



KfK 4690
Mai 1990

Charakterisierung organischer Stoffe niederer molarer Masse in Abläufen kommunaler Kläranlagen mit biologischer Reinigungsstufe

W. Elsäßer
Institut für Radiochemie

Kernforschungszentrum Karlsruhe

Kernforschungszentrum Karlsruhe
Institut für Radiochemie

KfK 4690

**Charakterisierung organischer Stoffe niederer molarer
Masse in Abläufen kommunaler Kläranlagen mit
biologischer Reinigungsstufe**

Werner Elsäßer

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe

Von der Fakultät für Chemie der Universität Karlsruhe
angenommene Dissertation

Als Manuskript vervielfältigt
Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH
Postfach 3640, 7500 Karlsruhe 1

ISSN 0303-4003

Kurzfassung

Organische Stoffe niederer molarer Masse wurden aus biologisch gereinigtem Abwasser isoliert. Deren Anteil, bezogen auf die gesamten gelösten organischen Stoffe, lag im Mittel bei 30 %, wenn die Diafiltration als Trenntechnik verwendet wurde. Die Trennung von organischen Stoffen und anorganischen Stoffen gelang weitgehend unter Zuhilfenahme der Elektrodialyse. Sie wurde noch verbessert durch die Reinigung über eine Kieselgelsäule.

Mittels summarischer Meßgrößen wurden die so gewonnenen Abwasserinhaltsstoffe charakterisiert. Sie sind biologisch praktisch nicht mehr weiter abbaubar. Das Verhältnis von gelöstem organisch gebundenem Kohlenstoff und gelöstem organisch gebundenem Stickstoff beträgt rund 9. Methylenblau-aktive Substanzen tragen rund 0.5 % zum organisch gebundenen Kohlenstoff bei.

Die Untersuchung der niedermolekularen Anteile mit Hilfe chromatographischer (GC, HPLC, DC) und spektroskopischer (MS, IR) Methoden erbrachte 88 identifizierte Verbindungen; darunter 13 Aminosäuren, Abbauprodukte von Tensiden und heterozyklische Verbindungen. Die 88 Inhaltsstoffe entsprechen rund 6 % des Kohlenstoffs in der isolierten Fraktion. Rückgerechnet auf die Verhältnisse im Ablauf einer kommunalen Kläranlage liegen die meisten dieser Verbindungen in Konzentrationen um 1 $\mu\text{g/l}$ vor.

Abstract

Characterisation of Organic Matter of Low Molecular Weight in Secondary Effluents of Municipal Wastewater Treatment Plants.

Organic matter of low molecular weight has been isolated from biologically treated wastewater. Based on the total dissolved organic matter its share averaged 30 %, if diafiltration was used as separation technique. The separation of organic and inorganic matter was fairly good by application of electrodialysis. The final clean-up was achieved with the aid of a silicagel column.

By means of non-specific methods of measurement the wastewater components were characterized. Generally they are not biodegradable any further. The ratio of dissolved organic carbon to dissolved organic nitrogen is about 9. Methylenblue-active substances contribute about 0.5 % to the dissolved organic carbon.

The analysis of the organic matter of low molecular weight by means of chromatographic (GC, HPLC, TLC) and spectroscopic (MS, IR) methods resulted in 88 identified substances, among them 13 amino acids, degradation products of surfactants and heterocyclic compounds. These substances amounted up to 6 % of the organic carbon in the isolated fraction. Based on the situation in the effluent of a municipal sewage plant, most of these substances had a concentration level of about 1 $\mu\text{g/l}$.

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------|---|
| AS | Aminosäuren |
| BIAS | Bismut-aktive Stoffe, summarische Meßgröße für nichtionische Tenside |
| CI | Chemische Ionisierung zur Erzeugung von Ionen bei der Massenspektroskopie |
| CSB | Chemischer Sauerstoffbedarf |
| DC | Dünnschichtchromatographie |
| DEV | Deutsche Einheitsverfahren (Methodensammlung zur Wasseranalytik) |
| DON | Dissolved organic Nitrogen, gelöster organisch gebundener Stickstoff |
| DOC | Dissolved organic Carbon, gelöster organisch gebundener Kohlenstoff |
| DSBAS | Disulfhinblau-aktive Stoffe, summarische Meßgröße für kationische Tenside |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat |
| EI | Ionisierung durch Elektronen zur Erzeugung von Ionen bei der Massenspektroskopie |
| EO | Ethylenoxideinheiten in nichtionischen Tensiden |
| ETM1000 | Trockenmasse eines Kläranlagenablaufs nach Elektrodialyse und Filtration durch ein Membranfilter der Trenngrenze 1000 Dalton. |
| GC | Gaschromatographie |
| HPLC | Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie |
| IEP | Isoelektrischer Punkt |
| IR | Infrarotspektroskopie |
| LC | Flüssigkeitschromatographie |
| MBAS | Methylenblau-aktive Stoffe, summarische Meßgröße für anionische Tenside |
| MF1000 | Ablauf biologischer Klärstufen mit Inhaltsstoffen unter 1000 Dalton |
| MS | Massenspektroskopie |
| NP-2-EO | Nonylphenoethoxylat (mit 2 Ethylenoxid-Einheiten) |

| | |
|-----------------|--|
| NP-10-EO | Nonylphenoethoxylat (mit 10 Ethylenoxid-Einheiten) |
| NTA | Nitrilotriacetat |
| OP | Octylphenolrest in nichtionischen Tensiden |
| TIC | Total Ion Current, Totalionenstrom als Meßgröße bei der Massenspektroskopie |
| TOC | Total organic Carbon, gesamter organisch gebundener Kohlenstoff |
| SIM | Single Ion Monitoring, die Detektion nur eines einzelnen, charakteristischen Ions bei der Kopplung von Chromatographie und Massenspektroskopie |
| UV | Ultravioletter Spektralbereich, auch: Spektroskopie in diesem Bereich |

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|---------------|--|-----|
| Abbildung 1. | Gefrieranreicherungsanlage des Shapiro Typs | 28 |
| Abbildung 2. | Gelchromatogramm eines biologisch gereinigten Abwassers | 34 |
| Abbildung 3. | Kalibrierung einer Membran (< 500 D) | 36 |
| Abbildung 4. | Zeitlicher Verlauf der DOC Konzentration im Filtrat bei Diafiltration | 37 |
| Abbildung 5. | Gesamter DOC und diafiltrierbare Anteile | 42 |
| Abbildung 6. | Elektrodialyse von <i>HCl</i> , <i>NaCl</i> und <i>MgSO₄</i> | 48 |
| Abbildung 7. | Elektrodialyse von Glucose | 49 |
| Abbildung 8. | Einfluß des pH-Wertes auf die Elektrodialyse von Carbonsäuren | 50 |
| Abbildung 9. | Verhalten von amphoteren Verbindungen bei der Elektrodialyse | 51 |
| Abbildung 10. | Abnahme von DOC und Leitfähigkeit während der Elektrodialyse | 53 |
| Abbildung 11. | Verteilung des eingesetzten DOC nach der Elektrodialyse | 54 |
| Abbildung 12. | Chromatogramm des Methanol-Eluates | 61 |
| Abbildung 13. | Chromatogramm des NaOH-Eluates | 62 |
| Abbildung 14. | UV/VIS-Spektren von biologisch gereinigtem Abwasser | 73 |
| Abbildung 15. | Aminosäuren nach zweidimensionaler Trennung | 81 |
| Abbildung 16. | HPLC von Dansylaminosäuren in der ETM1000 | 83 |
| Abbildung 17. | Trennung von Kernbasen (Standard und Probe) | 84 |
| Abbildung 18. | Verlauf der Farbentwicklung für die Reaktion von Anthron mit Glucose und Xylose | 87 |
| Abbildung 19. | UV/VIS-Spektrum der Reaktionsprodukte von Anthron und ETM1000 | 88 |
| Abbildung 20. | Dünnschichtchromatographische Trennung von Kohlenhydraten | 89 |
| Abbildung 21. | Chromatogramm einzelner Kohlenhydrate mit RI/UV190-Detektion (Standards und Probe) | 90 |
| Abbildung 22. | GC des Methanolextraktes und Massenspektrum des Hauptpeaks | 95 |
| Abbildung 23. | Chromatogramm einer derivatisierten Probenfraktion | 96 |
| Abbildung 24. | Geschätzte Konzentrationen identifizierter Inhaltsstoffe | 102 |
| Abbildung 25. | DC-Trennung von Inhaltsstoffen biologisch behandelten Abwassers | 105 |
| Abbildung 26. | Vergleich von Normalphasen- und RP18-Chromatographie | 107 |
| Abbildung 27. | LC Trennung von Wasserinhaltsstoffen mit MS Detektion | 110 |
| Abbildung 28. | Vergleich von CI- und EI Spektrum eines Probeninhaltsstoffes | 112 |
| Abbildung 29. | Verteilung der molaren Massen von Molekülonen | 115 |
| Abbildung 30. | Massenspektrum eines ausgeblendeten Molekülonen | 116 |
| Abbildung 31. | 3-D Darstellung eines Chromatogramms mit HPLC-IR Kopplung | 118 |

Tabellenverzeichnis

| | | |
|-------------|---|-----|
| Tabelle 1. | Einzelne identifizierte Kohlenhydrate und ihr Anteil am DOC | 7 |
| Tabelle 2. | Einzelne identifizierte Aminosäuren | 10 |
| Tabelle 3. | DOC-Anteil von Waschmittelinhaltsstoffen und Fettsäuren | 14 |
| Tabelle 4. | Zusammenfassung summarischer Meßgrößen und ihr Anteil am DOC | 18 |
| Tabelle 5. | Zusammenfassung der Einzelverbindungen und ihr Anteil am DOC | 19 |
| Tabelle 6. | Liste aller in dieser Arbeit erwähnten Inhaltsstoffe gereinigter Abwässer | 20 |
| Tabelle 7. | Wiederfindung Gefrieranreicherung | 27 |
| Tabelle 8. | Molmassenverteilung eines biologisch gereinigten Abwassers | 35 |
| Tabelle 9. | Molmassenverteilung eines biologisch gereinigten Abwassers | 35 |
| Tabelle 10. | Molmassenverteilung eines Kläranlagenablaufs | 39 |
| Tabelle 11. | Molmassenverteilung eines Kläranlagenablaufs | 40 |
| Tabelle 12. | Molmassenverteilung eines Kläranlagenablaufs | 40 |
| Tabelle 13. | Molmassenverteilung des Ablaufs einer Modell-Kläranlage | 42 |
| Tabelle 14. | Anorganische Hauptbestandteile eines biologisch gereinigten Abwassers | 45 |
| Tabelle 15. | Wasserlösliche organische Anteile der ETM1000 | 58 |
| Tabelle 16. | Extraktion der ETM1000 mit Methanol | 58 |
| Tabelle 17. | Festphasenextraktion organischer Inhaltsstoffe | 60 |
| Tabelle 18. | Untersuchungen zum biologischen Sauerstoffbedarf | 68 |
| Tabelle 19. | Extinktionsmoduln bei 254 nm bezogen auf den DOC | 74 |
| Tabelle 20. | Verteilung des DON über die molare Masse | 78 |
| Tabelle 21. | Verhältnis DOC/DON über die molare Masse | 78 |
| Tabelle 22. | Verteilung des DON über die molare Masse | 79 |
| Tabelle 23. | Bildung von Ammonium bei Hydrolyse der ETM1000 | 80 |
| Tabelle 24. | Mittels GC-MS ohne Derivatisierung identifizierte Verbindungen | 94 |
| Tabelle 25. | Mittels GC-MS-Kopplung identifizierte Verbindungen | 97 |
| Tabelle 26. | Eichsubstanzen und Quotient aus Totalionenstrom (TIC) und Substanzmenge | 101 |
| Tabelle 27. | Strukturvorschläge für einzelne Peaks bei HPLC-MS-Kopplung | 113 |
| Tabelle 28. | Strukturvorschläge zur HPLC-IR Kopplung | 119 |
| Tabelle 29. | Einzelne identifizierte Kohlenhydrate und ihr Anteil am DOC | 144 |
| Tabelle 30. | Einzelne identifizierte Aminosäuren | 144 |
| Tabelle 31. | Summarische Meßgrößen von Waschmittelinhaltsstoffen | 145 |
| Tabelle 32. | Einzelne identifizierte Waschmittelinhaltsstoffe | 146 |
| Tabelle 33. | Summarische Meßgrößen und ihr Anteil am DOC | 147 |
| Tabelle 34. | Einzelstoffe und ihr Anteil am DOC | 147 |
| Tabelle 35. | Wiederfindung Gefrieranreicherung | 148 |
| Tabelle 36. | Wiederfindung Vakuumverdampfung (1) | 148 |
| Tabelle 37. | Wiederfindung Vakuumverdampfung (2) | 148 |
| Tabelle 38. | Wiederfindung Vakuumverdampfung (3) | 149 |
| Tabelle 39. | Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (1) | 150 |
| Tabelle 40. | Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (2) | 150 |

