Da bei einer anderen Retentionszeit eine Substanz gefunden wurde, deren Massenspektrum mit dem Referenzspektrum von 4-Aminomethylphenylsulfon exakt übereinstimmt, wird gefolgert, dass es sich bei dieser Substanz um das ortho- oder meta-Isomere handelt. Andere Stellungsisomere kommen aufgrund stark unterschiedlicher Massenspektren nicht in Betracht.

N,N-Dimethyldithiocarbamidsäuremethylester

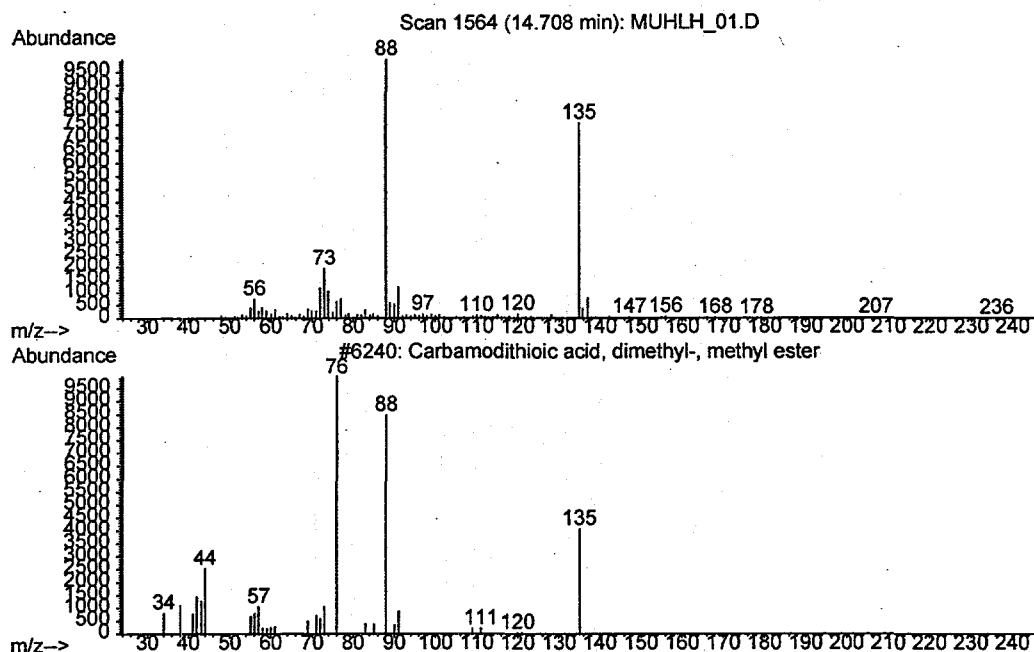


Abb. 55 Vergleich des Massenspektrums von N,N-Dimethyldithiocarbamidsäuremethyl-ester mit einem Referenzspektrum aus der NIST-Bibliothek

GC-AED/PND:

Peak bei 15,82 min (18,91 min nach Parallelschaltung); Abweichung von der errechneten Retentionszeit 0,1 min; S, N vorhanden; C/S-Verhältnis 1,9.

Interpretation:

Die Massenspektren der Substanz und des in der Bibliothek enthaltenen Referenzspektrums von N,N-Dimethyldithiocarbamidsäuremethylester unterscheiden sich deutlich aufgrund des zusätzlichen Massenpeaks von m/z 76 im Referenzspektrum. Allerdings ist aufgrund des sehr charakteristischen C/S-Verhältnisses und des vorhandenen Stickstoffs dieser Strukturvorschlag sehr wahrscheinlich. Der Strukturvorschlag wurde vom analytischen Zentrallabor der BASF AG Ludwigshafen bestätigt. Danach läuft die Fragmentierung nach folgendem Schema ab:

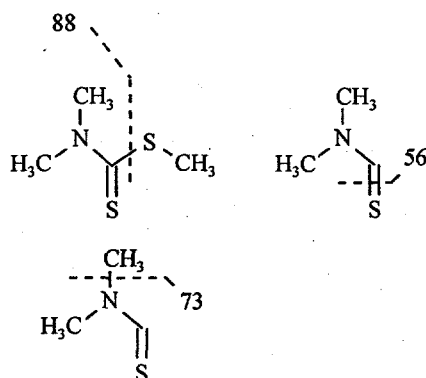


Abb. 56 Fragmentierungsschema von N,N-Dimethyldithiocarbaminsäuremethylester nach Elektronenstoß-Ionisation

N-Ethyl-p-toluolsulfonamid

GC-AED: 27,41 min.

Interpretation:

Aufgrund der niedrigen Konzentration und des daraus resultierenden hohen Untergrunds im Massenspektrum (siehe Anhang 9) beträgt die Übereinstimmung des Substanzspektrums mit dem Referenzspektrum aus der Bibliothek nur 50 Prozent. Es sind aber alle im Referenzspektrum sichtbaren Massenpeaks in vergleichbaren Intensitäten vorhanden. Eine Bestätigung erfolgte durch Retentionszeitvergleich mit einem Standard. Die Heteroatome S und N waren über die AED-Chromatogramme nachweisbar.

N-Methylbenzosulfonamid

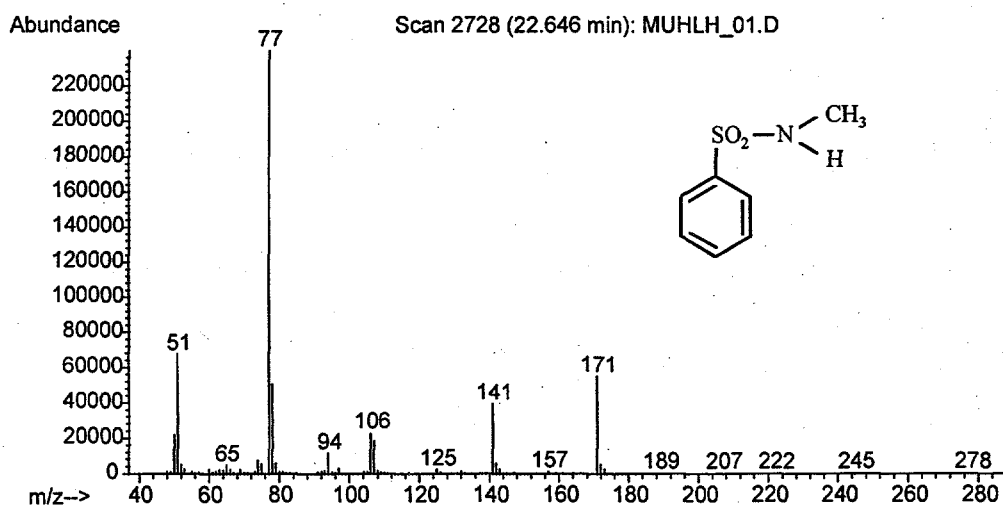


Abb. 57 Massenspektrum von N-Methylbenzosulfonamid

GC-AED:

Peak bei 23,71 min; Abweichung von der errechneten Retentionszeit 0,01 min; S, N vorhanden; C/S-Verhältnis 6,9.

Interpretation:

Zu dieser Verbindung gab es kein identisches Referenzspektrum in der Bibliothek. Die Massenpeaks bei 141 und 77 weisen auf einen Sulfonylbenzolrest hin (siehe Massenspektrum von N-Sulfonylphenylsarkosin). Da laut AED in der Verbindung Stickstoff vorhanden ist und das C/S-Verhältnis 7 beträgt, ist N-Methylsulfonamid der einzig plausible Strukturvorschlag. Die Hauptfragmente lassen sich wie folgt erklären:

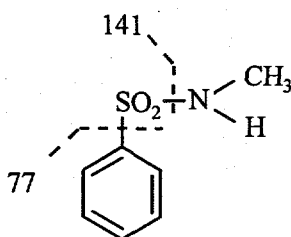


Abb. 58 Fragmentierungsschema von N-Methylbenzosulfonamid nach Elektronenstoß-Ionisation

N-2-Methylphenylbenzolsulfonamid**GC-AED:**

Schwefelemission bei 32,939 min; keine messbare Abweichung von der berechneten Retentionszeit; Stickstoffemissionslinie nicht auswertbar; C/S-Verhältnis 13,7.

Interpretation:

Durch das Heranziehen des "extracted ion"-Chromatogramms kann gezeigt werden, dass die Masse 207 nicht zum Spektrum der Substanz gehört (siehe Anhang 9). Dadurch erhöht sich die Übereinstimmung mit dem Referenzspektrum auf Werte über 90 Prozent. Das errechnete hohe C/S-Verhältnis unterstützt unter Berücksichtigung der Genauigkeit dieser Kalkulation den Strukturvorschlag. Es ist aber nicht ersichtlich, weshalb die Substanz nur bei Anreicherung bei pH 2 und anschließender Methylierung erfassbar ist.

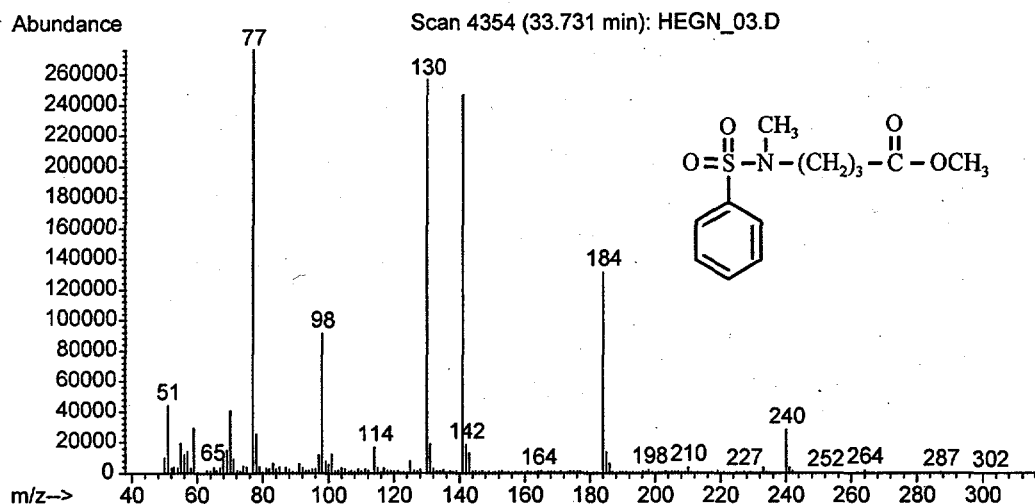
N-Sulfonylphenyl-N-methyl- γ -aminobuttersäure

Abb. 59 Massenspektrum von N-Sulfonylphenyl-N-methyl- γ -aminobuttersäuremethylester

GC-AED:

Schwefelemission bei 34,555 min; Abweichung von der berechneten Retentionszeit 0,03 min; Stickstoffemissionslinie nicht auswertbar. C/S-Verhältnis 10,3.

Interpretation:

Die N-Sulfonylphenyl-N-methyl- γ -aminobuttersäure wird nach Derivatisierung als Methylester nachgewiesen. Das Spektrum der unbekannten Substanz entspricht dem in einer Veröffentlichung abgebildeten EI-Spektrum eines methylierten Standards [Knepper u. Haberer, 1996]. Das errechnete C/S-Verhältnis unterstützt unter Berücksichtigung der Genauigkeit dieser Kalkulation den Strukturvorschlag. Die Hauptfragmentationen können wie folgt erklärt werden:

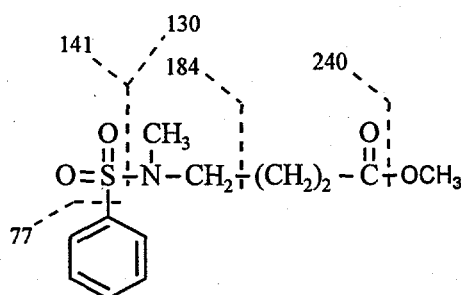


Abb. 60 Fragmentierungsschema von N-Sulfonylphenyl-N-methyl- γ -aminobuttersäuremethylester nach Elektronenstoß-Ionisation

N-Sulfonylphenyl-N-methyl-β-aminopropionsäure

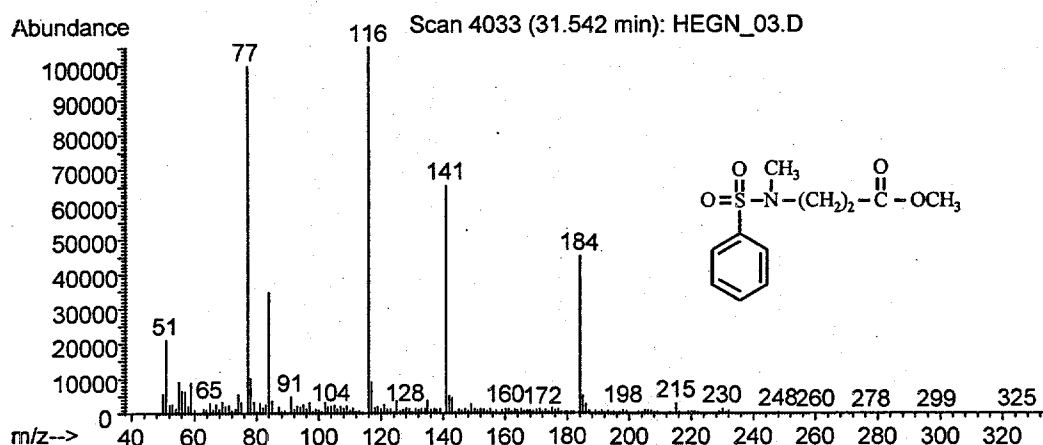


Abb. 61 Massenspektrum von N-Sulfonylphenyl-N-methyl-β-aminopropionsäuremethyl-ester

GC-AED:

Schwefelemission bei 32,377 min; Abweichung von der berechneten Retentionszeit 0,01 min; Stickstoffemissionslinie nicht auswertbar. C/S-Verhältnis 9,6.

Interpretation:

Das Massenspektrum der Substanz wurde durch Analyse des Eluats nach Festphasenanreicherung bei pH 2 und Zugabe von Diazomethan zur Methylierung von Sulfonaten und Carbonsäuren erhalten. Die Massen 141 und 77 deuten auf einen Sulfonylbenzolrest hin. Die Masse 184 lässt daher auf N-Arylsulfonylaminocarbonsäurederivate schließen. Die Fragmentierung erfolgt demnach analog N-Sulfonylphenylsarkosin und N-Sulfonylphenyl-N-methyl-β-aminopropionsäure:

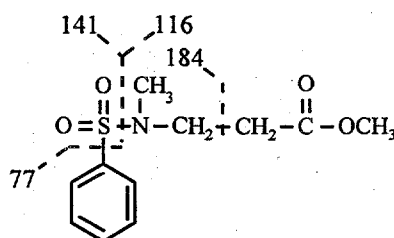


Abb. 62 Fragmentierungsschema von N-Sulfonylphenyl-N-methyl-β-aminopropionsäuremethylester nach Elektronenstoß-Ionisation

Der Strukturvorschlag wird durch das C/S-Verhältnis unter Berücksichtigung der Genauigkeit dieser Kalkulation bestätigt.

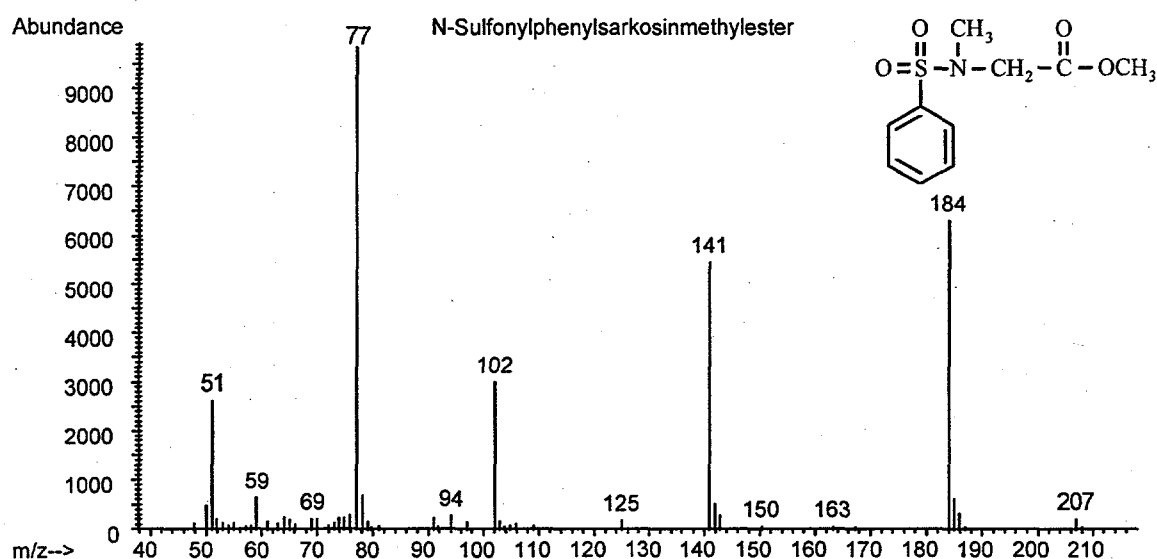
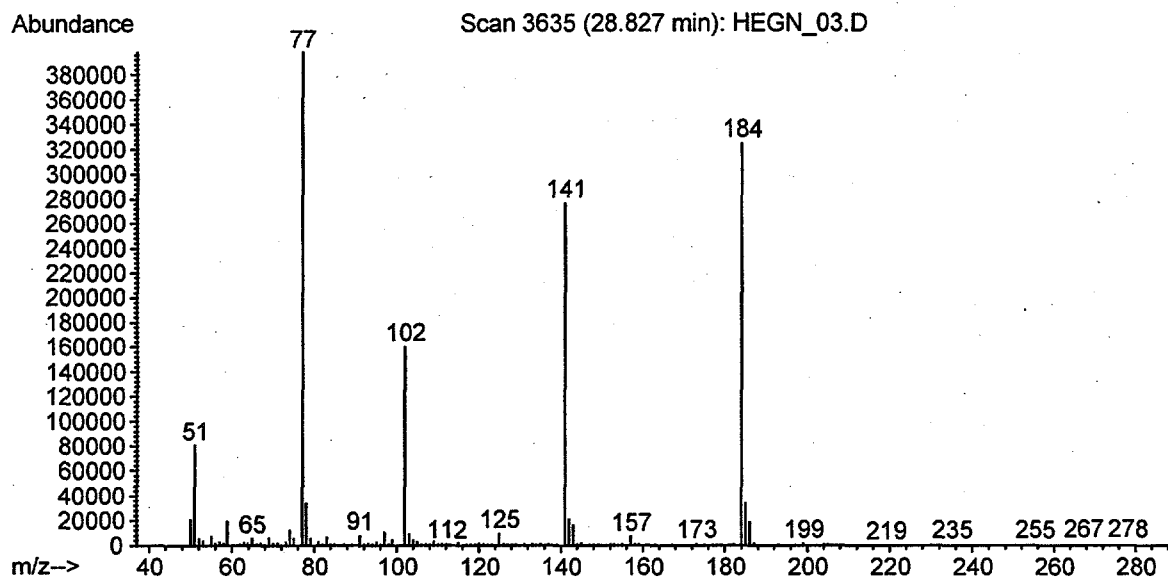
N-Sulfonylphenylsarkosin

Abb. 63 Vergleich des Massenspektrums von N-Sulfonylphenylsarkosinmethylester mit einem Referenzspektrum eines synthetisierten Standards

GC-AED: 29,71 min.

Von dem synthetisierten N-Sulfonylphenylsarkosin wurde nach Methylierung ein Referenzspektrum aufgenommen. Der Vergleich des Massenspektrums der unbekannten Substanz mit dem Referenzspektrum zeigt die Identität der beiden Spektren. Ein Retentionszeitvergleich mit dem Standard sichert die Aussage des Spektrenvergleichs ab.

4, N, N-Trimethylbenzolsulfonamid

GC-AED:

Peak bei 26,05; Abweichung von der berechneten Retentionszeit 0,05 min; Substanz enthält Stickstoff und Schwefel; N/S Verhältnis ca. 1; C/S-Verhältnis 8,7.

Interpretation:

Der Vergleich des Massenspektrums der unbekannten Substanz mit dem Referenzspektrum von 4, N, N-Trimethylbenzolsulfonamid zeigt weitgehende Übereinstimmung (siehe Anhang 9). Durch das "extracted ion"-Chromatogramm konnte nachgewiesen werden, dass die Masse 137 nicht zum Spektrum dieser Substanz gehört. Die beiden Massenspektren unterscheiden sich lediglich im Massenpeak 184, der im Spektrum der unbekannten Substanz zusätzlich auftritt. Dieses Fragment entspricht einer Abspaltung eines Methylrestes vom M^+ -Ion. Die Fragmente 155 und 91 weisen auf einen Toluolsulfonylrest hin. Dies wird durch die AED-Daten bekräftigt. Damit lassen sich die Hauptfragmente folgendermaßen erklären:

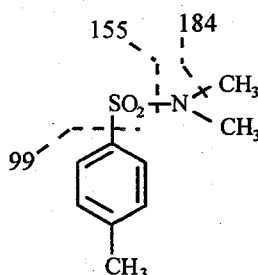


Abb. 64 Fragmentierungsschema von 4, N,N-Trimethylbenzolsulfonamid nach Elektronenstoß-Ionisation

Die Verwendung einiger der oben aufgeführten Substanzen soll im folgenden Abschnitt kurz erläutert werden.

4-Aminophenylmethylsulfon wurde nur in einer Abwasserprobe eines kommunalen Kläranlagenablaufs identifiziert. Diese Kläranlage ist mit Abwasser einer Textilfärberei belastet. Aus diesem Grund und wegen der strukturellen Ähnlichkeit zu anderen Metaboliten von Azofarbstoffen ist zu vermuten, dass es sich dabei um ein Abbauprodukt von Reaktivfarbstoffen handelt.

1,2-Benzisothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid, das als N-methyliertes Produkt nachgewiesen wurde, ist unter dem Namen Saccharin als Süßstoff bekannt. Die Konzentration dieser Substanz im Abwasser ist derartig gering, dass ihre Wirkung als Tumorpromotor, die bei Ratten bei Applikation hoher Dosen gezeigt werden konnte, sicherlich keine Rolle spielt.

Der N,N-Dimethylcarbamidsäuremethylester war in nahezu allen Kläranlagenabläufen zu finden. Aufgrund seiner Strukturähnlichkeit scheint es sich um ein Abbauprodukt von Thiram zu handeln, das als Pflanzenschutzmittel, Konservierungsmittel technischer Produkte, z.B. Papier, und als Vulkanisationsbeschleuniger eine Rolle spielt (siehe auch Kapitel 1.3.2).

N-Methylbenzolsulfonamid wird in der Literatur als Abbauprodukt von N-Methyl-N-(phenylsulfonyl)- ϵ -aminocapronsäure (PSC) postuliert. Die hohen Konzentrationen dieser Substanz bei gleichzeitig hohen Konzentrationen an N-Phenylsulfonylsarkosin und N-Phenylsulfonyl-N-methyl-g-aminobuttersäure, die als Abbauprodukte von PSC bekannt sind, unterstützen diese These.

N-Phenylsulfonyl-N-methylaminopropionsäure wurde nur bei Anwesenheit der gerade genannten Verbindungen in weitaus geringeren Konzentrationen gefunden. Dies lässt den Schluss zu, dass es sich entweder um ein weiteres Abbauprodukt von PSC, das nicht auf dem bekannten Abbauweg durch bakterielle β -Oxidation entsteht, oder um ein Abbauprodukt eines Nebenbestandteils mit gerader Zahl an Kohlenstoffatomen am Carbonsäurerest handelt.

Der prozentuale Anteil der identifizierten Substanzen an der Gesamtfläche des Schwefel-emissions-Chromatogramms aufgenommen am GC-AED lag zwischen 30 und 70 Prozent. Die Konzentrationen des mit dem Gesamtverfahren erfassbaren Schwefels sind für die Festphasenanreicherung bei pH 7,5 bzw. pH 2 mit anschließender Versetzung des unter den zuletzt genannten Bedingungen erhaltenen Eluats mit Diazomethan in Abb. 65 dargestellt.

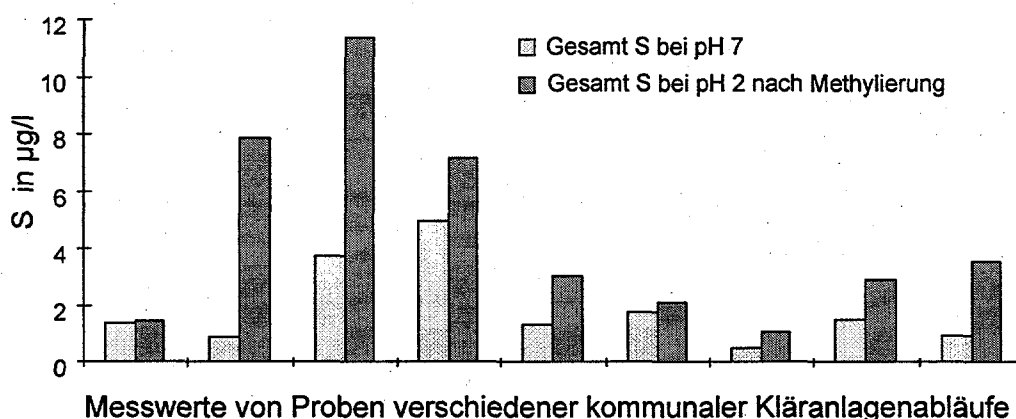


Abb. 65 Vergleich der Konzentrationen an erfassbarem organischen Schwefel in Abwasser durch Festphasenanreicherungen bei pH 7,5 sowie bei pH 2 mit anschließender Versetzung des unter den zuletzt genannten Bedingungen gewonnenen Eluats mit Diazomethan

Aus Abb. 65 wird deutlich, dass die Konzentrationen an erfassbarem Schwefel durch Anreicherung im Säuren und Methylierung von Substanzen mit aziden Protonen stark zunimmt. Daraus kann gefolgert werden, dass ein beträchtlicher Anteil an aziden schwefelhaltigen Substanzen im Abwasser vorliegt. Einen hohen Anteil tragen dabei Sulfonate sowie N-Arylsulfonylaminocarbonsäuren bei. Zu den Sulfonaten zählen auch die oberflächenaktiven Substanzen LAS und SAS, die zwar mit dieser Methode erfasst werden, aber besser über HPLC-ESI-MS-MS zu quantifizieren sind. Grund dafür ist, dass auf Kapillarsäulen für die Gasschromatographie die Tenside, die ein Gemisch aus Homologen und Stellungsisomeren darstellen, vollständig in die Einzelverbindungen aufgetrennt werden, ohne dass der Grad der Auftrennung wesentlich beeinflusst werden kann. In der HPLC ist dagegen in Abhängigkeit vom Lösungsmittelgradienten eine Trennung der Homologen ohne Aufspaltung der Stellungsisomere möglich. Dadurch wird die summarische Quantifizierung erleichtert und die Nachweisgrenze erheblich gesenkt.

Gemessen an den im Kapitel 2 bestimmten AOS-Werten von Abwasserproben von Kläranlagenabläufen betragen die mit Festphasenanreicherung und GC-Messung erfassbaren Mengen an organisch gebundenem Schwefel nur wenige Prozent. Damit ist der überwiegende Anteil der im Abwasser vorliegenden Schwefelverbindungen derart hydrophil, dass er auch bei erfolgter Festphasenanreicherung bei Analyse des erhaltenen Eluates mit der verwendeten GC-Methode nicht erfassbar ist. Durch Verwendung einer Kapillarsäule mit stärker hydrophilem Charakter könnte das mit Gaschromatographie detektierbare Substanzspektrum nur geringfügig erweitern.

6.1 Anteil der mit GC-AED erfassten Schwefelverbindungen am AOS

Mit dem beschriebenen Screeningverfahren konnten 30 bis 70 Prozent der erfassten schwefelhaltigen Substanzen bezogen auf die Gesamtfläche im Chromatogramm der Schwefelemission am AED identifiziert werden. Einige dieser Substanzen haben nach Literaturangaben toxikologische Relevanz. Der Anteil des mit dem Gesamtverfahren bestehend aus Festphasenanreicherung, Derivatisierung (bei Extraktion angesäuerter Proben) und GC-Messung erfassbaren Schwefels am AOS beträgt aber nur wenige Prozent. Dies lässt den Schluss zu, dass im Abwasser nach biologischer Klärung hohe Konzentration an schwefelhaltigen Substanzen auftreten, die aufgrund ihrer starken Hydrophilie mit dieser Methode nicht erfasst werden können.

7 Bestimmung von aromatischen Sulfonaten mit Flüssigchromatographie

7.1 Festphasenanreicherung und chromatographische Trennung von aromatischen Sulfonaten

Die Isolierung und Anreicherung von aromatischen Sulfonaten ohne hydrophobe Alkylketten aus wässrigen Matrices stellte lange Zeit ein Problem dar. Durch Festphasenextraktion mit Anionenaustauschermaterialien konnten diese Verbindungen zwar vollständig extrahiert, aber nicht mehr vollständig von der Phase eluiert werden. Besonders für mehrfach sulfonierte Aromaten waren keine ausreichenden Wiederfindungsraten zu erzielen. Auf Festphasen, deren Wechselwirkung mit dem Analyten auf hydrophoben Wechselwirkungen beruhen, ist aufgrund des niedrigen Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten keine ausreichende Retention möglich. Durch Ansäuern der Probe auf pH-Werte zwischen 1 und 2 werden die Sulfonatgruppen protoniert, wodurch eine Retention dieser Verbindungen erreicht werden kann. Bei Verbindungen mit basischen Substituenten am aromatischen System werden allerdings die Van-der-Waals-Kräfte durch Protonierung dieser Reste aufgrund der auftretenden positiven Ladung im Molekül wieder aufgehoben. Dieselben Probleme treten bei der Flüssigchromatographie dieser Verbindungen auf.

Eine Lösung dieses Problems stellt die Ionenpaar-Extraktion bzw. Ionenpaar-Chromatographie dar, die von Schill bereits in den 60er Jahren zur Anreicherung und Trennung von ionischen Pharmazeutika entwickelt wurde [Persson u. a., 1997]. Das Verfahren ermöglicht die Extraktion bzw. Trennung von basischen und sauren Verbindungen auf hydrophoben Phasen (z.B. RP-C18) durch Zugabe eines Gegenions in die Probe vor der Anreicherung bzw. in das Elutionsmittel für die Chromatographie. In der Lösung bzw. in der mobilen Phase bildet sich dadurch ein neutraler Ionenpaarkomplex aus. Ist es notwendig die hydrophoben Wechselwirkungen zu erhöhen, werden Gegenionen mit hydrophoben Resten bevorzugt. Für die Anreicherung und die Chromatographie von organischen Säuren werden sehr oft Alkylammoniumionen verwendet. Für die Ionenpaarchromatographie muss das organische Lösungsmittel polar genug sein, um die Gegenionen und die Ionen des Puffers auch bei geringem wässrigem Anteil an der mobilen Phase in Lösung zu halten. Zusätzlich zu den in der "Reversed-Phase"-Chromatographie üblichen Einflussgrößen auf die Trennung sind hier folgende Variable von Bedeutung:

- a) *Konzentration des Gegenions*: Die Konzentration des Gegenions hat direkten Einfluss auf die Retention des Moleküls (k' -Wert). Durch eine Erhöhung der Konzentration des Gegenions nimmt die Stabilität des Ionenpaarkomplexes zu und die Retentionszeit verlängert sich.
- b) *Konzentration der Pufferionen*: Wird die Pufferkonzentration erhöht, nimmt gleichzeitig die Zahl der Sekundärionen zu, die um das Gegenion konkurrieren können. Dadurch wird die Konzentration des Ionenpaarkomplexes geringer und die Retention nimmt ab.
- c) *pH-Wert des Puffers*: Bei der Chromatographie von Säuren nimmt mit sinkendem pH-Wert die Konzentration an freien Anionen und damit die Konzentration des Ionenpaarkomplexes ab, wodurch die Retention sinkt.
- d) *Temperatur*: Der Einfluss der Temperatur ist höher als bei anderen LC-Methoden. Zum einen ist die Viskosität des Lösungsmittels, die einen entscheidenden Einfluss auf die Diffusionsgeschwindigkeit und damit auf die Bildungsgeschwindigkeit des Ionenpaarkomplexes hat, von der Temperatur abhängig. Zum anderen bestimmt die Temperatur die Stabilität dieses Komplexes.

Die Derivatisierung durch Ionenpaarbildung zur Extraktion und chromatographischen Trennung von Sulfonaten wurde von Schullerer aufgegriffen und mit Erfolg auf Proben von Oberflächengewässern angewendet [Schullerer u. a., 1990] [Schullerer u. a., 1992]. Allerdings finden sich in dieser Arbeit keine Angaben über Störungen durch die Matrix. Insbesondere der Einfluss von den in Abwasserproben gewöhnlich hohen Salz- und Huminstoffgehalten auf die Wiederfindungsraten bei der Anreicherung war zu untersuchen.

Einen weiteren Lösungsansatz für die Isolierung dieser Substanzen bietet die Anreicherung auf graphitierter Aktivkohle. Diese Festphase wird hergestellt, indem Aktivkohle bei 2700 bis 3000°C in inerter Atmosphäre erhitzt wird. Diese Phase wurde bereits erfolgreich zur Anreicherung von organischen Schadstoffen wie Phenolen [Di Corcia u. a., 1986], Chloranilinen [Di Corcia u. a., 1990] und Pestiziden [Di Corcia u. a., 1993] eingesetzt. Aufgrund der verschiedenen funktionellen Gruppen an der Oberfläche der Kohle bilden sich mit negativ geladenen Molekülen verschiedene Arten von Wechselwirkungen aus [Altenbach u. Giger, 1995] [Di Corcia u. a., 1991]. Zur Adsorption tragen Van-der-Waals-Kräfte zwischen den aromatischen Ringen des Graphits und des zu adsorbierenden Moleküls bei. Aufgrund von Sauerstoffverunreinigungen bilden sich Pyryliumionen, wodurch elektrostatische Kräfte zwischen diesen positiv geladenen Ionen und den negativ geladenen Sulfonatgruppen wirksam werden. Ebenfalls durch Sauerstoffspuren entstehen bei der Graphitierung auf der Oberfläche der Aktivkohle Chinone. Bei Anwesenheit protonentragender Substituenten wie Amino- oder Hydroxygruppen am aromatischen Ring der aromatischen Sulfonsäure können sich Wasser-

stoffbrückenbindungen ausbilden. Diese Brücken scheinen derart stabil zu sein, dass keine vollständige Elution von adsorbierten Molekülen mit Hydroxy- oder Aminogruppen möglich ist. Daher wurde versucht, durch Vorbehandlung der Phasen mit Ascorbinsäure bzw. Hydroxylamin die Chinone zu den Hydrochinonen zu reduzieren, um dadurch diese Art der Wechselwirkung zu verringern. Da in den bisher publizierten Arbeiten nur vergleichsweise hohe Konzentrationen auf diesen Phasen angereichert wurden, war zu prüfen, wie hoch die Wiederfindungsraten von Sulfonaten bei Konzentrationen im unteren µg/l-Bereich sind. Außerdem musste ein Vergleich der beiden Anreicherungsverfahren bezüglich ihrer Wiederfindungsraten, ihrer größtmöglichen Anreicherungs volumina und ihrer Selektivität gegenüber der Matrix durchgeführt werden. Die chromatographische Trennung auf graphitierter Aktivkohle wäre zwar durchaus möglich, wurde aber in diesem Forschungsprojekt nicht untersucht, weil keine kommerziell erhältlichen Säulen verfügbar waren.

7.2 Experimenteller Teil

7.2.1 *Material, Chemikalien und Geräte*

Materialien

Analytische Trennsäule, RP-C18 ProntoSil, 250 x 4,6 mm, Partikelgröße 5 µm	Bischoff, Leonberg
Analytische Trennsäule, RP-C18 Hypersil, 250 x 4,6 mm, Partikelgröße 5 µm	Bischoff, Leonberg
Analytische Trennsäule, RP-C8 Nucleosil, 250 x 4,6 mm, Partikelgröße 5 µm	Bischoff, Leonberg
Mega Bond Elut RP-C18 Festphasenkartuschen, 1 g, 6 ml	Best.-Nr. 1225-6001, Varian, Darmstadt
Supelclean ENVI-Carb SPE Festphasenkartuschen; 0,5 g; 6 ml	Best.-Nr. 5-7092, Supelco, Bellefonte, USA

Verwendete Chemikalien

Acetonitril, Gradient Grade	Best.-Nr. 8143, Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, NL
3-Aminobenzolsulfonat	Best.-Nr. 16, 579-4, Aldrich, Milwaukee, USA

2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonat	Best.-Nr. 70760, Fluka, Buchs, CH
Ammoniumacetat, p.A.	Best.-Nr. 1.01116.1000, Merck, Darmstadt
2-Hydroxynaphthalin-3,6-disulfonat	Best.-Nr. 70530, Fluka, Buchs, CH
Methanol, Gradient Grade	Best.-Nr. 8402, Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, NL
Naphthalin-2,6-disulfonat	Best.-Nr. N 60-5, Aldrich, Milwaukee, USA
Naphthalin-1,5-disulfonat	Best.-Nr. 70240, Fluka, Buchs, CH
Naphthalin-1-sulfonat	Best.-Nr. 70280, Fluka, Buchs, CH
Naphthalin-2-sulfonat	Best.-Nr. 820855, Merck-Schuchard, Darmstadt
3-Nitrobenzolsulfonat	Best.-Nr. 73050, Fluka, Buchs, CH
Tetrabutylammoniumbromid	Best.-Nr. 818839, Fluka, Buchs, CH
Tetrabutylammoniumhydroxidlösung, 40 % in Wasser	Best.-Nr. 86854, Fluka, Buchs, CH

Reaktivfarbstoffe technische Produkte

Remazol Rot BB	Dy Star GmbH, Frankfurt
Remazol Gelb R	Dy Star GmbH, Frankfurt
Remazol Blau BR	Dy Star GmbH, Frankfurt
Remazol brillant Orange	Dy Star GmbH, Frankfurt
Remazol brillant Rot F3B	Dy Star GmbH, Frankfurt
Cibacron Orange FBR	Ciba, Basel, Ch
Cibacron Blau C-R	Ciba, Basel, Ch
Cibacron Blau G-NE	Ciba, Basel, Ch
Cibacron Rot C2G	Ciba, Basel, Ch
Drimaren Rot K4BL	Clariant GmbH, Frankfurt
Drimaren Gelb K2R	Clariant GmbH, Frankfurt
Drimaren Blau K2RL	Clariant GmbH, Frankfurt
Drimaren Blau K2 RE	Clariant GmbH, Frankfurt
Drimaren Rubinrot K5BL	Clariant GmbH, Frankfurt

Geräte

HPLC HP 1090 mit Dioden-Array-Detektor	Hewlett Packard, Waldbronn
Fluoreszenzdetektor HP 1046A	Hewlett Packard, Waldbronn

Festphasenanreicherungsstation,
VAC ELUT 20

Varian, Darmstadt

7.2.2 Chromatographie und Detektion

Chromatographische Bedingungen für die Trennung monomerer Sulfonsäuren auf RP-C18-Säulen und der Farbstoffmetaboliten:

Injektionsvolumen: 250 µl

Fluß: 1 ml/min

Temperatur: 30°C

Lösungsmittelgradient:

Lösung A: Tetrabutylammoniumhydroxid (10 mmol/l) in Ammoniumacetatpuffer (10 mmol),
pH 8

Lösung B: Methanol

Lösung C: Bidestilliertes Wasser

Zeit [min]	%A	%B	%C
0	83	17	0
50	58	42	0
60	40	60	0
80	20	80	0
80,5	0	80	20
90	0	80	20
95	83	17	0
100	83	17	0

Detektion:

Zur Quantifizierung wurde die UV-Absorption entsprechend dem Absorptionsmaximum der jeweiligen Substanz bei 230 nm, 238 nm, 242 nm bzw. 250 nm und das Fluoreszenzsignal bei einer Anregungswellenlänge von 230 nm und einer Emissionswellenlänge von 340 nm bzw. 420 nm herangezogen.

Chromatographische Bedingungen für die Trennung von Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensationsprodukten auf RP-C8-Säulen:

Injektionsvolumen, Säulenfluss, Säulentemperatur, verwendete Elutionssmittel und Detektion siehe chromatographische Bedingungen für die Trennung auf RP-C18-Säulen.

Lösungsmittelgradient:

Zeit [min]	%A	%B	%C
0	75	25	0
50	20	80	0
50,5	0	80	20
60	0	80	20
65	75	25	0

7.2.3 Probennahme, -vorbereitung und -anreicherung

Es wurden 5 kommunale Kläranlagen aus dem Raum Stuttgart beprobt. Dabei wurden 24-Stunden-Mischproben von den Abläufen dieser Klärwerke gesammelt.