| | |
|--|-----|
| Tabelle 41. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (3) | 150 |
| Tabelle 42. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (4) | 150 |
| Tabelle 43. Molmassenverteilung eines Klärschlammextraktes | 150 |
| Tabelle 44. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (5) | 151 |
| Tabelle 45. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (6) | 151 |
| Tabelle 46. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (7) | 151 |
| Tabelle 47. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (8) | 151 |
| Tabelle 48. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (9) | 151 |
| Tabelle 49. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (10) | 151 |
| Tabelle 50. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (11) | 152 |
| Tabelle 51. Molmassenverteilung eines künstlichen gereinigten Abwassers (1) | 152 |
| Tabelle 52. Molmassenverteilung eines künstlichen gereinigten Abwassers (2) | 152 |
| Tabelle 53. Molmassenverteilung eines künstlichen gereinigten Abwassers (3) | 152 |
| Tabelle 54. Molmassenverteilung eines künstlichen gereinigten Abwassers (4) | 153 |
| Tabelle 55. Molmassenverteilung eines Flußwassers | 153 |
| Tabelle 56. Anorganische Hauptbestandteile eines Abwassers | 154 |
| Tabelle 57. Anorganische Hauptbestandteile eines gereinigten Abwassers (1) | 154 |
| Tabelle 58. Anorganische Hauptbestandteile eines gereinigten Abwassers (2) | 154 |
| Tabelle 59. Anorganische Hauptbestandteile eines gereinigten Abwassers (3) | 154 |
| Tabelle 60. Analyse der elektrodialysierten Trockenmasse | 155 |
| Tabelle 61. Elektrodialyse und Vergleich der Abnahme von Leitfähigkeit und DOC | 156 |
| Tabelle 62. Elektrodialyse bei Ansäuerung der Konzentratseite | 156 |
| Tabelle 63. Vergleich der DOC-Rückhaltung in Abhängigkeit zum pH-Wert | 156 |
| Tabelle 64. Verhalten von Summenparametern bei der Elektrodialyse | 157 |
| Tabelle 65. Verhalten von pHB bei der Elektrodialyse | 157 |
| Tabelle 66. Verhalten von mHB bei der Elektrodialyse | 157 |
| Tabelle 67. Adsorption von pHB bei der Elektrodialyse | 157 |
| Tabelle 68. Verhalten von Orthophenylphenol bei der Elektrodialyse (1) | 158 |
| Tabelle 69. Verhalten von Orthophenylphenol bei der Elektrodialyse (2) | 158 |
| Tabelle 70. Verhalten von Orthophenylphenol bei der Elektrodialyse (3) | 158 |
| Tabelle 71. Verhalten von Glucose bei der Elektrodialyse | 158 |
| Tabelle 72. Verhalten von Glucuronsäure bei der Elektrodialyse (1) | 159 |
| Tabelle 73. Verhalten von Glucuronsäure bei der Elektrodialyse (2) | 159 |
| Tabelle 74. Verhalten von Glycin bei der Elektrodialyse | 159 |
| Tabelle 75. Verhalten von Leucin bei der Elektrodialyse | 160 |
| Tabelle 76. Verhalten von Glutaminsäure bei der Elektrodialyse | 160 |
| Tabelle 77. Verhalten von Caprylsäure bei der Elektrodialyse | 160 |
| Tabelle 78. Verhalten von Capronsäure bei der Elektrodialyse | 161 |
| Tabelle 79. Entfernung anorganischer Bestandteile bei der Elektrodialyse | 161 |
| Tabelle 80. Zeitbedarf und Wiederfindung bei Verarbeitung von 1000 Litern Ablauf | 162 |
| Tabelle 81. Wasserlösliche organische Anteile der ETM1000 | 163 |
| Tabelle 82. Extraktion der ETM1000 mit Methanol | 163 |
| Tabelle 83. Adsorption von organischen Inhaltsstoffen | 163 |
| Tabelle 84. Fraktionierung des DOC über Kieselgel | 164 |

| | |
|--|-----|
| Tabelle 85. Verteilung des DON über die molare Masse (1) | 165 |
| Tabelle 86. Verteilung des DOC über die molare Masse | 165 |
| Tabelle 87. Verhältnis DOC/DON über die molare Masse | 165 |
| Tabelle 88. Einzeldaten zum Verhältnis DOC/DON über die molare Masse | 165 |
| Tabelle 89. Verteilung des DON über die molare Masse (2) | 166 |
| Tabelle 90. Verteilung des DON über die molare Masse (3) | 166 |
| Tabelle 91. Konzentration von DON und Aminogruppen in biologisch gereinigtem Abwasser | 166 |
| Tabelle 92. Bildung von Ammonium aus DON unter hydrolytischen Bedingungen .. | 166 |
| Tabelle 93. Prozentualer Kohlenstoffgehalt und C/N-Verhältnisse | 167 |
| Tabelle 94. Konzentrationen von Aminosäuren | 167 |
| Tabelle 95. Verhältnis DOC/spektraler Absorptionskoeffizient bei 254 nm | 168 |
| Tabelle 96. Wellenzahlen einiger Absorptionsbanden von Abwasserinhaltsstoffen .. | 169 |
| Tabelle 97. Mittels GC-MS identifizierte Verbindungen | 170 |
| Tabelle 98. Mittels GC-MS identifizierte Verbindungen nach Methylierung (1) | 171 |
| Tabelle 99. Mittels GC-MS identifizierte Verbindungen nach Methylierung (2) | 172 |
| Tabelle 100. Beziehung zwischen TIC und Substanzmenge der getrennten Peaks .. | 173 |
| Tabelle 101. Strukturvorschläge für einzelne Peaks bei HPLC-MS-Kopplung | 173 |

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| EINFÜHRUNG IN DIE THEMATIK | 1 |
| 1. Einleitung und Aufgabenstellung | 3 |
| 2. In Kläranlagenabläufen bisher identifizierte Verbindungen | 5 |
| 2.1 Kohlenhydrate | 6 |
| 2.1.1 Bestimmung in Form summarischer Meßgrößen | 6 |
| 2.1.2 Einzelne Verbindungen | 7 |
| 2.2 Aminosäuren und Proteine | 8 |
| 2.2.1 Bestimmung als summarische Meßgrößen | 8 |
| 2.2.2 Einzelne Aminosäuren | 9 |
| 2.3 Fettsäuren, Tenside und andere Waschmittelinhaltsstoffe | 10 |
| 2.3.1 Bestimmung als summarische Meßgrößen | 10 |
| 2.3.2 Einzelne Inhaltsstoffe | 13 |
| 2.4 Flüchtige Verbindungen | 16 |
| 2.4.1 Flüchtige Verbindungen als summarische Meßgröße | 16 |
| 2.4.2 Einzelne, flüchtige Verbindungen | 16 |
| 2.5 Weitere Inhaltsstoffe von biologisch gereinigtem Abwasser | 17 |
| 2.6 Zusammenfassung der Literaturdaten | 18 |
| UNTERSUCHUNGEN ZUR ANREICHERUNG NIEDERMOLEKULARER INHALTSSTOFFE | 23 |
| 3. Versuche zur Aufkonzentrierung der organischen Inhaltsstoffe | 25 |
| 3.1 Gefrieranreicherung | 26 |
| 3.2 Vakuumverdampfung | 29 |
| 3.2.1 Beschreibung von Verfahren zur Vakuumverdampfung | 29 |
| 3.2.2 Versuche zur Wiederfindung bei Vakuumverdampfung | 30 |
| 3.3 Gefriertrocknung | 31 |
| 4. Untersuchungen zur Charakterisierung nach der molaren Masse | 33 |
| 4.1 Gelchromatographie | 34 |
| 4.2 Molmassenverteilung mittels Diafiltration | 36 |
| 4.2.1 Beschreibung der verwendeten Apparaturen | 38 |
| 4.2.2 Bestimmung der Molmassenverteilung in biologisch gereinigtem Abwasser | 39 |
| 4.3 Diskussion der Ergebnisse zur Molmassenverteilung | 40 |
| 5. Untersuchung der anorganischen Bestandteile | 45 |
| 5.1 Bedeutung der anorganischen Bestandteile für die organische Analytik | 45 |
| 5.2 Eigene Erfahrungen über anorganische Bestandteile in gereinigtem Abwasser | 46 |
| 6. Untersuchungen zur Elektrodialyse von Kläranlagenabläufen | 47 |

| | | |
|---|---|-----------|
| 6.1 | Grundlegende Untersuchungen | 47 |
| 6.2 | Elektrodialyse von Kläranlagenabläufen | 52 |
| 7. | Gewinnung einer großen Menge niedermolekularer Inhaltsstoffe (ETM1000) | 55 |
| 8. | Weitere Abtrennung organischer Stoffe von der anorganischen Matrix | 57 |
| 8.1 | Abtrennung mittels Lösungsmittlextraktion | 57 |
| 8.2 | Festphasenextraktion | 59 |
| CHARAKTERISIERUNG DER NIEDERMOLEKULAREN ORGANISCHEN INHALTSSTOFFE 65 | | |
| 9. | Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit | 67 |
| 9.1 | Bestimmung des biologischen Sauerstoffbedarfs | 67 |
| 9.2 | Interpretation der Ergebnisse | 70 |
| 10. | Untersuchung der Lichtabsorption | 73 |
| 11. | Untersuchung definierter Stoffgruppen | 77 |
| 11.1 | Stickstoffhaltige Verbindungen | 77 |
| 11.1.1 | Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffs | 78 |
| 11.1.2 | Bestimmung der Aminogruppen | 79 |
| 11.1.3 | Aminosäuren | 81 |
| 11.1.3.1 | Aminosäureanalytik mittels Dünnschichtchromatographie | 81 |
| 11.1.3.2 | Aminosäureanalytik mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie | 82 |
| 11.1.4 | Bestimmung von Kernbasen mittels HPLC | 83 |
| 11.2 | Versuch zur Bestimmung des organischen Schwefelanteils | 85 |
| 11.3 | Untersuchungen zum Tensidanteil mittels summarischer Meßgrößen | 85 |
| 11.3.1 | Bestimmung methylenblau-aktiver Substanzen (MBAS) | 85 |
| 11.3.2 | Bismut-aktive Substanzen | 86 |
| 11.4 | Untersuchungen zum Kohlenhydratanteil | 86 |
| 11.4.1 | Photometrische Bestimmung mit Anthron | 86 |
| 11.4.2 | Dünnschichtchromatographische Untersuchungen | 89 |
| 11.4.3 | Untersuchungen mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie | 90 |
| 12. | Kopplung von chromatographischen und spektroskopischen Methoden | 93 |
| 12.1 | Identifizierung von Inhaltsstoffen der ETM1000 mittels Gaschromatographie und Massenspektroskopie | 93 |
| 12.2 | Versuche zur Identifizierung mittels HPLC und Massen- bzw. IR-Spektroskopie | 104 |
| 12.2.1 | Vorversuche zur flüssigkeitschromatographischen Trennung | 104 |
| 12.2.2 | Kopplung von HPLC und Massen- bzw. IR-Spektroskopie | 107 |
| 12.2.2.1 | Direkte Kopplung von HPLC und MS | 109 |
| 12.2.2.2 | Kopplung von HPLC und MS über ein Interface | 111 |
| 12.2.2.3 | HPLC-MS/MS Kopplung | 114 |
| 12.2.2.4 | HPLC-IR Kopplung | 117 |

| | |
|--|------------|
| 12.3 Zusammenfassung der Untersuchungen zu Kopplungsmethoden | 119 |
| ANHANG | 121 |
| Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel | 123 |
| Tabellenanhang | 143 |
| Literaturliste | 175 |

Einführung in die Thematik

1. Einleitung und Aufgabenstellung

Im Durchschnitt werden in der Bundesrepublik pro Person und Tag 150 Liter Trinkwasser verwendet und dabei verschmutzt. Zusammen mit Regenwasser, das in der Regel im Bereich von Siedlungen ebenfalls als Abwasser entsorgt werden muß, kann man mit täglich 200 Liter Abwasser pro Einwohner rechnen.

Moderne Kläranlagen haben in ihren Abläufen noch eine Konzentration an organischen Verbindungen, die 10 bis 20 mg/l gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) entspricht. Das ist das fünf- bis zehnfache dessen, was in Gewässern gefunden wird. Selbst bei größeren Flüssen, wie z. B. Neckar und Ruhr, macht in regenarmen Perioden das eingeleitete Abwasser mehrere zehn Prozent des gesamten Abflusses aus. Bei einer durchschnittlichen Konzentration des DOC in diesen Gewässern zwischen 3 und 5 mg/l Kohlenstoff kann der Beitrag der Abwässer zum DOC über 50 % betragen. Bei manchen kleineren Flüssen sind die Verhältnisse zeitweilig noch schlechter, sie stellen dann geradezu einen Abwasserkanal dar.

Problematisch ist bis zum heutigen Tag die Bewertung des DOC-Anteils, der nach erfolgter Abwasserreinigung in den Abläufen biologischer Klärstufen zu finden ist. Die Meßgröße DOC und andere pauschale Meßgrößen, z. B. der chemische Sauerstoffbedarf (CSB), erlauben kaum Rückschlüsse auf "Wirkungen". Dabei ist der CSB in einer Hinsicht aussagekräftiger als der DOC: Er steht in Beziehung zum Sauerstoffhaushalt der Gewässer und kennzeichnet den maximal möglichen Sauerstoffverbrauch. Der DOC ist allerdings die chemisch besser definierte Größe für organische Stoffe, da auch anorganische Stoffe einen CSB verursachen können.

Ohne Zweifel besitzen nicht alle Inhaltsstoffe das gleiche Gefährdungspotential, werden aber bei Betrachtung des CSB oder DOC alle gleichrangig bewertet. Um die von den organischen Reststoffen biologisch gereinigter Abwässer ausgehenden Gefahren richtig bewerten zu können und für die Beurteilung, wie eine weitergehende Abwasserreinigung zweckmäßigerweise aussehen sollte, ist eine differenziertere Kenntnis dieser organischen Inhaltsstoffe erforderlich.

Zur Aufgabenstellung: Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu einer besseren Kenntnis der organischen Reststoffe beizutragen, und zwar speziell der Stoffe niedriger molarer Masse.

Man kennt schon eine ganze Reihe von Einzelstoffen, und zwar solche, auf deren Anwesenheit aus den bekannten "Belastungen" der Abwässer zu schließen ist. Dazu gehören bei kommunalem Abwasser besonders Kohlenhydrate, Proteine und Fettsäuren, sowie Inhaltsstoffe von Wasch- und Reinigungsmitteln.

In der vorliegenden Arbeit wird zunächst eine Auswertung der Literatur in Hinblick auf die Kenntnis der organischen Inhaltsstoffe gereinigter kommunaler Abwässer vorgenommen. Industrie-Abwässer werden hierbei, und auch in den anschließend berichteten

eigenen Untersuchungen, nicht behandelt. Deren Zusammensetzung ist branchenspezifisch, und für jede Branche ist vermutlich eine eigene Untersuchung erforderlich.

Die eigenen Untersuchungen waren auf den Teil der organischen Stoffe begrenzt, die eine molare Masse unter 1000 Dalton haben, bzw. die eine Dialysemembran der Trenngrenze 1000 Dalton passieren. Das Arbeitsprogramm umfaßte die Stufen:

- Aufkonzentrierung der organischen Stoffe unter möglichst weitgehender Abtrennung der anorganischen Inhaltsstoffe des Abwassers.
- Untersuchung mittels stoffgruppenspezifischer Meßmethoden.
- Identifikation und soweit möglich quantitative Bestimmung von Einzelstoffen.

Eine vorherige Abtrennung der organischen von den anorganischen Inhaltsstoffen erschien zweckmäßig, da der organische Anteil des Abdampfrückstandes in der Größenordnung von einem Prozent liegt und sehr viele Identifizierungsverfahren durch einen anorganischen Ballast gestört werden. Diese Abtrennung wurde eingehend untersucht hauptsächlich mit dem Ziel, die organische Stofffraktion möglichst vollständig wiederzugewinnen.

Der nächste Schritt bestand in der Ermittlung pauschaler Meßgrößen. Das Hauptinteresse galt jedoch der Identifizierung und möglichst quantitativen Bestimmung von Einzelverbindungen. Die Untersuchungen sollten sich dabei vor allem auf hydrophile Stoffe richten, die mit der Gaschromatographie direkt nicht erfaßbar sind. Die Abtrenn- und Aufkonzentrierungsprozedur wurde dementsprechend gestaltet. Die eigentliche Identifikation sollte dann nach einer flüssigkeitschromatographischen Trennung versucht werden. Es sei schon hier erwähnt, daß dieser Ansatz zwar ermutigende Befunde, aber nur wenige Stoffidentifizierungen ergab. Eine beträchtliche Anzahl von Einzelstoffen konnte durch die Kombination Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS) nach Derivatisierung erkannt werden.

Um den Befunden möglichst breite Allgemeingültigkeit zu geben, sollte das Abwasser mehrerer kommunaler Kläranlagen untersucht werden. So wurde auch vorgegangen. Bei der Durchführung der Untersuchungen erschien es jedoch nach einer gewissen Zeit als zweckmäßig, ein größeres Volumen Abwasser aufzukonzentrieren, um eine für Parallelversuche ausreichende Stoffmenge zu bekommen. Dafür wurde der Ablauf der Kläranlage Leopoldshafen verwendet, deren Zulauf fast nur aus Abwasser reiner Wohngebiete besteht.

2. In Kläranlagenabläufen bisher identifizierte Verbindungen

In diesem Kapitel soll eine Übersicht gegeben werden über Verbindungen, die bereits von anderen Autoren in biologisch gereinigtem Abwasser nachgewiesen wurden.

Viele Arbeiten haben die Bestimmung von summarischen Meßgrößen zum Thema. Dabei kann unterschieden werden zwischen "Gesamt-Meßgrößen", die ein Maß für die Gesamtbelastung eines Wassers mit organischen Verbindungen darstellen (z. B. chemischer Sauerstoffbedarf, gelöster organisch gebundener Kohlenstoff, Permanganat-Verbrauch) und "Stoffgruppen-Meßgrößen", die aufgrund spezifischer Verfahren die Konzentration einer bestimmten Stoffgruppe widerspiegeln (z. B. wasserdampfvlüchtige Verbindungen, Kjeldahl-Stickstoff, Tenside).

Die erste Gruppe ist für die Charakterisierung des organischen Anteiles wenig nützlich, da die Meßgrößen zu wenig differenzieren zwischen einzelnen Substanzklassen. Der zweiten Gruppe von Meßgrößen können jedoch bereits bestimmte Verbindungsklassen zugeordnet werden. Auf diese Weise ist mit wenigen Werten eine prozentual gesehen hohe Zuordnungsräte für organische Wasserinhaltsstoffe zu erreichen.

Das extreme Gegenbeispiel stellen Untersuchungen dar, die mittels der Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektroskopie durchgeführt werden. Diese Technik hat sehr tiefe Nachweisgrenzen für bestimmte Stoffe, daher ist es möglich, über hundert Verbindungen in einer Analyse zu identifizieren. Die Erfahrung hat jedoch gezeigt, daß diese Vielzahl von Stoffen oft weniger als 1% des DOC ausmacht. Ellis und Mitarbeiter [21] identifizierten bis zu 243 Verbindungen in Abläufen industrieller Kläranlagen. In den gechlorten Abläufen kommunaler Kläranlagen konnten sie 29 Verbindungen identifizieren; davon waren sechs halogeniert. Sieben waren Kohlenwasserstoffe, weitere sieben waren einfache Alkohole, ein Ether und drei Carbonyle waren darunter, aber nur zwei Carbonsäuren und drei stickstoffhaltige Verbindungen. Konzentrationsangaben werden keine gemacht. In dieser Stoffliste fehlen beispielsweise Aminosäuren und Fettsäuren, Kohlenhydrate fehlen ebenfalls, stickstoffhaltige Verbindungen erscheinen unterrepräsentiert. Der organische Anteil eines biologisch gereinigten Abwassers ist damit nur unzureichend beschrieben.

Im folgenden sollen einzelne Stoffgruppen betrachtet werden, von denen angenommen wird, daß sie einen wesentlichen Beitrag zur Bilanzierung des gesamten DOC leisten. Alle Daten sind Veröffentlichungen entnommen, die sich mit der Untersuchung von Abläufen kommunaler Kläranlagen befassen. Industrielle Abwässer sollen hier unberücksichtigt bleiben, da hierbei natürlich mit weit größeren Schwankungen im Inhaltsstoff-Spektrum zu rechnen ist als bei kommunalem Abwasser.

Es geht in dieser Literaturübersicht und in der gesamten Arbeit darum, den DOC aufzuschlüsseln. Die Konzentrationsangaben für die einzelnen Verbindungen wurden deshalb auf den darin enthaltenen organisch gebundenen Kohlenstoff umgerechnet (mg/l C). Bei den summarischen Meßgrößen geschah dies unter Verwendung der für die betreffende Methode üblicherweise eingesetzten Referenz-Substanz.

Viele Autoren beziehen ihre Angaben auf den CSB. Zur Umrechnung auf den DOC wurde der in dieser Arbeit ermittelte Faktor 0.38 verwendet.

2.1 Kohlenhydrate

2.1.1 Bestimmung in Form summarischer Meßgrößen

Kohlenhydrate werden gewöhnlich mit Anthron als Reagenz photometrisch bestimmt. Die dabei am meisten verwendete Referenz-Substanz ist Glucose. Wenn in den im folgenden zitierten Arbeiten die Autoren nicht selbst auf den Kohlenstoffgehalt umgerechnet haben, wurde bei der Umrechnung der Kohlenstoffgehalt von Glucose zugrunde gelegt.

Painter [61] bestimmte bereits 1961 einen Kohlenhydrat-Wert in Form einer summarischen Meßgröße, vermutlich mit Anthron. Danach entfielen 0.24 mg/l C auf Kohlenhydrate im Kläranlagenauslauf. In einer weiteren Arbeit [62] bestimmte er 0.68 mg/l C als Kohlenhydrat-Anteil, was 4 % des gelösten organischen Kohlenstoffs entsprach.

Helfgott und Hunter [33] geben den Beitrag der Kohlenhydrate mit 5 % des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) an. Dies entspricht auch ca. 5 % Anteil am DOC.

Rebhun und Manka [67] (1971) geben für den Kohlenhydratanteil 8.3 % des CSB an. Bei der von ihnen untersuchten Kläranlage war der CSB-Wert (185 mg/l O₂) allerdings sehr hoch, daher auch die hohe Konzentration von ca. 6 mg/l C, der auf den Kohlenhydratanteil entfällt. In einer zweiten Arbeit 1974 [50] betrug der Kohlenhydratanteil 6.3 % des CSB (2 mg/l C). 1982 [51], in der dritten Veröffentlichung der Autoren waren es 7.0 % des CSB (3.0 mg/l C).

Waggott [85] fand in einem Kläranlagenablauf mit einer DOC Konzentration von 20 mg/l Anthron-positive Substanzen im Bereich zwischen 1.2 und 5.9 mg/l berechnet als Glucose. Dies entspricht einem Kohlenhydratanteil am DOC zwischen 2 und 12 %.

Gaudy und Blachly [25] untersuchten biologisch gereinigtes, synthetisches Abwasser mit Glucose als einziger Kohlenstoffquelle, d.h. 100 % Kohlenhydrate im Zulauf. Aber nur 30 % des Ablauf-DOC (entsp. 1.2 mg/l C) waren Kohlenhydraten zuzuordnen. Daraus ist zu schließen, daß der überwiegende Teil der Ablauf-Inhaltsstoffe aus dem bakteriellen Metabolismus bzw. Katabolismus stammt.

Hejzlar [31] bestimmte organische Verbindungen mit molaren Massen oberhalb 10000 Dalton. 25.9 % des CSB (entsp. 0.3 mg/l C) wurde durch Kohlenhydrate verursacht (Phenol/H₂SO₄-Meth.). 6.1 % (entsp. 0.07 mg/l C) waren Hexosamin-Polymere, und 2.5 % entfielen auf Uronsäure-Polymere (entsp. 0/03 mg/l C).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der von den einzelnen Autoren gefundene Anteil der Kohlenhydrate am gesamten gelösten und organisch gebundenen Kohlenstoff einen Bereich zwischen 2 und 12 % umfaßt. Der Mittelwert liegt bei 5 %.

2.1.2 Einzelne Verbindungen

Einzelne Kohlenhydrate wurden von Waggott [85] bestimmt. Er fand gaschromatographisch Glucose (26 - 50 $\mu\text{g/l}$) und Fructose (10 - 19 $\mu\text{g/l}$) als Trimethylsilyl-Derivate. Dies entspricht für Glucose 0.05 bis 0.1 % und für Fructose 0.03 bis 0.05 % des DOC.