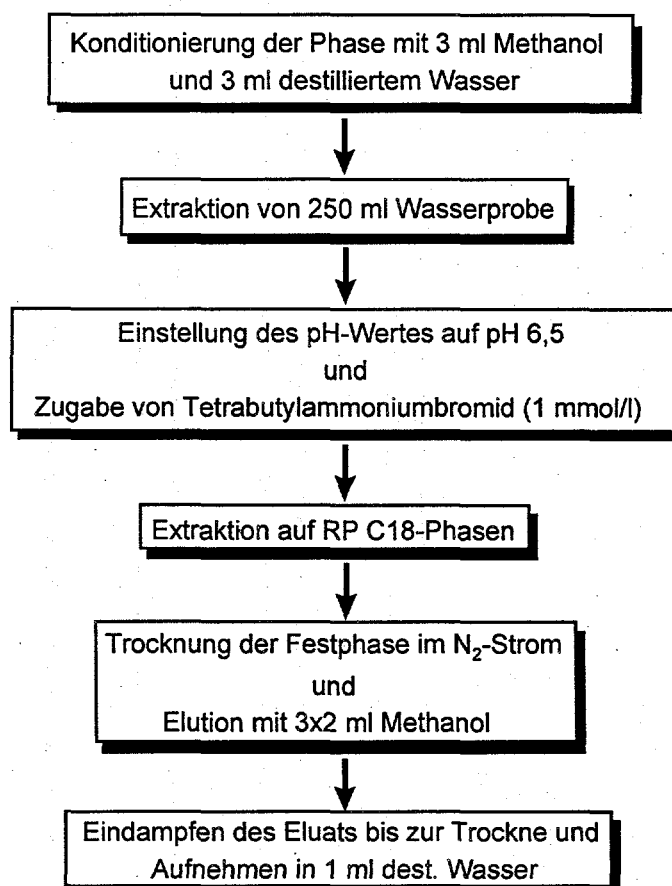


Abb. 66 Verfahrensschritte bei der Ionenpaaranreicherung

Eine der Kläranlagen ist mit Abwasser einer Textilfärberei belastet. Die Proben wurden über Glasfaserfilter filtriert.

Die Festphasenextraktion von aromatischen Sulfonsäuren nach dem Prinzip der Ionenpaaranreicherung wurde nach dem in Abb. 66 dargestellten Schema durchgeführt. Zur vollständigen Elution der Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensate werden zusätzlich 3 ml Dichlormethan verwendet. Die Anreicherung auf graphitierten Aktivkohlephasen erfolgte nach dem in Abb. 67 dargestellten Schema.

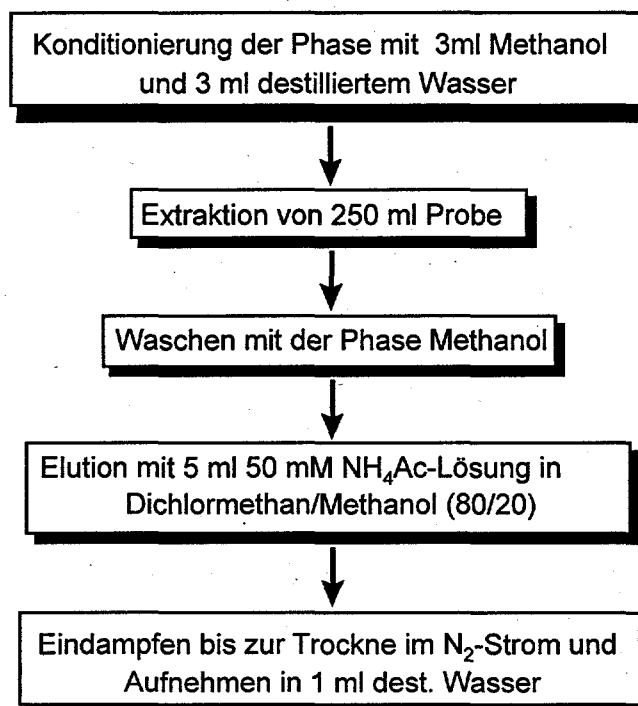


Abb. 67 Verfahrensschritte bei der Anreicherung auf graphitierter Aktivkohle

7.2.4 Charakterisierung des technischen Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates

Die Bestimmung der im technischen Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehydkondensat enthaltenen Homologen erfolgte zunächst mit HPLC-ESI-MS im Scan-Modus. Das Gerät und die verwendete Analysensäule sind in Abschnitt 8.2 beschrieben.

Die chromatographischen Bedingungen waren wie folgt:

Injektionsvolumen: 250 µl

Lösungsmittelgradient:

Lösungsmittel A: 10 mM Tetrabutylammoniumbromid, 5 mM NH₄OAc in bidestilliertem Wasser

Lösungsmittel B: 5 mM NH₄Ac in Acetonitril

Zeit [min]	%B	Fluß
0	10	0,3
10	100	0,3
12	100	0,8
13	10	0,3

Das erhaltene MS-Chromatogramm wurde mit dem entsprechenden UV-Chromatogramm (230 nm) verglichen. Die Identifizierung weiterer monomerer aromatischer Sulfonate erfolgte mit dem Verfahren, das in Kapitel 7.2.2 beschrieben ist. Parallel wurde der Standard bei der Firma Henkel KGaA mit MALDI-MS untersucht.

7.2.5 Identifizierung und Quantifizierung von aromatischen Sulfonaten

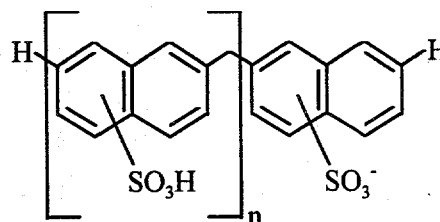
Zur Identifizierung wurden die Proben mit den zur Verfügung stehenden Sulfonsäurestandards aufgestockt und die Chromatogramme der undotierten und der aufgestockten Probe verglichen. Bei genügend hohen UV-Signalen wurden auch die UV-Spektren zur Identifizierung herangezogen. Die Quantifizierung erfolgte über eine externe Kalibrierung. Dazu wurden Standardlösungen mit Konzentrationen von 25 µg/l bis 1 mg/l verwendet. Ausgewertet wurde mit Ausnahme von 3-Nitrobenzolsulfonsäure das FLD-Signal. Für 3-Nitrobenzolsulfonsäure wurde die UV-Absorption bei 250 nm herangezogen.

7.3 Ergebnisse und Diskussion

7.3.1 Charakterisierung des technischen Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates

Über einzelne Massenspuren des TIC-Chromatogramms konnten folgende Homologe des technischen Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates identifiziert werden:

Masse m/z 207:	[M-H]	monomere Naphthalin-2-sulfonsäure
Masse m/z 427:	[M-H]	Dimer
Masse m/z 323:	[M-2H]	Trimer
Masse m/z 433:	[M-2H]	Tetramer
Masse m/z 543:	[M-2H]	Pentamer



Stellungsisomere bezüglich der Anordnung der Sulfonatgruppen und der Methylenbrücke können durch Massenspektrometrie nicht unterschieden werden.

An Nebenbestandteilen sind folgende aromatische Sulfonate enthalten.

Naphthalin-2,6-disulfonsäure

Naphthalin-1,5-disulfonsäure

Naphthalin-1-sulfonsäure

weitere 3 unbekannte monomere Sulfonsäuren

Laut Herstellerangaben sind als weitere Verunreinigungen folgende Substanzen enthalten:

Asche (40 Gewichtsprozent)

NaSO₄ (20 Gewichtsprozent)

Das Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensationsprodukt wurde von Frau Dr. C. Hammes und Herrn Heigl von der Firma Henkel KGaA mittels MALDI-MS untersucht.

Die Probe wurde in Wasser gelöst und mit der Matrix α -Cyano-4-Hydroxy-Zimtsäure zur Kristallisation gebracht. Durch einen gezielten Austausch der Kationen gegen Protonen lag das Polymer bei der Messung als Säure vor.

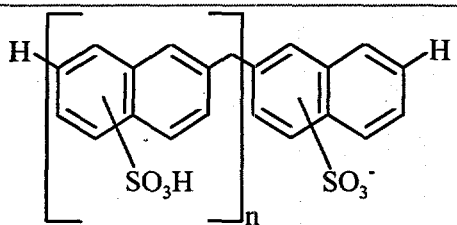
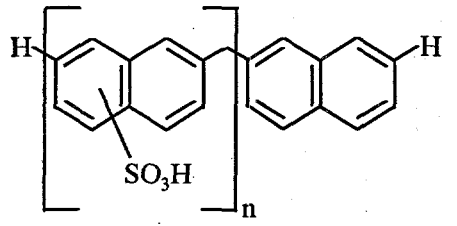
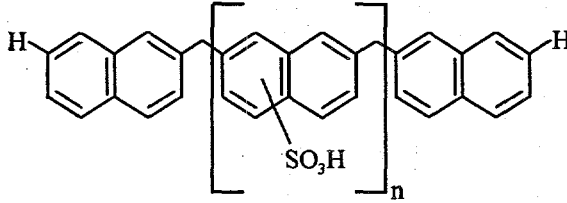
Die mittels dieser Untersuchung identifizierten Polymere und ihre Homologenverteilungen sind in Tab. 22 zusammengefasst. Die Polymerverteilung des Hauptproduktes zeigt ein Maximum bei 1303 und 1521 Dalton. Diese Massen entsprechen einem Hexamer bzw. einem Heptamer. Das höchste im Standard vorhandene Homologe weist 11 Monomereinheiten auf. Als Nebenprodukte treten zudem Kondensationsprodukte aus Naphthalin, Formaldehyd und Naphthalinsulfonsäure auf.

Vergleicht man dieses Ergebnis mit dem der HPLC-ESI-MS-Messung zeigt sich, dass höhere Homologe mit letzterer Methode nicht detektiert werden konnten. Wahrscheinlich können unter den gewählten Bedingungen die höheren Homologen nicht von RP-C8- und RP-C18-Phasen eluiert werden. Eine Injektion in das Massenspektrometer ohne vorherige chromatographische Trennung ist aufgrund des hohen Salzgehaltes des Standards nicht möglich.

Der Vergleich des UV-Chromatogramms mit dem ESI-MS-Chromatogramm ergab, dass bei 230 nm nur die monomeren Sulfonate sowie die dimeren und trimeren Kondensate erfasst werden können. Der Gewichtsanteil dieser Fraktion wurde bei Berücksichtigung der Signalintensitäten der polymeren Einzelsubstanzen im MALDI-Massenspektrum, der Gewichtsanteile der monomeren Sulfonsäuren und der Herstellerangaben über Verunreinigungen zu ca. 0,7 Gewichtsprozent abgeschätzt. Dieser Abschätzung liegt die Annahme zugrunde, dass die Ionenausbeuten für alle Einzelverbindungen gleich sind. Da der Standard aus einer Viel-

zahl von Einzelverbindungen besteht und die dimeren und trimeren Kondensationsprodukte nur Nebenbestandteile darstellen, gibt diese Abschätzung nur die richtige Größenordnung wieder. Entsprechendes gilt damit auch für die Quantifizierung dieser Verbindungen im Abwasser, die sich auf diese Abschätzung bezieht.

Tab. 22 Polymerstrukturen und ihre Homologenverteilungen im Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensat identifiziert mit MALDI-MS

Polymerstruktur	Homologenverteilung		normierte Intensität [%]
	m/z:	427 n = 1	18
	m/z:	647 n = 2	20
	m/z:	867 n = 3	24
	m/z:	1087 n = 4	57
	m/z:	1307 n = 5	100
	m/z:	1527 n = 6	98
	m/z:	1747 n = 7	78
	m/z:	1967 n = 8	35
	m/z:	2187 n = 9	15
	m/z:	2407 n = 10	14
	m/z:	1007 n = 4	9
	m/z:	1227 n = 5	28
	m/z:	1447 n = 6	47
	m/z:	1667 n = 7	57
	m/z:	1887 n = 8	45
	m/z:	2007 n = 9	22
	m/z:	1146 n = 4	12
	m/z:	1366 n = 5	23
	m/z:	1586 n = 6	25
	m/z:	1806 n = 7	16
	m/z:	2026 n = 8	10
	m/z:	2246 n = 9	10

7.3.2 Flüssigchromatographische Trennung von aromatischen Sulfonaten mit Ionenpaarchromatographie

Zur Trennung der monomeren aromatischen Sulfonate wurde das in Kapitel 7.1 beschriebene Verfahren der Ionenpaarchromatographie angewendet. Abb. 68 zeigt das HPLC-Chromatogramm eines Mischstandards mit einer Konzentration von 500 µg/l je Einzelsubstanz. 3-Nitrobenzolsulfonsäure und Naphthalin-2,6-disulfonsäure konnten bei Verwendung von Methanol als organischen Modifizier auf einer ProntoSil RP-C18-Phasen nicht getrennt werden. Da 3-Nitrobenzolsulfonsäure bei einer Anregungswellenlänge von 230 nm und einer Emissionswellenlänge von 340 nm kein Fluoreszenzsignal zeigt, konnte Naphthalin-2,6-disulfonsäure auch unter diesen Bedingungen durch Fluoreszenzdetektion quantifiziert werden. Auf einer Hypersil RP-C18-Phase eluierte 3-Nitrobenzolsulfonsäure dagegen nach 2-Amino-1,5-disulfonsäure, während die Elutionsreihenfolge der anderen Sulfonate unverändert blieb. Dennoch wurde für die meisten Versuche die ProntoSil-Phase verwendet, da diese aufgrund ihres hohen "End-Cappings" haltbarer war. Zur Trennung von 3-Nitrobenzolsulfonsäure und Naphthalin-2,6-disulfonsäure auf dieser Phase wurde Methanol durch Acetonitril ersetzt. Dadurch änderte sich die Elutionsreihenfolge und 3-Nitrobenzolsulfonsäure war vollständig von den Substanzen, die sehr hohe UV-Signale liefern getrennt und konnte ohne Probleme quantifiziert werden (siehe Abb. 69).

Tab. 23 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen ausgewählter Sulfonate

Substanz	Nachweis-grenze [µg/l]	Bestimmungs-grenze [µg/l]	ausgewertetes Signal
3-Aminobenzolsulfonat	211	738,5	UV 242 nm
2-Hydroxynaphthalin-3,6-disulfonat	73	291	FLD 2 ¹
3-Nitrobenzolsulfonat	245	1005	UV 250 nm
2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonat	45	189	FLD 2
Naphthalin-2,6-disulfonat	15	53	FLD 1 ²
Naphthalin-1,5-disulfonat	35	109	FLD 1
Naphthalin-1-sulfonat	39	140	FLD 1
Naphthalin-2-sulfonat	8	32	FLD 1

¹ Anregungswellenlänge: 230nm; Emissionswellenlänge 420 nm

² Anregungswellenlänge: 230nm; Emissionswellenlänge 340 nm

Ausgewertet wurden die UV-Signale bei den in der Abb. 68 angegebenen Wellenlängen sowie das Fluoreszenzsignal.

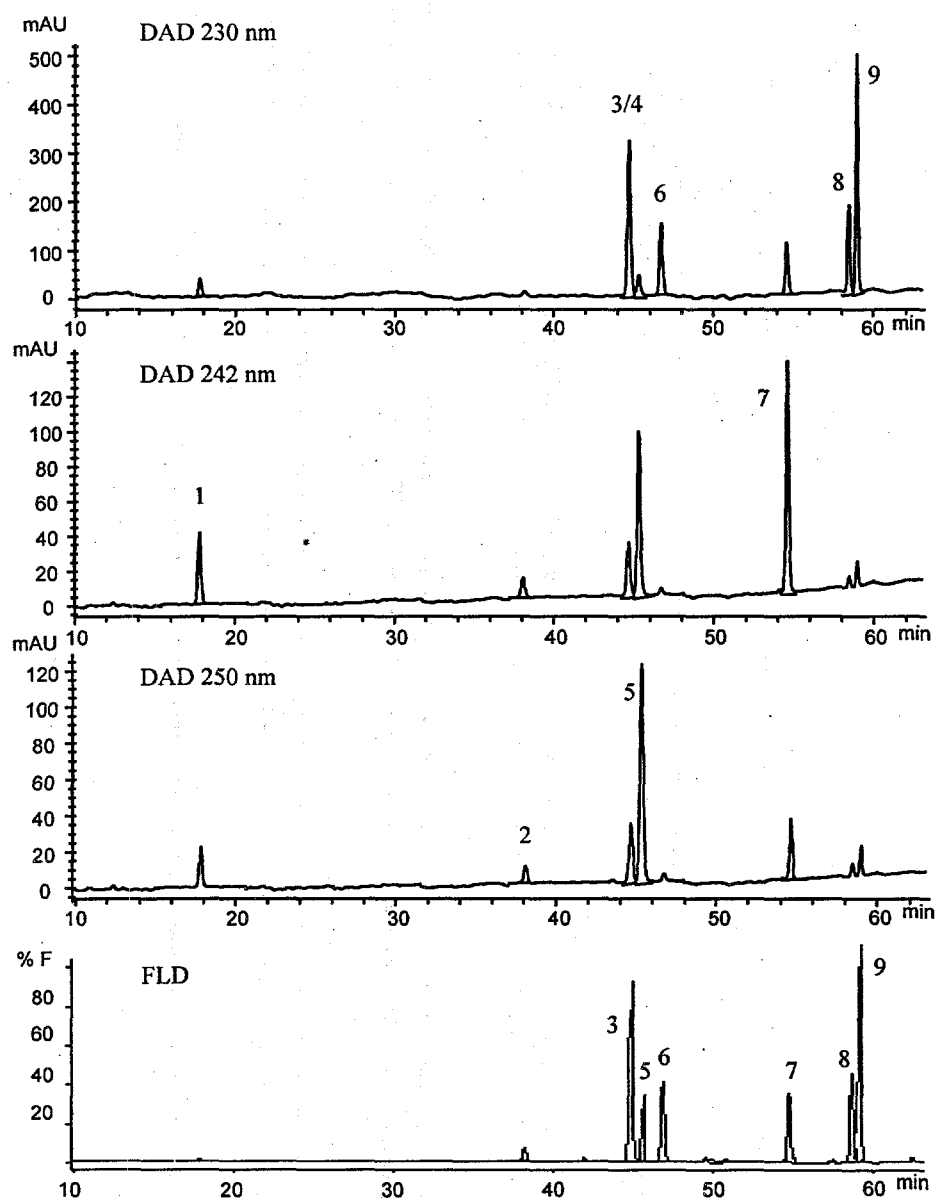


Abb. 68 Chromatogramm eines Mischstandards der Konzentration 500 µg/l je Substanz auf einer Prontosil RP-C18-Phase bei Verwendung von Methanol als organischem Modifier; FLD: Anregungswellenlänge 230 nm; Emissionswellenlänge 340/420 nm 1: 3-Aminobenzolsulfonsäure; 2: Nebenbestandteil von 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure (Isomer); 3: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; 4: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; 5: 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure 6: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; 7: 2-Hydroxynaphthalin-3,6-disulfonsäure; 8: Naphthalin-1-sulfonsäure; 9: Naphthalin-2-sulfonsäure

Für monoaromatische Sulfonsäuren ist nur das UV-Signal auswertbar, das verglichen mit dem der Naphthalinsulfonsäuren meist von geringerer Intensität ist. Ihre Nachweisgrenze ist daher entsprechend höher als die der Naphthalinsulfonsäuren. Die Nachweisgrenzen nach DIN 32 645 [DIN 32 645, 1994] sind für ausgewählte Sulfonate in Tab. 23 aufgelistet. Die Standardabweichungen lagen um drei Prozent. Bei der Anreicherung von Abwasserproben ist aufgrund einer gleichzeitigen Anreicherung von Huminstoffen im UV-Wellenlängenbereich, in dem die Sulfonsäuren absorbieren, eine hohe UV-Absorption der Matrix zu beobachten. Dadurch erhöht sich die Nachweisgrenze für die monoaromatischen Substanzen drastisch. Sie hängt von der Intensität und Lage des Absorptionsmaximums sowie vom Huminstoffgehalt des Eluats ab. Für die Naphthalinsulfonsäuren kann dieses Problem durch die Auswertung des Fluoreszenzsignals, das durch die Matrix nur gering beeinflusst wird, umgangen werden. Um monoaromatische Sulfonate im unteren $\mu\text{g/l}$ -Bereich nachweisen zu können, muss die Selektivität bei der Festphasenextraktion gegenüber Huminstoffen sehr hoch sein.

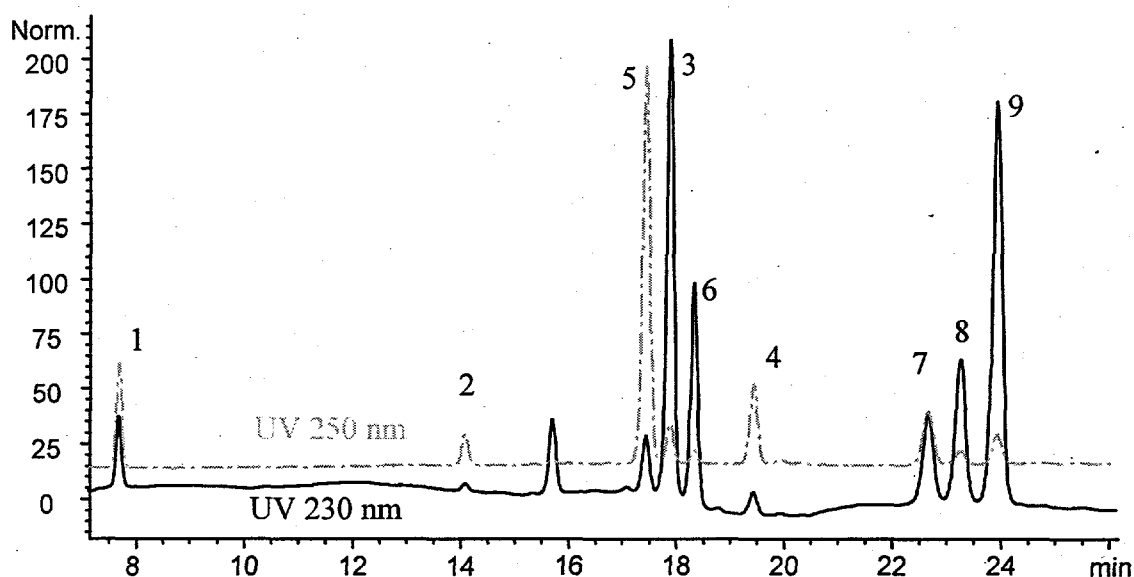


Abb. 69 Chromatogramm eines Mischstandards der Konzentration 500 $\mu\text{g/l}$ je Verbindung auf einer Prontosil RP-C18-Phase bei Verwendung von Acetonitril als organischem Modifizier (Peakbeschriftung siehe Abb. 68).

Das Homologen- und Isomerengemisch des Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates (NSFK) wurde mittels Ionenpaarchromatographie auf einer RP-C8-Analysensäule getrennt. Das Chromatogramm des technischen Standards ist in Abb. 70 dargestellt. Detektiert wurde das Fluoreszenzsignal. Neben monomeren aromatischen Sulfonaten wurden dadurch die dimeren und trimeren Kondensate erfasst.

Die Peakbeschriftung erfolgte in den Chromatogrammen, die für die Quantifizierung der jeweiligen Substanz herangezogen wurden.

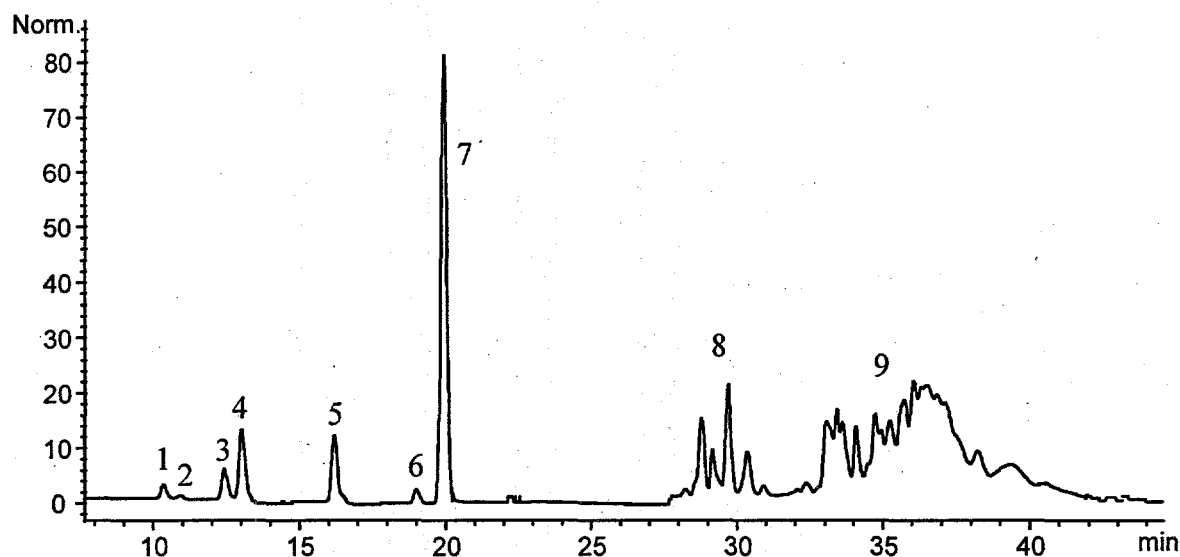


Abb. 70 FLD-Chromatogramm eines technischen Standards eines Naphthalin-2-sulfon-säure-Formaldehyd-Kondensates (NSFK); Anregungswellenlänge: 230 nm; Emissionswellenlänge: 340 nm 1: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; 2: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; 3, 4, 5: unbekannte monomere Sulfonsäuren; 6: Naphthalin-1-sulfonsäure; 7: Naphthalin-2-sulfonsäure; 8: dimeres Kondensat; 9: trimeres Kondensat

7.3.3 Festphasenanreicherung von Sulfonaten

Test der Ionenpaarextraktion mit Standardlösungen

Das Verfahren der Ionenpaaranreicherung zur Anreicherung von aromatischen Sulfonaten wurde zunächst für Standardlösungen getestet. Es ist bekannt, dass die höchsten Wiederfindungsraten und die beste Reproduzierbarkeit mit diesem Verfahren bei Verwendung von RP-C18-"end-capped"-Phasen erzielt werden. Deshalb wurden solche Phasen von verschiedenen Firmen getestet.

Bei allen Festphasen betrug das Füllgewicht 1 g. Abb. 71 zeigt die mittleren Wiederfindungsraten der einzelnen Substanzen in Prozent bezogen auf den Sollwert.

Die Festphase der Firma Baker fällt in der Wiederfindungsrate für die Verbindungen A und C im Vergleich zu den anderen deutlich ab. Bei der Phase der Firma Merck konnte Toluol-4-sulfonsäure nicht ausreichend angereichert werden. Mit den anderen Phasen sind unter den

Bedingungen, wie sie im Kläranlagenablauf vorliegen (relativ hohe Salzkonzentration, relativ hoher DOC) weitere Anreicherungsversuche durchzuführen.

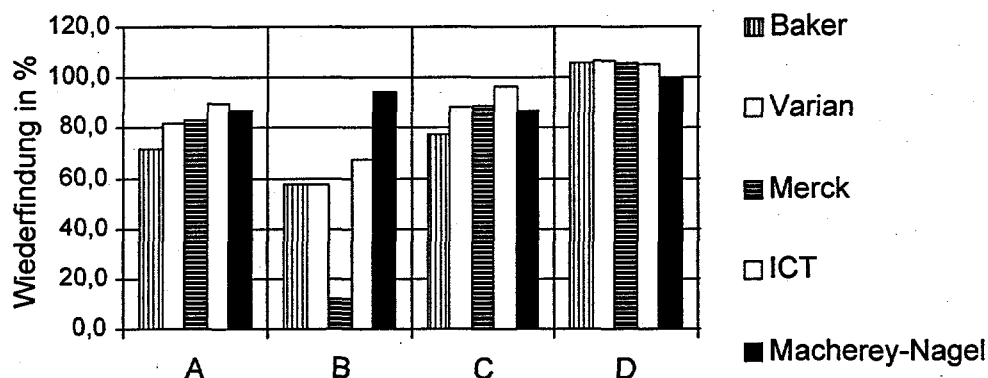


Abb. 71 Wiederfindungen für die Ionenpaaranreicherung aromatischer Sulfonsäuren (Ausgangskonzentration 0.5 µg/l) auf C18 endcapped Festphasen verschiedener Hersteller. A: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; B: 4-Toluolsulfonsäure; C: Naphthalin-2-sulfonsäure; D: Naphthalin-1,3,6-trisulfonsäure.

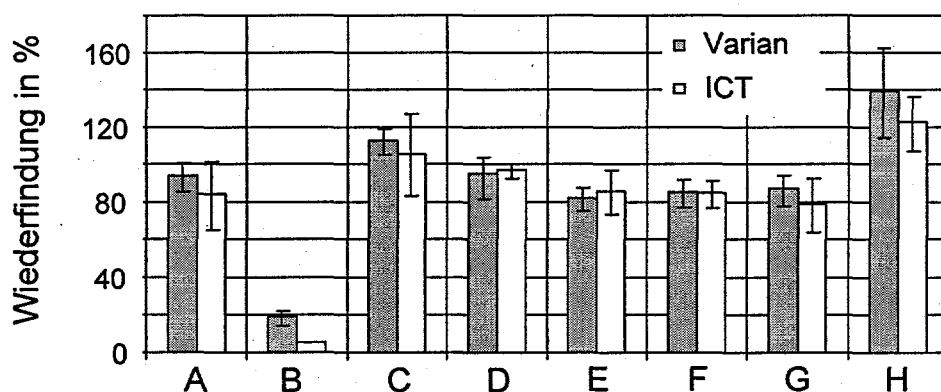


Abb. 72 Wiederfindung für die Ionenpaaranreicherung aromatischer Sulfonsäuren (Die Fehlerbalken entsprechen den Spannweiten von drei Messwerten.); Ausgangskonzentration: 0,5µg/l bei einer Sulfatkonzentration von 100 mg/l. Verbindungen A - D siehe Abb. 71; E - H: : Lineare Alkylbenzolsulfon-säuren: E: Decyl-; F: Undecyl-; G: Dodecyl-; H: Tridecyl-.

Mit den Phasen der Firma Varian und ICT wurde getestet, ob die Anreicherung einzelner Substanzen durch hohe Sulfatgehalte gestört wird. Durch hohe Sulfatkonzentrationen

könnte die Stabilität des Ionenpaarkomplexes sinken, was geringere Anreicherungsraten zur Folge hätte. Es zeigte sich, dass bei Sulfatgehalten von 100 mg/l nur die Wiederfindung von Toluol-4-sulfonsäure signifikant gegenüber den Anreicherungsversuchen aus destilliertem Wasser absinkt (siehe Abb. 72). Allerdings wurde die Reproduzierbarkeit für alle Sulfonate deutlich geringer.

Für die weitere Arbeit wurde die RP-C18-"endcapped"-Phase der Firma Varian ausgewählt. In Abb. 73 sind die Wiederfindungsraten für ausgewählte Sulfonate dargestellt. Die Wiederfindungsraten lagen für alle Sulfonate größer 80 Prozent.

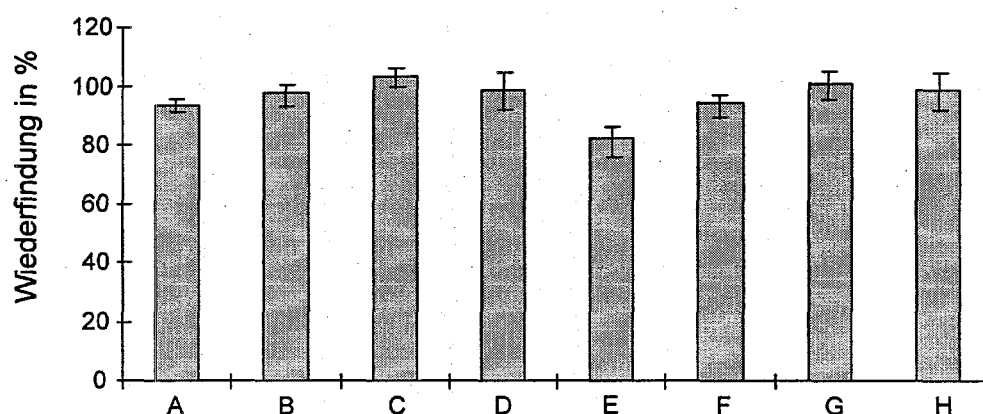


Abb. 73 Wiederfindungsrate verschiedener Sulfonsäuren bei der Anreicherung von Standardlösungen der Konzentration 1 mg/l je Verbindung (Die Fehlerbalken: entsprechen den Spannweiten von drei Messwerten.). A: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; B: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; C: 4-Toluol-sulfonsäure; D: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; E: 2-Hydroxy-3,6-disulfonsäure; F: Naphthalin-1,3,6-trisulfonsäure; G: Naphthalin-2-sulfonsäure; H: NSFK: dimere und trimere Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensate.

Test der Anreicherung auf graphitierter Aktivkohle mit Standardlösungen

Die Wiederfindungsraten bei der Anreicherung von Standardlösungen wurden auch für die graphitierten Aktivkohlephasen ermittelt. Die Ergebnisse sind in Abb. 74 dargestellt. Auch hier lagen die Wiederfindungsraten in der Regel größer 90 Prozent. Für Naphthalin-1,3,6-sulfonsäure lag diese knapp über 80 Prozent und für 3-Aminobenzolsulfonsäure knapp unter 80 Prozent. Durch eine Vorbehandlung der Phasen mit Ascorbinsäure wurde versucht die Chinongruppen auf der Oberfläche der Kohle zu Hydrochinon zu reduzieren, da laut Literatur dadurch die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Sauerstoffatom des Chinons und einem Proton der Aminogruppe vermieden würde [Altenbach, 1995]. Die star-

ken Wasserstoffbrückenbindungen würden dieser Literaturstelle zur Folge eine Elution der Verbindungen mit Aminogruppen verhindern. Die Vorbehandlung brachte aber keine Steigerung der Wiederfindungsrate. Wurde die Phase nach der Anreicherung getrocknet, sank die Wiederfindung für 3-Aminobenzolsulfonsäure stark ab. Gleichzeitig zeigten sich Überbefunde für 3-Nitrobenzolsulfonsäure. Bei der Trocknung der Phase tritt demnach eine Oxidation der Amino- zur Nitrogruppe auf.

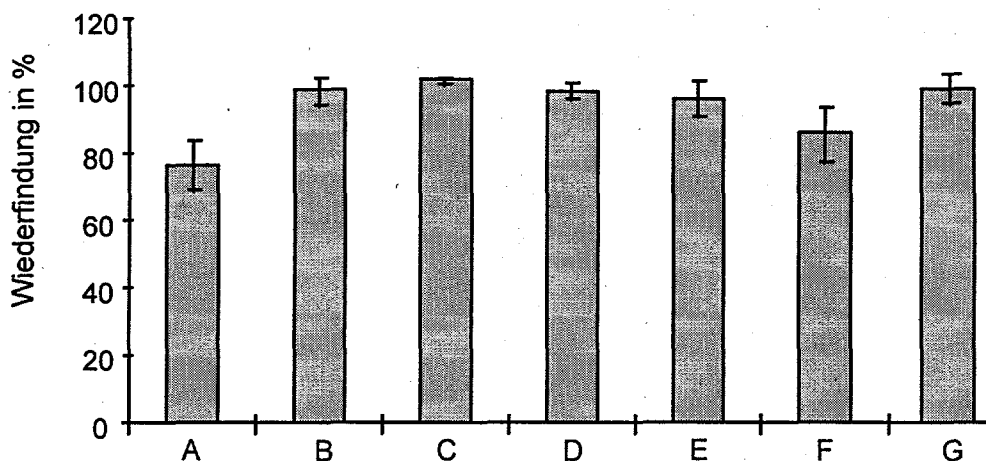


Abb. 74 Wiederfindungsraten für ausgewählte Sulfonate bei der Anreicherung von Standardlösungen (Die Fehlerbalken entsprechen den Spannweiten von 3 Mess-werten.). A: 2 Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure; B: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; C: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; D: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; E: 2-Hydroxy-3,6-disulfonsäure; F: Naphthalin-1,3,6-trisulfonsäure; G: Naphthalin-2-sulfonsäure.

Test beider Verfahren mit aufgestockten Abwasserproben

Beide Anreicherungsverfahren wurden mit aufgestockten Abwasserproben auf Einflüsse durch Matrixkomponenten bzw. auf die Selektivität der Phasen gegenüber der Matrix getestet. Die Wiederfindungsraten werden in Abb. 75 verglichen. Diese sind für die meisten Verbindungen in vergleichbarer Höhe. Die Standardabweichungen für das Gesamtverfahren bestehend aus Anreicherung und Chromatographie lagen bei vier Parallelmessungen um sieben Prozent. Schwierigkeiten gab es beim Nachweis von monoaromatischen Sulfonaten wie Nitrobenzolsulfonsäure nach Ionenpaaranreicherung.

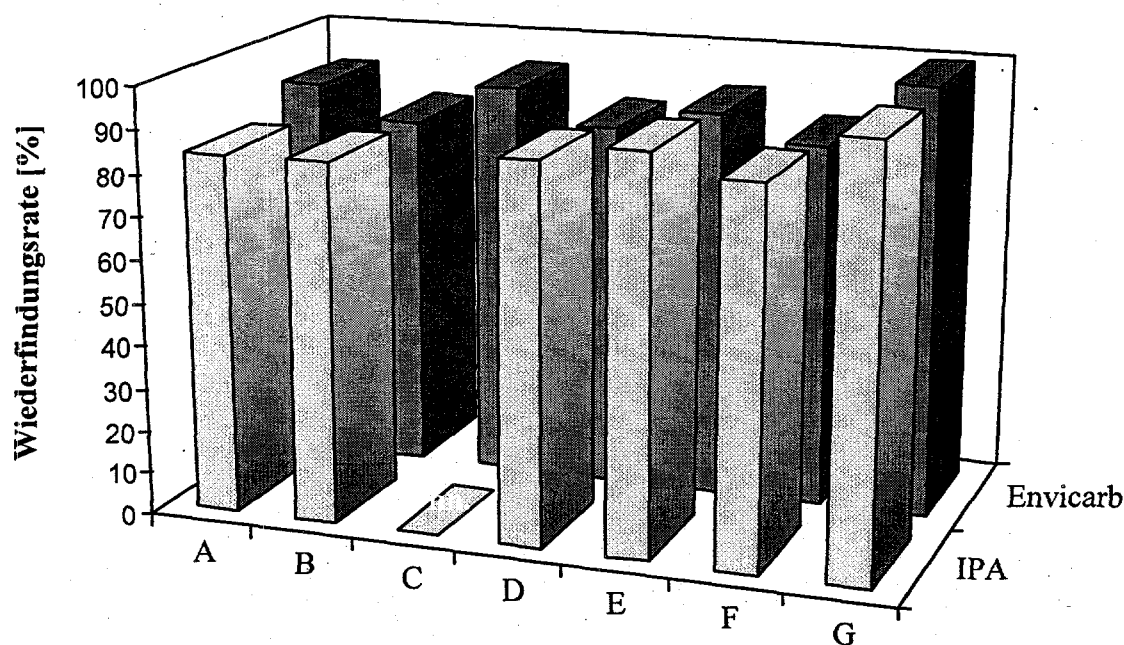


Abb. 75 Wiederfindung von ausgewählten Sulfonsäuren in aufgestockten Abwasserproben (Aufstockung 5 µg je Substanz); IPA: Ionenpaaranreicherung; Envicarb: Anreicherung auf graphitierter Aktivkohle A: 2-Hydroxy-3,6-disulfonsäure; B: 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure; C: 3-Nitrobenzolsulfonsäure; D: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; E: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; F: Naphthalin-1-sulfonsäure; G: Naphthalin-2-sulfonsäure.

Der Huminstoffgehalt im Eluat der RP-C18-Phase war zu hoch, um bei den vorliegenden Konzentrationen die UV-Signale dieser Substanzen auswerten zu können. In den Eluaten von den graphitierten Aktivkohlephasen ist der Huminstoffgehalt im Vergleich dazu stark verringert. Dies wird deutlich, wenn man die Chromatogramme, die von beiden Eluaten am DAD aufgenommen wurden, vergleicht (siehe Abb. 76). Die Basislinie steigt in dem Chromatogramm des Eluats, das mit Ionenpaaranreicherung gewonnen wurde, aufgrund des Huminstoffgehaltes stark an, während im Eluat von der graphitierten Aktivkohle die Basislinie nahezu konstant bleibt. Der Grund für die niedrigen Huminstoffgehalte im Eluat von den Aktivkohlephasen liegt darin, dass diese Moleküle zum größten Teil irreversibel an der Oberfläche gebunden werden. Allerdings werden nicht nur Huminstoffe sondern auch größere Moleküle wie Farbstoffe und die Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensate derart stark gebunden, dass eine Elution nicht möglich ist.