Hejzlar [31] untersuchte, wie bereits oben erwähnt, Wasserinhaltsstoffe im höheren Molmassenbereich. Bei der Hydrolyse von Polysacchariden konnte er 12 verschiedene Monomere identifizieren. Sie sind im einzelnen zusammen mit den Ergebnissen von Waggott in Tabelle 1. aufgeführt

Tabelle 1. Einzelne identifizierte Kohlenhydrate und ihr Anteil am DOC

| Verbindung | Anteil am DOC in % | Verbindung | Anteil am DOC in % |
|-------------------------------------|-----------------------|---|-----------------------|
| Glucose ¹ | 0.1 | Ribose/Arabinose ² | 0.005 |
| Fructose ¹ | 0.05 | Xylose ² | 0.011 |
| Rhamnose/Fucose ² | 0.15 | N-Acetyl-Galactosamin ² | 0.005 |
| Mannose ² | 0.002 | Glucosamin ² | 0.029 |
| Galactose ² | 0.048 | Galactosamin ² | 0.016 |
| Glucose ² | 0.060 | Fucosamin ² | 0.009 |

Der Anteil identifizierter Kohlenhydrate (Einzelverbindungen und Monomere von Polysacchariden) am DOC liegt bei 0.5 %. Er liegt damit deutlich unter dem Anteil der "Gesamtkohlenhydrate" von 5 % des DOC. Dies heißt allerdings nicht, daß der größte Teil der Kohlenhydrate noch nicht identifiziert ist, weil auch ein großes Fragezeichen hinter die Methode zur Ermittlung der Gesamtkohlenhydrate als summarische Meßgröße (Anthon, Phenol/ H_2SO_4) gesetzt werden muß (vgl. hierzu Kap. "Photometrische Bestimmung mit Anthon" auf Seite 86).

¹ Verbindungen von Waggott [85] direkt im Kläranlagenablauf bestimmt.

² Daten nach Hejzlar [31] als Monomere von hochmolekularen Polysacchariden.

2.2 Aminosäuren und Proteine

2.2.1 Bestimmung als summarische Meßgrößen

Unter "summarische Meßgröße" wird in diesem Fall die Bestimmung der Proteine allgemein mittels verschiedener Methoden (Kjeldahl-Stickstoff, phot. nach Lowry, Ninhydrin-Methode) verstanden.

Die mit der Lowry-Methode ermittelten DOC-Anteile von "Proteinen" fallen hier etwas aus dem Rahmen (10 % bis 26 % des CSB). Es liegt nahe zu vermuten, daß hierbei Störungen durch andere Stoffe vorliegen. Nach Untersuchungen von Link [48] reagieren auch Huminstoffe mit Lowry-Reagenz.

Die übrigen zur Summenbestimmung verwendeten Verfahren sprechen spezifisch auf "Stickstoff" an. Jedoch erfaßt man hierbei nicht ausschließlich Aminosäuren und Proteine. Ninhydrin spricht allgemein auf Aminogruppen an. Mit diesem Reagenz werden beispielsweise auch biogene Amine und Aminosucker bestimmt. Die Kjeldahl-Methode erfaßt mit wenigen Ausnahmen den gesamten organisch gebundenen Stickstoff, also zusätzlich zu den oben bereits aufgezählten Verbindungsklassen z. B. noch Stickstoff, der in Heterozyklen gebunden ist und Amid-Stickstoff.

Wie bereits bei den Kohlenhydraten ausgeführt, werden auch hier die Konzentrationsangaben der einzelnen Autoren auf "mg/l C" umgerechnet.

Painter [61] untersuchte 1961 einen Kläranlagenablauf mit 14 mg/l DOC. Den Anteil der Proteine darin bestimmte er mit 0.25 mg/l C (entsp. 1.8 % des DOC) und den Anteil der Aminosäuren mit 0.06 mg/l C (entsp. 0.43 %). In einer zweiten Arbeit 1974 [62] lagen die von ihm gemessenen Werte höher. Er fand, daß 4.6 % des DOC Aminosäuren und Proteinen im Massenbereich bis 10000 Dalton zuzuordnen sind und 1.7 % dem Bereich über 10000 Dalton. Die untersuchte Kläranlage war mit derjenigen der ersten Untersuchung identisch, der Ablauf-DOC bei der zweiten Untersuchung betrug 17 mg/l.

Bunch und Mitarbeiter (zit. bei Helfgott [33]) fanden, daß 10 % des CSB auf Proteine und Aminosäuren anzurechnen sind.

Rebhun und Manka [67] führten Untersuchungen mit der Lowry-Methode durch. Zwischen 23.6 und 24.1 % des CSB sind ihren Messungen zufolge durch Proteine bedingt. Der Ablauf war allerdings relativ hoch belastet mit 185 mg/l O₂ als CSB-Wert. Dies ist eine nach heutigen Maßstäben schwache Klärleistung. 1974 berichten sie [50], daß 21 bis 25 % des CSB Proteinen zuzurechnen sind. In einer dritten Arbeit (1980) [51] ermittelten sie 26.1 % Proteinanteil am CSB.

Waggott [85] fand freie Aminosäuren nach der Ninhydrinmethode im Konzentrationsbereich von 0.61 bis 1.44 mg/l (berechnet als Leucin). Dies entspricht 0.33 bis 0.79 mg/l organisch gebundenem Kohlenstoff. Gebundene Aminosäuren (erst nach Hydrolyse der Bestimmung zugänglich) wurden im Bereich 0.27 bis 0.85 mg/l bestimmt (entsprechend 0.15 bis 0.47 mg/l C). Bei einer organischen Belastung des Ablaufs mit 20 mg/l DOC errechnet sich daraus im Mittel ein Anteil an freien- und an gebundenen Aminosäuren von jeweils ca. 3 %.

Parkin und McCarty [63] bestimmten $22.5 \mu\text{g/l}$ freie Aminosäuren (ausgedrückt als gelöster organisch gebundener Stickstoff, DON) und $41.8 \mu\text{g/l}$ gebundene Aminosäuren, ebenfalls als DON. Das mittlere Verhältnis von C/N (g/g) für die 20 wichtigsten Aminosäuren beträgt 3.21. Daraus errechnet sich eine Konzentration von etwa $70 \mu\text{g/l C}$ für freie Aminosäuren und rund $130 \mu\text{g/l C}$ für gebundene Aminosäuren. Der CSB-Wert des untersuchten Ablaufes betrug 21.5 mg/l O_2 . Der Anteil am DOC errechnet sich für die freien Aminosäuren zu 0.9 % und für die gebundenen Aminosäuren zu 1.6 %.

Von Scully und Mitarbeitern [74] wurden drei Kläranlagenabläufe untersucht. Die Konzentration an Kjeldahl-Stickstoff lag im Mittel bei 2.3 mg/l N . Freie Aminosäuren hatten zusammengezählt eine Konzentration zwischen $20 \mu\text{g/l}$ und $23 \mu\text{g/l}$ (ausgedrückt als DON). Dies entspricht etwa $70 \mu\text{g/l C}$. Ein Meßwert für den gesamten DOC ist in der Arbeit leider nicht angegeben. Das Verhältnis von Kjeldahl-Stickstoff zum DOC liegt in kommunalen Kläranlagenabläufen bei rund 1 zu 10. Daraus kann errechnet werden, daß der Anteil der freien Aminosäuren bei 0.3 % des DOC liegt.

Hejzlar [31] bestimmte den Proteinanteil im Bereich oberhalb 10000 Dalton mit 14.2 % (DOC 11.4 mg/l C).

Betrachtet man die oben angeführten Arbeiten so kann man den Anteil der Aminosäuren und Proteine am DOC des Ablaufs kommunaler Kläranlagen mit rund 6 % ansetzen.

2.2.2 Einzelne Aminosäuren

Pitt, Jolley und Katz [66] bestimmten ionenchromatographisch Glycin in einem biologisch gereinigten Abwasser. Sie fanden $30 \mu\text{g/l}$. Leider machten sie keine Angaben zur gesamten organischen Belastung des Wassers.

Weitere Bestimmungen einzelner Aminosäuren wurden von Legube und Doré [44], Waggott [85], Scully [74], Parkin und McCarty [63], sowie Hejzlar [31] durchgeführt. Die Einzelbestimmungen aller Autoren sind in Tabelle 2 auf Seite 10 dargestellt. Der Anteil der Aminosäuren am DOC liegt nach Waggott bei 0.65 %, nach Parkin sind es 1.2 % und bei Hejzlar 0.8 %. Es ist zu beachten, daß die Daten von Hejzlar nur den hochmolekularen Anteil des DOC betreffen. Werden die Daten der ermittelten summarischen Meßgrößen mit den aufsummierten Einzelwerten verglichen, so zeigt sich, daß hier die Übereinstimmung wesentlich besser ist als bei den entsprechenden Werten für Kohlenhydrate. Die von Waggott, Parkin und Painter gemessenen summarischen Meßgrößen liegen im Bereich 2.2 % bis 6.3 % "Protein-Anteil" am DOC. Die aufsummierten Einzelwerte der Aminosäuren ergeben einen Anteil am DOC, der um 1 % liegt.

Die Tatsache, daß die summarische Meßgröße "Protein" einen höheren DOC-Anteil aufweist als die aufsummierten einzelnen Aminosäuren, zeigt allerdings, daß freie Aminosäuren und Proteine nur einen Teil der stickstoffhaltigen organischen Verbindungen in den Kläranlagenabläufen ausmachen.

Tabelle 2. Einzelne identifizierte Aminosäuren

| | Legube ³ µg/l AS | Waggott µg/l AS | Scully ³ µg/l AS | Pitt ³ µg/l AS | Parkin µg/l AS | Hejzlar ⁴ µg/l AS |
|---------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------|---------------------------------|
| Alanin | 1.1 | 5 | Spuren | | 10 | 30 |
| 2-Amino-Buttersäure | | 100 | | | | 0.6 |
| Arginin | 0.2 | | | | | 1.4 |
| Asparaginsäure | | 0.1 | Spuren | | 33 | 30 |
| Glutaminsäure | 0.7 | 10 | Spuren | | 7 | 0.6 |
| Glycin | 0.3 | | 15 | 30 | 19 | 58 |
| Histidin | 0.2 | | | | 11 | Spuren |
| Isoleucin | | | 5 | | 2.6 | 18 |
| Leucin | | | 11 | | | |
| Lysin | | | 4 | | 23 | 18 |
| Methionin | | | | | | Spuren |
| Phenylalanin | | 40 | | | 3.5 | 25 |
| Prolin | | | | | | 11 |
| Serin | 0.2 | 0.5 | Spuren | | 41 | 15 |
| Threonin | 0.4 | 0.3 | Spuren | | 18 | 22 |
| Thyrosin | | | Spuren | | 2.6 | 6.3 |
| Valin | | 100 | 11 | | | 10 |

2.3 Fettsäuren, Tenside und andere Waschmittelinhaltsstoffe

Waschmittel, mit dem häuslichen Abwasser in die Kläranlage gebracht, werden häufig als wesentlicher Beitrag zum gelösten organischen Kohlenstoff im Kläranlagenablauf diskutiert. Daher haben sich einige Autoren gezielt mit Messungen auf diesem Gebiet beschäftigt.

2.3.1 Bestimmung als summarische Meßgrößen

An Waschmittelinhaltsstoffen wurden in den unten zitierten Arbeiten anionische, nichtionische und kationische Tenside untersucht. Weiterhin Komplexbildner und Weißtöner.

³ Pitt, Legube und Scully bestimmten Aminosäuren ohne Hydrolyse.

⁴ Hejzlar untersuchte nur die hochmolekulare Ablaufraktion.

Für die angesprochenen Verbindungsklassen wurden folgende summarische Meßmethoden eingesetzt:

Anionische Tenside werden als "Methylenblau-aktive Substanz" (MBAS) erfaßt, beruhend auf der photometrischen Bestimmung des Ionenpaars Methylenblau-Tensid nach Extraktion aus der wässrigen Phase. Eich-Tensid ist üblicherweise das Natriumsalz der Dodecylbenzolsulfonsäure ($C_{18}H_{29}O_3S-Na^+$).

Kationische Tenside werden nach dem gleichen Prinzip als "Disulfonblau-aktive Substanz" (DSBAS) bestimmt. Eich-Tensid ist hier das weit verbreitete Distearylidimethylammoniumchlorid ($C_{38}H_{80}N^+Cl^-$).

Nichtionische Tenside werden in ihrer Summe nach Fällung mit dem Bismut-haltigen Dragendorff'schen Reagenz bestimmt. Die summarische Meßgröße heißt hier "Bismut-aktive Substanz" (BiAS). Eich-Tensid ist das Nonylphenoethoxylat mit 10 Ethylenoxid-Einheiten pro Molekül ($C_{35}H_{64}O_{11}$).