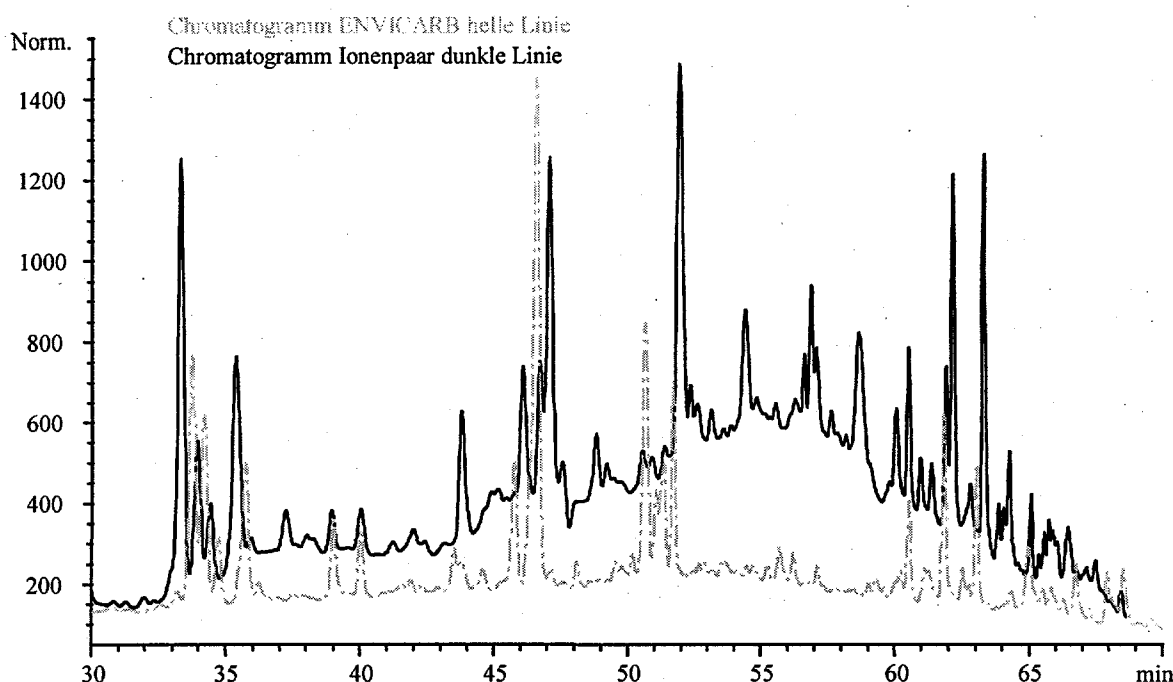


Abb. 76 HPLC-Chromatogramme von Eluaten, die bei der Ionenpaaranreicherung und bei Anreicherung auf graphitierter Aktivkohle erhalten wurden.

Für Substanzen mit einem Molekulargewicht von etwa 400 bis 700 amu ist dagegen die Ionenpaaranreicherung sehr gut geeignet, weil es bei der nachfolgenden chromatographischen Trennung möglich ist, die Huminstoffe von diesen Substanzen abzutrennen. Für höhere Homologe des Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates konnten die Wiederfindungsraten nach der Anreicherung nicht mehr überprüft werden, weil die chromatographischen Bedingungen und die Trennsäule für diese Substanzen mit stark hydrophoben Eigenschaften nicht geeignet waren. Probleme ergaben sich auch bei der Anreicherung von 3-Aminobenzolsulfonsäure. Diese Verbindung konnte in den Eluaten, die mittels beider Anreicherungsverfahren gewonnen wurden, nicht reproduzierbar wiedergefunden werden. Neben den hohen Huminstoffgehalten im Eluat der Ionenpaaranreicherung und den daraus resultierenden erhöhten Nachweisgrenzen scheint dies bei beiden Verfahren auf Störungen durch hohe Salzkonzentrationen zurückzuführen zu sein. Für die ebenfalls monoaromatische Toluolsulfonsäure wurde der Einfluss der Salzkonzentration auf die Ionenpaarextraktion in dem oben beschriebenen Experiment festgestellt. In der Literatur ist ein vergleichbarer Versuch für Aminobenzolsulfonate bei Anreicherung auf Aktivkohlekartuschen beschrieben, der diese These untermauert [Böhme u. a., 1998]. Dagegen scheint die Stärke der Wasserstoffbrückenbindung, wie ursprünglich vermutet und in der Literatur beschrieben, keine Auswirkungen

auf die Wiederfindungsrate zu haben, da ansonsten 2-Aminonaphthalinsulfonsäure ebenfalls von der Phase nicht eluierbar wäre.

Da Aminobenzolsulfonate in kommunalen Abwässern gewöhnlich keine Rolle spielen, wurde auf eine Lösung des Problems verzichtet. In Textilabwässern, in denen diese Substanzen nachgewiesen wurden (siehe Kapitel 1.3.2.4), können zumindest die in weitaus höheren Konzentrationen zu erwartenden Nitroanaloge, aus denen diese Verbindungen durch Reduktion während des Färbeprozesses entstehen, ohne Schwierigkeiten angereichert und in den Eluaten von den Aktivkohlephasen mit ausreichender Empfindlichkeit nachgewiesen werden.

7.3.4 Identifizierung und Quantifizierung von aromatischen Sulfonaten in Abwasserproben

Chromatographie und Detektion bei Abwasserproben

Monomere aromatische Sulfonate wurden wie beschrieben auf graphitierten Aktivkohlephasen angereichert und auf RP-C18-Analysensäulen getrennt. Die Bestimmungsgrenzen des Gesamtverfahrens sind für Verbindungen, die ein intensives Fluoreszenzsignal liefern, in Lösungen von Standards und in Abwasserproben identisch. Für 3-Nitrobenzolsulfonsäure, zu dessen Quantifizierung das UV-Signal (250 nm) in den Chromatogrammen der Trennungen auf RP-C18-Säulen herangezogen wurde, lag sie aufgrund der störenden Huminstoffe um den Faktor 3 höher.

Tab. 24 Bestimmungsgrenzen ausgewählter Sulfonate in Abwasser für das Gesamtverfahren bei Anwendung der Festphasenanreicherung auf graphitierter Aktivkohle nach DIN 32 645 [DIN 32 645, 1994]

Substanz	Bestimmungsgrenze [$\mu\text{g/l}$]	ausgewertetes Signal
2-Hydroxynaphthalin-3,6-disulfonat	0,4	FLD 2 ¹
3-Nitrobenzolsulfonat	4,0	UV 250 nm
2-Amino-1,5-disulfonat	0,9	UV 250 nm
Naphthalin-2,6-disulfonat	0,3	FLD 1 ²
Naphthalin-1,5-disulfonat	0,6	FLD 1
Naphthalin-1-sulfonat	0,7	FLD 1
Naphthalin-2-sulfonat	0,2	FLD 1

¹ Anregungswellenlänge: 230nm; Emissionswellenlänge 420 nm

² Anregungswellenlänge: 230nm; Emissionswellenlänge 340 nm

Die Nachweisgrenze wurde in diesem Fall aus der Peakhöhe ermittelt, die größer als die dreifache Standardabweichung des Grundrauschens der Basislinie sein sollte. Bei Einsatz der Ionenpaaranreicherung waren die Bestimmungsgrenzen bei Auswertung der Fluoreszenz identisch. Eine Auswertung des UV-Signals für 3-Nitrobenzolsulfonsäure war im Konzentrationsbereich, in dem diese Substanz vorlag, aus den genannten Gründen nicht möglich. In Tab. 24 sind die Bestimmungsgrenzen in Abwasserproben angegeben.

Die Chromatogramme einer Abwasserprobe eines kommunalen Kläranlagenablaufes und der dazugehörigen vor der Festphasenanreicherung aufgestockten Probe sind in Abb. 77 dargestellt.

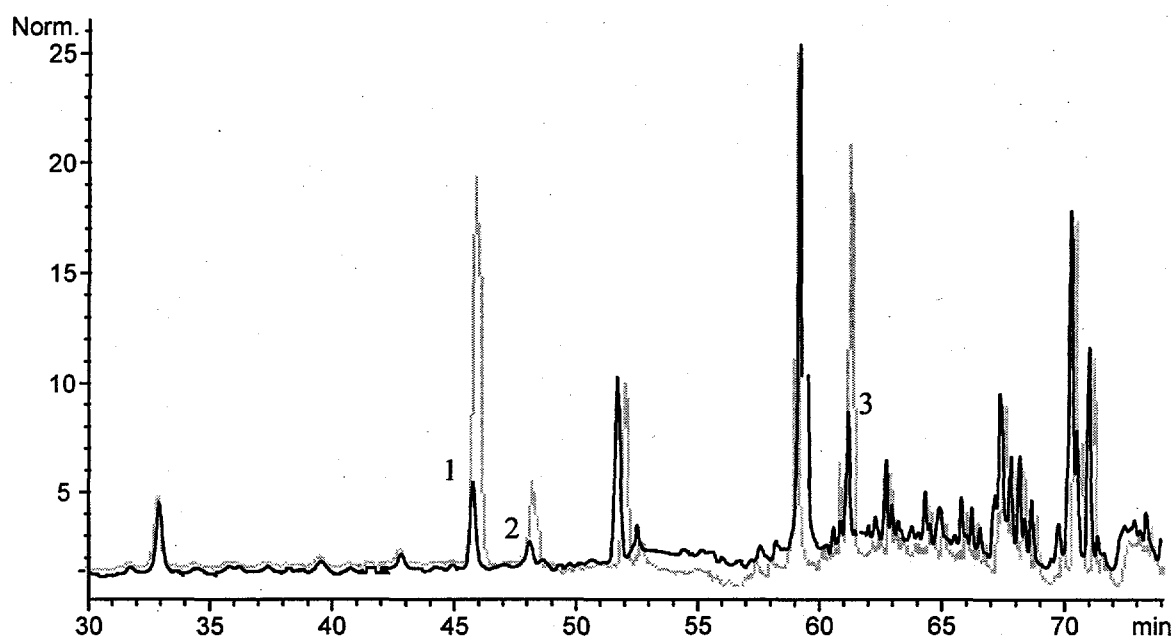


Abb. 77 Chromatogramme einer undotierten (schwarze Linie) und der dazugehörigen aufgestockten Abwasserprobe (graue Linie) eines Kläranlagenablaufes (RP-C18-Säule; Fluoreszenzdetektion). 1: Naphthalin-2,6-disulfonsäure, 2: Naphthalin-1,5-disulfonsäure, 3: Naphthalin-2-sulfonsäure

Zur Bestimmung der Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehydkondensate wurde die Ionenpaaranreicherung eingesetzt und die Eluate auf einer RP-C8-Analysensäule getrennt. Dabei stellte sich heraus, dass diese Säule auch zum Nachweis monomeren Sulfonate geeignet ist. Die im Eluat nach der Festphasenanreicherung vorhandenen Huminstoffe können besser von den nachzuweisenden Substanzen getrennt werden. Dadurch konnte das UV-Spektrum der monomeren Sulfonate zu ihrer Identifizierung herangezogen werden. Ein Nachweis von 3-Nitrobenzolsulfonsäure ist aber wegen Koelution mit Naphthalin-2,6-disulfonsäure nicht möglich. Da diese Substanz kein Fluoreszenzsignal zeigt, kann die Fluoreszenz für die

Quantifizierung der anderen Substanzen ohne Probleme herangezogen werden. Abb. 78 zeigt die Chromatogramme der undotierten und der dazugehörigen aufgestockten Abwasserprobe eines Kläranlagenablaufes. Die Bestimmungsgrenzen für die monomeren Sulfonsäure entsprachen den in Tab. 24 angegebenen Werten, die für die Anreicherung auf Aktivkohle und anschließende Chromatographie auf RP-C18-Phasen ermittelt wurde. Die Bestimmungsgrenze für die Formaldehydkondensate lag bei Auswertung des Fluoreszenzsignals nach DIN 32 645 [DIN 32 645, 1994] bei 1 µg/l. Dabei wurde Gesamtfläche dieses Produkts im Chromatogramm bestimmt.

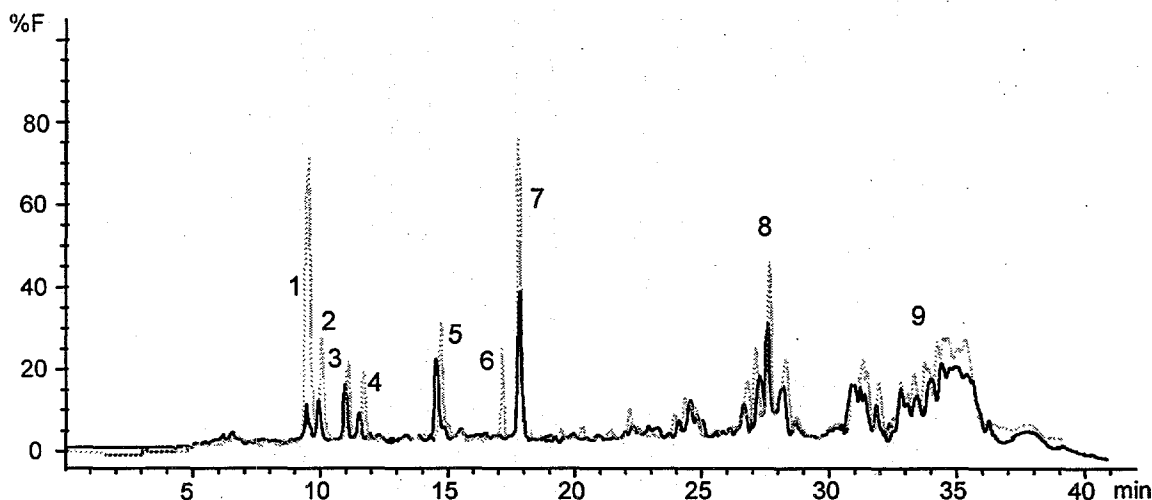


Abb. 78 Chromatogramme einer undotierten (durchgezogene Linie) und der dazugehörigen aufgestockten Abwasserprobe (gepunktete Linie) eines Kläranlagenablaufes (RP-C8-Säule; Fluoreszenzdetektion). 1: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; 2: Naphthalin-1,5-disulfonsäure; 3, 4, 5: unbekannte monomere Sulfonsäuren auch im technischen NSFK-Standard vorhanden; 6: Naphthalin-1-sulfonsäure (hier nicht nachweisbar); 7: Naphthalin-2-sulfonsäure; 8: dimeres NSFK; 9: trimeres NSFK

Nachweis und Quantifizierung von monomeren Sulfonaten und von Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensaten in Abwasserproben

In den Abläufen kommunaler Kläranlagen wurden von den monomeren aromatische Sulfonaten ausschließlich diejenigen Substanzen identifiziert, die auch im technischen Standard des Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensates enthalten waren. Zudem konnten Homologe und Stellungsisomere des dimeren und trimeren Kondensates nachgewiesen werden. Mögliche Eintragspfade dieses Kondensationsproduktes resultieren aus seiner

Verwendung als Dispersions- und Betonzusatzmittel. Die identifizierten Sulfonate sind mit ihren Konzentrationen in Tab. 25 zusammengefasst.

Tab. 25 Konzentrationen von aromatischen Sulfonaten in Abwasserproben kommunaler Kläranlagenabläufe (pos.: positiv; Konz.: Konzentration)

Substanz	Zahl der Messwerte	Zahl der pos. Befunde	Median Konz. [µg/l]	Höchste Konz. [µg/l]
Naphthalin-2,6-disulfonsäure	6	5	0,13	0,17
Naphthalin-1,5-disulfonsäure	6	6	0,32	0,44
Naphthalin-1-sulfonsäure	6	2	0,15	0,3
Naphthalin-2-sulfonsäure	6	6	1,45	1,57
NSFK ¹	6	6	0,52	0,71

¹Dimeres und trimeres Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehydkondensat; die Quantifizierung stellt lediglich eine Abschätzung dar (siehe Kapitel 7.3.1)

Eine Ausnahme bildet der Ablauf der kommunalen Kläranlage, die mit Abwasser einer Textilfärberei belastet ist. In den Proben sind zusätzlich 3-Nitrobenzolsulfonsäure und 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure nachweisbar (siehe Abb. 79). Die Konzentrationen sind verglichen mit den anderen Abwasserproben deutlich höher, aber stark schwankend (siehe Tab. 26). Die schwankenden Konzentrationen sind in der Technik der Textilfärberei begründet. Die Färbung von Stoffen verläuft in kleineren Betrieben chargenweise. Schwankungen in den Konzentrationen der Abwasserproben sind auch durch Sammlung von Tagesmischproben nicht zu vermeiden. Das Auftreten von 3-Nitrobenzolsulfonsäure in diesen Abwasserproben ist auf die Verwendung als mildes Oxidationsmittel in Textilfärbeprozessen zurückzuführen. Damit sollen Reaktivfarbstoffen vor einer Reduktion in der Färbeflotte geschützt werden. Bei 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure handelt es sich sehr wahrscheinlich um ein Abbauprodukt eines Azofarbstoffs. Bekanntlich beruht die anaerobe Entfärbung der Azofarbstoffe auf der Spaltung der Azogruppe, wodurch bei sulfonierten Farbstoffen aromatische Aminosulfonate entstehen [Fiehn, 1997]. Offensichtlich werden zu Textilfarbstoffen auch kondensierte Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehydkondensate als Dispersionsmittel zugesetzt. Nur dadurch sind die vergleichsweise hohen Mengen an diesen Kondensaten zu erklären.

Tab. 26 Konzentrationen von aromatischen Sulfonaten in Abwasserproben einer kommunalen Kläranlage mit einer Textilfärberei als Indirekteinleiter (pos.: positiv; Konz.: Konzentration; nn.: nicht nachweisbar; nb.: nicht bestimmt)

Verbindung	Messung 1 [µg/l]	Messung 2 [µg/l]	Messung 3 [µg/l]
Naphthalin-2,6-disulfonsäure	0,5	0,8	1,6
Naphthalin-1,5-disulfonsäure	2,0	7,0	6,0
2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure	nb.	9,2	39,3
3-Nitrobenzol-sulfonsäure	nn.	7,0	266,3
Naphthalin-1-sulfonsäure	nn.	nn.	nn.
Naphthalin-2-sulfonsäure	0,5	nn.	5,6
NSFK ¹	nb.	nb.	5,3

¹ Abschätzung aus der Gesamtfläche der dimeren und trimeren Produkte, unter der Näherung, dass die Quantenausbeuten für alle Isomeren und Homologen gleich sind.

Mehrfach sulfonierte Substanzen wie die identifizierten Disulfonsäuren sind zwar schwer abbaubar, aber in den Konzentrationen, in denen sie in den untersuchten Abwasserproben vorkommen, toxikologisch nicht relevant. Die einfach sulfonierten Verbindungen wie Naphthalin-2-sulfonsäure werden biologisch abgebaut (siehe Kapitel 1.3.2.4). Naphthalin-2-sulfonsäure ist nur aufgrund der verglichen mit den Disulfonaten weitaus höheren Eintragsmenge als Monomer der Formaldehydharze noch im Ablauf von Kläranlagen zu finden. Die Konzentrationen im Abwasser sind aber ebenfalls unbedenklich. Über die Toxizität und Ökotoxizität der Kondensationsprodukte sind bisher keine Untersuchungen veröffentlicht. Sie gelten als schwer abbaubar.

Nachweis von Farbstoffmetaboliten in Proben des Ablaufes einer kommunalen Kläranlage mit einer Textilfärberei als Indirekteinleiter

Zudem konnten in den Eluaten nach der Ionenpaaranreicherung farbige Metaboliten von Reaktivfarbstoffen nachgewiesen werden. Das Chromatogramm einer Abwasserprobe dieses Ablaufs zeigt Abb. 79, in dem beispielhaft die UV-Spur bei 470 nm dargestellt ist, die Peaks von Metaboliten mit einer orangen bis roten Farbe zeigt.

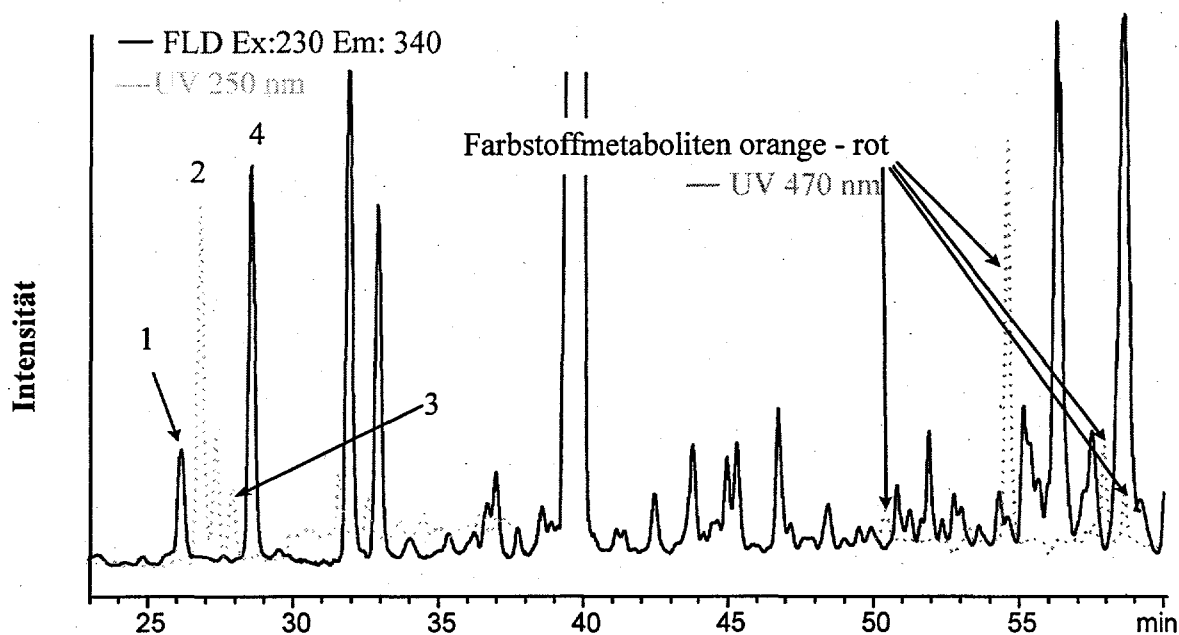


Abb. 79 Chromatogramm einer Abwasserprobe einer Kläranlage mit einer Textilfärberei als Indirekteinleiter (Hypersil-RP-C18-Säule). 1: Naphthalin-2,6-disulfonsäure; 2: 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure; 3: Nitrobenzolsulfonsäure; 4: Naphthalin-1,5-disulfonsäure

Die UV-Spektren der farbigen Substanzen sind den Spektren der hydrolysierten Reaktivfarbstoffe sehr ähnlich. Die Reaktivfarbstoffe gelangen nach dem Färbeprozess in dieser Form in hohen Konzentrationen mit der Restflotte ins Abwasser. In der biologischen Stufe der Kläranlage findet nur ein teilweiser Abbau statt. Der größte Teil der Hydrolyseprodukte der Farbstoffe wird über Flockung eliminiert. Eine Restmenge ist aber im Ablauf noch vorhanden. Bei den zehn detektierten Substanzen handelt es sich offensichtlich um Metaboliten, bei denen durch bakteriellen Abbau nur Seitengruppen abgespalten wurden, die zwar eine Verschiebung der Absorptionsmaxima hervorrufen können, aber generell keinen Einfluss auf die Farbigkeit haben. Die Veränderung der Struktur durch Hydrolyse und teilweisen bakteriellen Abbau macht eine Identifikation der Substanzen aufgrund ihrer komplexen Struktur sehr schwierig. Zudem werden bei einem Färbeprozess eine Vielzahl verschiedener Farbstoffe eingesetzt, die ihrerseits wiederum mehrere Komponenten enthalten, die sich chromatographisch trennen und mit UV-Detektion nachweisen lassen, so dass im Abwasser hunderte von Komponenten auftreten, die chemisch oder biologisch umgewandelt werden. Zwei Komponenten, die nach der Hydrolyse biologisch nicht weiter abgebaut wurden, konnten beim Vergleich ihrer UV-Spektren und Retentionszeiten mit denen von hydrolysierten Reaktivfarbstoffkomponenten eindeutig zugeordnet werden. Die Hydrolyseprodukte von 14 gängigen Reaktivfarbstoffen wurden durch Aufkochen der Farbstofflösungen unter Zugabe

von Natronlauge erhalten. In Abb. 80 sind die Spektren beider Hydrolyseprodukte abgebildet, die zweifelsfrei Reaktivfarbstoffen zuzuordnen waren. Eine exakte Quantifizierung durch Kalibration ist aufgrund obiger Ausführungen nicht möglich. Eine Abschätzung durch Vergleich der UV-Absorption der getrennten farbigen Metaboliten mit denen der Hydrolyseprodukte wurde unter der Annahme, dass alle bei der Hydrolyse entstehenden Produkte ein Absorptionssignal liefern und sich mit HPLC-DAD nachweisen lassen, durchgeführt. Dabei ergaben sich Konzentrationen zwischen 1 und 10 µg/l. Die toxikologische Relevanz solcher gefärbter Metaboliten wurde von Fiehn festgestellt [Fiehn, 1997].

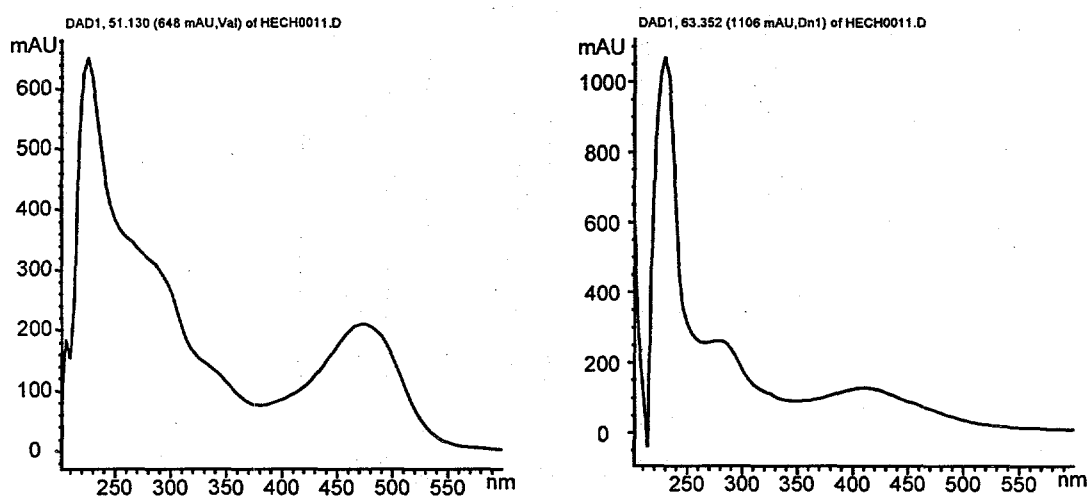


Abb. 80 Spektrum eines Hydrolyseproduktes von Cibacron Orange (links) und von Drimaren Gelb (rechts)

7.4 Zusammenfassung

Es wurden zwei Verfahren zur Festphasenanreicherung aromatischer Sulfonate getestet und auf Abwasserproben kommunaler Kläranlagenabläufe optimiert. Die Anreicherung auf graphitierten Aktivkohlekartuschen ist für die Bestimmung niedermolekularer Substanzen sehr gut geeignet, weil Huminstoffe bei der Elution auf der Phase adsorbiert bleiben und deshalb bei der Messung des Eluats nicht stören. Verbindungen mit Molmassen größer ca. 400 amu können von der Phase nicht eluiert werden. Zur Bestimmung von Reaktivfarbstoffen und kondensierten aromatischen Sulfonaten wurde deshalb die Ionenpaarextraktion eingesetzt. Aufgrund der hohen Huminstoffgehalte im Eluat können mit dieser Methode monoaromatische Sulfonate wegen der Überlagerung ihrer UV-Absorptionsbanden nicht erfasst werden. Ansonsten konnten aber mit dieser Methode hohe Wiederfindungsraten erzielt werden. Die

Trennung der aromatischen Sulfonate erfolgte mittels Ionenpaarchromatographie unter Verwendung verschiedener organischer Modifizier und RP-Phasen.

In den Abwasserproben von kommunalen Kläranlagen konnten in der Regel nur monomere und oligomere aromatische Sulfonate gefunden werden, die auch in einem technischen Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensat identifiziert wurden, das unter anderem als Betonzusatzmittel und als Dispersionsmittel Verwendung findet. In den Proben des Ablaufes einer Kläranlage, die mit Abwasser einer Textilfärberei belastet ist, waren diese Substanzen in weitaus höheren Mengen enthalten. Zudem wurden für diese Proben spezifisch 3-Nitrobenzolsulfonsäure und 2-Aminonaphthalin-1,5-disulfonsäure und farbige Metaboliten von Reaktivfarbstoffen identifiziert, die Reststoffe aus dem Färbeprozess darstellen. Während sulfonierte Naphthaline und Benzole in den ermittelten Konzentrationen keine toxikologische und ökotoxikologische Relevanz haben, muss bei den farbigen Metaboliten der Azofarbstoffe von einer toxischen Wirkung auf Organismen ausgegangen werden.

8 Bestimmung von Aniontensiden mit HPLC-ESI-MS/MS

8.1 Vorteile von HPLC-MS/MS gegenüber herkömmlichen Methoden in der Tensidanalytik

Bisher wurden zur Bestimmung von Aniontensiden in der Umweltanalytik hauptsächlich Gaschromatographie mit massenselektiver Detektion, Flüssigchromatographie mit UV-, Fluoreszenz- und Leitfähigkeitsdetektion zur Analyse von Einzelkomponenten und zur summarischen Erfassung das nach DIN 38409 H 23 genormte Verfahren zur Bestimmung der methylenblauaktiven Substanzen eingesetzt.

Doch auch die HPLC-ESI-MS-MS-Kopplung ist für den Nachweis der Aniontenside bestens geeignet. Bisher wurden aber zur Einzelsubstanzbestimmung von Tensiden verglichen mit den herkömmlichen Methoden nur wenige Arbeiten veröffentlicht, in denen die LC-MS-Kopplung angewendet wurde [Schröder, 1992] [Rivera u. a., 1987] [Kim u. a., 1991] [Matthijs, 1995] [Popenoe u. a., 1994] [Mazo, 1997] [Efer u. a., 1997]. Auffallend ist, dass die LC-MS-Kopplung meist nur zur Identifizierung genutzt wurde, selten aber eine Quantifizierung der Tenside erfolgte.

Aufgrund der Selektivität der Detektion können mittels der HPLC-ESI-MS-MS-Kopplung korrelierende Homologe verschiedener Tensidgruppen unterschieden werden. Damit ist die Bestimmung aller bekannten Aniontenside in einem Analysenschritt möglich. Zudem kann

auf einen "lean-up" zur Abtrennung von Matrixbestandteilen wie Huminstoffe verzichtet werden. Eine schnelle, sehr empfindliche Nachweismethode steht damit zur Verfügung.

Mit substanzklassenspezifischer Bestimmung nach den Deutschen Einheitsverfahren werden lineare Alkylbenzolsulfonate (LAS), Alkylsulfate (AS) und Alkylethersulfate (AES) vollständig erfasst. Sekundäre Alkylsulfonate (SAS) zeigen dagegen nur Wiederfindungsraten von ca. 70 Prozent [Schröder, 1992]. Verglichen mit der LC-MS-Kopplung ist die Nachweisgrenze um zwei bis drei Zehnerpotenzen höher. Es muss erheblich mehr Zeit für die Messung einer Probe aufgewendet werden. Zudem ist bei der summarischen Erfassung gegenüber der substanzspezifischen Bestimmung die Aussagekraft der Messergebnisse stark reduziert. Man erhält weder Informationen über die Anteile der einzelnen Stoffgruppen noch über die Homologenverteilung. Erst durch diese Daten sind Rückschlüsse auf die biologische Abbaubarkeit der Tensidgruppen sowie auf die in der Kläranlage ablaufenden Eliminierungsprozesse und die Identifizierung schwer abbaubarer Spezies möglich.

8.2 Experimenteller Teil

8.2.1 *Material, Chemikalien und Geräte*

Verwendete Materialien

HPLC-Analysensäule: Luna C18(2), 100 x 2 mm, Partikelgröße 3 µm	Phenomenex, Hösbach
--	---------------------

Verwendete Chemikalien

Acetonitril, Gradient Grade	Best.-Nr. 8143, Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, NL
Ammoniumacetat, p.A.	Best.-Nr. 1.01116.1000, Merck, Darmstadt
Ameisensäure p.A.	Best.-Nr. 1.00264.1000, Merck, Darmstadt
Formalin (Formaldehydlösung mind. 35%ig)	Best.-Nr. 4001.1000, Merck, Darmstadt

Industrielle Tensidstandards

Marlon ARL: Gemisch aus linearen Alkylbenzolsulfonsäuren	Hüls, Marl
Marlon PS 60: Gemisch aus sekundären Alkylsulfonaten	Hüls, Marl
Marlinat 242/70: Gemisch aus Alkohol sulfaten und Alkoholethoxylaten	Hüls, Marl
3-p-Sulfophenylbuttersäure	J. Tolls [Tolls, 1998]

2-p-Sulfophenylbuttersäure

J. Tolls [Tolls, 1998]

3-p-Sulfophenylpropionsäure

J. Tolls [Tolls, 1998]

Verwendete Geräte

HPLC Serie 1100

Hewlett Packard, Waldbronn

Tripel Quadrupol-Massenspektrometer API 360

Perkin-Elmer-Sciex

8.2.2 Chromatographie

Für die chromatographische Trennung der Sulfophenylcarboxylate und der verschiedenen Aniontensidgruppen wurden folgende Bedingungen gewählt:

Injektionsvolumen: 250 µl

Lösungsmittelgradient:

A: Acetonitril

B: 3 mM Ammoniumacetatlösung angesäuert mit Ameisensäure auf pH 2

Zeit	[%] A
0	60
5	60
18	85
19	100
24	100
25	60

8.2.3 Detektion

Die Identifizierung der Tenside wurde an einem Tripel-Quadrupol-Massenspektrometer API 360 (PE-Sciex) durchgeführt. Die Substanzen wurden im Negativ-Modus mit "Multiple Reaction Monitoring" (MRM) detektiert.

Als Standards wurden technische Homologengemische der 4 untersuchten Tensidklassen und 3 synthetisierte isomerenreine Standards der Sulfophenylcarboxylate eingesetzt. Aufgestockt wurde um 1, 2, 4, 8, 16 und 32 µg/l je Standard. Die Konzentrationen beziehen sich bei den Tensidstandards auf den vom Hersteller angegebenen Anteil an waschaktiver Substanz, der in den Produktdatenblättern zu finden ist.

8.2.4 Probennahme und -konservierung

Es wurden zu verschiedenen Tageszeiten Stichproben von Zu- und Ablaufproben des Lehr- und Forschungslärbetriebes Bilsnau und Tagesmischproben von Abläufen weiterer vier kommunaler Kläranlagen im Raum Stuttgart gesammelt. Bei den Tagesmischproben wurde darauf geachtet, dass die Proben im Sammler gekühlt wurden. Sofort bei Erhalt der Proben wurden diese zur Konservierung mit Formalinlösung (1 Volumenprozent) versetzt. Die konservierten Proben wurden bei 4°C im Kühlschrank gelagert und möglichst rasch vermessen.

8.3 Ergebnisse und Diskussion

8.3.1 Bestimmung der Mengenverteilung der Homologen in den technischen Standards

Als Referenzsubstanzen standen keine Reinsubstanzen sondern technische Standards zur Verfügung, die ein Gemisch aus Homologen und Stellungsisomeren darstellen. Um die Einzelspezies in Abwasserproben identifizieren zu können, muss die Massenverteilung in den technischen Tensidstandards, die als Rohprodukte für die Herstellung aller tensidhaltigen Produkte Verwendung finden, bekannt sein. Da bei dieser Untersuchung die Konzentration jedes Homologen bestimmt werden sollte, ist für den Einsatz der technischen Produkte als Standard zudem die Bestimmung der Mengenverteilung der Homologen notwendig (Tab. 27). Die Ermittlung erfolgte mittels Direktinjektion von Standardlösungen in Methanol/Wasser 50:50 am ESI-MS, das im Scan-Modus betrieben wurde. Die Massenspektren sind in Abb. 81 ESI-Massenspektren von technischen Tensidstandards im Scan-Modus dargestellt.

Tab. 27 Prozentuale Mengenverhältnisse der Homologen in verschiedenen Mischstandards

LAS ¹	C 10: 13,2 %	C 11: 36,0 %	C 12: 32,8 %	C 13: 18,1 %
AES ²	1/12: 18,4 %	2/12: 13,5 %	3/12: 8,8 %	4/12: 6,5 %
AS: ¹	C 12: 16,8 %	C 14: 8,3 %	C 16: 1,6 %	
SAS ¹	C 14: 33,7 %	C 15: 24,7 %	C 16: 29,5 %	C 17: 12,2 %

¹ C n: Länge der Alkylkettenlänge des jeweiligen Homologen

² n/m: Zahl der Ethoxylateinheiten des Homologen / Länge der Alkylkette des Homologen

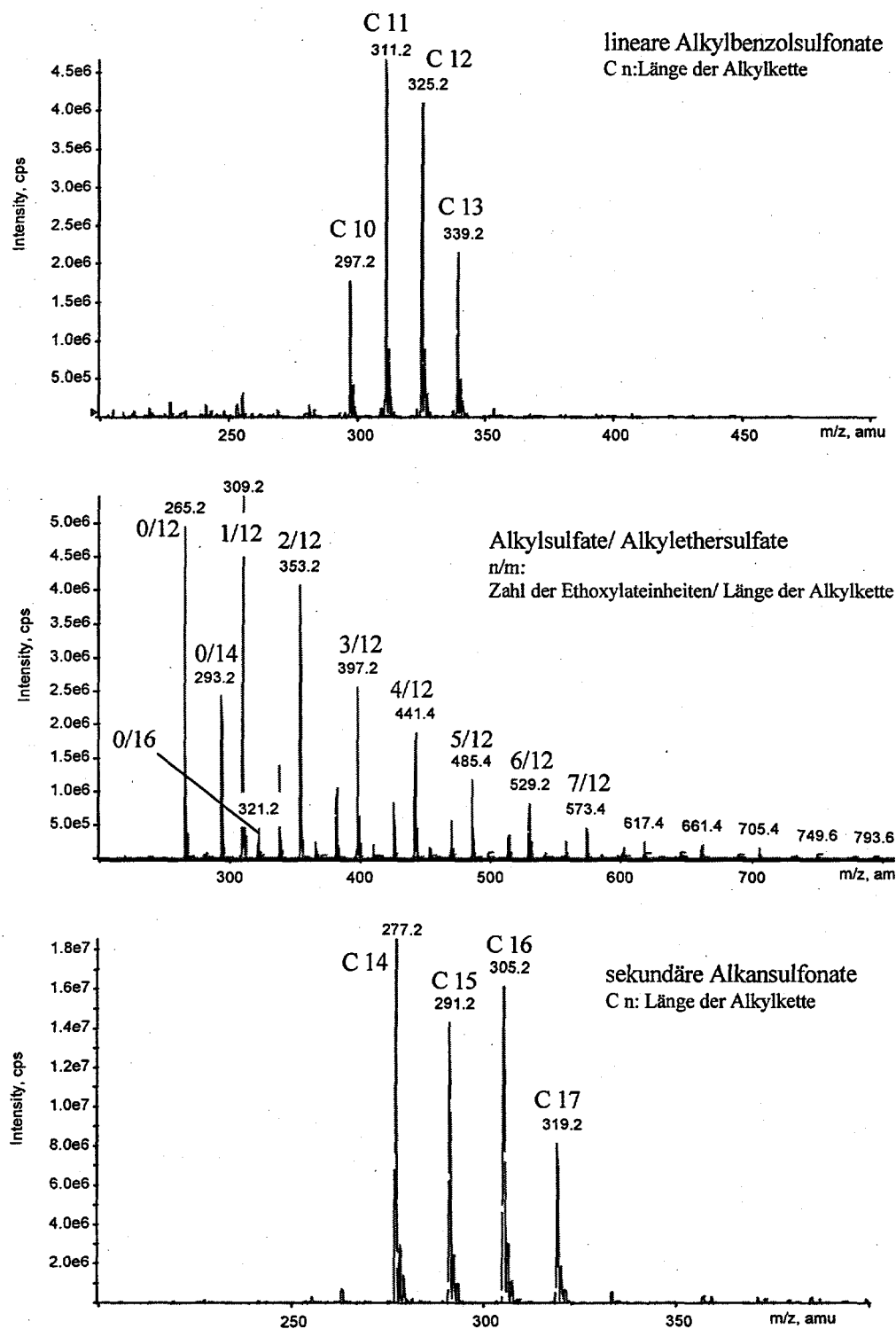


Abb. 81 ESI-Massenspektren von technischen Tensidstandards im Scan-Modus

8.3.2 Identifizierung und Quantifizierung von Tensiden und Sulfophenylcarboxylaten

Das HPLC-ESI-MS-MS-Chromatogramm einer aufgestockten Abwasserprobe eines Kläranlagenablaufs ist in Abb. 82 dargestellt. Der Vergleich des "Totalionenchromatogrammes" mit den Chromatogrammen der Übergänge von Elternionen zu den Produktionen für die einzelnen Substanzklassen zeigt deutlich, dass aufgrund der Selektivität des Detektors trotz Koe-lution der Homologen der verschiedenen Gruppen eine Identifizierung und Quantifizierung ohne Probleme möglich ist. Die Nachweisgrenzen des Verfahrens lagen aufgrund der Selektivität und Empfindlichkeit des Detektors für jedes Homologe bei 0,03 µg/l und die Bestimmungsgrenze kleiner 0,1 µg/l, ohne dass eine Anreicherung nötig war. Die Werte wurden nach DIN 32645 bei einem Vertrauensbereich von 99 Prozent berechnet [DIN 32 645, 1994].

Die Konzentration der Detergentien in den Abwasserproben des Zu- und Ablaufes des Lehr- und Forschungsklärwerkes Büsnau sind in Tab. 28 aufgelistet.

Tab. 28 Konzentrationen der bedeutendsten Anionensidgruppen in Abwasserproben des Zu- und Ablaufes des Lehr- und Forschungsklärwerkes Büsnau

Anionensidklasse	KA-Zulauf [mg/l]	KA-Ablauf [µg/l]
LAS	2 - 3,5	2 - 10
SAS	0,1 - 0,2	1 - 4
AS	0,02 - 0,05	1
AES	0,1 - 0,2	1

Betrachtet man die Eliminationsraten der Kläranlage Büsnau lagen die Werte für jede Tensidgruppe bei allen Messungen über 95 Prozent, in der Regel sogar weit darüber.

Von weiteren 4 kommunalen Kläranlagen wurden die Kläranlagenabläufe beprobt. Die Ergebnisse sind in Tab. 29 zusammengefasst.

Die Gesamtkonzentrationen an AES wurden, da nur die Homologen mit Alkylkettenlängen von 12 Kohlenstoffatomen bestimmt wurden, aus den Mengenverhältnissen der Homologen im technischen Standard errechnet. Dies schien zulässig, weil die Mengenverhältnisse der Homologen im AS-Standard und im Ablauf der Kläranlagen sich nicht signifikant unterschieden und damit die Länge der Alkylkette offensichtlich keinen entscheidenden Einfluss auf die Eliminationsrate hat.

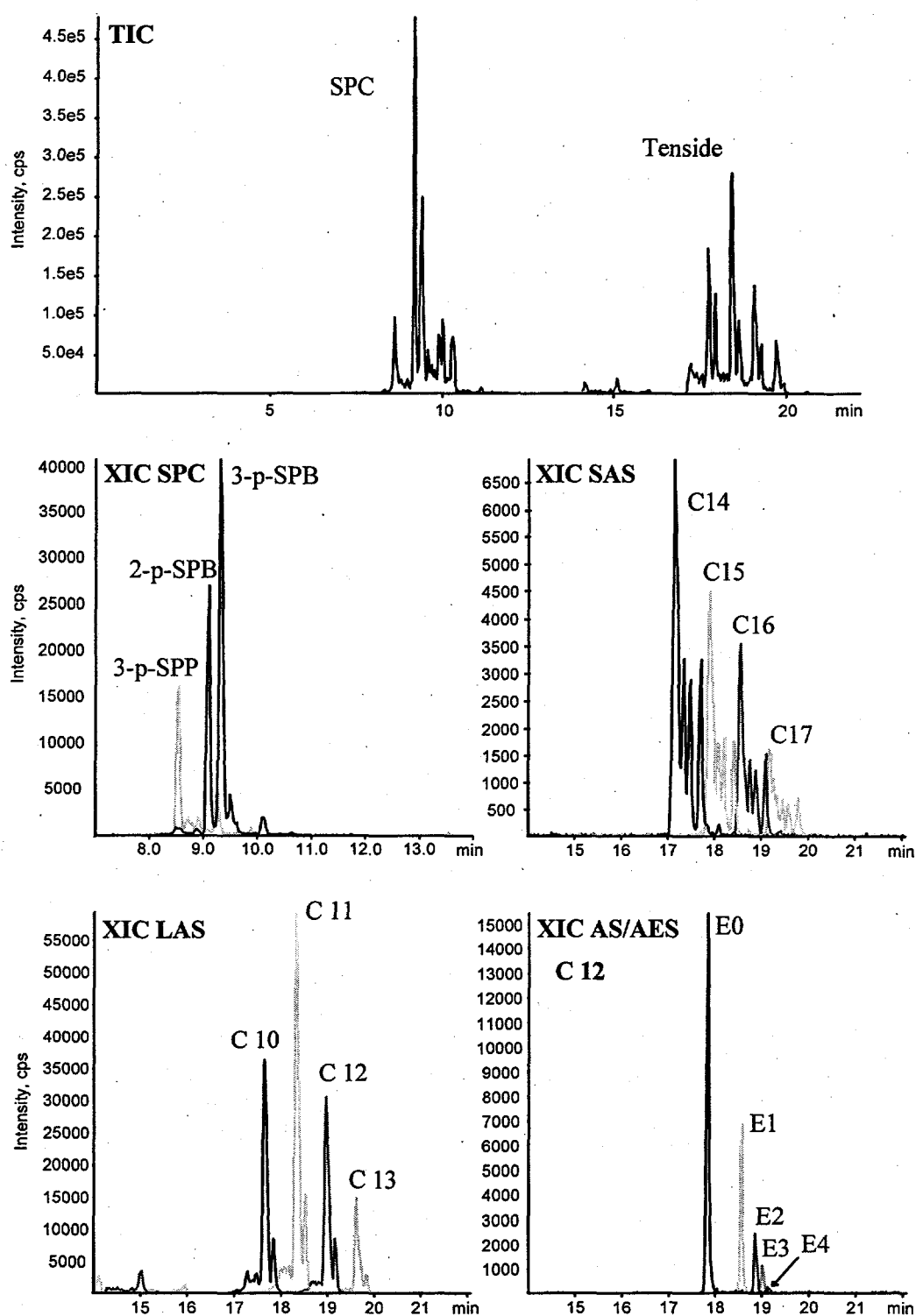


Abb. 82: TIC- und Extracted-Ion-Chromatogramme einer um 16 µg/l je Tensid- und Sulfophenylcarboxylatstandard aufgestockten Abwasserprobe eines kommunalen Kläranlagenablaufs

Tab. 29 Konzentrationen der bedeutendsten Anionensidgruppen und der Sulfophenylcarboxylat in Abwasserproben von Abläufen kommunaler Kläranlagen

Substanz	Zahl der Messwerte	Zahl der pos. Befunde	Median Konz. [µg/l]	Höchste Konz. [µg/l]
3-p-Sulfophenylpropionsäure	4	0	-	-
2-p- Sulfophenylbuttersäure	4	0	-	-
3-p-Sulfophenylbuttersäure	4	4	2,55	7,78
LAS	4	4	25,95	57,03
SAS	4	4	6,72	17,07
AS	4	4	0,86	2,4
AES	4	4	2,51	5,52

Vergleicht man die gemessenen Konzentrationen mit den Werten der PNEC für LAS und rechnet einen Verdünnungsfaktor von 10 im Vorfluter mit ein, lagen die Werte in der Summe aller Tensidgruppen um mehr als den Faktor 10 unterhalb der umweltrelevanten Konzentration. Die Tenside stellen aber trotzdem einen vergleichsweise hohen Anteil am AOS dar. Die Konzentrationen lagen im Bereich der Messwerte von Abwasserproben kommunaler Kläranlagenabläufe, die in anderen Untersuchungen veröffentlicht wurden (Kapitel 1.3.2.3).

Vergleicht man die Homologenverteilung in den technischen Standards und in den Abwasserproben nach der biologischen Reinigung, ergibt sich für die beprobten Kläranlagen kein einheitliches Bild. Für die LAS war die Verteilung in einigen Proben und die im Standard sehr ähnlich, in anderen Proben war der Eliminierungsgrad für die höheren Homologen größer. Ein größerer Eliminierungsgrad für höhere LAS-Homologe wird auch in der Literatur beschrieben. Dieser wird auf höhere Adsorptionsraten der Homologen mit längeren Alkylresten an Partikel, die sich spätestens im Nachklärbecken weitestgehend absetzen, zurückgeführt. Vermutlich hat die unterschiedliche Betriebsführung der Anlagen, die sich auf das Alter und damit auf die Eigenschaften des Belebtschlammes auswirken, Einfluss auf die Adsorptionsraten. Dadurch dürfte sich auch die Homologenverteilung in den Abläufen der Anlagen ändern. Für die SAS ist bezüglich dieser Verteilung kein Trend zu erkennen, während für die AS und AES die Homologenverteilung derjenigen im eingesetzten Standard entsprach.

Von den drei als Standardsubstanzen zur Verfügung stehenden Sulfophenylcarboxylaten, die als Abbauprodukte von den LAS bekannt sind, wurde nur die 3-p-Sulfophenylbuttersäure nach der Aufstockung identifiziert. Allerdings wurden zu ähnlichen Retentionszeiten Peaks von Substanzen detektiert, deren Molekülmassen denen der isomeren Sulfophenylpropionsäuren, Sulfophenylbuttersäuren und Sulfophenylvaleriansäuren entsprechen. Die Peakflä-

chen waren mit denen der 3-p-Sulfophenylbuttersäure vergleichbar. Somit sind mit hoher Wahrscheinlichkeit in den Abwasserproben der Kläranlagenabläufe weitere Sulfophenylcarboxylate in ähnlichen Konzentrationen wie die 3-p-Sulfophenylbuttersäure enthalten. Die hier nachgewiesenen Metabolite entstehen durch bakteriellen Abbau der LAS durch dreifache bzw. vierfache β -Oxidation der Alkylkette. Für eine umfassende Untersuchung der Sulfophenylcarboxylatmetaboliten müßten auch noch höhere Homologe, die nach der ersten und zweiten β -Oxidation entstehen, miteinbezogen werden. Es konnte aber gezeigt werden, dass diese LAS-Metaboliten eine weitere polare Substanzklasse darstellen, die in vergleichsweise hohen Konzentrationen im Abwasser kommunaler Kläranlagenabläufe vorkommen und somit zum AOS dieser Proben beitragen. Diese Substanzen sind aber nicht von hoher toxikologischer Relevanz, da die hydrophobe Alkylkette weitgehend abgebaut ist und diese Substanzen daher keine oberflächenaktiven Eigenschaften mehr aufweisen.

8.4 Zusammenfassung

Aufgrund der Empfindlichkeit und Selektivität von HPLC-ESI-MS-MS war es möglich in Abwasserproben des Kläranlagenablaufs ohne weitere Probenvorbereitungsschritte, wie Cleanup oder Festphasenanreicherung, die bedeutendsten Aniontenside in einem Analysenschritt zu identifizieren und zu quantifizieren. Damit steht für die Analytik der Aniontenside eine sehr schnelle und wenig arbeitsaufwendige Methode zur Verfügung.

Die im Rahmen dieser Untersuchung gemessenen Konzentrationen der Tensidgruppen in Abwasserproben des Kläranlagenablaufs sind ökotoxikologisch unbedenklich. Aufgrund der hohen Konzentrationen im Abwasser des Kläranlagenzulaufs stellen die Aniontenside aber eine Substanzklasse dar, die weiterhin überwacht werden muss.

Zudem konnte gezeigt werden, dass Sulfophenylcarboxylate in vergleichsweise hohen Konzentrationen im Abwasser kommunaler Kläranlagen vorkommen und damit eine weitere Klasse von polaren Verbindungen identifiziert wurde, die zum AOS dieser Proben beitragen.

9 Untersuchungen zur Eliminierung von organischen Spurenstoffen

Die gefundenen Konzentrationen an unterschiedlichen Pharmaka im Ablauf kommunaler Kläranlagen (Kapitel 5.1) lassen darauf schließen, dass die nachgewiesenen Medikamentenrückstände teilweise schlecht abbaubar sind. In Tab. 30 sind die Ergebnisse von 5 Zulauf- und Ablaufproben von verschiedenen Kläranlagen bzw. unterschiedlichen Probennahmetagen aufgeführt. Die in Einzelfällen höheren Ablaufkonzentrationen im Vergleich zu den Zulaufkonzentrationen können durch die nicht zeitversetzte Probennahme erklärt werden. Zur Bestätigung dieser mit GC-MS erzielten Ergebnisse wurden Abbauversuche mit HPLC-MS-MS von einigen der in Kapitel 5 nachgewiesenen organischen Spurenverbindungen durchgeführt.

Tab. 30 Zu- und Ablaufkonzentrationen von Pharmaka im kommunalen Abwasser

	Mühlhausen 9.10.97		Fellbach 27.11.97		Fellbach 5.3.98		Mühlhausen 19.3.98		Hoheneck 26.3.98	
	Zulauf	Ablauf	Zulauf	Ablauf	Zulauf	Ablauf	Zulauf	Ablauf	Zulauf	Ablauf
	ng/l	ng/l	ng/l	ng/l	ng/l	ng/l	ng/l	ng/l	ng/l	ng/l
Carbamazepin	1840	1010	1700	970	1190	1320	2380	390	2380	900
Crotamiton	nicht quantifiziert		nicht quantifiziert		260	130	170	n.n.	n.n.	n.n.
Dihydrocodein	1960	710	5040	3590	3490	2230	1060	400	1420	1130
Hydrocodon	n.n.	n.n.	450	1940	n.n.	770	n.n.	440	n.n.	n.n.
Pentoxifylline	360	n.n.	580	< NG	470	230	350	n.n.	270	160
Primidon	540	160	270	250	580	610	500	n.n.	680	410
Propyphenazon	130	120	390	200	340	340	360	110	230	420

n.n. nicht nachweisbar; NG Nachweisgrenze

Um Aufschluss über das aerobe biologische Abbauverhalten von Einzelverbindungen in der Kläranlage zu erhalten, werden im allgemeinen Abbautests in Form von Standversuchen, wie z. B. dem Zahn-Wellens-Test, mit dem auf 'inhärente Abbaubarkeit' nach OECD geprüft wird, eingesetzt [Schönberger, 1991]. Die Abnahme eines Stoffes wird bei den verschiedenen Modifikationen des Zahn-Wellens-Testes über die DOC-Abnahme verfolgt. Der DOC als Summenparameter ist ein stoffunspezifischer Parameter mit dem Konzentrationen größer 0,3 mg /l C erfasst werden [DIN EN 1484]. Die Substanzkonzentration der Testverbindung wird in der Regel so gewählt, dass die Anfangskonzentration an gelöstem organischem Kohlenstoff zwischen 50 mg/l und 400 mg/l liegt. Bei der DOC-Messung ist zu berücksichtigen, dass nicht nur die Testsubstanz zum DOC beiträgt, sondern auch das Medium und das

Inoculum. Bei den gängigen Standversuchen ist die DOC-Konzentration des Mediums bezogen auf ein reales Abwasser im Belebungsbecken sehr niedrig, und die eingesetzte Testkonzentration ist wesentlich höher als die tatsächliche Konzentration im Belebungsbecken einer Kläranlage. Nur unter diesen nicht real vorkommenden Bedingungen ist die DOC-Messung einsetzbar [Pagga, 1995].

Untersuchungen zur Elimination von Pharmaka in umweltrelevanten Konzentrationen erfordern eine stoffspezifische Analytik. Die gängigen Verfahren in der organischen Spurenanalytik sind Gaschromatographie (GC) und Flüssigkeitschromatographie (HPLC), verbunden mit einer vorherigen Anreicherung des Analyten aus einem größeren Probenvolumen. Bei Standversuchen ist das Gesamtvolumen im Batchreaktor in der Regel auf wenige Liter begrenzt. Das Probenentnahmevolumen für die Analytik während eines Versuches kann nicht beliebig erhöht werden, ohne die Zusammensetzung des Ansatzes nachhaltig zu stören. Das Anreicherungs-volumen für die Einzeluntersuchungen ist deshalb im allgemeinen auf wenige Milliliter limitiert, was bei der Auswahl des Analysenverfahrens respektive dessen Empfindlichkeit zu berücksichtigen ist. Eine Kopplung von HPLC mit einem massenselektiven Detektor ist für diese Aufgabenstellung besonders vorteilhaft. Zum einen ist mit HPLC-MS in Kombination mit Electrospray-Ionisierung die Analyse direkt aus der Matrix Wasser und ohne Derivatisierung möglich, zum anderen kann über MS-MS eine ausreichende Selektivität und Empfindlichkeit erreicht werden. Um die Elimination von Einzelverbindungen in umweltrelevanten Konzentrationen im Kontakt mit belebtem Schlamm on-line zu erfassen, wurde daher ein Batchreaktor eingesetzt und die Detektion mit einem Tripelquadrupolmassenspektrometer durchgeführt.

9.1 Material und Methoden

9.1.1 Geräte

Massenspektrometer API 365 der Firma PE-Sciex, Thornhill, Canada,
mit ESI-Quelle bzw. Heated Nebulizer (APCI) Interface.

HPLC 1100 der Firma Hewlett Packard, Waldbronn.

HPLC-Säule: Microbore Säule LUNA 100 x 2 mm, 3 µm,
der Firma Phenomenex, Hösbach.

Pipettierroboter Gilson 232 XL der Firma Abimed, Langenfeld.

2 l Woulffsche-Flasche mit drei NS 29/32 Hälsen.

Magnetrührer, Membranpumpe

9.1.2 Inoculum und Medium

Als Inoculum wurde belebter Schlamm aus dem Belebungsbecken des Lehr- und Forschungsklärwerks Stuttgart-Büsnau mit einem Feststoffgehalt von ca. 4 g/l und einem Schlammvolumenindex von ca. 100 ml/g verwendet. Als Kohlenstoffquelle standen das Abwasser und die Testsubstanzen zur Verfügung. Bei einem großen Teil der Versuche wurde der belebte Schlamm mit Überstandswasser aus dem Belebungsbecken verdünnt.

9.1.3 Versuchsaufbau

Das HPLC-MS-Gerät wurde on-line mit einem Batchreaktor gekoppelt (Abb. 83). Als Batchreaktor wurde eine Woulffsche-Flasche mit einem Volumen von 2 Litern verwendet. Die Rührgeschwindigkeit wurde so eingestellt, dass der Schlamm nicht sedimentierte. Die Belüftung erfolgte als kontinuierliche Blasenbelüftung über eine Fritte. 10 min vor jeder Probenentnahme durch den Pipettierroboter wurde die Belüftung und der Rührer automatisch abgeschaltet, so dass sich der Schlamm absetzen konnte. 5 ml Probe wurden vom Pipettierroboter entnommen und über Glaswolle filtriert (1. Schritt). 2 ml des Filtrats wurden anschließend automatisch entnommen und über eine 500 µl Probenschleife des Autosamplers auf die HPLC Säule injiziert (2. Schritt). Die Probe wurde bei einer Eluentenzusammensetzung von 95 % wässrige Phase / 5 % organische Phase auf dem Säulenkopf angereichert. Die Trennung der Einzelsubstanzen auf der Säule wurde über den anschließenden Gradienten erzielt (Tab. 31).

Tab. 31 HPLC-Gradient (Lösungsmittel A: Wasser mit 5 mmol Ammoniumacetat, Lösungsmittel B: Acetonitril/Wasser (99:1) mit 5 mmol Ammoniumacetat)

Zeit [min]	Lösungsmittel B [%]	Fluß [ml/min]
0.20	5	0.300
9.00	80	0.300
10.00	100	0.300
12.00	100	0.300
13.00	100	0.600
14.00	5	0.600
16.00	5	0.300
20.00	5	0.300

Die Detektion erfolgte über das Tripelquadrupol-Massenspektrometer API 365 (3. Schritt). Als Ionenquelle wurde in der Regel das Turbo-Ion-Spray-Interface verwendet. Die Nadelspannung wurde auf +4800 V eingestellt und die Turbospray-Temperatur auf 400 °C. Die

Detektion der Einzelverbindungen erfolgte im Positivionen-Modus und wurde im MRM-Modus (Multiple Reaction Monitoring) mit Stickstoff als Kollisionsgas durchgeführt.

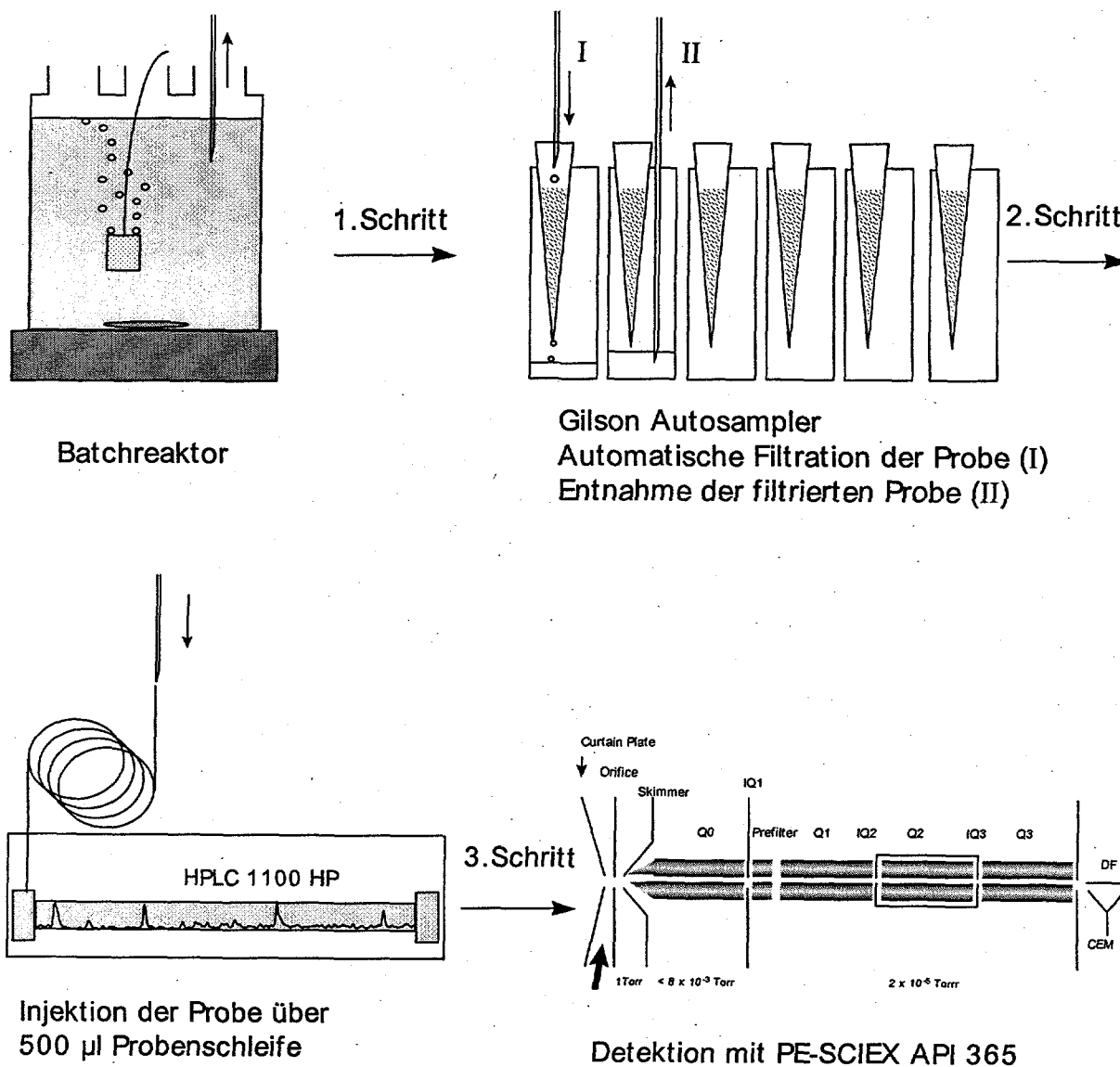


Abb. 83 Versuchsaufbau zur Untersuchung des Abbaus von Pharmaka durch belebten Schlamm mit HPLC-MS-MS

9.1.4 Testsubstanzen und Chemikalien

Abbauversuche wurden mit folgenden Substanzen durchgeführt: Acetamidophenol, Acetamidophenolglucuronid, Acetylaminoantipyrin, Carbamazepin, Carbamazepin-Diol, Carbamazepinepoxid, Coffein, Crotamiton, Cumarinderivat, Diclofenac, Dihydrocodein, Hydroco-

don, Pentoxifyllin, Primidon und Propyphenazon. Die Bezugsquellen und Reinheiten sind in Anhang 8 aufgeführt.

Das HPLC-Fließmittel Acetonitril in 'HPLC-gradient grade'-Qualität und Ammoniumacetat mit einer Reinheit von 98 % wurden von der Firma Merck (Darmstadt), bezogen.

Das als Fließmittel verwendete Wasser wurde über eine Reinstwasseranlage der Firma Barnstead (Nanopure-ultrapure-water-system) aufgereinigt und im Ultraschallbad entgast.

9.1.5 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die HPLC-MS-MS Methode

Die Quantifizierung der Verbindungen erfolgte nach MRM-Übergang über die einzelnen Produkt-Ionen, die in Tab. 32 aufgeführt sind. Zur Steigerung der Empfindlichkeit wurde der HPLC-MS-Lauf in drei Zeitfenster unterteilt. Im ersten Zeitfenster, mit einer Dauer von 4,5 min, wurde keine ESI-Nadelspannung angelegt. Die Messzeit konnte dadurch verlängert werden, da die Orifice weniger schnell verschmutzte. Die analytischen Grenzwerte (Tab. 32) wurden aus den linearen Kalibrierfunktionen nach DIN 32645 [DIN 32645] berechnet.

Tab. 32 Nachweis- (NG) und Bestimmungsgrenzen (BG) für die HPLC-MS-MS-Methode nach DIN 32645

	MRM- Übergänge	NG [µg/l]	BG [µg/l]
Acetamidophenol	152,1 - 110,0	0,4	1,3
Acetylamidoantipyrin	246,2 - 204,0	quadratische Funktion	
Adamantylamin	151,8 - 135,0	0,6	2,1
Carbamazepin	237,0 - 194,2	0,3	0,9
Carbamazepin-Diol	271,0 - 179,8	0,2	0,7
Carbamazepin-Epoxid	253,8 - 179,8	0,7	2,2
Coffein	195,0 - 138,1	0,2	0,8
Crotamiton	204,1 - 69,2	0,1	0,4
Cumarinderivat	232,2 - 188,0	0,2	0,6
Diclofenac	296,2 - 214,8	0,5	1,7
Dihydrocodein	302,1 - 199,0	0,2	0,6
Hydrocodon	300,2 - 199,0	0,3	1,0
Pentoxifyllin	279,2 - 181,0	0,2	0,8
Primidon	219,0 - 162,0	0,3	0,8
Propyphenazon	231,2 - 189,2	0,6	2,1

Kalibriert wurde im Bereich von 100 ng bis 50 µg/l Einzelverbindung, die Nachweis und Bestimmungsgrenzen beziehen sich auf den unteren linearen Bereich der bis durchschnittlich 5 µg/l reichte. Das Vertrauensband wurde mit 99 % angegeben und eine relative Unsicherheit von 33 % angenommen. Für Acetylaminoantipyrin konnte keine lineare Funktion für den untersuchten Konzentrationsbereich gefunden werden und somit nach DIN 32645 keine

Nachweis- und Bestimmungsgrenze ermittelt werden. Für Pentoxifyllin wurde über das Verfahren eine Nachweisgrenze von 200 ng errechnet. In Abb. 84 ist die Ionenspur m/z 181 für Pentoxifyllin, die zur Quantifizierung herangezogen wurde, für eine Konzentration von 250 ng/l abgebildet. Daraus wird deutlich, dass die über DIN 32645 ermittelten Nachweisgrenzen weit über der Nachweisgrenze liegen, die man bei der Annahme S/N von 3:1 erhalten würde.

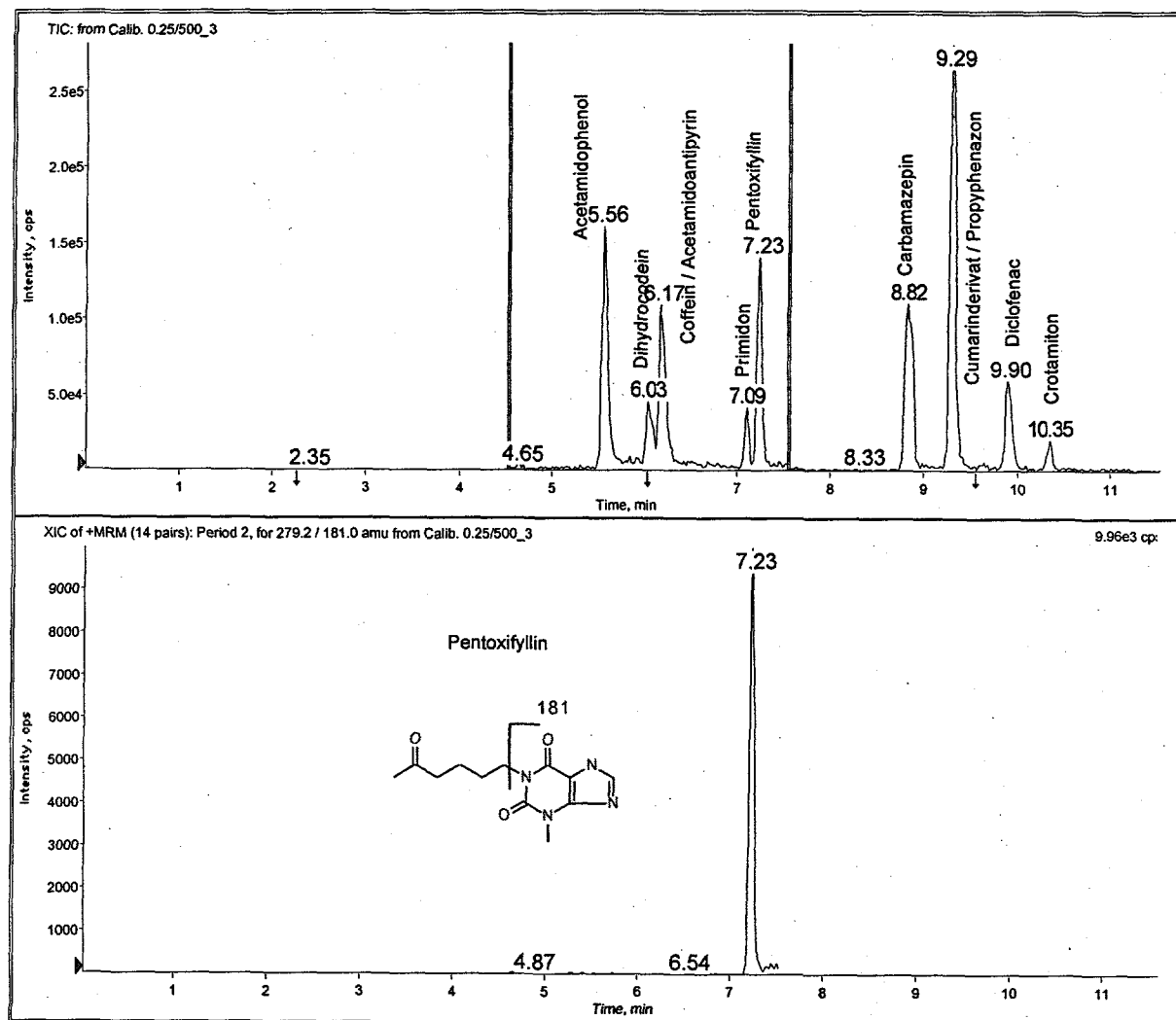


Abb. 84 Chromatographische Trennung von 11 Wirkstoffen mittels HPLC-MS-MS
(oben), Ionenspur m/z 181, 250 ng/l Pentoxifyllin (unten)

9.2 Durchführung

Die zu untersuchenden, in Wasser gelösten Verbindungen wurden 10 Minuten vor der ersten Messung dem Batchreaktor zugegeben. Während der ersten fünf Stunden des Abbaubersuches wurden Proben im 30-Minuten-Intervall automatisch entnommen, filtriert und analysiert.

Die nachfolgenden Messungen erfolgten im Zeitabstand von einer Stunde, zwei Stunden und gegen Versuchsende im Abstand von vier Stunden.

Die Vorversuche wurden mit einer Mischung aus 10 Einzelverbindungen mit einer Konzentration von jeweils 5 µg/l in unverdünntem belebtem Schlamm durchgeführt. Bei den nachfolgenden Untersuchungen wurde der belebte Schlamm 1 : 10 bzw. 1 : 5 verdünnt.

Wurden mehrere Verbindungen gleichzeitig in einem Batchansatz untersucht, wurden die Messungen im Positivionenmodus durchgeführt, da er sich für den größten Teil der Verbindungen gut eignete. Für Verbindungen mit Carboxylgruppen bzw. Hydroxylgruppen wie Diclofenac und Primidon ergab sich allerdings eine geringere Empfindlichkeit im Vergleich zum Negativionenmodus. Diese Verbindungen wurden daher bei den Eliminationsversuchen, die mit Mischungen aus mehreren Einzelverbindungen durchgeführt wurden, in etwas höheren Konzentrationen zugegeben, um im Positivionenmodus noch eine ausreichende Empfindlichkeit zu erzielen. Des Weiteren wurde die Anfangskonzentration von den Verbindungen erhöht, bei denen eine deutliche Abnahme während der Vorversuche - 5 µg/l Einzelsubstanz in Kontakt mit unverdünntem belebtem Schlamm - auftrat. Die maximal eingesetzte Konzentration pro Einzelsubstanz lag in der Mischung bestehend aus 10 Einzelsubstanzen bei 50 µg/l. Gemessen wurden die Einzelverbindungen nach Trennung auf einer C18-HPLC-Säule im positiven MRM-Modus.

Bei der Metabolitenuntersuchung wurden die Ausgangsverbindungen Carbamazepin und Dihydrocodein in einem Ansatz mit einer Ausgangskonzentration von jeweils 10 µg/l eingesetzt. Der belebte Schlamm wurde 1 : 5 verdünnt.

Die Untersuchungen zur Konjugatspaltung des Acetaminophenolglucuronides wurden im Negativionenmodus mit dem 'Heated-Nebulizer-(APCI)-Interface durchgeführt. Der belebte Schlamm wurde 1 : 10 verdünnt. Die Ausgangskonzentration des Glucuronides betrug 1,34 mg/l.

Die Versuchsdauer der Eliminationsuntersuchung für eine Verbindung lag bei maximal 72 h. In dieser Zeit wurde der belebte Schlamm gerührt und mit Sauerstoff versorgt. Es fand jedoch kein Mediumaustausch statt und es wurde auch keine weitere externe Kohlenstoffquelle zudosiert.

9.3 Ergebnisse zu den Eliminationsversuchen

9.3.1 Elimination durch Adsorption

Die Adsorption an Belebtschlammflocken spielt bei der Elimination insbesondere der lipophileren Verbindungen eine große Rolle. Sorptionsprozesse im Belebungsbecken sind im allgemeinen nach etwa 10 min abgeschlossen [ATV-Handbuch].

In Tab. 33 sind Ergebnisse eines Batchversuches aufgeführt, bei dem die Eliminierbarkeit von 10 Einzelverbindungen in einer Mischung untersucht wurde. Die Anfangskonzentrationen der eingesetzten Verbindungen reichten von 4,8 bis 52,7 µg/l.

**Tab. 33 Batchversuch mit einer Mischung aus 10 Einzelsubstanzen (Abnahme der Konzentration zum Zeitpunkt $t = 0$ min, 15 min, 1:15 h, 4:15 h, 10:30 h;
'Adsorption': prozentuale Abnahme der Konzentration von $t = 0$ zu $t = 15$ min;
Variationskoeffizient V_k bezieht sich auf 30 Messwerte im Zeitraum von 50 h)**

	c [µg/L] t = 0	c [µg/L] t = 15 min	'Adsorption' [%]	c [µg/L] t = 1:15 h	c [µg/L] t = 4:15 h	c [µg/L] t = 10:30 h	V_k [%]
Acetaminoantipyrin	4,8	1,0	78	0,8	0,9	0,9	9
Acetaminophenol	51,7	31,8	39	22,5	9,7	n.n.	
Carbamazepin	5,0	3,1	37	3,1	3,2	3,6	7
Coffein	52,7	31,7	40	19,1	0,4	n.n.	
Crotamiton	5,0	4,4	11	4,0	4,4	4,4	5
Diclofenac	48,0	46,2	4	38,7	39,3	49,0	13
Dihydrocodein	4,9	1,4	73	1,3	1,1	1,2	
Pentoxifyllin	24,2	17,7	27	13,7	10,8	3,0	
Primidon	19,9	15,8	21	14,8	16,0	16,0	7
Propyphenazon	5,0	2,8	45	2,2	2,2	3,3	15

Der im Batchreaktor eingesetzte belebte Schlamm wurde 1:10 verdünnt. Die Konzentrationsabnahme der Einzelsubstanzen in den ersten 15 Versuchsminuten ist auffallend hoch (bis zu 80 %) im Vergleich zur späteren Abnahme. Wahrscheinlich wird die Abnahme in den ersten 15 Minuten nach Zugabe der Standardmischlösung zum Batchreaktor in erster Linie durch Adsorptionseffekte an den belebten Schlamm verursacht. Für die Verbindungen Acetamidoantipyrin, Crotamiton, Diclofenac, Primidon und Propyphenazon erfolgte im Untersuchungszeitraum eine Konzentrationsänderung nur innerhalb dieser 15 Minuten. Eine weitere Abnahme in Anschluß daran war für diese Verbindungen nicht zu erkennen. Der Variationskoeffizient V_k bezogen auf 30 Einzelwerte und einer Messzeit von 50 Stunden ist für die Verbindungen, bei denen keine weitere Konzentrationsänderung erkennbar war, in der Tab. 33

angegeben. Die Streuung der Messwerte wurde auf die Unpräzision des Systems zurückgeführt.

Mit Standardlösungen der Einzelverbindungen und ohne Kontakt mit belebtem Schlamm wurde die Reproduzierbarkeit der Messungen über das gesamte Verfahren einschließlich der Probenentnahme und Filtration getestet. Die Verbindungen wurden dabei mit unterschiedlichen Einzelkonzentrationen eingesetzt. Die Mittelwerte bezogen auf das Detektorsignal aus acht aufeinanderfolgenden Messungen und die Standardabweichung sind in Abb. 85 dargestellt. Der Variationskoeffizient lag bei allen Verbindungen mit Ausnahme von Primidon unter 5,5 Prozent. Die im Vergleich dazu aufgeführten höheren Variationskoeffizienten in Tab. 33 werden darauf zurückgeführt, dass die Probenentnahme, Filtration und weitere Analyse nicht aus einer Standardmischlösung erfolgte, sondern aus dem mit verdünntem, belebtem Schlamm gefüllten Batchreaktor.