Wie schon in den vorigen Abschnitten, sind auch hier die Literaturwerte in "mg/l C" umgerechnet.

Bei der Bestimmung der Tenside als summarische Meßgröße werden auch Verbindungen erfaßt, die nicht über Waschmittel in das Abwasser gelangen. Auf der anderen Seite werden Verbindungen nicht mehr erfaßt, wenn sie die für die Erfassung innerhalb der summarischen Meßgröße notwendige funktionelle Gruppe ganz oder teilweise verloren haben (z. B. durch biologischen Abbau) und nur noch als Restmolekül existent sind. Dies wird speziell bei nichtionischen Tensiden deutlich, die als Handelsprodukte eine mittlere Kettenlänge von 10 Ethylenoxid-Einheiten (EO) besitzen und in dieser Form nach den üblichen Verfahren als BiAS erfaßt werden können. In biologisch gereinigtem Abwasser ist die mittlere Kettenlänge der hydrophilen Seite nur eine bis zwei EO-Einheiten, und in dieser Form entgehen sie der normalen Bestimmung als summarische Meßgröße. Vergleiche hierzu auch Kapitel "Bismut-aktive Substanzen" auf Seite 86.

Es ist notwendig, diese Tatsachen bei der Bewertung der folgenden summarischen Meßgrößen im Auge zu behalten.

Painter [61] ermittelte 1.4 mg/l C als Konzentration für anionische Tenside. Dies entsprach einem Anteil am DOC von 10 %. In einer späteren Arbeit bestimmte er [62] für den gleichen Parameter 0.5 mg/l C (entsp. 3.2 % des DOC). An nichtionischen Tensiden fand er 0.27 mg/l C (entsp. 1.6 % des DOC) und an optischen Aufhellern 0.5 %.

Helfgott und Hunter [33] geben für den Anteil anionischer Tenside 10 % an.

Rebhun und Manka bestimmten ebenfalls anionische Tenside. Ihre Werte: 6.2 bis 7.7 % [67], 15.3 bis 17.2 % [50] und 14.8 % [51].

Waggott [85] bestimmte als Konzentration anionischer Tenside 0.5 bis 0.9 mg/l C. Dies entspricht einem Anteil am DOC von 2.5 bis 4.5 %. Nichtionische Tenside lagen nach seinen Untersuchungen zwischen "nicht nachweisbar" und 0.3 mg/l C (entsp. 1.5 % DOC-Anteil).

Topping und Waters [82] untersuchten zwei Kläranlagen. Anionische Tenside fanden sie in einem Konzentrationsbereich von 0.27 mg/l C bis 0.36 mg/l C. Über CSB- oder DOC-

Werte wird in der Arbeit nichts ausgesagt. Wenn man einen typischen Wert für den DOC zugrunde legt (10 mg/l C), so entspricht der Anteil anionischer Tenside 3 % des gelösten organischen Kohlenstoffs. Nichtionische Tenside bestimmten sie im Bereich von 0.05 bis 0.07 mg/l C, entspr. 0.6 % des DOC. Die Konzentration der kationische Tenside lag zwischen 0.05 und 0.16 mg/l. Dies entsprach 1 % des DOC.

Giger und Mitarbeiter berichteten in verschiedenen Arbeiten [1], [26], [27] und [77] über die Analytik der nichtionischen Tenside. Als Mittelwert aus den Untersuchungen an fünf Kläranlagenabläufen geben sie [1] 51 $\mu\text{g/l}$ nichtionische Tenside an. Dies entspricht 0.3 % des DOC, wenn eine durchschnittliche Konzentration von 10 mg/l C für einen Kläranlagenablauf angenommen wird.

Turner [83] untersuchte den Ablauf eines Tropfkörpers. 0.8 mg/l C entfielen auf MBAS und 0.4 mg/l C auf nichtionische Tenside. Er untersuchte den Ablauf derselben Kläranlage wie Waggott. Turner gibt keinen DOC-Wert an, deshalb wird der Meßwert von Waggott (20 mg/l DOC) zugrunde gelegt. Daraus errechnet sich der DOC-Anteil anionischer Tenside zu 4 % und der Anteil nichtionischer Tenside zu 2 %.

Petts und Parkes [65] fanden anionische Tenside in einer Konzentration von 0.37 mg/l C. Auch hier müssen mangels Angaben der Autoren DOC-Werte geschätzt werden. Vermutlich haben auch sie dieselbe Kläranlage wie Waggott untersucht. Es werden daher 20 mg/l DOC zugrunde gelegt. Nach ihren Messungen haben dann anionische Tenside einen Anteil von 1.5 % am DOC.

Ein Belebungsbecken und einen Tropfkörper als biologische Stufe verglichen Brown und de Henau [11]. Im Ablauf des Belebungsbeckens konnten nichtionische Tenside in einer Konzentration von 0.13 mg/l C nachgewiesen werden. Dies entsprach einem Anteil am DOC von 0.43 %. Für den Tropfkörper lagen die Werte etwas höher: 0.20 mg/l C (entsp. 0.74 %). Die CSB-Werte für beide Anlagen waren in der gleichen Größenordnung (Belebungsbecken: 70 bis 90 mg/l O₂ und Tropfkörper: 50 bis 80 mg/l O₂).

Lahl und Burbaum [42] fanden anionische Tenside in einer Konzentration von 0.1 mg/l C (entsp. 0.7 % des DOC), nichtionische Tenside lagen bei 0.4 mg/l C (entsp. 2.7 %) und kationische Tenside im Bereich 0.03 mg/l C (entsp. 0.2 % DOC-Anteil).

Häufig werden auch sog. "nichtflüchtige Säuren", die von einigen Autoren bestimmt wurden, als Summe anionischer Tenside angegeben. Unter diesen Oberbegriff fallen allerdings nicht nur anionische Tenside (langkettige, z. T. derivatisierte Fettsäuren), sondern auch kurzkettige Säuren mit zusätzlichen polaren funktionellen Gruppen. Es ist daher Vorsicht geboten, diesen Parameter vollständig als Tenside zu interpretieren.

Flüchtige (wasserdampfllüchtige) Säuren, die ebenfalls als summarische Meßgröße angegeben werden, fallen nicht unter den Tensidbegriff. Fettsäuren sind in ihrer homologen Reihe bis zur Caprylsäure (C₇H₁₅COOH) hin wasserdampfllüchtig. Tenside werden jedoch hauptsächlich aus Fettsäuren mit mehr als 12 Kohlenstoff-Atomen hergestellt.

Ebenso wie "nichtflüchtige Säuren" gelten häufig auch "etherextrahierbaren Stoffe" als Obergruppe für anionische Tenside, wenn die Extraktion im saueren pH-Bereich durchgeführt wird.

Im folgenden werden einige Daten zu diesen Meßgrößen angegeben:

Painter [62] fand 11.8 % des DOC als nichtflüchtige Säuren. Benckiser [7] gibt deren Anteil mit 10 % an. Waggott [85] fand 10.2 % des DOC als nichtflüchtige, aber bei pH=2 etherextrahierbare Substanzen. Rebhun und Manka [50] extrahierten mit Ether zwischen 6.8 % und 16.5 % der organischen Verbindungen.

Es handelt sich dabei zumeist um ältere Veröffentlichungen. Daten über "Methylenblau-aktive Substanzen", die zeitlich zu diesen Arbeiten passen, deuten darauf hin, daß "nichtflüchtige Säuren" und "etherextrahierbare Substanzen" zum großen Teil mit Tensiden bzw. langkettigen Fettsäuren identisch sind. Kurzkettige Säuren mit zusätzlichen polaren, funktionellen Gruppen waren in den untersuchten Abläufen offenbar nur in geringerem Umfang vorhanden.

Die oben zitierten Arbeiten führen zu dem Schluß, daß Tenside und Fettsäuren zu rund 10 % zum DOC biologisch gereinigter kommunaler Abwässer beitragen.

2.3.2 Einzelne Inhaltsstoffe

Einige Autoren haben auch gezielt einzelne Verbindungen bestimmt, die in Waschmitteln vorkommen, bzw. zusammen mit den üblichen summarischen Meßgrößen für Waschmittel erfaßt werden. Der Einzelsubstanzbestimmung ging in der Regel eine aufwendige Probenaufbereitung voraus. Die quantitative Bestimmung erfolgte mittels moderner chromatographischer Systeme.

Waggott [85] bestimmte Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) in einem Konzentrationsbereich zwischen 90 und 220 $\mu\text{g/l}$. Daraus errechnet sich dann ein Anteil am Ablauf-DOC (20 mg/l C) von 0.24 %. Bei optischen Aufhellern bestimmte er unterschiedliche Klassen: Cumarin-Derivate mit 0.001 % Anteil am DOC, Dimorpholin-Derivate (2.8 %), Tetraanilin-Derivate (1.1 %), Di-N-Methylethanolamin-Derivate (0.35 %), Trans-p-Aminostilben-Derivate (2.8 %) und cis-p-Aminostilbenderivate (1.4 %). Insgesamt erklärt Waggott 8.5 % des DOC mit optischen Aufhellern.

Berth und Krings [10] bestimmten Polycarboxylate in einem Konzentrationsbereich zwischen 0.1 und 0.2 mg/l. Leider geben sie keine Summenformeln und keinen DOC-Wert an. Heute werden als Waschmittelinhaltsstoffe nach Opgenorth [58] aus dieser Gruppe ausschließlich Homopolymere der Acrylsäure und Copolymere von Acrylsäure und Maleinsäure eingesetzt. Daraus ist der Kohlenstoffgehalt der Polycarboxylate abzuschätzen. Wenn man 45 % Kohlenstoffgehalt für Carboxylate annimmt und 10 mg/l Ablauf-DOC, so tragen Carboxylate mit 0.68 % zur Kohlenstoffbilanz bei.

Lahl und Burbaum [42] bestimmten ebenfalls EDTA im Bereich von 0.135 bis 0.23 mg/l (entsp. 0.4 % d. DOC), sowie Nitrilotriessigsäure (NTA) in einem Konzentrationsbereich zwischen 8 und 16 $\mu\text{g/l}$ (0.03 %).

⁵ Polycarboxylate werden Waschmitteln eigentlich als Vergrauungsinhibitoren zugesetzt, sie werden aber dennoch an dieser Stelle aufgeführt.

Tabelle 3. DOC-Anteil von Waschmittelinhaltsstoffen und Fettsäuren: Zusammenfassung der Ergebnisse mehrerer Autoren. Prozentangaben bezogen auf DOC.

| | | |
|--|--|---|
| Komplexbildner 1.01 % | EDTA NTA Polycarboxylate ⁵ | 0.3 % 0.03 % 0.68 % |
| Optische Aufheller 8.6 % | Cumarin-Deriv. Dimorpholin-Deriv. Tetraanilin-Deriv. Di-N-Me-Ethanolamin-D. Trans-p-Stilben-Deriv. Cis-p-Stilben-Deriv. | 0.01 % 2.8 % 1.1 % 0.35 % 2.8 % 1.4 % |
| Nichtionische Tenside 1.46 % | Nonylphenol NP-1-EO NP-2-EO Octylphenol-1-EO OP-2-EO OP-1-Ethoxycarboxylat OP-2-Ethoxycarboxylat OP-4-Ethoxycarboxylat | 0.18 % 0.64 % 0.33 % 0.03 % 0.05 % 0.1 % 0.09 % 0.02 % |
| Kationische Tenside 0.54 % | Distearyldimethylammoniumchlorid Laurylmethylammoniumchlorid Myristylmethylammoniumchlorid Palmitylmethylammoniumchlorid Stearyl-methylammoniumchlorid | 0.5 % 0.007 % 0.006 % 0.009 % 0.013 % |
| Fettsäuren 7.4 % | Capronsäure Laurinsäure Myristinsäure Palmitinsäure Palmitoleinsäure Stearinsäure Ölsäure Linolsäure Arachidonsäure Erucasäure | 0.42 % 0.19 % 0.42 % 1.5 % 1.5 % 1.3 % 1.7 % 0.3 % 0.05 % 0.02 % |

Giger und Mitarbeiter [27] bestimmten die NTA-Konzentration in den Abläufen mehrerer schweizer Kläranlagen. Sie fanden 2.5 bis 860 $\mu\text{g/l}$, im Mittel 88 $\mu\text{g/l}$. Dies entspricht 0.33 % des DOC. Der gegenüber den Messungen von Lahl etwa zehnfache Anteil von NTA am Ablauf-DOC überrascht nicht, denn in der Schweiz sind in den Rahmenrezepturen der Haushaltswaschmittel als Phosphatersatz höhere NTA-Gehalte vorgesehen.