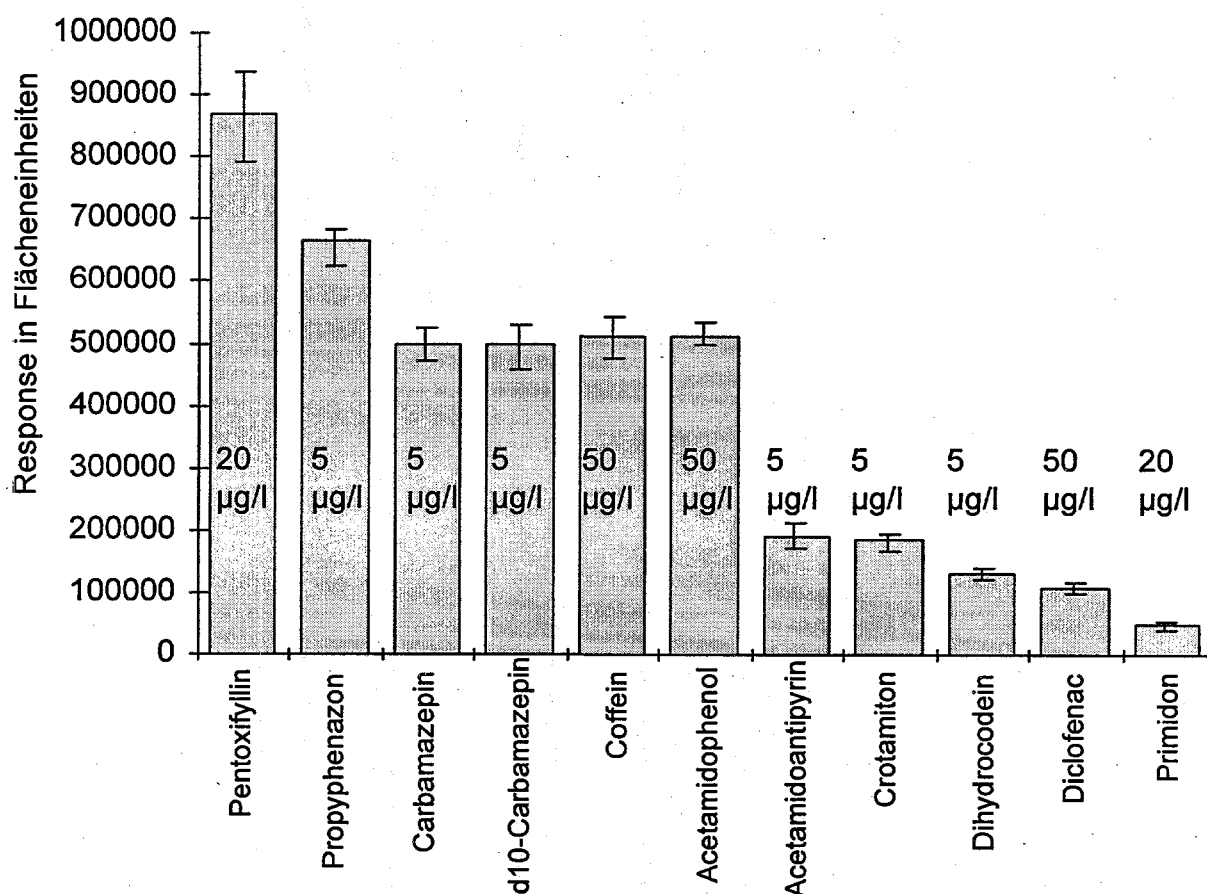


Abb. 85 Reproduzierbarkeit des Messverfahrens

In einem weiteren Versuch wurde die zeitliche Konzentrationsänderung von Adamantylamin untersucht. Hier wurde in verdünntem belebten Schlamm 11 µg/l Adamantylamin zugegeben

und die Abnahme über annähernd 60 Stunden zeitlich verfolgt. Wie Abb. 86 zeigt, nimmt die Konzentration innerhalb der ersten 10 Stunden um annähernd 20 Prozent ab, danach konnte keine weitere Abnahme mehr gemessen werden.

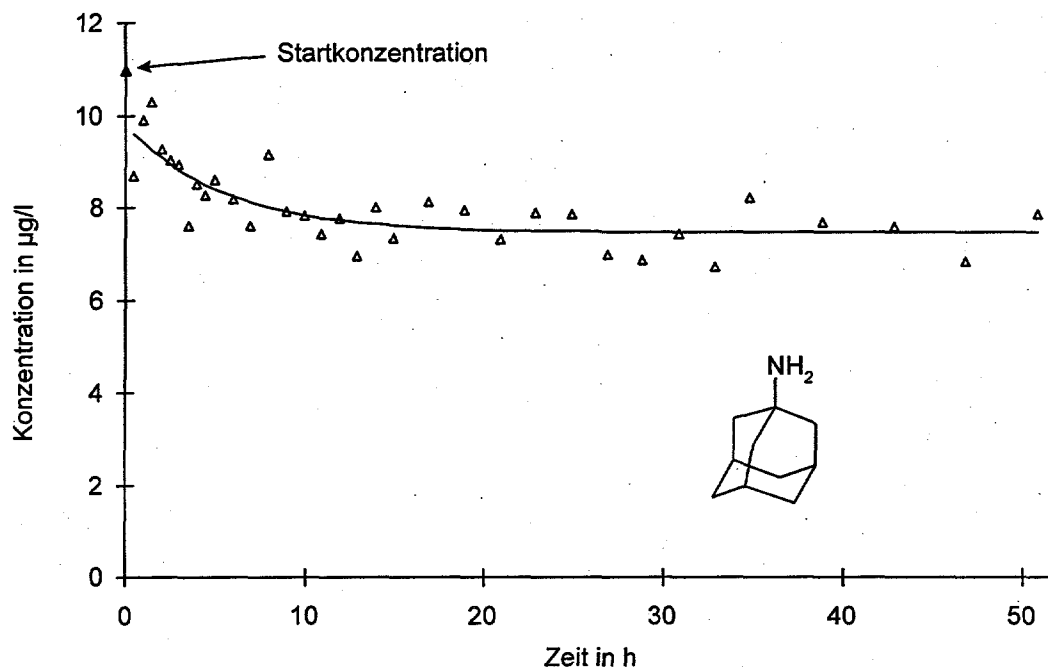


Abb. 86 Konzentrations-Zeit-Kurven von Adamantylamin (Anfangskonzentration 11 $\mu\text{g/l}$; belebter Schlamm 1:5 verdünnt, 0,8 g/l TS_R)

9.3.2 Elimination durch Primärabbau

Neben der raschen Konzentrationsänderung innerhalb der ersten 15 Minuten wurde für Verbindungen wie Acetamidophenol, Coffein und Pentoxifyllin (Abb. 87) im Anschluss auch noch eine weitere, langsamere Konzentrationsänderung beobachtet. Dies wurde in erster Linie auf einen Primärabbau der Verbindungen zurückgeführt.

Für Stoffe, die im Batchreaktor im Kontakt mit konzentriertem belebtem Schlamm eine deutliche Abnahme zeigten, wurden die Eliminationsversuche in verdünntem Medium mit höheren Konzentrationen wiederholt, um den Abbau zeitlich erfassen zu können. Coffein wird, wie allgemein bekannt, gut abgebaut. Coffein konnte nach fünf Stunden Aufenthaltszeit im Batchreaktor bei einer Startkonzentration von 50 $\mu\text{g/l}$ nicht mehr detektiert werden (Abb. 87). Auch für Acetamidophenol wurde ein schneller Abbau beobachtet. Acetamidophenol ist der Wirkstoff im Schmerzmittel Paracetamol. Die Tagesdosis an Paracetamol-Monopräparaten beträgt zwischen 2000 und 3000 mg [Rote Liste, 1997]. Daraus errechnet sich für die im Jahr 1996 verordneten 90,8 Millionen Tagesdosen in Deutschland ein Jahresverbrauch von

182 - 272 Tonnen [Schwabe, 1997]. Weiterhin wird Paracetamol in Form von Kombipräparaten in mehr als 80 Millionen Tagesdosen verschrieben [Schwabe, 1997].

Es ist anzunehmen, dass die in den Batchversuchen festgestellte gute 'Abbaubarkeit' von Acetamidophenol (Abb. 87) mit ein Grund dafür ist, dass der Wirkstoff trotz des hohen Jahresverbrauches nicht im Abwasser des Ablaufes kommunaler Kläranlagenabläufe detektierbar ist.

Pentoxifyllin, ein gefäßerweiterndes Arzneimittel, das strukturelle Ähnlichkeit mit Coffein besitzt, wurde in Abläufen von kommunalen Kläranlagen in Konzentrationen bis zu 230 ng/L detektiert. Die Konzentrationsabnahme erfolgt deutlich langsamer als beim Coffein (Abb. 87). Erst nach 20 Stunden Kontaktzeit konnte die Verbindung nicht mehr detektiert werden. Zu bemerken ist dabei, dass die Anfangskonzentration von Coffein doppelt so hoch war wie die von Pentoxifyllin. Die maximale Umsatzrate, berechnet aus der Steigung des linearen Bereiches der Konzentrations-Zeit-Kurve, ist mit $27 \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{g TS})$ für Coffein neun mal so hoch wie für Pentoxifyllin mit $3 \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{g TS})$.

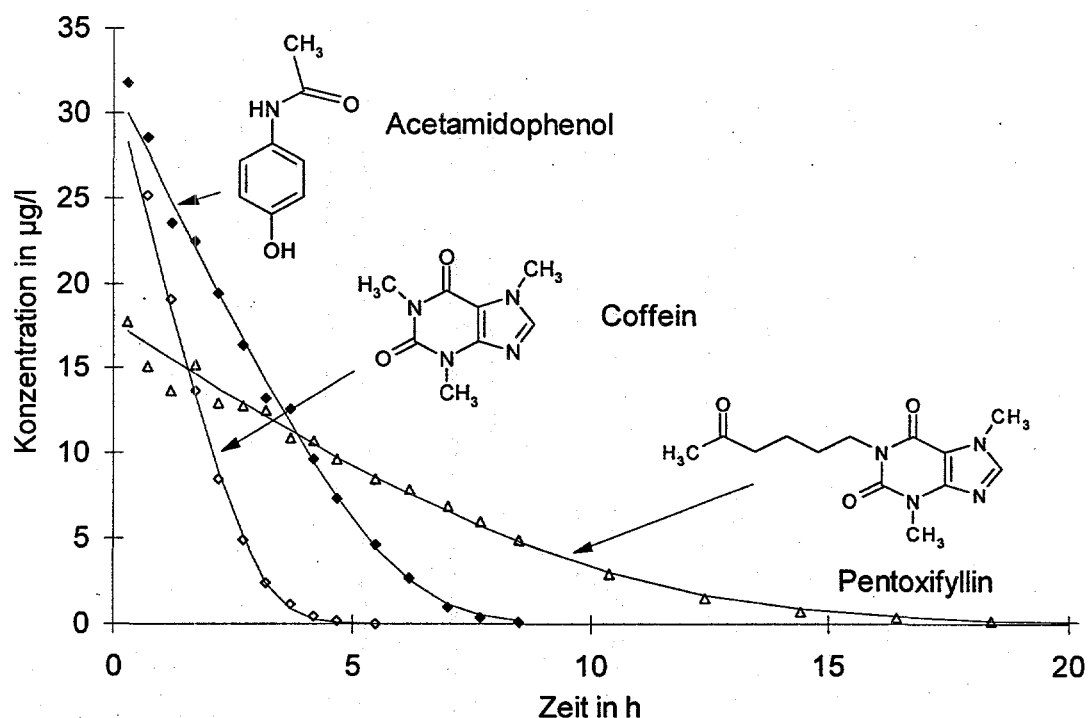


Abb. 87 Konzentrations-Zeit-Kurven von Pentoxifyllin, Acetamidophenol und Coffein (Anfangskonzentrationen $24,2 \mu\text{g/l}$, $51,7 \mu\text{g/L}$ bzw. $52,7 \mu\text{g/l}$; belebter Schlamm 1:10 verdünnt, $0,4 \text{ g/l TS}_R$)

Neben Eliminationsuntersuchungen von unterschiedlichen Pharmaka wurde unter anderem ein in kommunalen Kläranlagenabläufen identifiziertes Cumarinderivat (siehe Kapitel 5.2) in Bezug auf die Eliminierbarkeit unter den beschriebenen Versuchsbedingungen getestet. Eingesetzt wurden 12 µg/l. Die Elimination in den ersten Minuten ('Adsorption') war mit 12,5 Prozent verhältnismäßig gering im Vergleich zu den meisten der untersuchten Pharmaka. Auch beim Cumarinderivat konnte eine anschließende langsamere Konzentrationsabnahme gemessen werden, die wiederum als Primärabbau interpretiert wurde (Abb. 88).

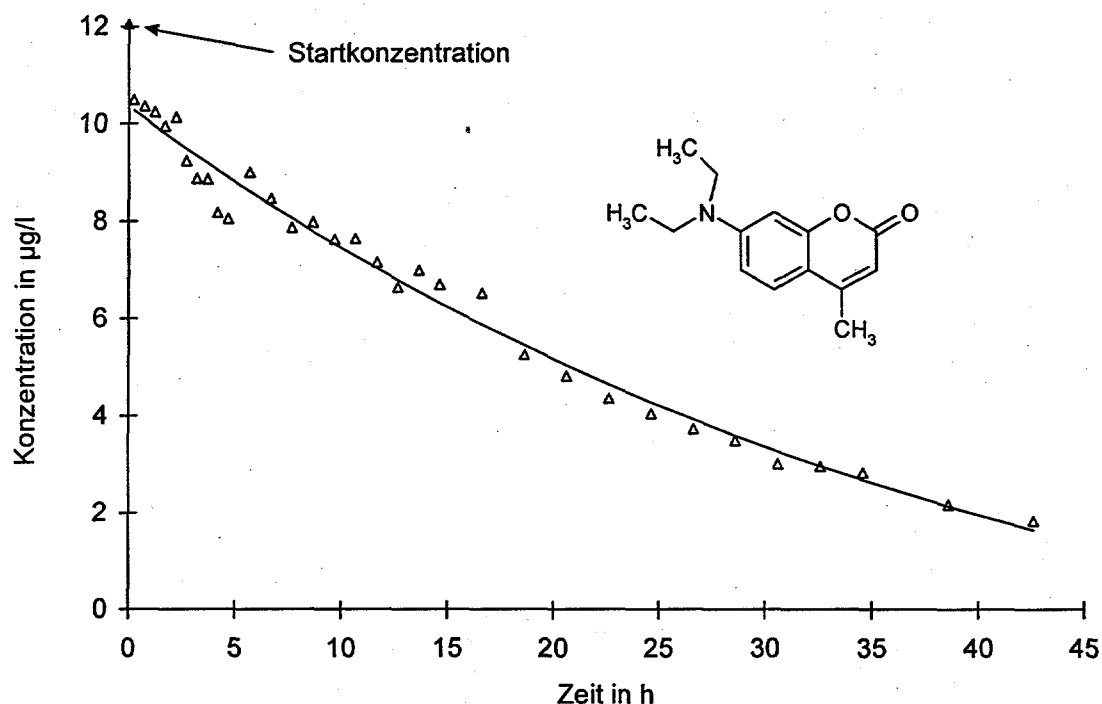


Abb. 88 Konzentrations-Zeit-Kurven eines Cumarinderivates

(Anfangskonzentration 12 µg/l; belebter Schlamm 1:5 verdünnt, 0,8 g/l TS_R)

9.3.3 Primärabbau und Detektion von Metaboliten

Beim Eliminationsversuch mit Dihydrocodein konnte neben dem 'Primärabbau' auch der gebildete Metabolit Hydrocodon quantitativ erfasst werden.

Bei den GC-MS Untersuchungen fiel auf, dass die Abwasserkonzentrationen von Hydrocodon im Ablauf von einzelnen Kläranlagen höher als die Konzentrationen im Zulauf waren. Es wurde daher angenommen, dass Hydrocodon erst in der Kläranlage gebildet wird und vermutlich nur in geringem Umfang aufgrund humanmedizinischer Anwendung als solches ins Abwasser gelangt. Diese Vermutung konnte mit Hilfe unserer Untersuchungen eindeutig

bestätigt werden. In Abb. 89 ist die Konzentrations-Zeit-Kurve von Dihydrocodein zu sehen. Die Ausgangskonzentration lag bei 10 µg/l. Durch Adsorption an den belebten Schlamm wurden 75 % der Verbindung in den ersten 15 Versuchsminuten aus der wässrigen Phase eliminiert. Ab einer Restkonzentration von ca. 1 µg/l war keine eindeutige Konzentrationsänderung mehr zu sehen. Die Hydrocodonkonzentration nimmt entsprechend der Abnahme von Dihydrocodein zu.

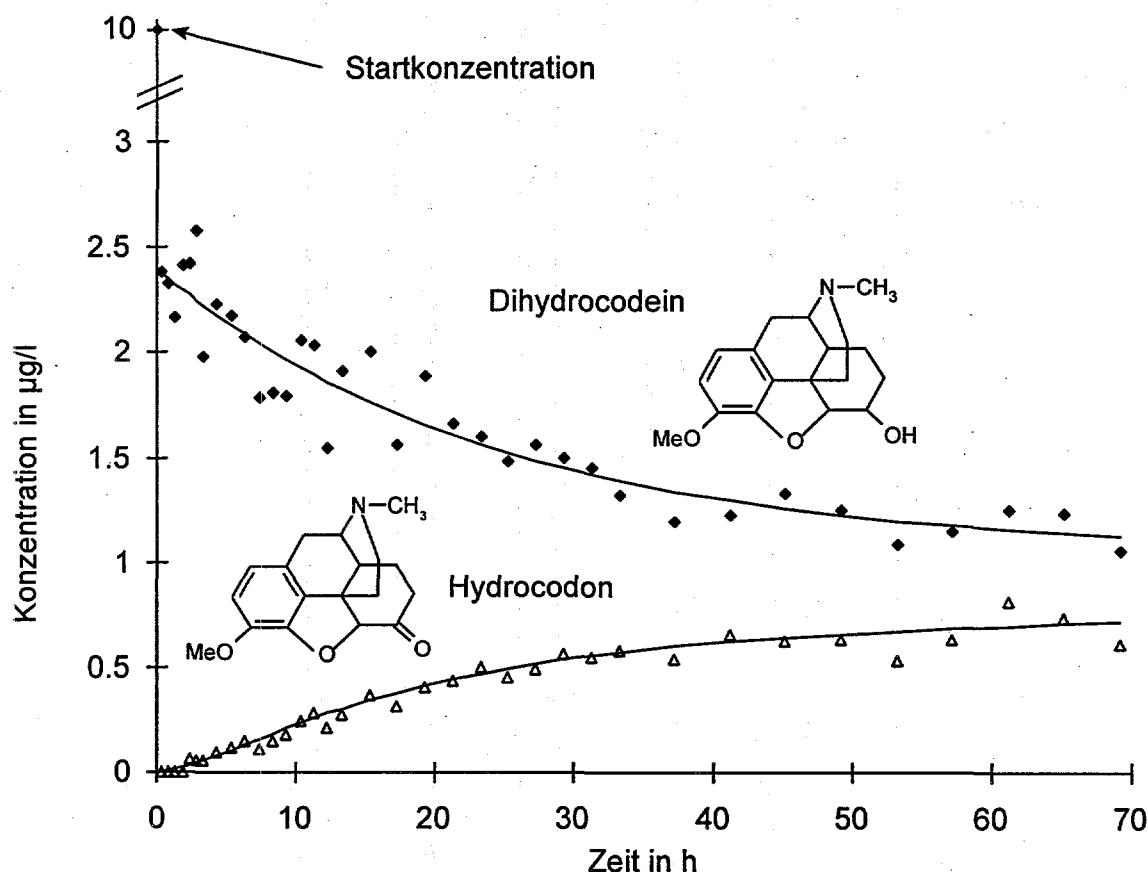


Abb. 89 Konzentrations-Zeit-Kurven von Dihydrocodein und Hydrocodon
(Anfangskonzentration Dihydrocodein 10 µg/l; belebter Schlamm 1:5
verdünnt, 0,8 g/l TS_R)

Carbamazepin wird vom Menschen zu 1 - 2 % unmetabolisiert ausgeschieden [Mutschler, 1991]. Im Körper wird es größtenteils über das Epoxid zum trans-Diol oxidiert [Saris u. a., 1997] (Abb. 90).

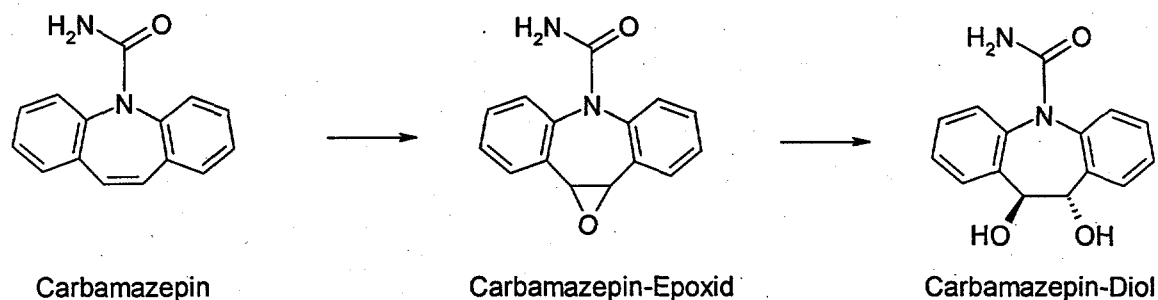


Abb. 90 Metabolisierung von Carbamazepin im Körper [Saris u. a., 1997]

Obwohl Carbamazepin nach Mutschler [Mutschler, 1991] zu 98 Prozent im Körper metabolisiert wird, wird es in höheren Konzentrationen im Ablauf kommunaler Kläranlagen gefunden und auch im Oberflächenwasser detektiert [Sacher u. a., 1998]. Es lag daher nahe, dass neben dem eigentlichen Medikament auch die Metabolite im Abwasser auftreten. Daher wurde während des Abbaubersuches mit Carbamazepin die wässrige Phase im Batchreaktor auch in Hinblick auf die Metaboliten Carbamazepin-Epoxid und das stabilere Carbamazepin-Diol untersucht. Die Bildung dieser Metabolite konnte jedoch unter diesen Bedingungen nicht beobachtet werden.

Für Carbamazepin erfolgte eine Konzentrationsabnahme nur innerhalb der ersten 15 min, danach blieb die Konzentration konstant. Die Elimination im Batchreaktor ist daher vermutlich hauptsächlich auf Adsorptionseffekte zurückzuführen.

9.3.4 Glucuronidspaltung

Die Elimination von Paracetamol im Körper erfolgt vorrangig durch Biotransformation. Hauptmetabolite sind das Glucuronid und das Sulfat.

Im Batchversuch wurde untersucht, ob Acetaminophenolglucuronid stabil ist oder eine Rückspaltung des Konjugates erfolgt. Die massenspektrometrische Empfindlichkeit zur Messung der Glucuronide ist im Positivionenmodus zu gering, daher wurde diese Messung im Negativionenmodus mit einem 'Heated-Nebulizer-(APCI)-Interface' durchgeführt. Sowohl die Bestimmung von Acetaminophenol als auch von Acetaminophenolglucuronid erfolgte über den MRM-Übergang von m/z 150,0 nach m/z 107,0. Acetaminophenolglucuronid wurde dazu in einer Konzentration von 1,34 mg/l eingesetzt. Der belebte Schlamm wurde 1 : 10 verdünnt, um die Reaktionsgeschwindigkeit zu reduzieren. Acetaminophenolglucuronid wurde innerhalb der ersten fünf Stunden im Batchreaktor vollständig gespalten. Die Konzentration von Acetaminophenol erreichte nach ca. 8 h ein Maximum und nahm dann stetig ab (Abb. 91).

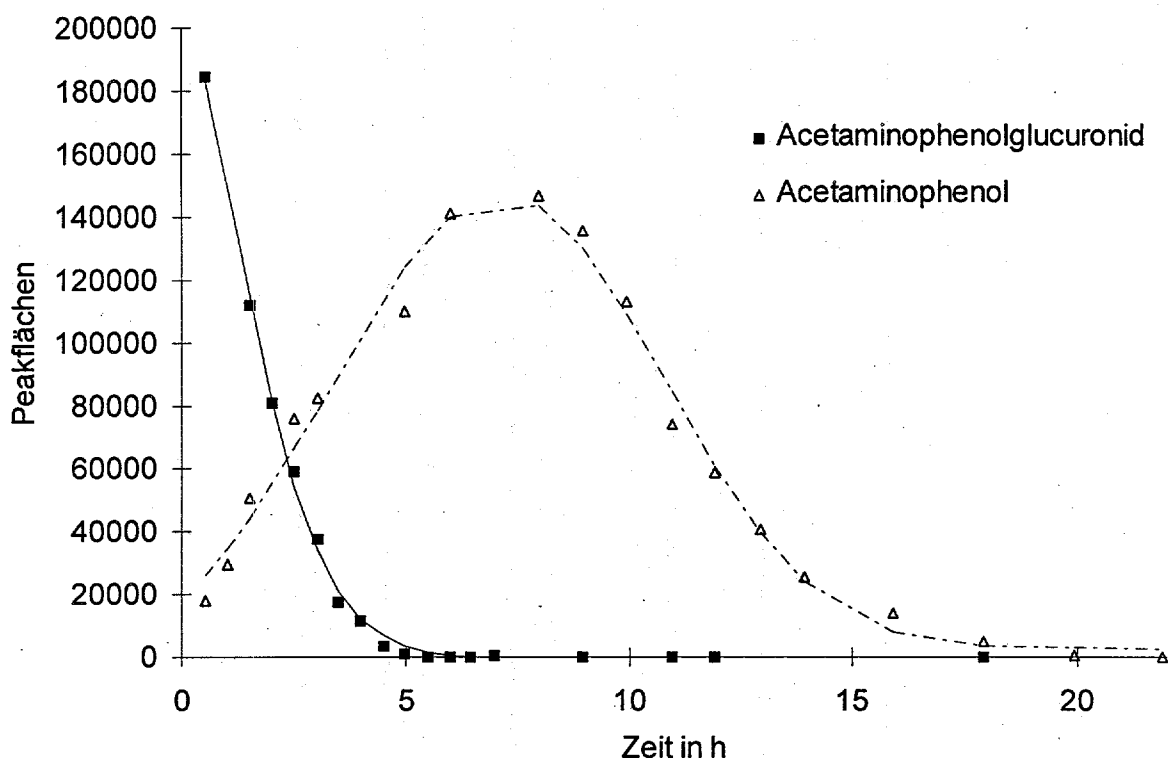


Abb. 91 Spaltung von Acetaminophenolglucuronid

9.4 Diskussion der Eliminationsuntersuchungen

Die Kopplung von on-line HPLC-MS-MS mit einem Batchreaktor ermöglicht es, die Elimination von Einzelverbindungen im Kontakt mit belebtem Schlamm im Spurenbereich ($\mu\text{g/l}$) quantitativ zu verfolgen. Zwei Effekte können dabei differenziert werden. Bei den meisten der untersuchten Verbindungen kommt es zu einer schnellen Konzentrationsänderung innerhalb der ersten Minuten nach Zugabe. So nimmt die Konzentration von Acetaminopyrin in den ersten 15 min um ca. 78 Prozent ab (Tab. 33). Aufgrund der kurzen Reaktionszeit besteht der Verdacht, dass dieser Effekt in erster Linie durch Adsorption an den belebten Schlamm hervorgerufen wird. Allerdings kann während dieser Zeit auch ein bereits beginnender Primärabbau nicht ausgeschlossen werden. Bei manchen Verbindungen, wie beispielsweise Pentoxifyllin, wird im Anschluss daran noch eine langsamere Konzentrationsänderung innerhalb von Stunden beobachtet. Es wird vermutet, dass diese Konzentrationsabnahme hauptsächlich den fortschreitenden Primärabbau widerspiegelt. Sicherlich tragen jedoch in diesem Zeitraum auch noch langsamere Adsorptionseffekte zur Konzentrationsän-

derung bei. Sind Metabolite einer Verbindung bekannt, so kann deren Bildung im gleichen Versuch mit erfasst werden.

Aussagen über die Stabilität von Glucuronsäure-Konjugaten von Pharmaka im Kontakt mit belebten Schlamm können getroffen werden. Im Falle von Acetaminophenolglucuronid kommt es unter den Versuchsbedingungen zunächst zur Konjugatspaltung und Freisetzung von Acetaminophenol. Dieses wird dann langsam aus der wässrigen Phase eliminiert, vermutlich im Wesentlichen durch Primärabbau. Neuere Untersuchungen zeigten, dass auch andere Pharmakakonjugate, z. B. Östrogenglucuronide, im Kontakt mit belebtem Schlamm gespalten werden [Ternes u. a., 1999].

Beim Einsatz von hohen Anfangskonzentrationen bei Abbauuntersuchungen, wie z.B. beim Zahn-Wellens-Test, werden ausgeprägte lag-Phasen (Adaptionsphasen) und lange Abbauphasen beobachtet. Des Weiteren wird bei hohen Anfangskonzentrationen eine höhere Abbaurate erzielt. Verbindungen können somit im Ablauf der Kläranlagen durchaus in niedrigeren Konzentrationen vorkommen, auch wenn die Abbautests gute Abbauraten aufzeigen. Das Arbeiten mit umweltrelevanten Konzentrationen bedeutet im Batchversuch kurze lag-Phasen und Abbauphasen und somit eine kürzere Testdauer. Eine realistischere Simulation der Verhältnisse in der Kläranlage ist damit gegeben.

Der Zahn-Wellens Test wird in verschiedenen Modifikationen angewendet [Schönberger, 1991]. Die Testdauer variiert zwischen 7 Tagen [AbwV, 1997] bis hin zu 28 Tagen [OECD Guideline 302 B, 1992]. Bei einer Dauer von 28 Versuchstagen soll in erster Linie bestimmt werden, ob die Substanz überhaupt einem aeroben Abbau zugänglich ist (potentielle Abbaubarkeit) und bezieht sich weniger auf die Abbauleistung in der Kläranlage. Der aerobe Abbau findet im Belebungsbecken der Kläranlage statt. Die durchschnittliche Aufenthaltszeit beträgt hier 12 Stunden. Die Versuchsdauer der Untersuchungen im Batchreaktor wurde deshalb auf maximal 72 h festgelegt. Diese Zeit sollte ausreichen, um die Abbauleistung des belebten Schlammes bezogen auf die Prüfsubstanzen in umweltrelevanten Konzentrationen zu erfassen. Die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche zeigten, dass bei den untersuchten Verbindungen nach ca. 40 h keine Konzentrationsänderungen mehr im Reaktor messbar waren.

Die hier vorgestellte Kopplung eines Standversuchs mit HPLC-MS-MS bietet somit die Möglichkeit, die Elimination von Einzelverbindungen in umweltrelevanten Konzentrationen zu untersuchen. Die Methode liefert damit sehr viel aussagekräftigere Daten als die bisher üblichen Tests.

10 Zusammenfassung

In dem Forschungsprojekt wurden schwefel- und stickstoffhaltige Substanzen im Abwasser kommunaler Kläranlagenabläufe summarisch erfasst und mehr als 60 Einzelsubstanzen, die zu diesen Summenparametern beitragen, identifiziert und größtenteils quantifiziert.

Zur summarischen Erfassung organischer schwefelhaltiger Substanzen im Abwasser wurde ein neues Verfahren zur Bestimmung des AOS (Summe an Aktivkohle adsorbierbarer organischer Schwefelverbindungen) entwickelt. Der Unterschied zu bisher bekannten Verfahren liegt in der Verwendung einer neuen Verbrennungstechnik, die im Gegensatz zu herkömmlichen Techniken eine quantitative Wiederfindung des an Aktivkohle adsorbierten organischen Schwefels gewährleistet. Nach Optimierung der Anreicherungsbedingungen auf der Aktivkohle wurden die AOS-Konzentrationen im Abwasser von kommunalen Kläranlagen bestimmt. Dabei wurden AOS-Konzentrationen von 358 bis 694 µg/l gemessen. Zudem gelang durch Ultrafiltration eine Fraktionierung des AOS, die zeigte, dass der überwiegende Anteil der organischen Schwefelverbindungen aus niedermolekularen Stoffen besteht. Der Beitrag natürlicher schwefelhaltiger Wasserinhaltsstoffe in Form von Huminstoffen und Aminosäuren ist kleiner 10 Prozent. Bei den mit dem AOS erfassten Substanzen handelt es sich folglich vorwiegend um Stoffe anthropogenen Ursprungs, die während der Abwasserbehandlung nicht eliminiert werden, oder um Metabolite anthropogener Stoffe, die während des Reinigungsprozesses entstehen und nicht weiter abgebaut werden. Da zudem gezeigt werden konnte, dass partikulär gebundene Substanzen keine Rolle spielen, liegen diese Stoffe hauptsächlich in freier gelöster Form vor. Die Aussagekraft des Parameters AOS konnte beim Vergleich der AOS-Werte im Abwasser von Abläufen kommunaler Kläranlagen ohne größere Belastung durch industrielle Einleiter und einer Kläranlage mit einer Textilfärberei als Indirekteinleiter gezeigt werden. Durch den Färbeprozess gelangen große Mengen an sulfonierten Produkten in das Abwasser. Entsprechend war die AOS-Konzentration im Ablauf dieser Anlage etwa doppelt so hoch wie in den Abläufen der anderen Anlagen.

Im Rahmen des Forschungsprojektes konnte des Weiteren in Zusammenarbeit mit der Firma IDC ein Gerät zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs entwickelt werden, welches die Injektion von Volumina bis zu 1000 µl erlaubt. Dadurch wird besonders im Bereich der Wasseranalytik eine repräsentativere Analytik ermöglicht im Vergleich zu Geräten, die nur ein maximales Injektionsvolumen von 50 µl erlauben. Dies gilt besonders für partikelhaltige Proben.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Entfernung des anorganischen Stickstoffs mit Ionenaustauschermaterialien möglich ist. Somit konnte der Summenparameter 'gelöster organischer Stickstoff' (DON) in Standardlösungen nach Hochtemperaturaufschluss über Chemolumineszenzdetektion ermittelt werden. Allerdings konnte dieses Verfahren bisher für reale Proben nicht eingesetzt werden. Die Bestimmung des DON's im Abwasser erfolgte daher weiterhin über die Differenzmethode.

Zur Identifizierung und Quantifizierung organischer Spurenstoffe wurden je nach den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Stoffe verschiedene Verfahren eingesetzt und optimiert. Das Screening nach hydrophoben und mäßig hydrophilen Stoffen erfolgte durch Kopplung der Gaschromatographie an einen Atomemissionsdetektor sowie einen massenselektiven Detektor. Durch Derivatisierung mit Diazomethan konnten in begrenztem Umfang auch lipophile Substanzen mit aziden Protonen bestimmt werden.

Mit Hilfe der entwickelten GC-MS-Screeningmethode konnten im kommunalen Abwasser mehr als 60 niedermolekulare, polare bis semipolare Verbindungen identifiziert werden. Es konnten 30 bis 70 Prozent der erfassten schwefelhaltigen Substanzen identifiziert werden (Sulfonamide, Benzothiazolderivate, Sulfone, Dithiocarbamidsäuremethylester und monoaromatische Sulfonate). Die Mediankonzentrationen lagen im Bereich von 0,05 bis 3 µg/l. Der Anteil der mit dieser Methode erfassten organischen Schwefels am AOS beträgt aber nur wenige Prozent. Daraus lässt sich folgern, dass im Abwasser nach der biologischen Klärung hohe Konzentrationen an polaren schwefelhaltigen Substanzen auftreten, die aufgrund ihrer Hydrophilie mit der GC-MS-Methode nicht zu bestimmen sind.

Mit der Screeningmethode wurden des Weiteren zahlreiche stickstoffhaltige Pharmaka in Abwasserproben aus den Abläufen von kommunalen Kläranlagen im Großraum Stuttgart erstmalig identifiziert und die Datenlage für bereits bekannte Pharmaka im Abwasser erweitert.

Im Vergleich zur Stickstoffablaufkonzentration von kommunalen Kläranlagen ist die Menge an Verbindungen, die über das GC-MS-Screeningverfahren quantifiziert wurde gering. Jedoch sollte berücksichtigt werden, dass das ökotoxikologische Verhalten der identifizierten Einzelverbindungen bisher nicht ausreichend untersucht wurde. Die Stoffe im Kläranlagenablauf können daher einzeln betrachtet durchaus als relevant angesehen werden, zumal es sich bei diesen Stoffen um relativ schwer abbaubare Verbindungen handelt, die somit zu einer konstanten anthropogenen Belastung der Umwelt beitragen.

Hydrophile Organika wurden mit flüssigchromatographischen Verfahren identifiziert und quantifiziert. Dabei wurden sowohl herkömmliche Detektoren (UV- und Fluoreszenzdetektoren) als auch ein Electrospray-Massenspektrometer verwendet. Bei den identifizierten organischen Reststoffen in Abwasserproben von Kläranlagenabläufen handelt es sich um Aniontenside, Sulfophenylcarboxylate (Abbauprodukte der linearen Alkylbenzolsulfonsäuren), substituierte monomere aromatische Sulfonsäuren und dimere und trimere Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensate. Die Konzentrationen lagen bei Werten von bis zu 100 µg/l für die Summe der Aniontenside und von bis zu ca. 3 µg/l für die Summe der anderen Substanzen. Aufgrund ihrer stark hydrophoben Eigenschaften konnten höher kondensierten Naphthalin-2-sulfonsäure-Formaldehyd-Kondensate (Zahl der Monomeren > 3) mit den in dieser Arbeit entwickelten Methoden nicht erfasst werden.

Vergleicht man die Summe der Konzentrationen der Einzelsubstanzen mit dem AOS-bzw. DON-Werten, wird deutlich, dass der Anteil der mit Einzelsubstanzeanalytik erfassten Substanzen nur wenige Prozent an dem jeweiligen Summenparameter beträgt. Grund dafür ist zum einen, dass für hydrophile Substanzen, die einen grossen Teil der organischen Fracht bilden, derzeit noch keine analytischen Methoden zur Verfügung stehen, die ein umfassendes Screening erlauben. Auch mit der Kopplung der Flüssigchromatographie an einen masselektiven Detektor ist derzeit noch keine Suche nach völlig unbekannten Substanzen möglich.

Um detaillierte Informationen über die Eliminierbarkeit (Adsorption, aerober Abbau) einiger der identifizierten Verbindungen im Belebtschlammverfahren zu erhalten, wurden erstmalig Abbauprobversuche im µg/l-Bereich on-line mit HPLC-MS-MS unter aeroben Bedingungen durchgeführt. Es wurde ein Batchreaktor, der einzelne oder eine Mischung verschiedener Verbindungen in umweltrelevanten Konzentrationen im Kontakt mit belebtem Schlamm enthielt, on-line mit einem HPLC-MS-MS-System gekoppelt. Bei Kenntnis der Metabolisierungsreaktion von Verbindungen konnte mit dieser Methode die Bildung der Metabolite zeitlich verfolgt werden. So konnte am Beispiel von Acetaminophenolglucuronid gezeigt werden, dass es zur Spaltung der Pharmakakongjugate im Belebungsverfahren kommt.

11 Literaturverzeichnis

Abbt-Braun, G.; Schmiedel, U. u. Frimmel, F. H.: Elementaranalytische Untersuchungen isolierter Fulvinsäuren unterschiedlichen Ursprungs, *Vom Wasser*, 75, 59-73 (1990).

Abbt-Braun, G.: Refraktäre organische Säuren (Huminstoffe) in aquatischen Systemen - Vorkommen, Reaktionen und Charakterisierung, in: *Wasserkalender*, Wagner, R. (Hrsg.), S. 112-141, Schmidt Verlag, Berlin 1997.

AbwV: Verordnung über die Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung - AbwV) vom 21. März 1997 (BGBl. I S. 566), geänd. d. VO vom 3. Juli 1998 (BGBl. I S. 1795). Abwasserverordnung (1997).

Albrich, H. u. Müller, M.: Simultane Halogen- und Schefelbestimmung, *Labor Praxis*, 62-69 (1995).

Albrich, H.; Müller, M. u. Pinhack, H.: Fluor-, Chlor-, Brom- und Schwefel-Gehaltsbestimmungen nach Verbrennungsaufschluß, *GIT*, 8, 837-842 (1994).

Altenbach, B. u. Giger, W.: Determination of benzene- and naphtalenesulfonates in waste-water by solid-phase extraction with graphitized carbon black and ion-pair liquid chromatography with UV detection, *Anal. Chem.*, 67, 2325-2333 (1995).

ATV-Handbuch: Biologische und weitergehende Abwasserreinigung - Belebungsverfahren, Ernst & Sohn Verlag, 4. Auflage, S. 282-287, Berlin 1997.

Amicon: Katalog Ultrafiltration/Chromatographie, S. 40, 1995.

Bastian, B. u. a.: Determination of aromatic sulfonic acids in industrial waste water by ion-pair chromatography, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 348, 674-679 (1994).

Behechti, A. u. a.: Acute aquatic toxicities of four musk xylene derivaives on daphnia magna. *Wat. Res.* 32, 1704-07 (1998).

Belfroid, A. C. u. a.: Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste in The Netherlands. *The Science of the Total Environment* 225, 101-108 (1999).

Binde, F. u. Rüttinger, H.-H.: Isolation and determination of dissolved organic sulphur compounds - development of the organic group parameter DOS, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 357, 411-415 (1997).

Bissen, M.; Jahnel, J. B. u. Frimmel, F. H.: Charakterisierung der stickstoffhaltigen Substanzen in Wässern aus verschiedenen Aufbereitungsstufen einer Kläranlage. *Korrespondenz Abwasser* 44, 1380-85 (1997).

Blank, R.: Anticonvulsants and their psychological effects - a review. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.* 58, 19-32 (1990).

Böhme, C. u. a.: Solid-phase extraction of aminobenzoic acids and aminotoluenesulfonic acids with graphitized carbon black., *Fresenius J. Anal. chem.*, 360, 805-807 (1998).

Börnack, H. u. a.: Aromatische Amine in der Elbe - Analytik und Verhalten bei der Trinkwasseraufbereitung. Vom Wasser 87, 305-326 (1996).

Brandt, G.: Entwicklung einer Methode zur simultanen Bestimmung der Gruppenparameter AOCl, AOBr und AOS als Beurteilungsgrößen für die Wasserbelastung, Dissertation, Universität GH-Paderborn (1987).

Braun, M. u. a.: Beitrag zur Bestimmung des gesamten gebundenen Stickstoffs und Ermittlung des organisch gebundenen Stickstoffs in der Wasseranalytik. Z. Wasser-Abwasser-Forsch. 24, 135-147 (1991).