Neubecker [57] untersuchte Alkylethersulfate in biologisch gereinigtem Abwasser mittels GC nach Derivatisierung. Er fand für die Homologen mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen in der Alkylkette Konzentrationen zwischen "nicht nachweisbar" und 20 $\mu\text{g/l}$ ($\pm 10 \mu\text{g/l}$). Die angegebenen Konzentrationen stellen dabei noch die aufsummierten Werte für Verbindungen mit gleicher Kohlenstoffzahl, aber unterschiedlicher Länge der Ethoxylkette dar; diese waren gaschromatographisch nicht zu trennen.

Topping und Waters [82] bestimmten in zwei Kläranlagenabläufen 0.09 bzw. 0.04 mg/l Distearyldimethylammoniumchlorid, ein häufig verwendetes kationisches Tensid. Nach

Hellmann ([34], S. 128) macht es in der Bundesrepublik Deutschland 85-90 % der verwendeten kationischen Tenside aus. Der Anteil am DOC liegt bei 0.5 %, wenn eine DOC-Konzentration im Ablauf von 10 mg/l angenommen wird.

Matthijs und de Henau [52] untersuchten ebenfalls zwei Kläranlagen auf kationische Tenside (Monoalkylquats). Dabei fanden sie für Lauryltrimethylammoniumchlorid zwischen < 0.5 und $1.3 \mu\text{g/l}$ (entsp. im Mittel 0.007 % des DOC), für Myristyltrimethylammoniumchlorid zwischen < 0.5 und $1.1 \mu\text{g/l}$ (entsp. im Mittel 0.006 % des DOC), für Palmityltrimethylammoniumchlorid zwischen 1.0 und $1.1 \mu\text{g/l}$ (entsp. im Mittel 0.009 % des DOC) und für Stearyltrimethylammoniumchlorid zwischen 1.1 und $2.2 \mu\text{g/l}$ (entsp. im Mittel 0.009 % des DOC).

Giger und Mitarbeiter [1], [77] bestimmten nichtionische Tenside bzw. deren Metabolite in Abläufen schweizer Kläranlagen. Sie bestimmten Nonylphenol in einem Konzentrationsbereich zwischen < 10 und $35 \mu\text{g/l}$ (entsp. einem Anteil am DOC von 0.18 % im Mittel). Nonylphenol mit einem Ethylenoxid-Rest (NP-1-EO) lag in seiner Konzentration zwischen < 10 und $133 \mu\text{g/l}$ (0.64 % des DOC). NP-2-EO hatte einen Konzentrationsbereich von < 10 bis $70 \mu\text{g/l}$ (0.33 % des DOC). Höher ethoxylierte Nonylphenole hatten gegenüber diesen drei Vertretern eine wesentlich geringere Konzentration. Im Kläranlagenzulauf war ein ausgeprägtes Maximum bei NP-10-EO zu beobachten.

Auch Reinhard [68] bestimmte Metabolite nichtionischer Tenside. Er fand Octylphenol mit einem Ethylenoxid-Rest (OP-1-EO) in einer Konzentration von $6.9 \mu\text{g/l}$ (0.03 % DOC-Anteil). OP-2-EO lag bei $11 \mu\text{g/l}$ (entspr. 0.05 % des DOC).

Für eine Reihe anderer Metabolite, die entsprechenden Carboxylate, fand er folgende Konzentrationswerte: OP-1-EO-Carboxylat $14 \mu\text{g/l}$ (0.05 %), OP-2-EO-Carboxylat $15 \mu\text{g/l}$ (0.09 %), OP-4-EO-Carboxylat $4.2 \mu\text{g/l}$ (0.02 %). NP-3-EO fand er in einer Konzentration von $3.5 \mu\text{g/l}$.

Benckiser [7] bestimmte nichtflüchtige Fettsäuren. Das Vorhandensein von Fettsäuren kann mit den Stoffwechselaktivitäten der Biomasse des Belebungsbeckens, aber auch mit der Anwesenheit im Zulauf begründet werden. Dort wiederum können sie aus Nahrungsmitteln, aber auch aus Seifen stammen. Die Angaben beziehen sich wie üblich auf das Verhältnis von Verbindungskohlenstoff zum Gesamt-DOC: Capronsäure (0.42 %), Laurinsäure (0.19 %), Myristinsäure (0.42 %), Palmitinsäure (1.5 %), Palmitoleinsäure (1.5 %), Stearinsäure (1.3 %), Ölsäure (1.7 %), Linolsäure (0.30 %), Erucasäure (0.05 %), Arachidonsäure (0.02 %).

Zusammenfassend sind die Ergebnisse von Einzelsubstanz-Bestimmungen im Tabelle 3 auf Seite 14 dargestellt. Es ist allerdings wichtig zu beachten, daß viele der Daten von jeweils nur einem Autor an z. T. nur einer Kläranlage gemessen wurden. Repräsentative Daten liegen dann vor, wenn zumindest die Größenordnung des Anteils der verschiedenen Einzelverbindungen von mehreren Autoren bestätigt wird. Auf diesem Gebiet ist noch viel analytische Arbeit zu investieren.

2.4 Flüchtige Verbindungen

2.4.1 Flüchtige Verbindungen als summarische Meßgröße

In Veröffentlichungen wird unterschieden zwischen flüchtigen Verbindungen mit aciden Wasserstoffatomen und flüchtigen, neutralen Verbindungen. Inhaltsstoffe der ersten Gruppe sind wasserdampflich, wenn bei $\text{pH} = 2$ destilliert wird.

Koppe und Stozek [41] referieren Reinhold mit einer Untersuchung über den Anteil flüchtiger Fettsäuren am CSB. Danach waren 23.8 bis 27.2 % des CSB flüchtigen Säuren zuzuordnen.

Painter [62] berichtete 1973 von 0.9 mg/l C für freie, flüchtige Fettsäuren. Dies entsprach 5.4 % des DOC. Er gab auch einen Wert für neutrale, flüchtige Stoffe an: 3.1 % des DOC. Waggott [85] ermittelte für flüchtige Säuren eine Konzentration von 0.19 bis 0.91 mg/l C (0.95 bis 4.55 % des DOC). Für neutrale Stoffe bestimmte er 0.52 bis 0.83 mg/l C (2.6 bis 4.15 %).

Baham und Sposito [6] geben einen Parameter "wasserdampflich flüchtige Verbindungen" an, dem sie 8.5 % des DOC zuordnen.

2.4.2 Einzelne, flüchtige Verbindungen

Waggott [85] bestimmte auch einzelne, flüchtige Säuren mittels Gaschromatographie. Er fand Essigsäure in einer Konzentration von 0.19 mg/l C (0.95 % des DOC), Propionsäure 0.07 mg/l C (0.35 %), n-Buttersäure 0.005 mg/l C (0.025 %), i-Valeriansäure 0.0025 mg/l C (0.013 %), n-Valeriansäure 0.0025 mg/l C (0.013 %) und Capronsäure 0.005 mg/l C (0.025 %).

Chian [12] fand 0.7 mg/l Essigsäure (entsp. 2.8 % des DOC) sowie 1.3 mg/l 2-Butanol (entsp. 8.4 % des DOC). Beide Werte erscheinen relativ hoch. Essigsäure bildet sich, wenn Abwasser anaerob wird, bzw. bei der gezielten anaeroben Behandlung. Ihre Anwesenheit in höherer Konzentration könnte so erklärt werden. Die Herkunft größerer Mengen an 2-Butanol ist unklar.

Scully [74] bestimmte basische Verbindungen im Kläranlagenablauf. Er fand Isoamylamin mit 6 $\mu\text{g/l}$, Isobutylamin mit 5 $\mu\text{g/l}$, 2-Methylbutylamin ebenfalls mit 5 $\mu\text{g/l}$ sowie Piperidin mit 4 $\mu\text{g/l}$. Über den DOC-Gehalt des Ablaufs werden keine Aussagen gemacht, aber der Gehalt an Kjeldahl-Stickstoff lag zwischen 2.19 mg/l N und 2.44 mg/l N. Damit ist abzuschätzen, daß die Konzentration des DOC im Bereich zwischen 15 und 20 mg/l lag. Der Anteil der obigen Amine am DOC übersteigt im Einzelfall 0.01 % nicht, das heißt, als individuelle Verbindungen tragen diese Amine nicht wesentlich zur DOC-Bilanz bei.

Reinhard [68] bestimmte halogenierte Verbindungen und Industriechemikalien in einem kommunalen Kläranlagenablauf. Er fand CHCl_3 (2.4 $\mu\text{g/l}$), CHBrCl_2 (0.36 $\mu\text{g/l}$), CHBr_2Cl (0.38 $\mu\text{g/l}$) und CHBr_3 (0.29 $\mu\text{g/l}$). Diese Haloformen steuerten in ihrer Summe 0.002 % des DOC bei. Chlorbenzol (0.08 $\mu\text{g/l}$),

1,2-Dichlorbenzol (1.4 $\mu\text{g/l}$), 1,4-Dichlorbenzol (1.7 $\mu\text{g/l}$) und 1,2,4-Trichlorbenzol (1.7 $\mu\text{g/l}$) hatten gemeinsam einen Anteil von 0.0016 % am DOC. 1,1,1-Trichlorethan (3.2 $\mu\text{g/l}$), Trichlorethylen (0.17 $\mu\text{g/l}$) und Perchlorethylen (1.7 $\mu\text{g/l}$) erreichten in ihrer Summe einen DOC-Anteil von 0.0054 %. An nicht-chlorierten Verbindungen fand er Ethylbenzol (0.07 $\mu\text{g/l}$), 1,2,4-Trimethylbenzol (0.07 $\mu\text{g/l}$), Naphthalin (0.09 $\mu\text{g/l}$) und 1-Methylnaphthalin (0.08 $\mu\text{g/l}$). Zusammengezählt ergaben diese Stoffe 0.007 % des DOC. Für Tributylphosphat ermittelte er mit 28 $\mu\text{g/l}$ einen relativ hohen Wert. Daraus resultierte ein Anteil am DOC von 0.1 %.

2.5 Weitere Inhaltsstoffe von biologisch gereinigtem Abwasser

In diesem Abschnitt sollen Verbindungen zusammengefaßt werden, die keinem der obigen Bereiche zugeordnet werden können, die aber dennoch als Inhaltsstoffe biologisch gereinigter Abwässer identifiziert wurden.

Lahl und Burbaum [42] bestimmten Phthalate in Kläranlagenabläufen. Phthalsäureester werden häufig als Weichmacher für Kunststoffe verwendet. Sie fanden Dibutylphthalat zwischen 10 und 54 $\mu\text{g/l}$, Butylbenzylphthalat (1 bis 36 $\mu\text{g/l}$), Dicyclohexylphthalat (< 1 bis 2 $\mu\text{g/l}$), Dioctylphthalat (9 bis 15 $\mu\text{g/l}$) und weitere Phthalate zwischen 21 und 57 $\mu\text{g/l}$. Zusammen trugen diese Phthalate rund 0.5 % zur DOC-Bilanz bei.

Tabak [79] bestimmte verschiedene Steroide. Norethindron (0.6 $\mu\text{g/l}$), Norethynodrel (0.38 $\mu\text{g/l}$), Norethindron Acetat (0.2 $\mu\text{g/l}$), Medroxyprogesteron Acetat (0.16 $\mu\text{g/l}$), Dime-thisteron (0.04 $\mu\text{g/l}$), Chlormadinon Acetat (0.08 $\mu\text{g/l}$), Ethynodiol Diacetat (0.55 $\mu\text{g/l}$), Ethynyl-Estradiol (0.81 $\mu\text{g/l}$) und Mestranol (1.05 $\mu\text{g/l}$). Zusammen tragen diese Steroide zu 0.03 % zum DOC bei, wenn eine DOC-Konzentration von 10 mg/l im Ablauf der Kläranlage angenommen wird. Als Quelle für diese Verbindungen kommen Medikamente bzw. pharmakologisch wirksame Stoffe aus der Tiermast in Frage.

Vermutlich aus dem Stoffwechsel stammen zwei Steroide, die Switzer-Howse [78] bestimmte. Er fand Coprostanol in einer Konzentration von 22 $\mu\text{g/l}$ (entsprechend 0.17 % des DOC) und Cholesterin 20 $\mu\text{g/l}$ (0.16 %). Waggott [85] bestimmte ebenfalls diese beiden Stoffe. Cholesterin zu 5 bis 9 $\mu\text{g/l}$ und Coprostanol zu 8 bis 20 $\mu\text{g/l}$. Zusammen trugen diese beiden Steroide zu 0.17 % zur DOC-Bilanz bei.

Pitt, Jolley und Katz [66] fanden ebenfalls typische Stoffwechselprodukte: Uracil mit 30 $\mu\text{g/l}$, 5-Amino-6-Acetylamino-3-Methyluracil (30 $\mu\text{g/l}$), Inosin (20 $\mu\text{g/l}$), 1-Methylinosin (88 $\mu\text{g/l}$), 1-Methylxanthin (6 $\mu\text{g/l}$), 7-Methylxanthin (5 $\mu\text{g/l}$) und auch 1,7-Dimethylxanthin (6 $\mu\text{g/l}$). Zusammengezählt ergeben diese Basen etwa 1 % des DOC, wenn eine Konzentration von 10 mg/l DOC im Kläranlagenablauf angenommen wird.

Auch Coffein wurde bereits im Ablauf kommunaler Kläranlagen bestimmt. Reinhard [68] ermittelte eine Konzentration von 4.8 $\mu\text{g/l}$. Bei 10 mg/l Ablauf-DOC bedeutet dies einen DOC-Anteil von 0.018 %.

2.6 Zusammenfassung der Literaturdaten

Summarische Werte: Zusammenfassend läßt sich sagen, daß über summarische Meßgrößen ca. 50 % des DOC von biologisch gereinigtem Abwasser zugeordnet werden konnten. Mit den Obergruppen der Tabelle 4 sind ca. 25 % des DOC in Stoffgruppen aufgeteilt. Eine Zuordnungsquote bis zu etwa 50 % ist erreichbar, wenn auch Obergruppen wie "wasserdampfflüchtige Verbindungen", "flüchtige Verbindungen" oder "etherextrahierbare" mitberücksichtigt werden. Diese Gruppen sind sehr heterogen zusammengesetzt und unterliegen in ihrer Menge großen Schwankungen (z. B. "flüchtige Stoffe" zwischen 3.5 % und 27 % des DOC). Auch mag es mehr oder weniger große Überschneidungen hinsichtlich der in diesen Gruppen zusammengefaßten Verbindungen geben.

Tabelle 4. Zusammenfassung summarischer Meßgrößen und ihr Anteil am DOC

| Summarische Meßgröße | Bereich der Werte | Mittelwert ⁶ |
|--------------------------------|-------------------|-------------------------|
| Gesamtkohlenhydrate | 2.4 - 11.8 % | 5 % |
| Freie Aminosäuren | 0.3 - 2.8 % | 1 % |
| Proteine ⁷ | 2.2 - 10.0 % | 5 % |
| Methylenblau-aktive Substanzen | 1.5 - 17.2 % | 9 % |
| Disulfidblau-aktive Substanzen | 0.2 - 1.0 % | 0.6 % |
| Bismut-aktive Substanzen | 0.3 - 2.7 % | 1 % |
| Optische Aufheller | 0.5 - 8.6 % | |
| Komplexbildner ⁸ | 1.0 % | |

Alle in obiger Tabelle aufgeführten Werte beziehen sich auf das gesamte Spektrum der molaren Massen. Als definiert niedermolekulare Gruppen können lediglich "freie Aminosäuren" und "Komplexbildner" angesehen werden. Selbst der Parameter "optische Aufheller" ist, wenn er über Fluoreszenzmessung ermittelt wurde, nicht auf den niedermolekularen Bereich beschränkt, da nach Untersuchungen von Frimmel [22] Huminsäuren ebenfalls Fluoreszenz zeigen.

Einzelne Stoffe: Bei der Betrachtung der identifizierten Einzelverbindungen (Tabelle 5 auf Seite 19) fällt auf, daß damit bei weitem nicht der Aufklärungsgrad der summarischen

⁶ Mittelwerte nur bei drei und mehr erfaßten Arbeiten dazu

⁷ Daten ohne die nach der Lowry-Methode ermittelten Werte. Diese liegen 2-4 fach höher.

⁸ Hiervon wurde kein Summenparameter bestimmt. Der Wert stellt die aufsummierten Einzelergebnisse von Carboxylaten, NTA und EDTA dar.

Meßgrößen erreicht wird. Dies trifft insbesondere für den Vergleich von Kohlenhydrat-Summenwerten und -Einzelverbindungen zu.

Tabelle 5. Zusammenfassung der Einzelverbindungen und ihr Anteil am DOC: Prozentangaben stellen aufsummierte Werte von Einzelverbindungen dar.

| Klasse der Einzelstoffe | Anteil am DOC |
|--|---------------|
| Kohlenhydrate ⁹ | 0.6 % |
| Freie und gebundene Aminosäuren ⁹ | 1.0 % |
| Fettsäuren | 7.0 % |
| Kationische Tenside | 0.5 % |
| Abbauprodukte nichtionischer Tenside | 1.1 % |
| Komplexbildner | 1.0 % |
| Flüchtige Säuren | 1.4 % |
| Flüchtige Basen | 0.04 % |
| Kernbasen und Derivate | 1.0 % |
| Weichmacher | 0.5 % |
| Steroide | 0.3 % |
| Chlorierte Verbindungen | < 0.01 % |

Insgesamt wurden über 100 Einzelverbindungen in Abläufen kommunaler Kläranlagen mit biologischer Reinigungsstufe bestimmt, viele davon im Bereich unter 0.1 % Anteil an der Gesamtmenge des gelösten organischen Kohlenstoffs. Polymere Verbindungen in biologisch gereinigtem Abwasser wurden hydrolysiert und dann die Monomere bestimmt. Arbeiten, die Sequenzanalysen der Polymere zum Thema haben, waren beim Literaturstudium nicht zu finden.

Als Einzelverbindungen sind rund 10 % des DOC aufgeklärt. Die Daten für "optische Aufheller" sind dabei nicht berücksichtigt, denn diese Daten entstammen nur einer Arbeit und sind somit nicht repräsentativ. Eine summarische Meßgröße als Vergleichswert hierzu gibt 0.5 % Anteil am DOC an. Die Schwankungen sind also so groß (0.5-8.6 %), daß dieser Parameter in der Bilanzierung unberücksichtigt bleibt.

Von den identifizierten Einzelstoffen fallen 90 % in den niedermolekularen Bereich. Trotz dieses hohen Prozentsatzes liegt die Aufklärungsquote für den Anteil von Verbindungen mit niederer molarer Masse im günstigsten Fall bei 25 %. Obwohl die Auswahl der hier referierten Artikel streng auf den Bereich der kommunalen Kläranlagen beschränkt wurde und somit für den Bereich des Kläranlagen-Zulaufs mit vergleichbaren Verhältnissen zu rechnen ist, bleibt als Variable die Leistungsfähigkeit der einzelnen Anlagen. Die einzelnen Autoren machen darüber häufig nur ungenaue oder gar keine Angaben, so daß darauf verzichtet wurde, diesen Parameter auch noch zu berücksichtigen.

⁹ Schließt hochmolekulare Anteile mit ein

In der folgenden Tabelle sind zum Abschluß dieses Übersichtskapitels alle in dieser Arbeit auftauchenden Einzelstoffe (insgesamt 262 nach eigenen Befunden und Literaturangaben) zusammengefaßt, die in biologisch gereinigtem, kommunalem Abwasser gefunden wurden.

Tabelle 6. Liste aller in dieser Arbeit erwähnten Inhaltsstoffe gereinigter Abwässer: Stoffe, die mit [X] gekennzeichnet sind, wurden in den in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen nachgewiesen.

Aliphatische Kohlenwasserstoffe (26)

| | | | |
|--------|------|----------------------------|------|
| C6H14 | [44] | 3-Methylpentan | [44] |
| C9H18 | [44] | Cyclohexan | [X] |
| C10H16 | [21] | 2,2,4 Trimethylpentan | [44] |
| C11H24 | [44] | 3,3 Dimethylhexan | [44] |
| C14H28 | [21] | Cyclodecan | [X] |
| C18H36 | [X] | 2,3,5-Trimethyloctan | [X] |
| C20H40 | [21] | 5-Methylundecan | [X] |
| C24H48 | [21] | 2-Methyldodecan | [X] |
| C26H54 | [44] | 2,5 Dimethyltetradecan | [X] |
| C27H56 | [44] | Heptadecan | [X] |
| C32H66 | [X] | 2,6,10,18 Heptamethyldecan | [X] |
| C32H66 | [X] | 10-Methyleicosan | [X] |
| C36H72 | [X] | 5-Octadecan | [X] |

Aromatische Kohlenwasserstoffe (9)

| | | | |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| Toluol | [44], [21], [68] | Propylbenzol | [44] |
| Dimethylbenzol | [44] | Divinylbenzol | [44] |
| Trimethylbenzol | [68] | Naphthalin | [44], [21], [68] |
| Ethylbenzol | [44], [68] | Methylnaphthalin | [21], [68] |
| Styrol | [44] | | |

Alkohole, Phenole (22)

| | | | |
|-----------------------------------|------------|---|----------------|
| 2-Butanol | [12] | p-Tetramethylbutyl-phenol | [21] |
| Methylhexanol | [44] | Nonylphenol | [X], [1], [77] |
| Heptanol | [21] | Alpha-Terpineol | [21] |
| Hexadecanol | [X] | 2-Ethoxyethanol | [44] |
| Phenol | [44] | 2,2-Diethoxyethanol | [X] |
| Methylphenol | [44], [21] | Isopropylethoxyethanol | [44] |
| Allylphenol | [44] | D,L 1,6-Di-Deoxyalditol-3,4-di-O-Methyl | [X] |
| p-Tert. Amylphenol | [21] | Allo-Inosit | [X] |
| 3-(1,1-Dimethylethyl)-Phenol | [X] | p-Propoxyphenol | [21] |
| Methyl-tert.-butylphenol | [21] | 5-Methyl-Hydroxyphenol | [X] |
| 4-Methyl-2,6-Di-tert.-butylphenol | [X], [44] | 1,1-Diethyl-4-Methoxy-phenol | [X] |

Steroide (11)

| | | | |
|---------------------|------|---------------------|------------|
| Norethindron | [79] | Ethinodiol Diacetat | [79] |
| Noretynodrel | [79] | Ethinylestradiol | [79] |
| Norethindron Acetat | [79] | Mestranol | [79] |
| Medroxyprogesteron | [79] | Coprostanol | [85], [78] |
| Dimethisteron | [79] | Cholesterin | [85], [78] |
| Chlormadinon Acetat | [79] | | |

Ether (10)

| | | | |
|--------------------------------------|------------|---|------|
| Di-(1-Methyl, 2-Hydroxi-propyl)ether | [44] | Nonylphenoltriethoxylat | [68] |
| 1,3-Dioxolan | [21] | Octylphenoethoxylat | [68] |
| Tetraethylenglycol-dimethylether | [44] | Dimethyldioxan | [44] |
| Nonylphenoethoxylat | [26], [77] | 2,4-Diethyl-, 3,5-Dimethyl-, 4,6-Dihydrofuran | [44] |
| Nonylphenoldiethoxylat | [26], [77] | 2-Pentenylfuran | [44] |

Kohlenhydrate (9)

| | | | |
|-----------|------------|--------------------|------|
| Glucose | [85], [31] | N-Acetylglucosamin | [31] |
| Fructose | [85], [31] | Glucosamin | [31] |
| Mannose | [31] | Galactosamin | [31] |
| Galactose | [31] | Fucosamin | [31] |
| Xylose | [31] | | |

Aldehyde, Ketone (15)

| | | | |
|---|------------|---|------|
| Di-tert-butylchinon | [X], [44] | 2-Methylpentenal | [21] |
| Benzophenon | [21] | 3-Methyl-2-Butenal | [X] |
| Benzaldehyd, 4-Methyloxim | [X] | Dimethoxyacetophenon | [44] |
| Benzaldehyd | [44], [21] | Hydroxi-Methoxyaceto-phenon | [44] |
| 2-Methyl-2-Butenal | [X] | 1-H-Pyrrol-2,5-Dion-3-Ethyl-, -4-Methyl | [X] |
| Zimtaldehyd | [44] | 2-Furfural | [44] |
| 1-(2H)-Naphthalinon-3,4-Dihydro-, -5,8-Dimethyl | [X] | 5-Methoxyfurfural | [44] |
| 4-Ethylacetophenon | [44] | | |