Bundesgesetzblatt: 2. Verordnung zur Änderung der Bedarfsgegenständeverordnung vom 15.7.1994.

Collin, G. u. Behre, H.: Naphthalinderivate, in: Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, Bartholomé, E.; Biekert, E.; Hellmann, H.; Ley, H.; Weigert, M. (Hrsg.), S. 90 - 120, Verlag Chemie, Weinheim 1975.

Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM): Richtlinien für die Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren, Erster Teilabschnitt (Stand 01.01.1981), G. Fischer-Verlag, Stuttgart 1981.

Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM): Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren-Anforderungen für die Aufnahme in die VII. Liste, Hyg. Med., 9, 41-62 (1984).

Di Corcia, A. u. Samperi, R.: Evaluation of graphitized carbon black cartridges for rapid organic trace enrichment from water: application to priority pollutant phenols, Anal. Chem., 58, 2048-2052 (1986).

Di Corcia, A. u. Samperi, R.: Determination of chloroaniline traces in environmental waters by selective extraction with two traps in tandem and liquid chromatography, Anal. Chem., 62, 1490-1494 (1990).

Di Corcia u. A.; Samperi, R.: Graphitized carbon black extraction cartridges for monitoring polar pesticides in water., Anal. Chem., 65, 907-912 (1993).

DIN EN 1484: Anleitungen zur Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) und des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC). DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth Verlag GmbH, Berlin 1994.

DIN 32 645: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen. DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Beuth Verlag GmbH, Berlin 1994.

Empfehlungen des Bundesgesundheitsamtes zum Vollzug der Trinkwasserverordnung (Trinkw V). Vom 22.05. 1986 (BGBl. I S 760), Bekanntmachungen des BGA, Bundesgesundheitsblatt 32, 290-295 (1989).

Ergebnisbericht des DIN NAW 1/W1-UA 3 AK 10 "AOS", 1996.

Eberle, S. H.; Knobel, K.-P. u. v. Hodenberg, S.: Untersuchungen über die Bestimmung des hochmolekularen Anteils des DOC einer Wasserprobe durch Diafiltration, Vom Wasser, 53, 53-67 (1979).

Edlund, O.; Lee, E. D. u. Henion, J. D.: The determination of sulfonated azo dyes in municipal wastewater by ion spray liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Biomedical and environmental mass spectrometry* 18, 233-40 (1989).

Efer, J. u. a.: Atmosphärendruck-Ionisations-Massenspektrometrie und GC/MS für die Klärwerksanalytik, *GWF Gas- Wasserfach: Wasser/Abwasser*, 138, 577-585 (1997).

Elsässer, W.: Charakterisierung organischer Stoffe niederer molarer Masse in Abläufen kommunaler Kläranlagen mit biologischer Reinigungsstufe, Dissertation, Universität Karlsruhe 1990.

Elsässer, W.; Gilbert, E. u. Eberle, S. H.: Beitrag zur Charakterisierung und Identifizierung organischer Stoffe niederer molarer Massen in biologischen Kläranlagen. *Acta hydrochim. hydrobiol.* 20, 82-91 (1992).

Emmrich, M. u. Levsen, K.: Kationische Tenside im Abwasser und Belebtschlamm. *Vom Wasser* 75, 343-49 (1990).

Eschke, H.-D.; Traud, J. u. Dibowski, H.-J.: Analytik und Befunde künstlicher Nitromoschus-Substanzen in Oberflächen- und Abwässern sowie Fischen aus dem Einzugsgebiet der Ruhr. *Vom Wasser* 83, 373-383 (1994).

EU-Richtlinie: Rat der Europäischen Gemeinschaften: Richtlinie des Rates vom 21.05.1991 über die Behandlung von kommunalen Abwasser. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* 1991, Nr. L135 Nr. L135, 40-51 (1991).

Fabry, B.: Tenside : Eigenschaften, Rohstoffe, Produktion, Anwendungen. *Chemie in unserer Zeit* 25, 214-22 (1991).

Falbe, J. u. Regitz, M.: *Römpf Chemie Lexikon*, Thieme Verlag, Stuttgart 1995.

Fernandez, P. u. a.: Determination of the quaternary ammonium surfactants ditallowdimethylammonium in digested sludges and marine sediments by supercritical fluid extraction and liquid chromatography with postcolumn ion-pair formation. *Analytical Chemistry* 68, 921-29 (1996).

Fiehn, O.: Toxizitätsgeleitete Fraktionierung und Charakterisierung organischer Schadstoffe in gewerblichen Abwässern, S. 50-54, *VDI-Verlag*, Düsseldorf 1997.

Field, J. A. u. Field, T. M.: Fate of secondary alkane sulfonate surfactants during municipal waste-water treatment, *Wat. Res.*, 29, 1301-1307 (1995).

Field, J. A. u. a.: Determination of secondary alkane sulfonates in sewage wastewaters by solid-phase extraction and injection-port derivatization gas chromatography/mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, 28, 497-503 (1994).

Field, J. A. u. a.: Quantitative determination of sulfonated aliphatic and aromatic surfactants in sewage sludge by ion-pair/supercritical fluid extraction and derivatization gas chromatography/mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 64, 3161-3167 (1992).

Flinspach, D.: Die Konfrontation der öffentlichen Wasserversorgung mit der Pestizidproblematik, *LW-Schriftenreihe*, 2, 3-9 (1989).

Food and Drug Administration, USA, Federal Register: July 29, 1997, Vol. 62, No. 145, 40569-40600.

Fooker, C. u. a.: Orientierende Messungen gefährlicher Stoffe - Landesweite Untersuchungen auf organische Spurenverunreinigungen in hessischen Fließgewässern, Abwässern und Klärschlämmen, 1991-1996. Schriftenreihe der Hessischen Landesanstalt für Umwelt, Umweltplanung, Arbeits- und Umweltschutz 123, 116-120 (1997).

Franke, S. u. a.: Organic compounds as contaminants of the Elbe river and its tributaries: Part II: GC/MS screening for contaminants of the Elbe water, Fresenius J. Anal. Chem., 353, 39-49 (1995).

Freranti, V. u. a.: Simultaneous determination of primidone and its three major metabolites in rat urine by high-performance liquid chromatography using solid-phase extraction. J. Chromatogr. B Biomed Sci Appl 718, 199-204 (1998).

Frimmel, F.: Aussagekraft chemischer Summenparameter, in: Gewässergütekriterien: Ergebnisse eines Rundgesprächs, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Senatskommission für Wasserforschung, Mitteilung 13, Frimmel, F. H.; Gordalla, B.C. (Hrsg.), S. 51-64, Verlag Chemie, Weinheim 1996.

Frimmel, F. H.: Parameter und Verfahren zur Beurteilung der Gewässer aus der Sicht der Trinkwasserverordnung, in: Wasser-Abwasser-Abfall-Perspektiven für das Jahr 2000, Böhnke, B. (Hrsg.), S. 127-149, Aachen 1991.

Frischenschlager, H. u. a.: Improved screening analysis of organic pollutants in river water samples by gas chromatography with atomic emission detection (GC-MIP-AED), Fresenius J. Anal. Chem., 357, 1133-1141 (1997).

Fuchs, F.: Gelchromatographische Trennung von organischen Wasserinhaltsstoffen; Teil I: Durchführung der Messungen, Vom Wasser, 64, 129-144 (1985 a).

Fuchs, F.: Gelchromatographische Trennung von organischen Wasserinhaltsstoffen; Teil II: Ergebnisse der Trennungen bei Oberflächenwässern und Abwässern, Vom Wasser, 65, 93-105 (1985 b).

Gesetz über Detergentien in Wasch- und Reinigungsmitteln in der Fassung der Bekanntmachung vom 05.09.1961 (BGBl. I 1635).

Gesetz über die Umweltverträglichkeit von Wasch- und Reinigungsmitteln (Wasch- und Reinigungsmittelgesetz; WRMG) i. d. Bekanntmachung d. Neufassung vom 05.03.1987 (BGBl. I 875).

Gesetz über den Verkehr mit Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und sonstigen Bedarfsgegenständen (Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz; LMBG). Vom 15.08.1974 in der Form der Bekanntmachung vom 08.07.1993 (BGBl. I 1169).

Gesetz zum Schutz vor gefährlichen Stoffen (Chemikaliengesetz; ChemG). Vom 25.07.1994 (BGBl. I 1703), zuletzt geändert durch Gesetz vom 27.09.1994 (BGBl. I 2705).

Gold, H. u. Theidel, H.: Optische Aufheller und Fluoreszenz-Farbstoffe, in: Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, Bartholomé, E.; Biekert, E.; Hellmann, H.; Ley, H.; Weigert, M. (Hrsg.), S. 459 - 472, Verlag Chemie, Weinheim 1975.

Greim, H. u. a.: Toxicity and ecotoxicity of sulfonic acids: Structure-activity relationship, *Chemosphere*, 28, 2203-2236 (1994).

Grohmann, K.: Anreicherung und Identifizierung polarer und unpolarer Stickstoffverbindungen niederer molarer Masse in Abläufen kommunaler Kläranlagen mit biologischer Reinigungsstufe Karlsruhe, Universität Karlsruhe, 1994.

Gurka, D. F.; Pyle, S. u. Titus, R.: Environmental Applications of Gas Chromatography/Atomic Emission Detection, *Anal. Chem.*, 69, 2411-2417 (1997).

Hausam, W.: Desinfektionsmittel, in: Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, Bartholomé, E.; Biekert, E.; Hellmann, H.; Ley, H.; Weigert, M. (Hrsg.), S. 41 - 58, Verlag Chemie, Weinheim 1975.

Heberer, T.: Identifizierung und Quantifizierung von Pestizidrückständen und Umweltkontaminaten in Grund- und Oberflächenwässern mittels Kapillargaschromatographie - Massenspektrometrie Wissenschaft & Technik Verlag, S. 437, Berlin 1995.

Heberer, T. u. Stan, H.-J.: Vorkommen von polaren organischen Kontaminanten im Berliner Trinkwasser, *Vom Wasser*, 86, 19-31 (1996).

Heberer, T. u. Stan, H.-J.: Determination of clofibric acid and N-(phenylsulfonyl)-sarcosine in sewage, river and drinking water. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 67, 113-124 (1997).

Heberer, T.; Schmidt-Bäumler, K. u. Stan, H.-J.: Occurrence and distribution of organic contaminants in the aquatic system in Berlin. *Acta hydrochim. hydrobiol.* 26, 272-278 (1998).

Heberer, T.; Gramer, S. u. Stan, H.-J.: Occurrence and distribution of organic contaminants in the aquatic system in Berlin. Part III: Determination of Synthetic Musks in Berlin Surface Water Applying Solid-phase Microextraction (SPME) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). *Acta hydrochim. hydrobiol.* 27, 150-156 (1999).

Hellmann, H.: Dialkyldimethylammoniumchlorid in den Schwebstoffen des Rheins 1982-1990 sowie 1993-1994, *Analytik, Belastungstrend. Tenside Surf. Det.* 32, 329-35 (1995).

Helmreich, B. u. Wilderer, A.: Methoden zur Beurteilung organischer Reststoffe in Kläranlagenabläufen, in: *Wasserkalender*, Wagner, R. (Hrsg.), S. 142-165, Schmidt Verlag, Berlin 1997.

Herrchen, M. u. a.: Reihung gewässerrelevanter, gefährlicher Stoffe aufgrund ihrer Exposition und Wirkung für 1993/94, Endbericht zu einem vom Umweltbundesamt geförderten Projekt, S. 5-74, Fraunhofer-Institut für Umweltchemie und Ökotoxikologie, Schmallenberg 1997.

Hignite, C. u. Azarnoff, D.-L.: Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sciences* 20, 337-342 (1977).

Hirsch, R. u. a.: Nachweis von Betablockern und Bronchospasmolytika in der aquatischen Umwelt. vom Wasser 87, 263-274 (1996).

Hirsch, R. u. a.: Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A, 815, 213-223 (1998)

Hochberg, R. u. a.: Monitoring of fluorescent whitening agents in sewage treatment plants and rivers, Manuskript zum Vortrag auf dem "International Symposium of Environmental Biotechnology", Basel 1997.

Hoffmann, G.: Verzeichnis der Wirkstoffe in zugelassenen Pflanzenschutzmitteln Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Heft 4, S. 86, Braunschweig 1995.

Hupke, H.; Koch, H. A. u. Wagner, R.: Römpf Lexikon Umwelt Version 1.0, 1997.

Industrieverband Agrar, e. V.: Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln, S. BLV Verlagsgesellschaft mbH, München 1990.

Industrieverband Agrar, e. V.: Jahresbericht 1994/95, Frankfurt am Main 1995.

Jahnel, B. u. a.: Anwendung einer enzymatischen Methode zur Charakterisierung von Huminstoffen, Acta Hydrochim. Hydrobiol., 21, 43-50 (1993).

Jauregui, O.; Moyano, E. u. Galceran, M. T.: Liquid chromatography-atmospheric pressure ionization mass spectrometry for the determination of chloro- and nitrophenolic compounds in tap water and sea water. Journal Chromatogr. A 787, 79-89 (1997).

Janson, O.: Analytik von Spurenstoffen in Deponiegasen, in: Stuttgarter Berichte zur Abfallwirtschaft, (Hrsg.), S. 17-26, Schmidt Verlag, Bielefeld 1988.

Jeblick, W.: Sulfone und Sulfoxide, in: Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, Bartholomé, E.; Biekert, E.; Hellmann, H.; Ley, H.; Weigert, M. (Hrsg.); S. 324-335; Verlag Chemie; Weinheim 1975.

Johannsen, K. u. a.: Einfluß der Molekülgröße auf die Adsorbierbarkeit von Huminstoffen, Vom Wasser, 81, 185-196 (1993).

Karcher, S.; Kornmüller, A. u. Jekel, M.: Entfernung von Textilfarbstoffen mittels des zyklischen Polymers Cucurbituril: Einflüsse verschiedener Ionen, Posterbeitrag zur Tagung der Fachgruppe Wasserchemie, Lübeck 1998.

Kari, F. G.: Umweltverhalten von Ethylendiamintetraacetat (EDTA) unter spezieller Berücksichtigung des photochemischen Abbaus. Dissertation ETH Zürich 10698, (1994).

Kim, I. S. u. a.: Determination of aromatic sulfonic acids in aqueous environmental samples by anion-exchange chromatography coupled to particle beam mass spectrometry and UV spectrophotometry, J. Chromatogr., 589, 177-183 (1991).

Koppe, P. u. Stozek, A.: Kommunales Abwasser Vulkan-Verlag, S. 205-97, Essen 1993.

Koroleff, F.: Determination of total nitrogen in natural waters by means of peroxodisulfate oxidation. Int. Council Explor. Sea (ICES), Pap.C.M. 163 -173 (1969/1970).

Kosmetikverordnung (KM-VO). Vom 16.02.1977 (BGBl. I 2589, vom 21.12. 1977), zuletzt geändert 21.12.1989 (BGBl. I 2548).

Knepper, T. P. u. Haberer, K.: Auftreten von Phenylsulfonamiden in Kläranlagen-, Oberflächen- und Trinkwässern, *Vom Wasser*, 86, 263-276 (1996).

Knepper, T. P.; Weber, A. u. Haberer, K.: Identifizierung eines polaren, wasserwerksgängigen Sulfonamids: Analytik, Vorkommen und Verhalten während der Trinkwasseraufbereitung, *Vom Wasser*, 85, 271-284 (1995).

Kümmerer, K.: Analyse von in Wässern gelösten organischen Schwefelverbindungen, Dissertation, Universität Tübingen 1990.

Kunz, P. u. Frietsch, G.: Mikrobizide Stoffe in biologischen Kläranlagen, Springer Verlag, Berlin 1986.

Kupfer, W.: Spurenanalytik von kationischen Tensiden unter den speziellen Bedingungen im Wasser und Abwasser. *Tenside Detergents* 19, 158-61 (1982).

Lacorte, S. u. Barceló, D.: Rapid Degradation of Fenitrothion in Estuarine Waters. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1159-1163 (1994).

Lambert, L.; Graham, N. J. D.; C.J., S. u. Fowler, G. D.: Evaluation of inorganic adsorbents for the removal of problematic textile dyes and pesticides, *Wat. Sci. Tech.*, 36, 173-180 (1997).

Levsen, K. u. a.: Analysis of Nitroaromatics and Nitramines in Ammunition Waste Water and in Aqueous Samples from Former Ammunition Plants and Other Military Sites. *Acta hydrochim.hydrobiol.* 21, 153-166 (1993).

Liakou, S.; Koraros, M. u. Lyberatos, G.: Pretreatment of azo dyes using ozone, *Wat. Sci. Tech.*, 36, 155-163 (1997).

Lindner, O.: Benzolsulfonsäuren und Derivate, in: Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie, Bartholomé, E.; Biekert, E.; Hellmann, H.; Ley, H.; Weigert, M. (Hrsg.), S. 412-431, Verlag Chemie, Weinheim 1975.

Matthijs, E. u. Henau, H. d.: Analysis of monoalkylquaternaries and assessment of their fate in domestic waste waters, river waters and sludges. *Vom Wasser* 69, 73-83 (1987).

Matthijs, E.: Umweltanalytik von Waschmittel-Tensiden, *Nachr. Chem. Tech. Lab.*, 43, 1176-1182 (1995).

Mazo, E. G.: Monitoring long-chain intermediate products from the degradation of linear alkylbenzene sulfonates in the marine environment by solid-phase extraction followed by liquid chromatography/ion spray mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, 31, 504-510 (1997).

Mehlhorn, B.: Gesamter gebundener Stickstoff TN_b - ein neuer wichtiger Summenparameter. *UTA* 5, 367-374 (1996).

Meylan, W. u. Howard, P.: log Octanol-Water-Partition Coefficient Estimation Program New York, Syracuse Research Corporation, Environmental Science Center, 1995.

Mohaupt, V.; Frede, H. G. u. Bach, M.: Pestizideinträge in Oberflächengewässer aus landwirtschaftlichen Hofabläufen Umweltbundesamt 87, Berlin 1997.

Möhle, E. u. a.: Identifizierung von schwer abbaubaren stickstoffhaltigen Reststoffen bei der Abwasserbehandlung Umwelt und Chemie - Umwelttagung 1996 Ulm, Gesellschaft Deutscher Chemiker (1996).

Möhle, E. u. a.: Bestimmung von schwer abbaubaren organischen Verbindungen - Identifizierung von Arzneimittelnrückständen. vom Wasser 92, 207-223 (1999 a).

Möhle, E., Kempter, Ch., Kern, A., Metzger, J.W.: Untersuchungen zum Abbau von Pharmaka in kommunalen Kläranlagen mit HPLC-Electrospray-Massenspektrometrie. Actahydrochimica et hydrobiologica *im Druck*, (1999 b).

Mothes, S.: Speziation metallorganischer Verbindungen im Spurenbereich mittels GC/AED., AED-Seminar der Firma Hewlett Packard, Leipzig 1998.

Mutschler, E.: Arzneimittelwirkungen; Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1991.

Neitzel, V. u. Iske, U.: Abwasser - Technik und Kontrolle Wiley-VCH, S. 333, Weinheim 1998.

Nishikawa, Y. u. Okumura, T.: Determination of nitrobenzenes in river water, sediment and fish samples by GC-MS. Anal. Chem. 45-55 (1995).

Nitschke, L.: Wasch- und Reinigungsmitteltenside im Wasser. GIT-Laborfachzeitschrift 43, 730-731 (1999).

Nörtemann, B. u. Knackmuss, H.-J.: Abbau sulfonierter Aromaten, GWF, Gas- Wasserfach: Wasser / Abwasser, 129, 21-25 (1988).

Nriagu, J. O.: Production and uses of sulfur, in: Sulfur in the Environment, Part I: The Atmospheric Cycle, Nriagu, J. O. (Hrsg.), S. 1-21, Wiley & Sons, New York 1978.

OECD Guideline 302 B for testing of chemicals vom 17.07.1992. Zahn-Wellens-Test. (1992).

Pagga, U.: Prüfung und Bewertung von Abwässern auf biologische Abbaubarkeit. Korrespondenz Abwasser 42, 263-270 (1995).

Paneli, M. u. a.: Assesment of organo-lead species in the Austrian Danube-basin using GC-MIP-AED, Fresenius J. Anal. Chem., 357, 756-762 (1997).

Persson, B.-A. u. Schill, G.: Ion-pair extraction in chromatography, in: Handbook of Derivatives for Chromatography, Blau, K., Halket, J. (Hrsg.), S. 253-267, Wiley & Sons, New York 1997.

Popenoe, D. u. a.: Determination of alkyl sulfates and alkyl ethoxysulfates in wastewater treatment plant influents and effluents and in river water using liquid chromatography/ ion spray mass spectrometry, Anal. Chem., 66, 1620-1629 (1994).

Projekt: Eintrag von Pflanzenschutzmitteln in Oberflächengewässer am Beispiel des Bodensee-Zuflusses Seefelder Aach, Ministerium für Umwelt und Verkehr Baden-Württemberg,

Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg und Institut für Seenforschung der LfU, 1999.

Puchta, R.; Krings, P. u. Sandkühler, P.: A new generation of softeners. *Tenside Surf. Det.* 30, 186-191 (1993).

Quimby, B. D. u. Sullivan, J. J.: Evaluation of a microwave cavity, discharge tube, and gas flow system for combined gas chromatography-atomic emission detection, *Anal. Chem.*, 62, 1027-1034 (1990).

Randt, C. u. Altenbeck, R.: Probleme bei der Entwicklung eines Verfahrens zur summarischen Bestimmung adsorbierbarer organischer Schwefelverbindungen (AOS) in Wasser/Abwasser, *Vom Wasser*, 88, 217-225 (1997).

Reemtsma, T. u. a.: Microbial transformations and biological effects of fungicide-derived benzothiazoles determined in industrial wastewater, *Environ. Sci. Technol.*, 29, 478-485 (1995).

Reemtsma, T.; Jochimsen, J. u. Jekel, M.: Persistence of sulfonated polyphenols in the biological treatment of industrial wastewater, *Vom Wasser*, 81, 353-363 (1993).

Richtlinie 92/18/EWG der Kommission vom 20. März 1992 zur Änderung des Anhangs der Richtlinie 81/852/EWG des Rates zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über die analytischen, toxikologisch-pharmakologischen und tierärztlichen oder klinischen Vorschriften und Nachweise über Versuche mit Tierarzneimitteln. (1992).

Rinne, D. u. Seckert-Knopp, W.: Ein Vergleich des gesamten gebundenen Stickstoffs mit der Summe des anorganisch gebundenen Stickstoffs in der derzeitigen Gesetzespraxis zur Überwachung auf Stickstoffverbindungen. *Vom Wasser* 89, 215-225 (1997).

Rivera, J. u. a.: Identification of non-volatile organic compounds in GAC filters and in raw and drinking water extracts by FAB and FAB-DID-MIKE spectrometry, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 328, 577-582 (1987).

Rohm & Haas: Kathon 886 F, Industrielles Mikrobizid - Technisches Konzentrat, Sicherheitsrichtlinien, (1990).

Roider, G. u. a.: Der Gebrauch von Dihydrocodein als Drogenersatz. *Pharmazeutische Zeitung* 16 141. Jahrgang, 1369-1377 (1996).

Rote Liste 1996, Arzneimittelverzeichnis des BPI Hrsg. Bundesverband der pharmazeutischen Industrie e.V., ECV Editor Cantor Verlag für Medizin und Naturwissenschaften GmbH, 1996.

Ruhrverband: Ruhrwassergüte 1995 AWWR Arbeitsgemeinschaft der Wasserwerke an der Ruhr, Essen 1995.

Sander, U.; Rothe, U. u. Kola, R.: Schwefelsäure (2.3. Kontaktverfahren), in: Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, Bartholomé, E., Biekert E., E., Hellmann, H., Ley, H., Weigert, M. (Hrsg.), S. 123-125, Verlag Chemie, Weinheim 1975.

Sacher, F. u. a.: Vorkommen von Arzneimittelwirkstoffen in Oberflächenwässern. *Vom Wasser* 90, 233-243 (1998).

Sacher, F.; Lenz, S. u. Brauch, H.-J.: Analysis of primary and secondary aliphatic amines in waste water and surface water by gas chromatography-mass spectrometry after derivatization with 2,4-dinitrofluorobenzene or benzenesulfonyl chloride. *J. Chromatogr. A* 764, 85-93 (1997).

Saris, L. A. u. a.: High-performance liquid chromatographic determination of carbamazepine and metabolites in human hair. *Journal of Chromatography B* 691, 409-415 (1997).

Sasaski, H. u. a.: Enhancing effect of pyrrolidone derivatives on transdermal drug delivery. *Int. J. Pharm.* 44, 15-24 (1988).

Schlichtig, B.: Photochemische Oxidation pflanzenschutzhaltiger Abwässer mittels UV-Licht und Wasserstoffperoxid., *Stuttgarter Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft*, 18-23 (1996).

Schmid, B.: Atomemissionsdetektoren auf der Basis mikrowelleninduzierter Plasmen zur Spurenanalyse organischer Verbindungen, Dissertation, Universität Ulm 1991.

Schmidt, T. C. u. a.: Gas chromatographic determination of aromatic amines in water samples after solid-phase extraction and derivatization with iodine. *Journal of Chromatography A* 810, 161-72 (1998).

Schmidt, T. C. u. a.: Analysis of aminobenzoic acids in waste water from a former ammunition plant with HPLC and combined diode array and fluorescence detection. *Fresenius J. Anal. Chem.* 357, 121-126 (1997).

Schmidt-Bäumler, K.; Heberer, T. u. Stan, H.-J.: Occurrence and distribution of organic contaminants in the aquatic system in Berlin. Part II: Substituted Phenols in Berlin Surface Water. *Acta hydrochim. hydrobiol.* 27, 143-149 (1999).

Schnitzler, M.: Aktivkohle für die Bestimmung organischer Gruppenparametern in Wässern, *Vom Wasser*, 73, 43-55 (1989).

Schnitzler, M. u. Sontheimer, H.: Eine Methode zur Bestimmung des gelösten organisch gebundenen Schwefels in Wässern (DOS), *Vom Wasser*, 59, 159-167 (1982).

Schöberl, P.: Alkylbenzolsulfonat-(LAS-)monitoring, *Tenside Surf. Det.*, 1, 25-35 (1995).

Schöberl, P. u. a.: Alkylbenzolsulfonat-(LAS-)monitoring, *Tenside Surf. Det.*, 4, 243-252 (1994).

Schönberger, H.: Zur biologischen Abbaubarkeit im Abwasserbereich. Ist der Zahn-Wellens-Abbautest der richtige Test? *Zeitung Wasser-Abwasser-Forschung* 24, 118-128 (1991).

Schramm, K.-W. u. a.: Acute Toxicities of Five Nitromusk Compounds in *Daphnia*, Algae and Photoluminescent Bacteria. *Wat. Res.* 30, 2247-2250 (1996).

Schröder, F. R.: Concentrations of anionic surfactants in receiving riverine water, *Tenside Surf. Det.*, 32, 492-497 (1995).

Schröder, H. F.: Bestimmung von Tensiden - Substanzklassenspezifische Bestimmungsmethoden im Vergleich mit flüssigkeitschromatographischer/massenspektroskopischer (substanzspezifischer) Bestimmung, *Vom Wasser*, 79, 193-209 (1992).

Schullerer, S.; Brauch, H.-J. u. Frimmel, F. H.: Bestimmung organischer Sulfonsäuren in Wasser durch Ionenpaar-Chromatographie, *Vom Wasser*, 75, 83-97 (1990).

Schullerer, S. u. a.: Ein neuer Parameter zur summarischen Bestimmung organischer Schwefelverbindungen nach Ionenpaar-Extraktion: IOS (Ionenpaar extrahierbare organische Schwefelverbindungen), *Vom Wasser*, 78, 229-243 (1992).

Seel, P. u. a.: Kläranlagen als Hauptein-tragungsfeld für Pflanzenschutzmittel in einem Fließgewässer - Bilanzierung der Einträge, *Vom Wasser*, 86, 247-262 (1996).

Stoll, N.: Informationsinhalte elementselektiver Detektion mittels AES und HRMS:

Zwei Wege - ein Ziel, AED-Seminar der Firma Hewlett Packard, Leipzig 1998.

Struppe, C.: Die Berechnung von Summenformeln aus AED-Daten und deren Anwendung zur Identifizierung unbekannter Verbindungen, AED-Seminar der Firma Hewlett Packard, Leipzig 1998.

Schwabe, U.: Arzneiverordnungsreport '97 Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare Gustav Fischer Verlag, Stuttgart/Jena 1997.

Stan, H.-J.; Heberer, T. u. Linkerhägner, M.: Identifizierung von 2-(4-Chlorphenoxy)-2-methyl-propionsäure im Grundwasser mittels Kapillar-Gaschromatographie mit Atomessmisionsdetektion und Massenspektrometrie. *Vom Wasser* 79, 75-88 (1992).

Stan, H.-J.; Heberer, T. u. Linkerhägner, M.: Vorkommen von Clofibrinsäure im aquatischen System. *Vom Wasser* 83, 57-68 (1994).

Steger-Hartmann, T.; Kümmerer, K. u. Schecker, J.: Trace analysis of the antineoplastics ifosfamide and cyclophosphamide in sewage water by two-step solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 726, 179-184 (1996).

Stumpf, M. u. a.: Nachweis von Arzneimittelnrückständen in Kläranlagen und Fließgewässern. *Vom Wasser* 86, 291-303 (1996).

Ternes, T. A. u. a.: Simultaneous determination of antiseptics and acidic drugs in sewage and river water. *Vom Wasser* 90, 295-309 (1998).

Ternes, T. A.; Kreckel, P. u. Mueller, J.: Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - 2. Aerobic batch experiments with activated sludge. *The Science of the Total Environment* 225, 91-99 (1999).

Tesarova, E.; Sykora, D. u. Voznakova, Z.: GC and HPLC determination of nitrophenol related pesticides. *Fresenius Envir.* 4, 609-16 (1995).

Thurow, K.: Gasphasenanalytik von Arsenorganika mittels GC/AED und GC/MSD, AED-Seminar der Firma Hewlett Packard, Leipzig 1998.

Tolls, J.: Bioconcentration of surfactants, S. 173-182, Dissertation, Universität Utrecht 1998.

Twiehaus, T. u. a.: Gefriertrocknung von beladener Aktivkohle als alternative Trocknungsmethode bei der AOX-Bestimmung mit plasmaemissionsspektroskopischer Detektion, *Vom Wasser*, 89, 49-61 (1997).

Ullmann: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 1998.

van Stee, L. L. P. u. a.: Analysis of municipal wastewater using different extraction techniques and analysis with GC using simultaneous AED/MS detection., 6. AED Anwendertreffen im Rahmen des "20th international symposium on capillary chromatography", Riva del Garda 1998.

Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln (Zusatzstoff-Zulassungsverordnung). Vom 22.12.1981 (BGBl. I 1652, 1633), zuletzt geändert 20.12.1984 (BGBl. I, S. 1652).

Verordnung über die Abbaubarkeit anionischer und nichtionischer grenzflächenaktiver Stoffe in Wasch- und Reinigungsmitteln (Tensidverordnung; TensV) vom 30.01.1977 (BGBl. I 244) geändert durch Verordnung vom 04.06.1986 (BGBl. I 851).

Wagner, R.: Glossarium, in: Wasserkalender, Wagner, R. (Hrsg.), Schmidt Verlag, Berlin 1980.

Wagner, R.: Glossarium, in: Wasserkalender, Wagner, R. (Hrsg.), S. 218-220, Schmidt Verlag, Berlin 1989.

Wallhäußer, K. H.: Praxis der Sterilisation-Desinfektion-Konservierung, S. 576-637, Thieme Verlag, Stuttgart 1995.

Weast, R. C.: Handbook of Chemistry and Physics CRC Press, Florida 1986-1987.

Wee, V. T.: Determination of cationic surfactants in waste- and river waters. Water Res. 18, 223-25 (1984).

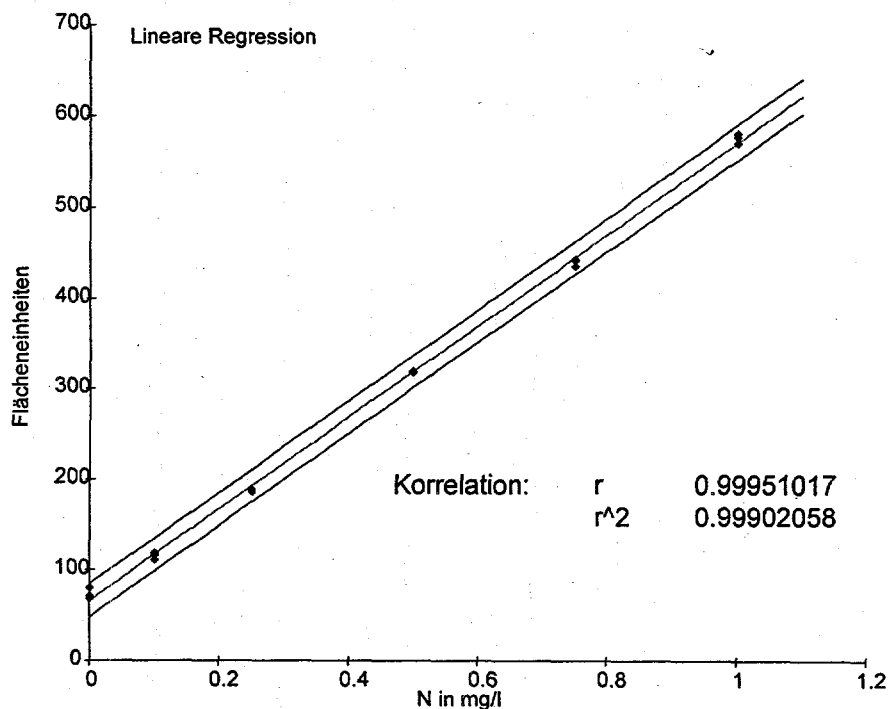
Zinder, S. H. u. Brock, T. D.: Microbial transformation of sulfur in the environment, in: Sulfur in the Environment, Part II: Ecological Impacts, Nriagu, J. O. (Hrsg.), S. 443-466, Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto 1978.

Zweites Arzneimittelgesetz (2. AmG). Vom 24.08.1976 (BGBl. I 2445).

1 Anhang

Anhang 1 Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze für TN am Multi TN+C Gerät nach DIN 32645	204
Anhang 2 Berechnung des organischen Stickstoffgehaltes über die Differenzmethode ($N_{org} = TN - (NH_4^+-N + NO_2^--N + NO_3^--N)$)	205
Anhang 3 10 Festphasen im Vergleich (Wiederfindung in %)	208
Anhang 4 Temperaturprogramm und MS-Parameter für die Analytik der Realproben	209
Anhang 5 Auslegung und Verfahren der beprobten kommunalen Kläranlagen	209
Anhang 6 Nachweis verschiedener Pharmaka im Abwasser von Kläranlagen	210
Anhang 7 Berechnung des Stickstoffbeitrages von 11 Einzelverbindungen am TN _b , am Beispiel von drei kommunalen Kläranlagen	211
Anhang 8 Liste der Referenzsubstanzen	213
Anhang 9 Nist Spektren der identifizierten Verbindungen	214

Anhang 1 Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze für TN am Multi TN+C Gerät nach DIN 32645



VB-Opt = 1
99

$k=3$
(k ist ok)

rel. Unsicherheit 0.33333333

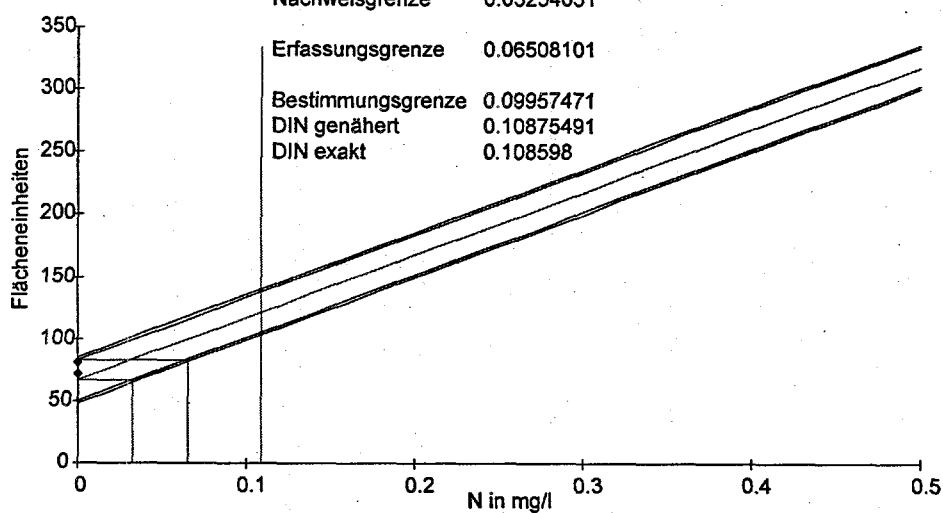
Nachweisgrenze 0.03254051

Erfassungsgrenze 0.06508101

Bestimmungsgrenze 0.09957471

DIN genähert 0.10875491

DIN exakt 0.108598



Anhang 2 Berechnung des organischen Stickstoffgehaltes über die Differenzmethode

$$(N_{org} = TN - (NH_4^+ - N + NO_2^- - N + NO_3^- - N))$$

Gemessene Konzentrationen an **Gesamtstickstoff** im Abwasser des Ablaufs der beprobten kommunalen Kläranlagen

TN [mg/l]	Mar-97	Jun-97	Sep-97	Dez-97
Ditzingen	14.26	10.14	13.10	n.b.
Eglosheim	keine Probenn.	4.49	8.40	8.95
Fellbach	8.09	6.41	8.43	8.33
Hegnach	17.62	15.92	n.b.	keine Probenn.
Hoheneck	keine Probenn.	3.06	8.06	9.77
Möhringen	14.11	11.80	16.24	11.20
Mühlhausen	18.76	10.87	13.31	9.71
Poppenweiler	keine Probenn.	7.88	8.53	10.86
Waiblingen	11.07	7.19	8.16	13.00

Gemessene Konzentrationen an **Ammonium** im Abwasser des Ablaufs der beprobten kommunalen Kläranlagen

NH ₄ ⁺ - N [mg/l]	Mar-97	Jun-97	Sep-97	Dez-97
Ditzingen	1.20	0.16	0.66	n.b.
Eglosheim	keine Probenn.	0.17	0.22	0.30
Fellbach	0.57	0.17	0.67	1.94
Hegnach	0.32	0.04	n.b.	keine Probenn.
Hoheneck	keine Probenn.	0.11	0.33	2.10
Möhringen	0.40	0.12	0.02	1.89
Mühlhausen	1.80	0.08	0.49	3.96
Poppenweiler	keine Probenn.	0.06	0.14	0.27
Waiblingen	0.33	0.06	0.10	0.09

Gemessene Konzentrationen an **Nitrit** im Abwasser des Ablaufs der beprobten kommunalen Kläranlagen

NO ₂ ⁻ -N [mg/l]	Mar-97	Jun-97	Sep-97	Dez-97
Ditzingen	0.29	0.26	0.37	n.b.
Eglosheim	keine Probenn.	0.05	0.14	0.11
Fellbach	0.31	0.06	0.11	0.08
Hegnach	0.29	0.08	n.b.	keine Probenn.
Hoheneck	keine Probenn.	0.04	0.05	0.31
Möhringen	0.19	0.14	0.03	0.24
Mühlhausen	0.16	0.12	0.30	0.22
Poppenweiler	keine Probenn.	0.01	0.02	0.03
Waiblingen	0.20	0.03	0.04	0.11

Gemessene Konzentrationen an **Nitrat** im Abwasser des Ablaufs der beprobten kommunalen Kläranlagen

NO ₃ ⁻ -N [mg/l]	Mar-97	Jun-97	Sep-97	Dez-97
Ditzingen	12.60	6.46	10.42	n.b.
Eglosheim	keine Probenn.	4.49	6.04	6.42
Fellbach	5.55	5.08	6.80	3.90
Hegnach	14.50	13.10	n.b.	keine Probenn.
Hoheneck	keine Probenn.	3.06	5.67	5.23
Möhringen	13.00	8.29	13.31	11.20
Mühlhausen	16.60	8.29	9.97	9.71
Poppenweiler	keine Probenn.	7.88	7.48	8.86
Waiblingen	8.75	5.61	7.30	9.60

Berechnete Konzentrationen an *organischem Stickstoff* im Abwasser des Ablaufs der beprobten kommunalen Kläranlagen

N _{org} [mg/l]	Mar-97	Jun-97	Sep-97	Dez-97
Ditzingen	0.17	3.25	1.65	n.b.
Eglosheim	keine Probenn.	1.04	1.99	2.12
Fellbach	1.65	1.11	0.85	2.41
Hegnach	2.52	2.70	n.b.	keine Probenn.
Hoheneck	keine Probenn.	0.95	2.01	2.14
Möhringen	0.52	3.24	2.88	3.99
Mühlhausen	0.20	2.38	2.55	2.47
Poppenweiler	keine Probenn.	1.43	0.89	1.70
Waiblingen	1.78	1.49	0.72	3.21

Anhang 3 10 Festphasen im Vergleich (Wiederfindung in %)

<i>Festphasen</i>	<i>Benzo- thiazol</i>	<i>4-Chlor- anilin</i>	<i>Chlor- Nitrobenzol</i>	<i>2,6- Dimethyl- anilin</i>	<i>Diphenyl- acetamid</i>	<i>Methyl- pyrrolidon</i>	<i>4-Nitro- anilin</i>	<i>Nitrobenzol</i>	<i>4-Nitro- phenol</i>	<i>2-Nitro- toluol</i>
Resteck C18CN (1)	13.34	-	17.79	-	91.75	16.22	-	-	-	12.94
Resteck C18CN (2)	14.59	-	17.43	-	104.64	13.46	-	-	-	13.85
Varian C18OH (1)	23.70	12.80	24.66	17.08	101.98	15.24	-	14.27	-	19.80
Varian C18OH (2)	21.60	12.01	22.30	16.86	95.68	14.65	-	15.04	-	19.50
Varian C18 (1)	28.95	13.01	43.34	-	104.92	-	-	18.80	-	39.59
Varian C18 (2)	29.51	13.07	42.53	7.86	108.06	14.98	-	18.56	-	41.62
Baker polar plus C18 (1)	71.47	8.99	80.64	9.13	98.96	13.44	30.58	29.15	40.50	83.11
Baker polar plus C18 (2)	68.47	8.80	80.54	9.22	97.39	14.50	29.80	26.41	39.01	81.18
Merck Lichrolut EN (1)	100.78	50.77	102.72	83.21	113.96	16.84	91.73	100.96	83.46	101.39
Merck Lichrolut EN (2)	96.46	47.43	98.39	81.16	109.77	16.78	89.73	99.17	74.79	96.91
Isolute ENV+ (1)	100.39	55.35	109.35	88.28	111.32	20.15	94.59	109.46	-	105.00
Isolute ENV+ (2)	102.20	53.28	98.75	89.53	116.17	18.15	85.56	99.06	-	100.99
Varian ENV (1)	81.04	65.27	82.40	70.44	90.52	15.69	45.94	81.05	58.40	79.68
Varian ENV (2)	82.05	67.70	84.08	75.82	90.40	16.24	46.78	82.22	61.49	83.08
Merck Select B (1)	13.23	10.71	22.33	10.99	110.79	15.43	-	13.47	-	17.96
Merck Select B (2)	12.53	10.07	21.39	10.39	107.49	16.82	-	-	-	16.58
Baker SDB 1 (1)	86.94	44.49	88.49	72.58	93.12	11.12	74.28	89.94	-	83.43
Baker SDB 1 (2)	97.39	44.38	94.61	80.69	105.34	12.82	83.81	98.42	-	91.35
Chromabond Hr-P (1)	92.58	39.13	91.51	77.64	101.32	11.75	78.13	92.65	42.91	86.05
Chromabond Hr-P (2)	100.11	44.05	94.49	83.22	106.82	13.45	83.57	98.05	53.14	92.82

Anhang 4 Temperaturprogramm und MS-Parameter für die Analytik der Realproben

Temperaturprogramm und MS-Parameter für die Analytik der Realproben

HP 6890	MSD 5972A
Injektion: Splitlos	Detektor: Quadrupol
Injektortemp.: 280 °C	Ionisation: EI
Temperaturprogramm:	Massenbereich:
60°C, 1min - 40°C/min -	47 - 350 u
80°C - 3°C/min - 110°C -	
5°C/min - 300 °C, 2 min	
Fluß: 1 ml/min	

Anhang 5 Auslegung und Verfahren der beprobten kommunalen Kläranlagen

Kläranlage	Kapazität in EGW	weitergehende Reinigung
Fellbach	50000	N+D+P
Hechingen*	57000	N+D+P+E
Waiblingen	70000	N+D+P
Waiblingen - Hegnach	25000	N+D+P
Ludwigsburg - Hoheneck	167000	N+D+P
Ludwigsburg - Eglosheim	18400	N+D+P
Ludwigsburg - Poppenweiler	31000	N+D+P
Stuttgart - Möhringen	149500	N+D+P
Stuttgart - Ditzingen	120000	N+D+P
Stuttgart - Mühlhausen	1000000	N+D+P+Sf
Stuttgart - Büsnau	9660	N+D+P+Ms

(P = Phosphatelimination, N = Nitrifikation, D = Denitrifikation, Sf = Sandfiltration, Ms = Mikrosiebung, E = Entfärbung)

* keine überwiegend kommunale Kläranlage, nicht zum Großraum Stuttgart zählend

Anhang 6 Nachweis verschiedener Pharmaka im Abwasser von Kläranlagen

	Mühlhausen				Möhringen				Ditzingen				Feilbach				Hegnach				
	März	Juni	Sept	Dez	März	Juni	Sept	Dez	März	Juni	Sept	Dez	März	Juni	Sept	Dez	März	Juni	Sept	Dez	
Amantadin	D				D		D	D	D		D	D	D			D	D				
Carbamazepin	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D		
Crotamiton			D												D	D		D			
Diclofenac	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D		
Dihydrocodein	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D		
Hydrocodon	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D			D	D	D	D		
Lupanin			D							D											
Novalginmetabolit	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D			D		D			
Pentoxifyllin				D						D			D			D					
Pheneturid		D	D		D	D	D	D		D	D			D	D			D			
Primidon	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D		D	D	D	D	D	D		
Propyphenazon		D		D	D	D		D	D					D	D	D	D	D			

	Waiblingen			Eglosheim			Hoheneck			Poppenweiler		
	März	Juni	Sept	Dez	März	Juni	Sept	Dez	März	Juni	Sept	Dez
Amantadin	D	D	D					D			D	D
Carbamazepin	D	D	D	D	D			D		D	D	D
Crotamiton				D								
Diclofenac	D	D	D	D	D	D	D	D		D	D	D
Dihydrocodein	D	D	D	D	D	D	D	D			D	D
Hydrocodon	D	D	D	D	D	D	D	D		D	D	D
Lupanin								D				
Novalginmetabolit	D	D	D	D	D	D	D	D			D	D
Pentoxifyllin					D			D				
Pheneturid	D	D		D	D	D		D		D	D	
Primidon		D	D	D	D	D	D	D		D	D	D
Propyphenazon				D		D		D				D

keine Probennahme erfolgt

Substanz aufgrund des Massenspektrums identifiziert

D

**Anhang 7 Berechnung des Stickstoffbeitrages von 11 Einzelverbindungen am TN_b, am
Beispiel von drei kommunalen Kläranlagen**

Einzelkonzentrationen des Zu- und Ablaufs der Kläranlage **Mühlhausen** bezogen auf Stickstoff, Probennahmedatum 9.10.97

	Summen- formel	Molare Masse [g/mol]	Zulauf [ng/l]	berechnet auf N [ng/l]	Ablauf [ng/l]	berechnet auf N [ng/l]
Benzothiazol	C ₇ H ₅ NS	135.2	n.n.*		290	30
Carbamazepin	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236.3	1840	109	1100	65
Coffein	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194.1	a.d.A.**		60	4
Crotamiton	C ₁₃ H ₁₇ NO	203.1	nicht quantifiziert			
Diethyltoluolamid	C ₁₂ H ₁₇ NO	191.1	640	47	130	10
Dihydrocodein	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	301.2	1960	91	840	39
Hydrocodon	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	299.2	n.n.		n.n.	
Methylthiobenzothiazol	C ₈ H ₇ NS ₂	181.0	8050	623	4050	313
Pentoxifyllin	C ₁₃ H ₁₈ N ₄ O ₃	278.1	360	18	n.n.	
Primidon	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	218.1	540	35	260	17
Propyphenazon	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O	230.4	130	8	120	7
Summe N [ng/l]				931		485

* n.n.: nicht nachweisbar

** a.d.A.: außerhalb der Aufstockung

Einzelkonzentrationen des Zu- und Ablaufs der Kläranlage **Fellbach** bezogen auf Stickstoff, Probennahmedatum 27.11.97

	Summen- formel	Molare Masse [g/mol]	Zulauf [ng/l]	berechnet auf N [ng/l]	Ablauf [ng/l]	berechnet auf N [ng/l]
Benzothiazol	C ₇ H ₅ NS	135.2	n.n.		30	3
Carbamazepin	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236.3	1700	101	970	57
Coffein	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194.1	a.d.A.*		120	9
Crotamiton	C ₁₃ H ₁₇ NO	203.1	nicht quantifiziert			
Diethyltoluolamid	C ₁₂ H ₁₇ NO	191.1	460	34	90	7
Dihydrocodein	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	301.2	5040	234	3590	167
Hydrocodon	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	299.2	450	21	1940	91
Methylthiobenzothiazol	C ₈ H ₇ NS ₂	181.0	620	48	70	5
Pentoxifyllin	C ₁₃ H ₁₈ N ₄ O ₃	278.1	580	29	20	1
Primidon	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	218.1	270	17	250	16
Propyphenazon	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O	230.4	390	24	200	12
Summe N [ng/l]				508		368

Einzelkonzentrationen des Zu- und Ablaufs der Kläranlage Fellbach bezogen auf Stickstoff,
 Probennahmedatum 4.03.98

	Summen- formel	Molare Masse [g/mol]	Zulauf [ng/l]	berechnet auf N [ng/l]	Ablauf [ng/l]	berechnet auf N [ng/l]
Benzothiazol	C_7H_5NS	135.2	2140	222	320	33
Carbamazepin	$C_{15}H_{12}N_2O$	236.3	1190	71	1320	78
Coffein	$C_8H_{10}N_4O_2$	194.1	a.d.A.		460	33
Crotamiton	$C_{13}H_{17}NO$	203.1	260	18	130	9
Diethyltoluolamid	$C_{12}H_{17}NO$	191.1	440	32	230	17
Dihydrocodein	$C_{18}H_{23}NO_3$	301.2	3490	162	2230	104
Hydrocodon	$C_{18}H_{21}NO_3$	299.2	n.n.		770	36
Methylthiobenzothiazol	$C_8H_7NS_2$	181.0	950	74	190	15
Pentoxifyllin	$C_{13}H_{18}N_4O_3$	278.1	470	24	230	12
Primidon	$C_{12}H_{14}N_2O_2$	218.1	580	37	610	39
Propyphenazon	$C_{14}H_{18}N_2O$	230.4	340	21	340	21
Summe N [ng/l]				660		396

Anhang 8 Liste der Referenzsubstanzen

Bezugsquellen für die Referenzsubstanzen, die im Hauptteil der Arbeit nicht explizit erwähnt wurden:

4-Acetamidoantipyrin	97 %	Aldrich, Steinheim
4-Acetaminophenol	98 %	Sigma, Deisenhofen
1-Adamantylamin	97 %	Aldrich, Steinheim
Benzolsulfonsäureamid	98 %	Aldrich, Steinheim
Benzothiazol	> 95 %	Merck, Darmstadt
Carbamazepin	99 %	Aldrich, Steinheim
Coffein	> 98 %	Synopharm GmbH, Barsbüttel
Crotamiton	> 96 %	Synopharm GmbH, Barsbüttel
Diclofenac, Natriumsalz	> 95 %	Sigma, Deisenhofen
7-Diethylamino-4-methylcoumarin	99 %	Aldrich, Steinheim
Diethyltoluolamid	98 %	Aldrich, Steinheim
Dihydrocodeinhydrogentartrat	99 %	Synopharm GmbH, Barsbüttel
2-Ethyl-2-phenylmalonamid, monohydrat	99 %	Aldrich, Steinheim
Hydrocodon	> 95 %	Sigma, Deisenhofen
Iminostilben	97 %	Aldrich, Steinheim
2-Methylmercaptobenzothiazol	97 %	Aldrich, Steinheim
Pentoxifyllin	> 95 %	Sigma, Deisenhofen
Pheneturid	> 98 %	Katwijk chemie bv, NL
Primidon	> 95 %	Sigma, Deisenhofen
Propyphenazon	99 %	Synopharm GmbH, Barsbüttel
o-Toluolsulfonsäureamid	99 %	Aldrich, Steinheim
p-Toluolsulfonsäureamid	> 99 %	Fluka, Deisenhofen

weitere Referenzsubstanzen, die ausschließlich bei den Abbauprobungen eingesetzt wurden:

4-Acetaminophenolglucuronid	> 95 %	Sigma, Deisenhofen
Carbamazepinepoxid	> 95 %	Sigma, Deisenhofen

Carbamazepin-Diol wurde von Herrn Prof. Eichelbaum, Dr. Margarete Fischer-Bosch-Institut für Klinische Pharmakologie, Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart, zur Verfügung gestellt.

Anhang 9 Nist Spektren der identifizierten Verbindungen

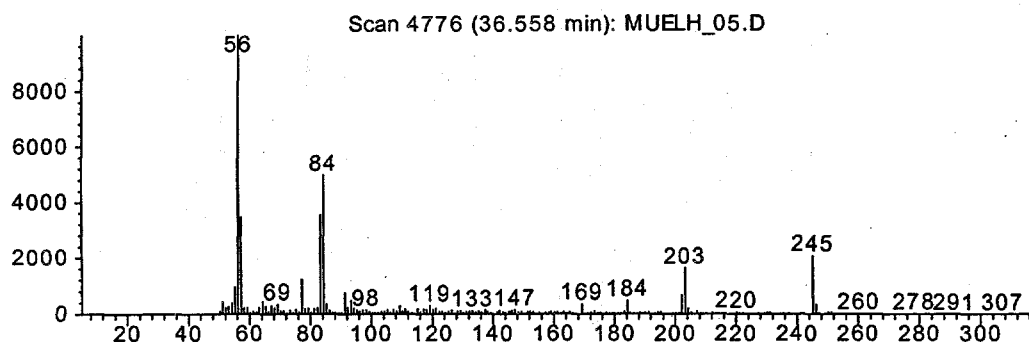
Die Spektren mehrerer identifizierter Schwefel- und Stickstoffverbindungen sind auf den nachfolgenden Seiten in alphabetischer Reihenfolge (entsprechend der Nist-Nomenklatur) aufgelistet. Unter den Spektren ist das Probennahmedatum mit dem Probennahmeort aufgeführt. Des Weiteren ist die Überstimmung zwischen dem Probenspektrum und der NIST-Bibliothek in Prozent vermerkt.

Substanz (Nomenklatur nach NIST-Bibliothek)	CAS-Nr.	Summen- formel	Molgewicht in g/mol
Acetamide, N-(2,3-dihydro-1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)-	83-15-8	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₂	245,116
4-Aminophenylmethylsulphone	5470-49-5	C ₇ H ₉ NO ₂ S	171,035
Benzenesulfonamide, N-ethyl-4-methyl-	80-39-7	C ₉ H ₁₃ NO ₂ S	199,066
Benzenesulfonamide, 2-methyl-	88-19-7	C ₇ H ₉ NO ₂ S	171,035
Benzenesulfonamide, 4-methyl-	70-55-3	C ₇ H ₉ NO ₂ S	171,035
Benzenesulfonic acid, 4-methyl-, methyl ester	80-48-8	C ₈ H ₁₀ O ₃ S	186,034
1,2-Benzisothiazol-3(2H)-one, 2-methyl-1,1-dioxide	15448-99-4	C ₈ H ₇ NO ₃ S	197,014
Benzothiazole	95-16-9	C ₇ H ₅ NS	135,000
Benzothiazole, 2-(methylthio)-	615-22-5	C ₈ H ₇ NS ₂	181,001
2H-1-Benzopyran-2-one, 7-(diethylamino)-4-methyl-	91-44-1	C ₁₄ H ₁₇ NO ₂	231,125
2H-Benzotriazole, 2-methyl-	16584-00-2	C ₇ H ₇ N ₃	133,063
Caffeine	58-08-2	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,080
Carbamazepine	298-46-4	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236,094
Crotamiton	483-63-6	C ₁₃ H ₁₇ NO	203,130
1-(2,6-Dichlorophenyl)-2-indolinone	15362-40-0	C ₁₄ H ₉ Cl ₂ NO	277,000
Diclofenac, methyl ester		C ₁₅ H ₁₃ Cl ₂ NO ₂	309,031
Diethyltoluamide	134-62-3	C ₁₂ H ₁₇ NO	191,130
Dihydrocodeine Bitartrate	125-28-0	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	301,167
Hydrocodone	125-29-1	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	299,151
Lupanine	550-90-3	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O	248,188
Pentoxifylline	6493-05-6	C ₁₃ H ₁₈ N ₄ O ₃	278,137
Pheneturide	90-49-3	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O ₂	206,105

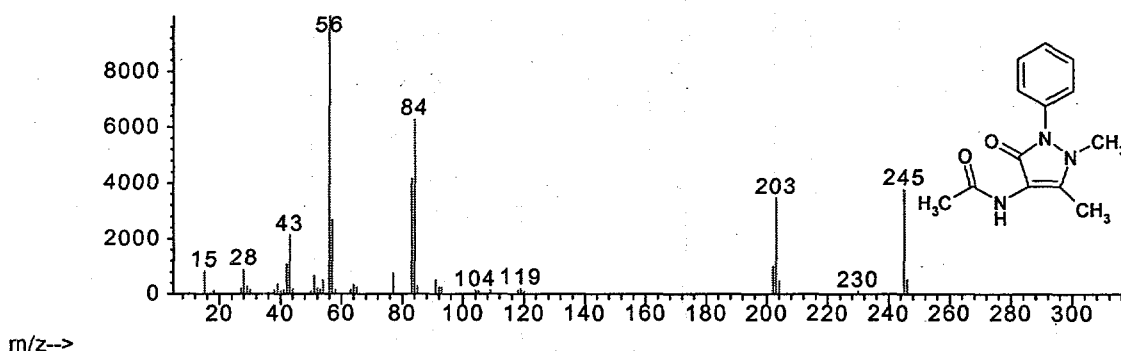
Fortsetzung von Anhang 9

Substanz (Nomenklatur nach NIST-Bibliothek)	CAS-Nr.	Summen- formel	Molgewicht in g/mol
Primidone	125-33-7	$C_{12}H_{14}N_2O_2$	218,105
Propyphenazone	479-92-5	$C_{14}H_{18}N_2O$	230,141
1H-Purine-2,6-dione, 3,7-dihydro-8-methoxy-1,3,7-trimethyl-	4921-51-1	$C_9H_{12}N_4O_3$	224,090
Pyridine, 3-(1-methyl-2pyrrolidiny)-, (s)-	16760-37-5	$C_{10}H_{14}N_2$	162,115
2,4,6(1H,3H,5H)-Pyrimidinetrione, 5ethyl-1,3-dimethyl-	7391-61-9	$C_8H_{12}N_2O_3$	184,084
Tricyclo[3.3.1.1 ^{3,7}]decan-1-amine	768-94-5	$C_{10}H_{17}N$	151,135
4,N,N-Trimethylbenzenesulfonamide		$C_9H_{13}NO_2S$	199,066

Abundance

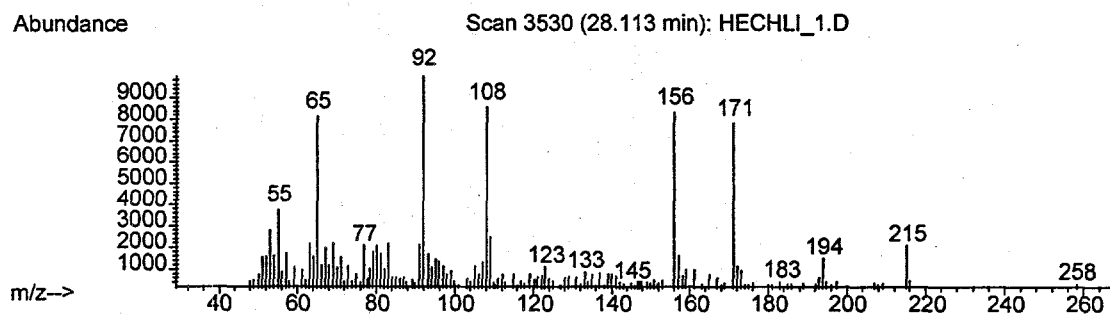


#32866: Acetamide, N-(2,3-dihydro-1,5-dimethyl-3-oxo-2-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)-

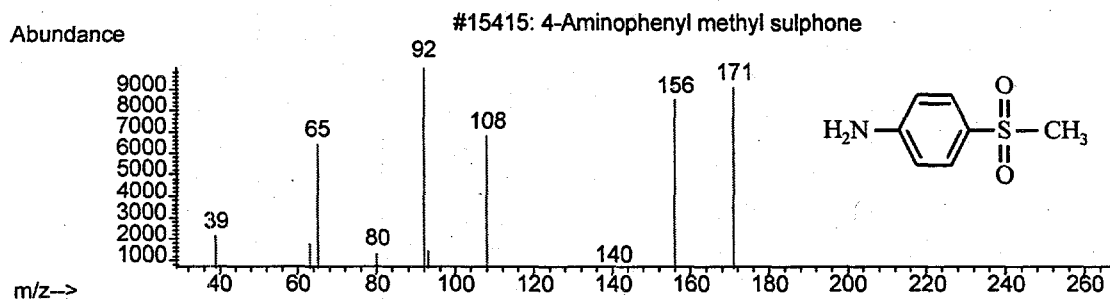


Kläranlage Mühlhausen 10.12.97 Übereinstimmung 95 %

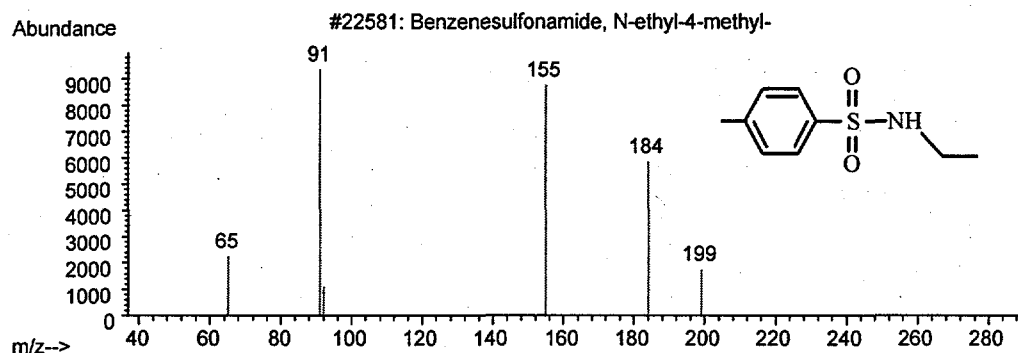
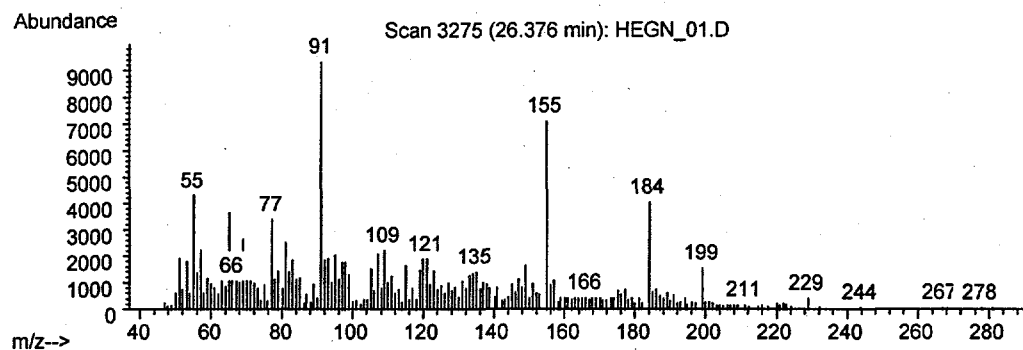
Abundance



Abundance



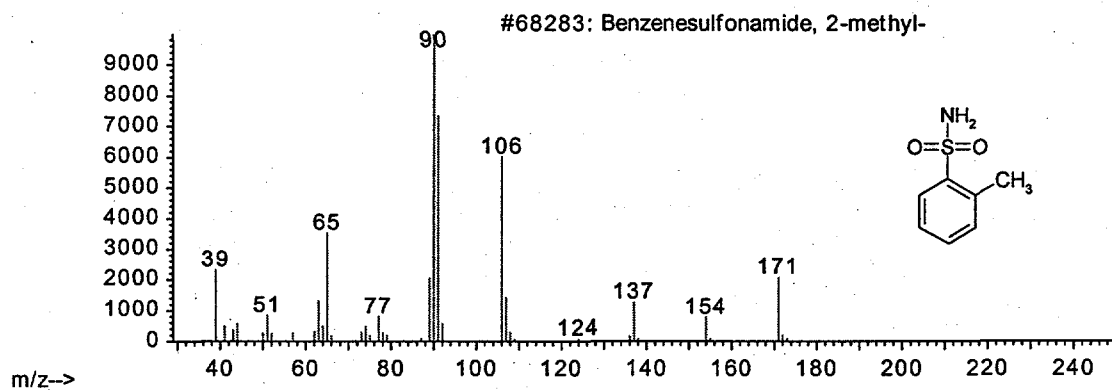
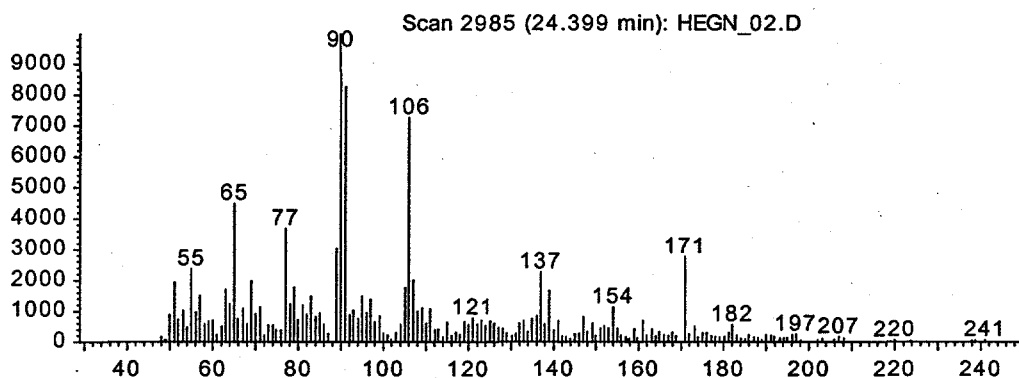
Kläranlage Hechingen 4.02.98 Übereinstimmung 90 %



Kläranlage Hegnach 17.06.97

Übereinstimmung 50 %

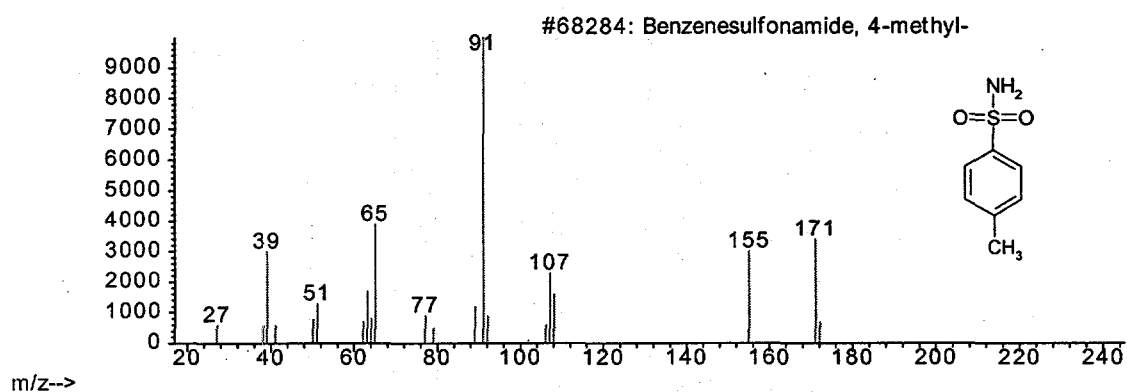
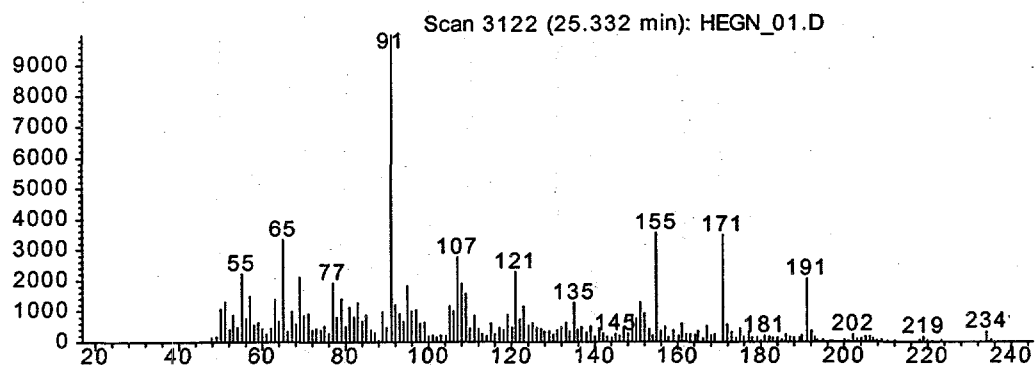
Abundance



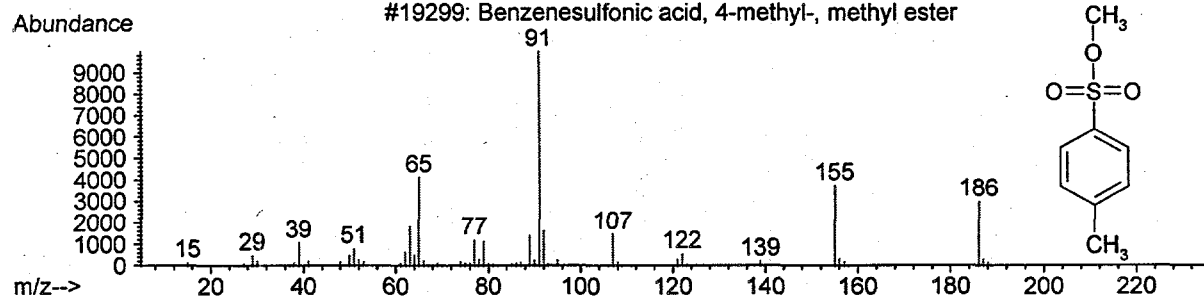
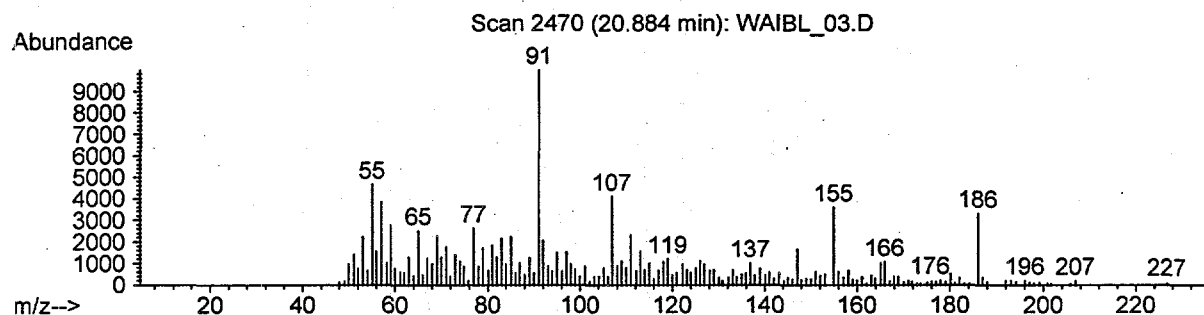
Kläranlage Hegnach 17.06.97 org.

Übereinstimmung 95 %

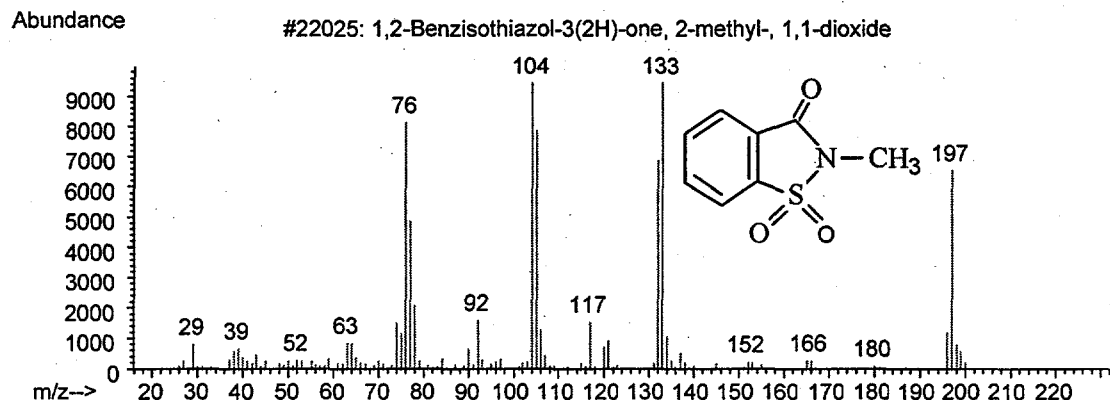
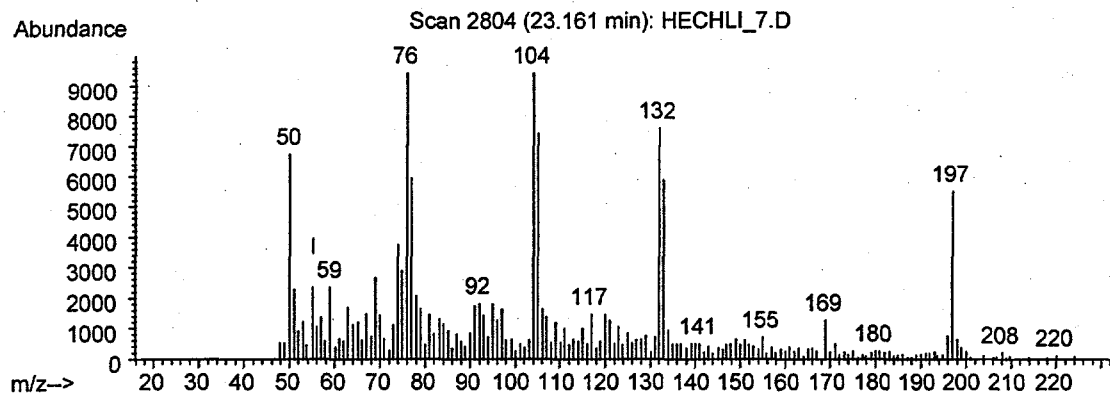
Abundance



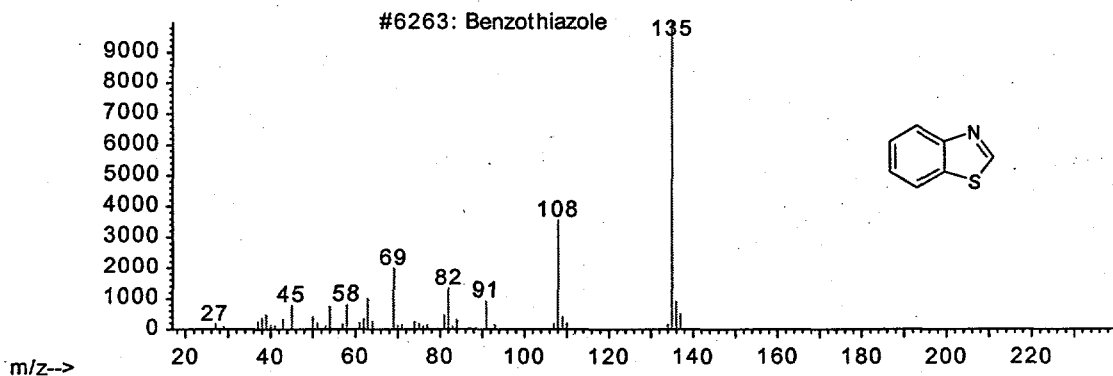
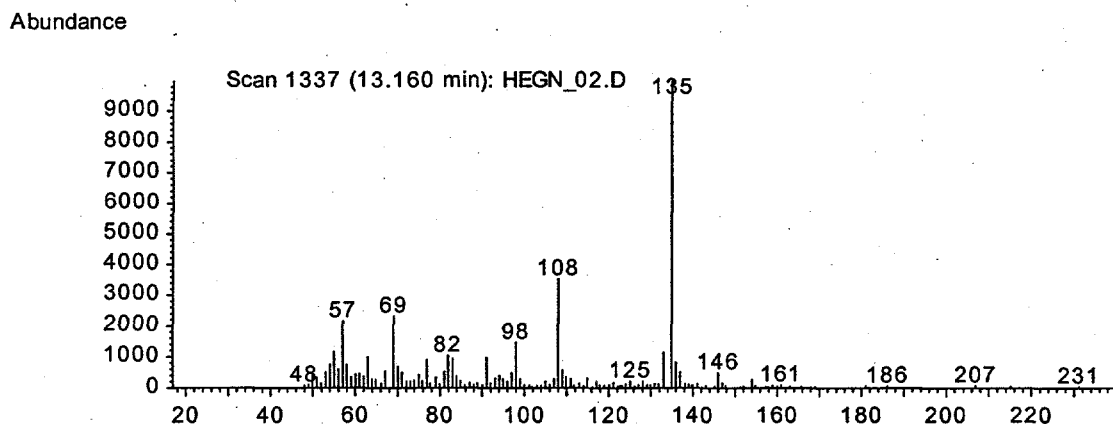
Kläranlage Hoheneck 17.06.97 org. Übereinstimmung 91 %



Kläranlage Waiblingen 16.07.97 Übereinstimmung 60 %

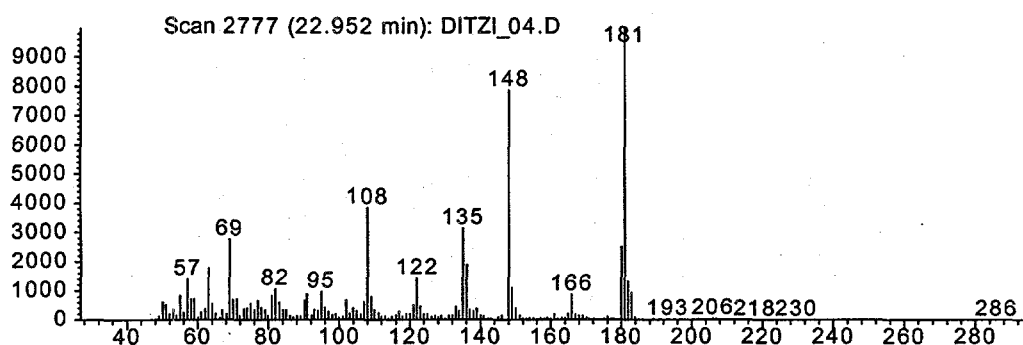


Kläranlage Hechingen 4.02.98 Übereinstimmung 97 %



Kläranlage Hoheneck 17.06.97 org. Übereinstimmung 93 %

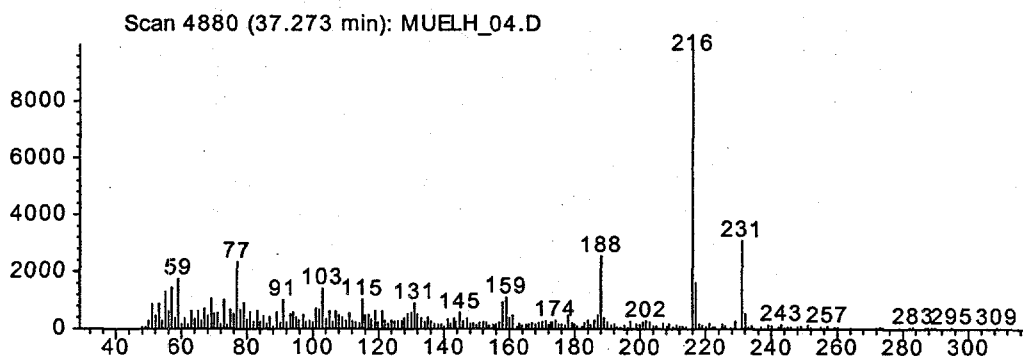
Abundance



m/z-->

Kläranlage Ditzingen 12.12.97 Übereinstimmung 97 %

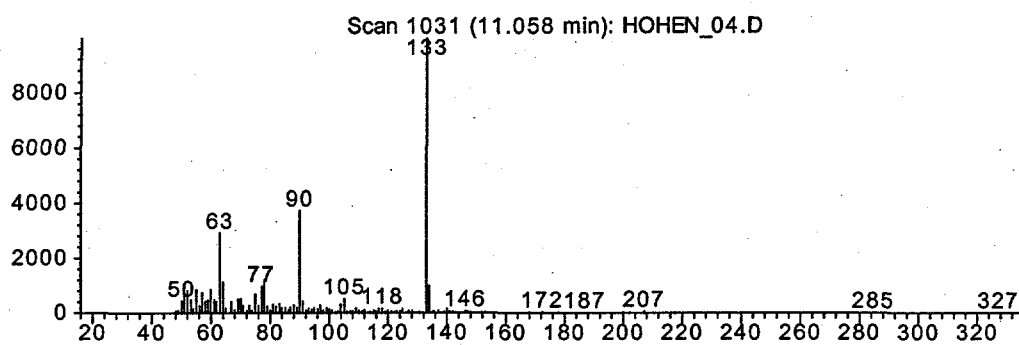
Abundance



m/z-->

Kläranlage Mühlhausen 10.12.97 Übereinstimmung 93 %

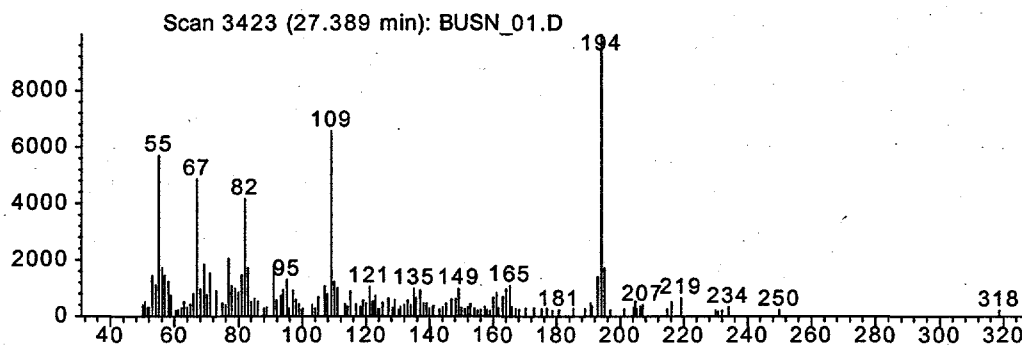
Abundance



m/z-->

Kläranlage Hoheneck 10.12.97 Übereinstimmung 94 %

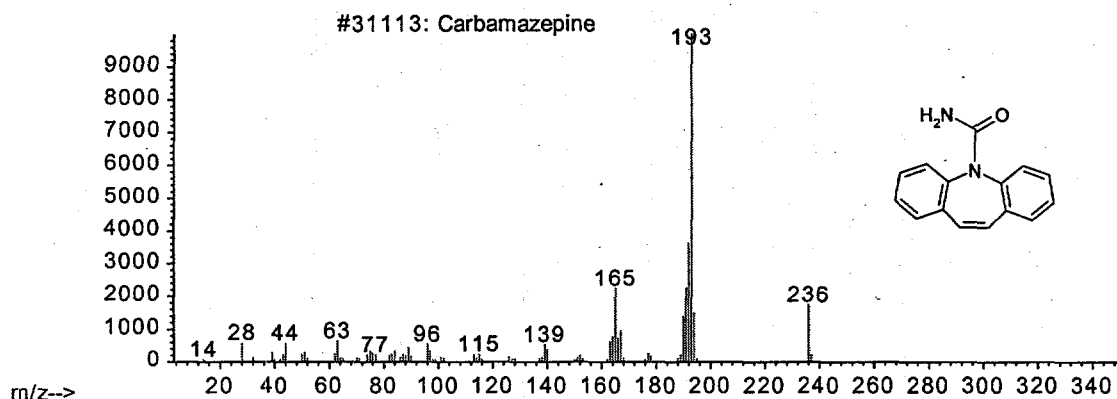
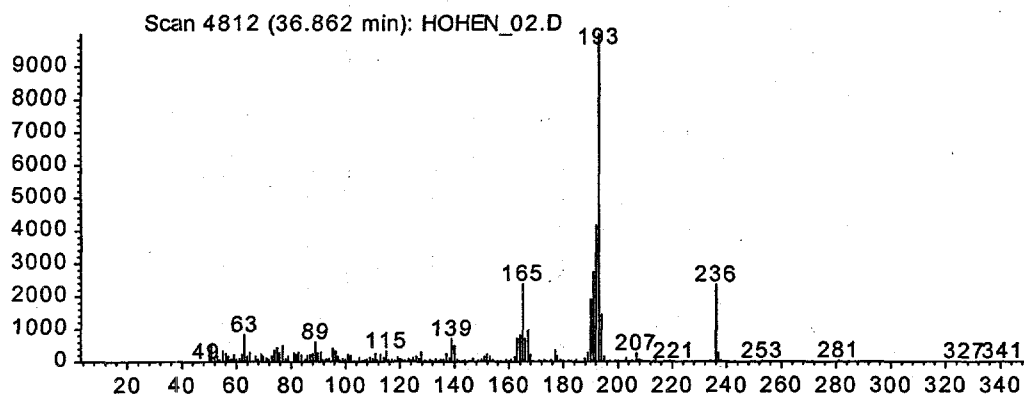
Abundance



m/z-->

Kläranlage Büsnau 24.11.97 Übereinstimmung 93 %

Abundance

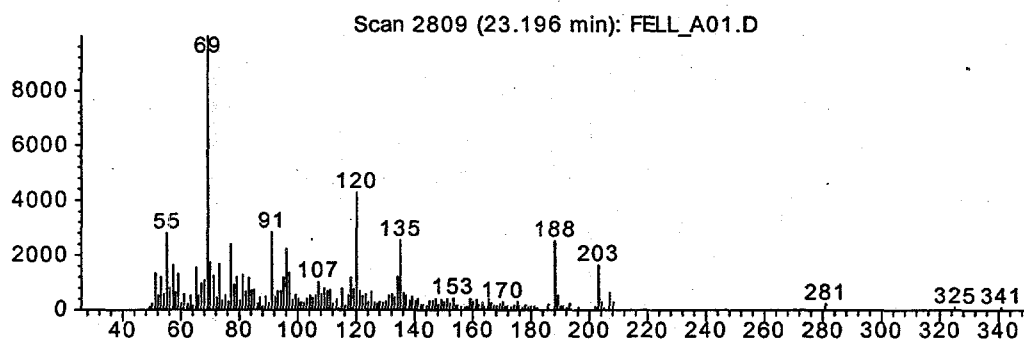


m/z-->

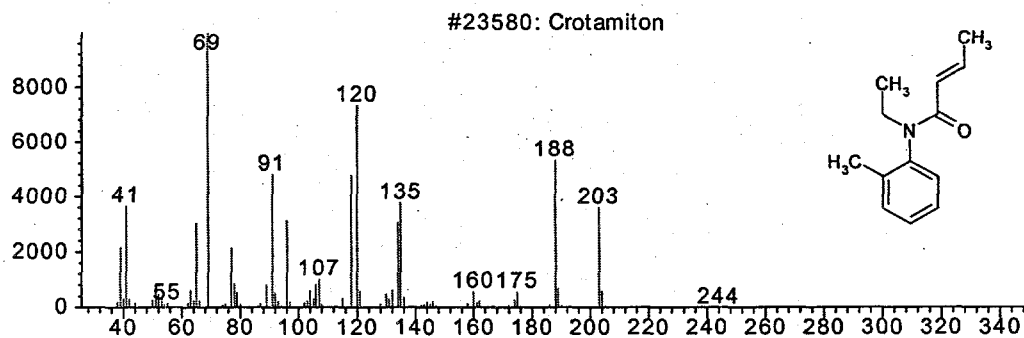
Kläranlage Hoheneck 7.10.97

Übereinstimmung 96 %

Abundance



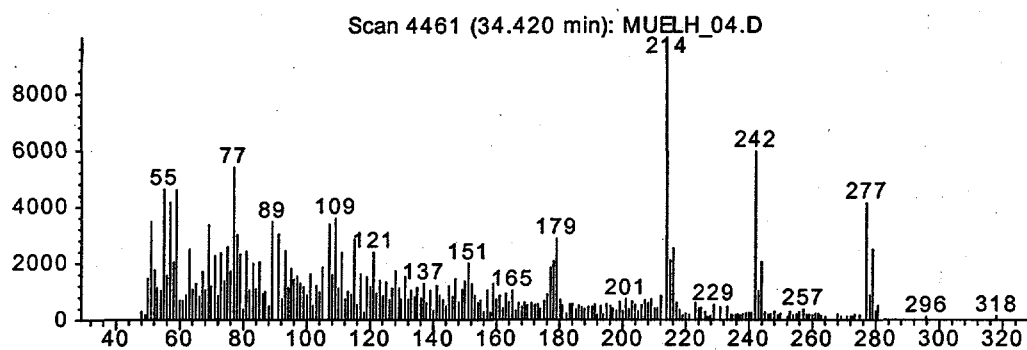
m/z-->



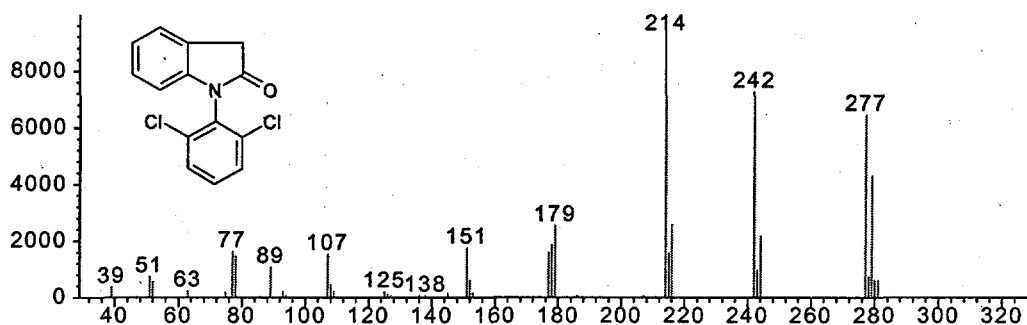
Kläranlage Fellbach 5.03.98

Übereinstimmung 45 %

Abundance



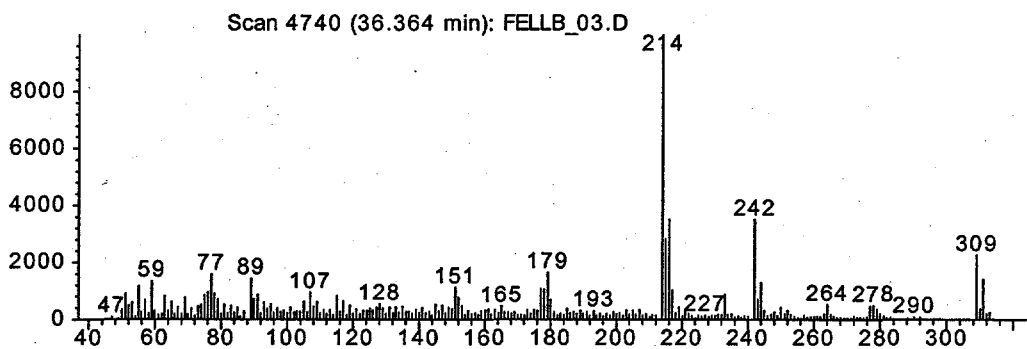
#38930: 1-(2,6-Dichlorophenyl)-2-indolinone



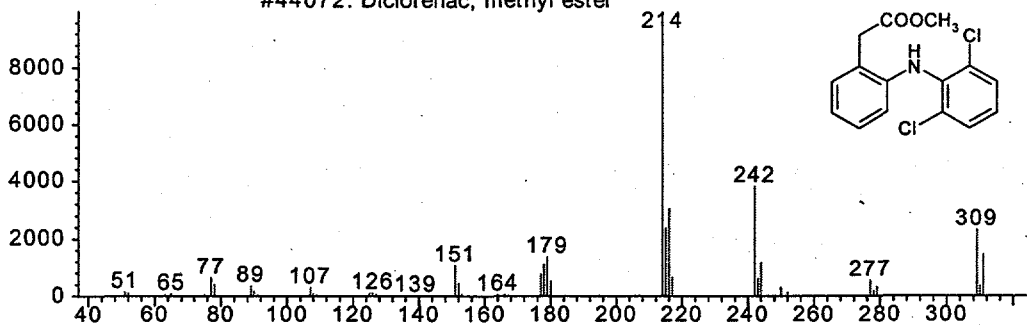
m/z-->

Kläranlage Mühlhausen 10.12.97 Übereinstimmung 98 %

Abundance



#44072: Diclofenac, methyl ester

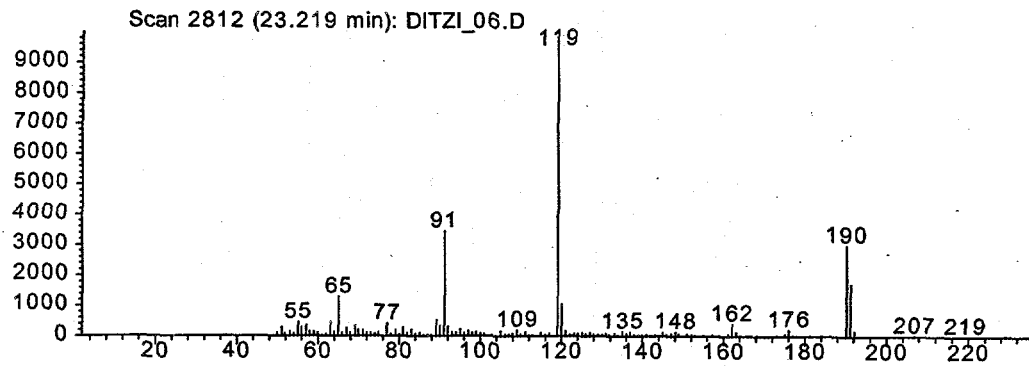


m/z-->

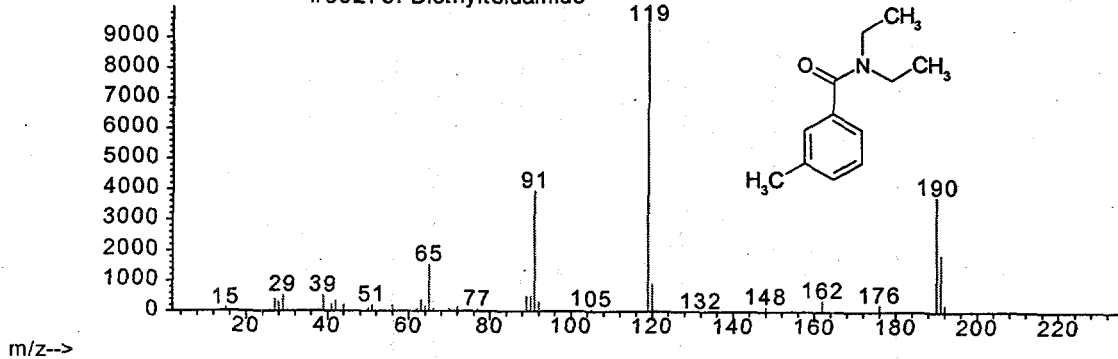
Kläranlage Fellbach 17.06.97

Übereinstimmung 99 %

Abundance



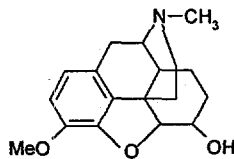
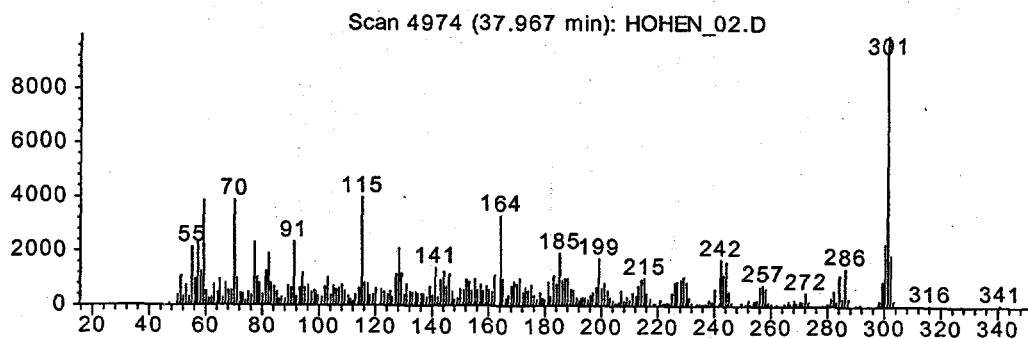
#69273: Diethyltoluamide



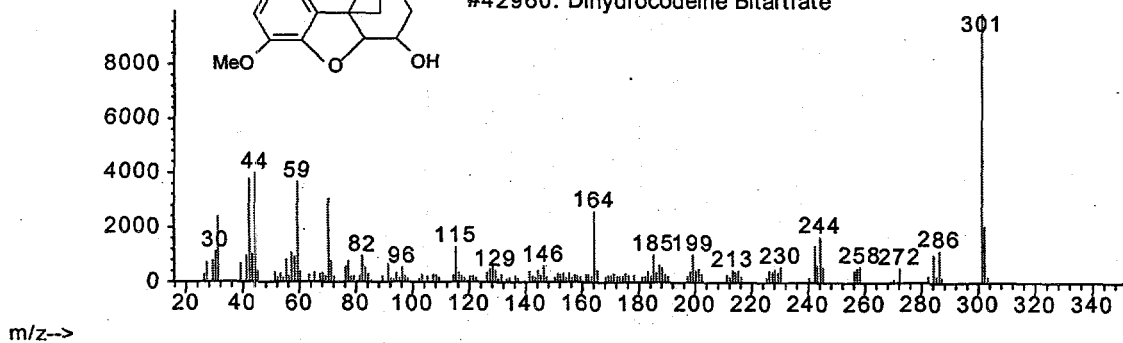
Kläranlage Ditzingen 19.06.97

Übereinstimmung 95 %

Abundance



#42960: Dihydrocodeine Bitartrate

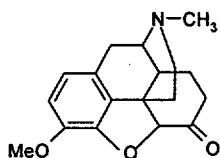
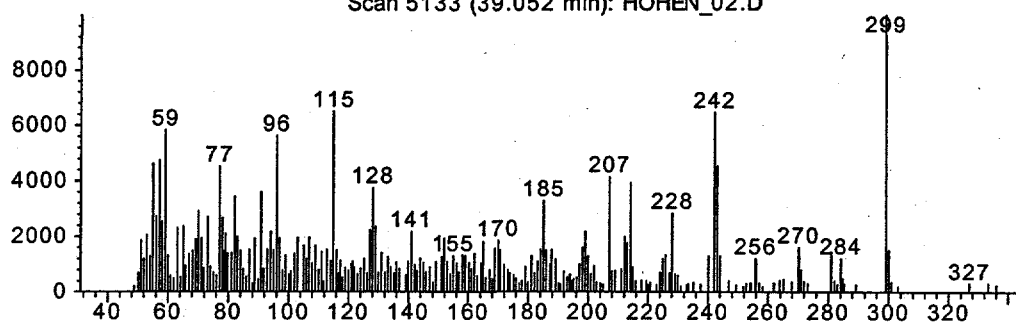


Kläranlage Hoheneck 7.10.97

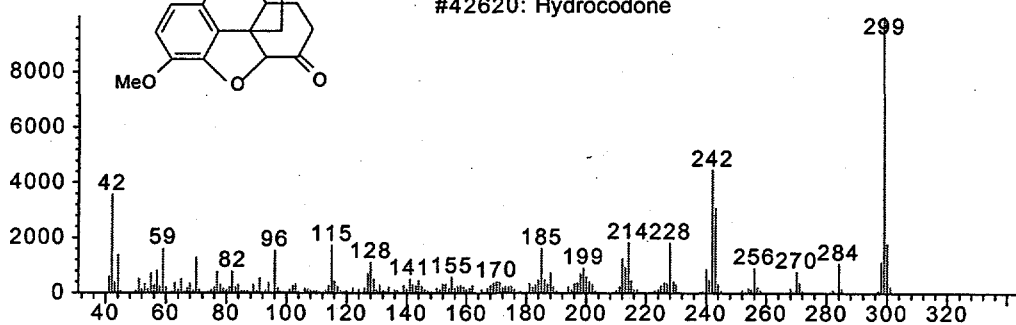
Übereinstimmung 98 %

Abundance

Scan 5133 (39.052 min): HOHEN_02.D



#42620: Hydrocodone



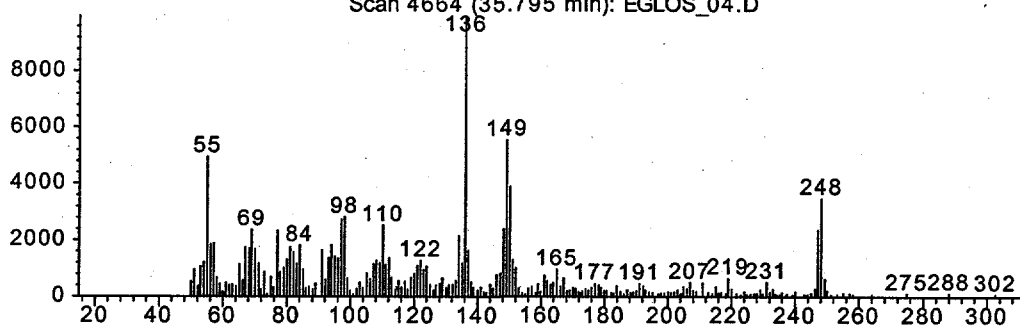
m/z-->

Kläranlage Hoheneck 7.10.97

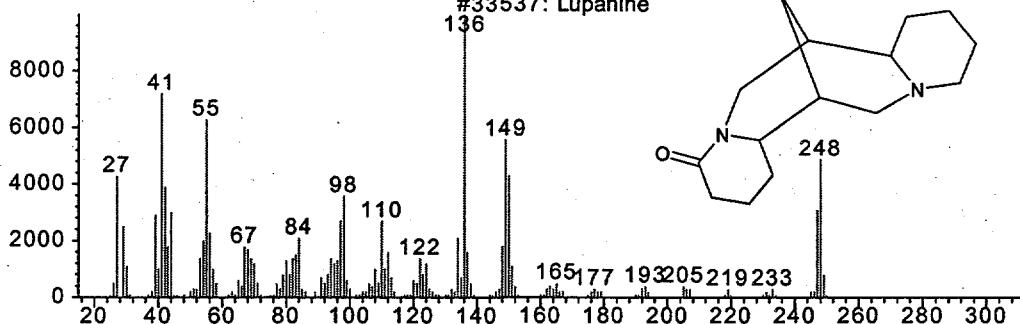
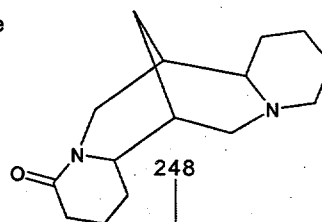
Übereinstimmung 99 %

Abundance

Scan 4664 (35.795 min): EGLOS_04.D



#33537: Lupanine

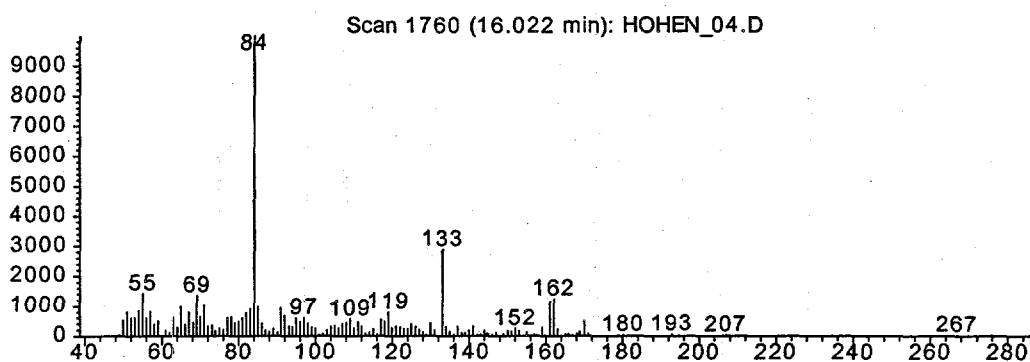


m/z-->

Kläranlage Eglosheim 10.12.97

Übereinstimmung 99 %

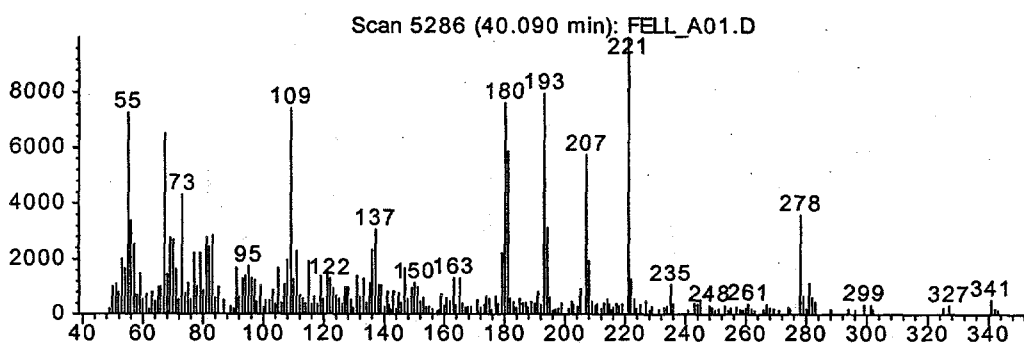
Abundance



m/z-->

Kläranlage Hoheneck 10.12.97 Übereinstimmung 95 %

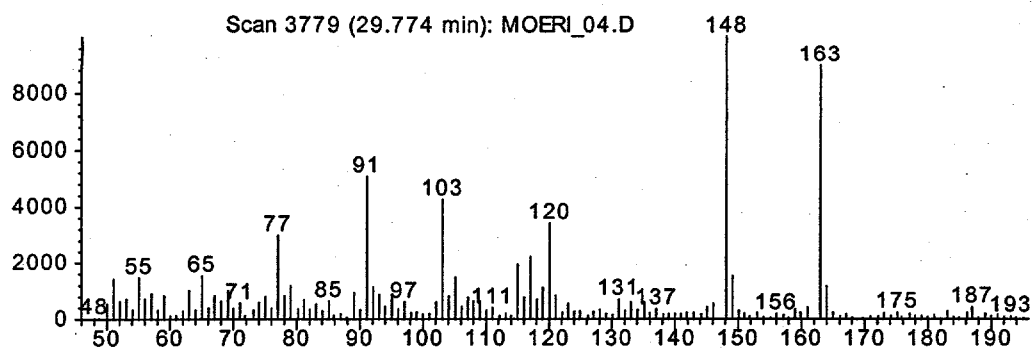
Abundance



m/z-->

Kläranlage Fellbach 5.03.98 Übereinstimmung 95 %

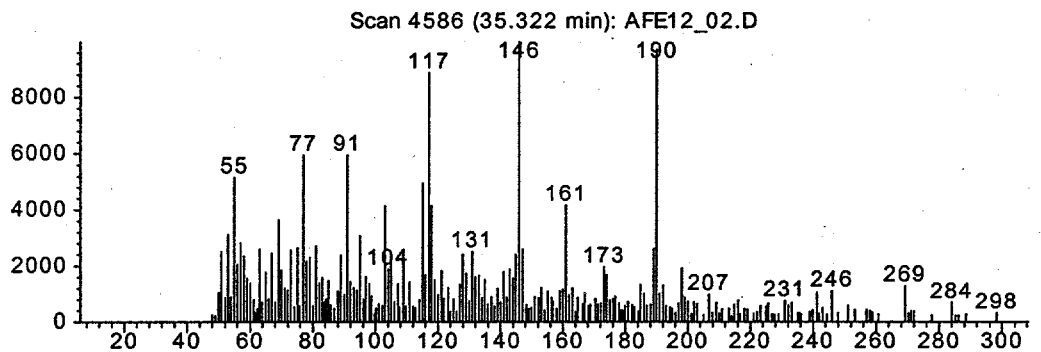
Abundance



m/z-->

Kläranlage Möhringen 9.12.97 Übereinstimmung 91 %

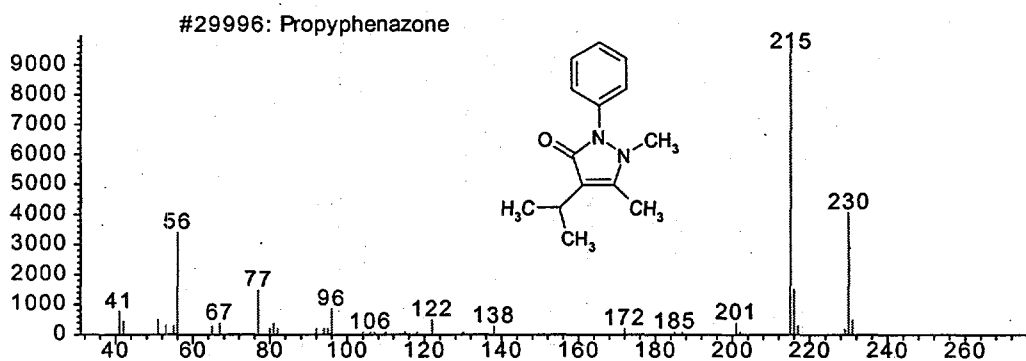
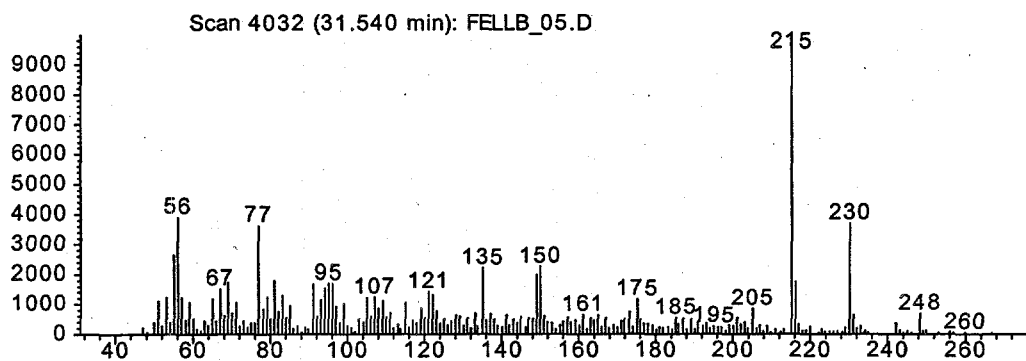
Abundance



m/z-->

Kläranlage Fellbach 27.11.97 Übereinstimmung 96 %

Abundance

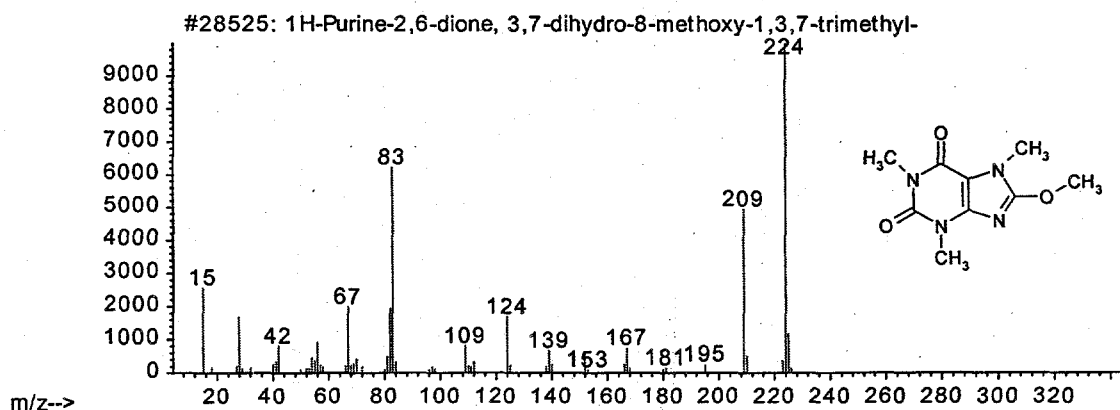
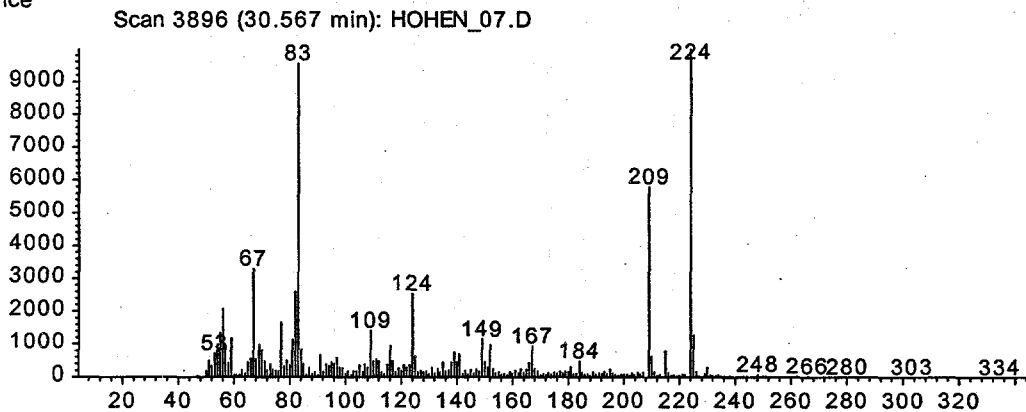


m/z-->

Kläranlage Fellbach 17.06.97

Übereinstimmung 64 %

Abundance

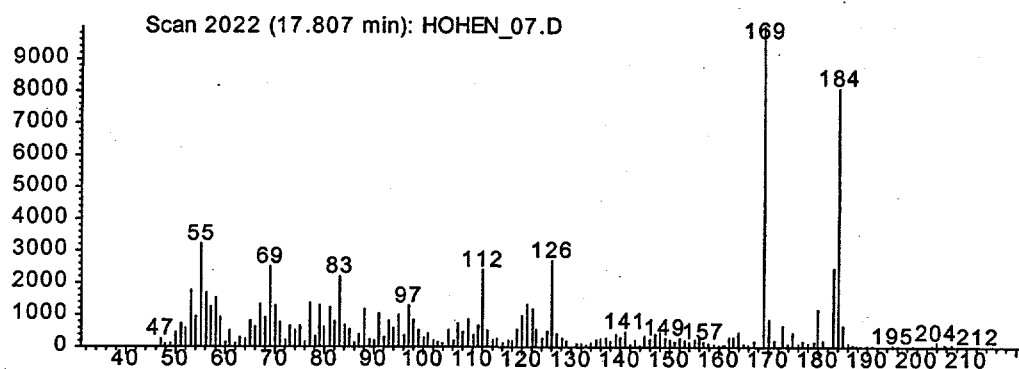


m/z-->

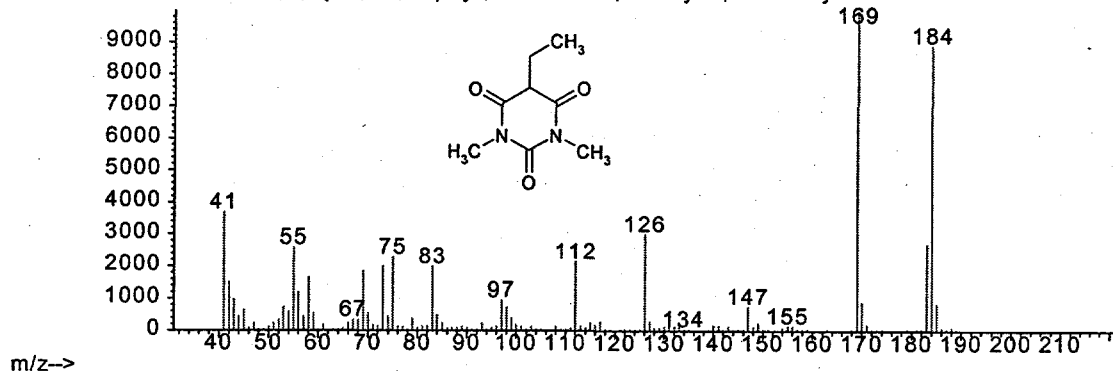
Kläranlage Hoheneck 10.12.97

Übereinstimmung 94 %

Abundance

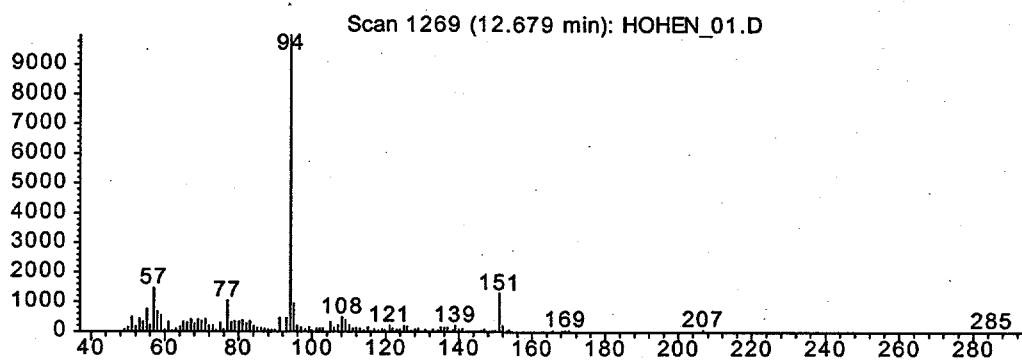
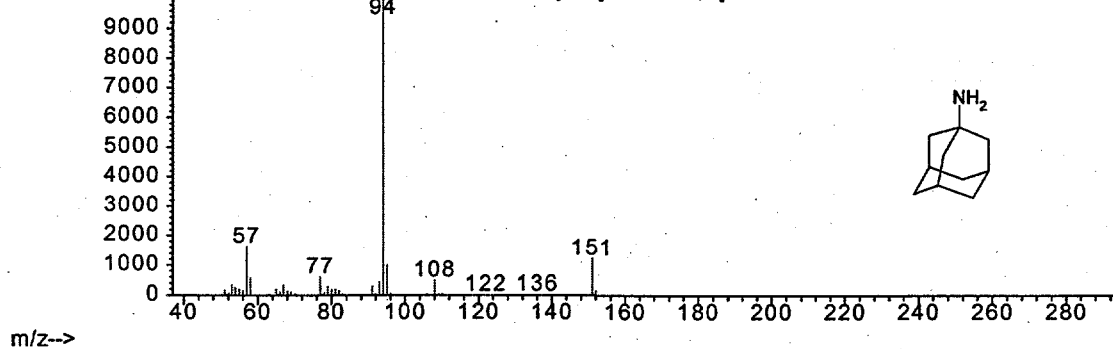


#18735: 2,4,6(1H,3H,5H)-Pyrimidinetrione, 5-ethyl-1,3-dimethyl-

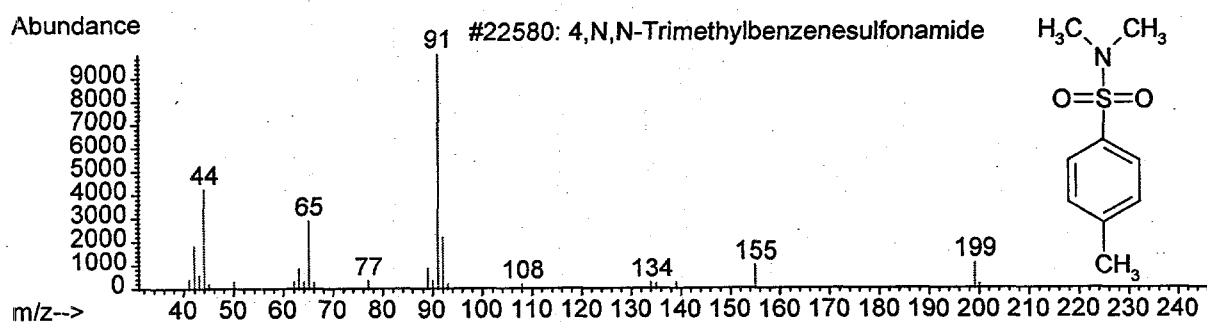
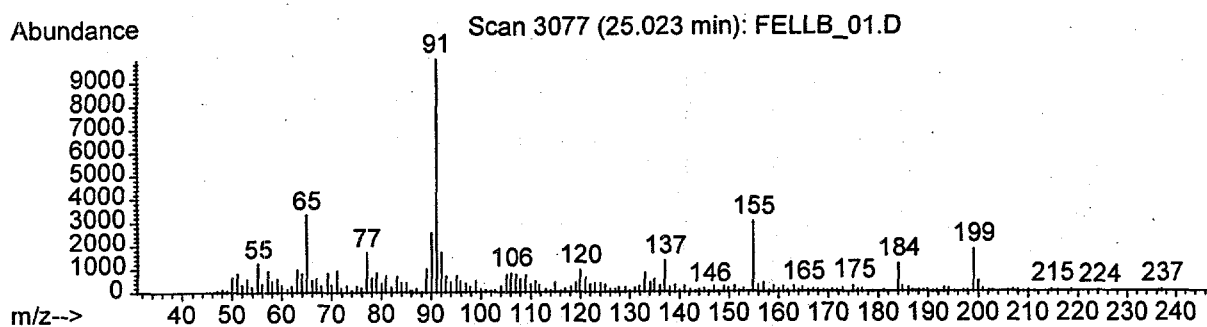


Kläranlage Hoheneck 10.12.97 Übereinstimmung 93 %

Abundance

#10045: Tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decan-1-amine

Kläranlage Hoheneck 10.12.97 Übereinstimmung 93 %



Kläranlage Fellbach 17.06.97

Übereinstimmung 46 %