Carbonsäuren und Ester (59)

| | | | |
|--|-----------------|---|-----------|
| Benzotriacetat | [44] | Benzoessäuremethylester | [X], [44] |
| Diethylphthalat | [21] | Furandicarbonsäuredimethylester | [X] |
| Phthalsäure-butyl-2-Methylpropylester | [X] | 4-Isopropylbenzoessäure | [44] |
| Dibutylphthalat | [X], [21], [42] | Hydroxi-Butandicarbonsäuredimethylester | [X] |
| Phthalsäurediisooctylester | [X] | 2,4-Hexandiencarbonsäuredimethylester | [X] |
| Propylbenzylisobutylester | [44] | Octylphenoethoxylat-Carbonsäure | [44] |
| Butyl-Benzylphthalat | [42] | Octylphenoldiethoxylat-Carbonsäure | [44] |
| Dicyclohexylphthalat | [42] | Octylphenoltetraethoxylat-Carbonsäure | [44] |
| Fumarsäuredimethylester | [X] | Mandelsäuremethylester | [44] |
| Dimethylbenzoessäuremethylester | [44] | Laurinsäuremethylester | [44] |
| Decandicarbonsäuredimethylester | [X] | Myristinsäuremethylester | [44] |
| Methoximethylbenzoessäuremethylester | [44] | Palmitinsäuremethylester | [44] |
| Diethoxyessigsäureethylester | [X] | Margarinsäuremethylester | [44] |
| Methylphthalsäuredibutylester | [44] | Stearinsäuremethylester | [44] |
| 1-H-Pyrrol-2-Carbonsäureethylester | [X] | Palmitinsäureethylester | [44] |
| 5-Phenylpentansäure | [44] | Palmitinsäure-n-octylester | [44] |
| Phenylpropionsäuremethylester | [44] | Palmitoleinsäure | [7] |
| Phthalsäurediethylhexylester | [44] | Arachidonsäure | [7] |
| Phthalsäuredimethylester | [X], [44] | Erucasäure | [7] |
| Phthalsäuredioctylester | [44], [42] | 16-Methylheptadecansäure | [44] |
| 2,4,5-Trimethylbenzoessäuremethylester | [44] | 13-Methylpentadecansäure | [44] |
| 4-Vinylbenzoessäuremethylester | [44] | Brenztraubensäuremethylester | [44] |
| Ameisensäure | [44] | Äpfelsäuredimethylester | [44] |
| Essigsäure | [44], [12] | 11-Hexadecensäuremethylester | [44] |
| Capronsäuremethylester | [44] | Methacrylsäure | [44] |
| Oenanthsäuremethylester | [44] | 9,12-Octadecadiensäuremethylester | [44] |
| Pelargonsäuremethylester | [44] | 9-Octadecaensäuremethylester | [44] |
| Caprinsäuremethylester | [44] | Ethylenglycolmonoacetat | [44] |
| Hydroxifumarsäuredimethylester | [X] | Milchsäuremethylester | [44] |
| 3,3-Dimethyl-3-Phenylpropionsäure | [44] | | |

Halogenierte Verbindungen (17)

| | | | |
|----------------------|------------|--------------------------------------|------------|
| Trichlormethan | [68] | Perchloräthylen | [21], [68] |
| Dichlorbrommethan | [68] | Chlorbenzoesäuremethylester | [44] |
| Chlordibrommethan | [21], [68] | Dichlorbenzoesäuremethylester | [44] |
| Tribrommethan | [21], [68] | Trichlorbenzoesäuremethylester | [44] |
| Chlorbenzol | [68] | Dichlormethylbenzoesäuremethylester | [44] |
| 1,2-Dichlorbenzol | [21], [68] | Trichlormethylbenzoesäuremethylester | [44] |
| 1,4-Dichlorbenzol | [68] | 3-Bromcyclohexan | [21] |
| 1,2,4-Trichlorbenzol | [68] | 3-Chlorcyclohexan | [21] |
| Trichloräthylen | [68] | | |

Aminosäuren (20)

| | | | |
|----------------------------|-----------------------------------|---------------|------------------------------|
| Alanin | [X], [44], [85], [74], [63], [31] | Methionin | [X], [31] |
| α -Aminobuttersäure | [X], [85], [31] | Serin | [X], [44], [85], [63], [31] |
| Asparagin | [X] | Thyrosin | [X], [74], [63], [31] |
| Asparaginsäure | [X], [85], [74], [63], [31] | Valin | [X], [85], [74], [31] |
| Cystein | [X] | Arginin | [44], [31] |
| Glutamin | [X] | Glutaminsäure | [44], [85], [74], [63], [31] |
| Glycin | [X], [44], [74], [66], [63], [31] | Threonin | [44], [85], [74], [63], [31] |
| Histidin | [X], [44], [63], [31] | Phenylalanin | [85], [63], [31] |
| Lysin | [X], [74], [63], [31] | Isoleucin | [74], [63], [31] |
| | | Leucin | [74] |
| | | Prolin | [31] |

Weitere Verbindungen mit Hetero-Atomen (64)

| | | | |
|---|------|--|------------|
| 1-H-Imidazol,-4-Ethanolamin,-5-Methyl | [X] | 1-H-Isoindol-1,3-dion, 2-Methyl | [X] |
| Benzothiazol | [44] | N,N,4-trimethylbenzolsulfonamid | [X] |
| Acetaminophen | [21] | 2,2-Dimethylpyrrolidin-1-(2-Dimethylamino)- | |
| N,N-Diisopropyl-p-phenylendiamin | [44] | 1,1-Dimethylethoxy-2,2-Dimethyl- | [X] |
| 2-(Methylthio)benzthiazol | [21] | N,4-Dimethylbenzolsulfonamid | [X] |
| Benzoethanolamin, N-Alpha-dimethyl | [X] | 2-Chlorethanolphosphat | [X] |
| Benzothiadiazol | [21] | 1-H-Purin-2,6-dion-3,7-Dihydro-, -1,3,7-, Trimethyl- | [X] |
| N,N-Dimethylbarbitural | [44] | 1-H-Indol-3-Ethanolamin -N,1-Dimethyl, | |
| Phosphorsäuretrimethylester | [X] | -2-tetra-hydrofuranyl- | [X] |
| N,N-Dimethylphenobarbiton | [44] | 2-H-Hexahydroazepion | [X] |
| 4-Cyanobenzoessäure-4-Methylphenylester | [X] | 4-Methyl-2-Pyridinamin | [X] |
| 2-Methyl-8-Chinolin | [44] | Ethylendiamintetraessigsäure | [85], [42] |
| Phosphoramäuredimethylester | [X] | Nitilotriacetat | [42], [26] |
| Trimethylphosphin | [44] | Isoamylamin | [74] |
| Trithiopentan | [44] | Isobutylamin | [74] |
| 2-Thioxo-4-Imidazolion | [X] | Methylbutylamin | [74] |
| 1-H-Indol-3-Essigsäureethylester | [X] | Piperidin | [74] |
| Benzolsulfonsäuremethylester | [X] | Distearyldimethylammoniumchlorid | [82] |
| 2-Chlorchinazolin | [X] | Lauryltrimethylammoniumchlorid | [52] |
| 4-Methylbenzolsulfonsäuremethylester | [X] | Myristyltrimethylammoniumchlorid | [52] |
| 4-Methylbenzolsulfonsäureethylester | [X] | Palmityltrimethylammoniumchlorid | [52] |
| 4-Ethylheptanamid | [X] | Tributylphosphat | [68] |
| 5-Methylheptanamid | [X] | Adenin | [X] |
| N,N-Dimethylbenzolsulfonamid | [X] | Cytosin | [X] |
| 2-Methylpyridin | [X] | Uracil | [66] |
| 2,4-Dimethylpyridin | [X] | 5-Amino, 6-Acetylamino, -3-Methyluracil | [66] |
| 3-Ethylpyridin | [X] | Inosin | [66] |
| 2-Diethoxymethyl-1H-Imidazol | [X] | 1-Methylinosin | [66] |
| 4-Pyridincarbonsäuremethylester | [X] | 1-Methylxanthin | [66] |
| 1-H-Indol | [X] | 7-Methylxanthin | [66] |
| 1-H-2-H-2,4-Pyrimidindion-1,3-Dimethyl | [X] | 1,7-Dimethylxanthin | [66] |
| 4-Methoxybenzamid | [X] | Coffein | [68] |
| 3-Methylphenylcarbaminsäuremethylester | [X] | | |

Untersuchungen zur Anreicherung niedermolekularer Inhaltsstoffe

3. Versuche zur Aufkonzentrierung der organischen Inhaltsstoffe

Die Konzentrationen niedermolekularer, organischer Verbindungen, die in Abläufen biologischer Klärstufen zu finden sind, liegen in den meisten Fällen unterhalb der Grenze, ab der Stoffe direkt aus der Probe bestimmt werden können. Für die Analyse müssen sie aufkonzentriert werden. Je nach Art der zu bestimmenden Verbindung kommen dabei unterschiedliche Anreicherungstechniken in Frage:

- Für flüchtige Verbindungen das Ausblasen und anschließendes Auskondensieren aus der Gasphase, oder anschließende Adsorption an geeignete Trägermaterialien (Aktivkohle, Tenax etc.). Die Desorption erfolgt in diesen Fällen mittels Lösungsmitteln oder thermisch.
- Für ionische Verbindungen die Fixierung an Ionenaustauschern und die Elution mit geeigneten Pufferlösungen.
- Für unpolare Verbindungen die Extraktion mit geeigneten Lösungsmitteln.
- Ebenfalls für unpolare bis mittelpolare Verbindungen kommt die Adsorption an lipophile Adsorber (Reversed-Phase Materialien, makroporöse Harze, Aktivkohle etc.) in Frage. Die Desorption erfolgt mit geeigneten Lösungsmitteln.
- Für hochmolekulare Verbindungen ist die Membranfiltration oder die Dialyse zur Isolierung und Aufkonzentrierung geeignet.

Diese Aufstellung gängiger Anreicherungstechniken ist weit davon entfernt, vollständig zu sein. Sie mag jedoch als Überblick genügen.

Von Vorteil bei diesen Techniken ist die Tatsache, daß sie selektiv gestaltet werden können. Sie sind daher bei der Bestimmung von einzelnen, bereits bekannten Substanzen weit verbreitet. Übersichtsartikel zu diesen Techniken finden sich bei Jolley [37], Dressler [19] und Leenheer [43]. Zur RP-Phasen Adsorption und zur flüssig/flüssig Extraktion sei auf Aufsätze von Merz [53], sowie Otson [59] verwiesen.

In dieser Arbeit steht jedoch die Analytik der gesamten niedermolekularen organischen Verbindungen im Blickpunkt, die in den Abläufen biologischer Klärstufen zu finden sind. Das heißt, eine selektive Aufkonzentrierung stellt eher ein negatives Attribut für eine Methode dar. Für eine einzelne Verbindung kann die Adsorption/Desorption genau bilanziert werden. Bei einem Kläranlagenablauf mit einer großen Menge an organischen Einzelstoffen ist das nicht der Fall. Bei der Anwendung von Adsorptionstechniken muß man auf diesem Sektor Unsicherheiten in Kauf nehmen.

Da die beschriebenen Verfahren zur Aufkonzentrierung organischer Verbindungen im vorliegenden Fall ungeeignet erscheinen, wird in dieser Arbeit die Aufkonzentrierung durch Wasserentfernung erreicht.

Techniken die dieses Prinzip realisieren sind im wesentlichen :

1. Ausfrieren des Wassers (Gefrieranreicherung)
2. Verdampfen des Wassers
3. Verdampfen unter reduziertem Druck
4. Sublimation des Wassers (Gefriertrocknung)

Am schonensten sind zweifelsfrei die Gefrieranreicherung und die Gefriertrocknung, weil hierbei die thermische Belastung der organischen Inhaltstoffe am geringsten ist. Die Gefriertrocknung ist allerdings nicht in jeder Hinsicht günstig, denn sie ist unpraktisch zur Verarbeitung großer Probenvolumina im Labor. Geeignet erscheint auch die Verdampfung unter reduziertem Druck z. B. mittels Rotationsverdampfern oder Kuderna-Danish-Evaporatoren. Ungünstig wegen auftretender thermischer Belastungen der Inhaltstoffe ist auf alle Fälle die Verdampfung des Wassers unter Normaldruck.

Die Methoden 1, 3 und 4 werden im folgenden auf ihre Verwendbarkeit hin untersucht.

3.1 Gefrieranreicherung

Ein Vorteil dieser Methode ist, daß relativ große Wassermengen auf einmal verarbeitet werden können, um daraus ausreichende Mengen organischer Substanz (Probenhomogenität für vergleichende Untersuchungen) zu gewinnen. Daneben bedarf die Anlage nur eines Mindestmaßes an Kontrolle.

Übersicht über technische Realisierungen des Prinzips: In der Literatur sind drei Ausführungsprinzipien beschrieben:

1. Das gerichtete Erstarren
Dabei wird die wässrige Lösung der aufzukonzentrierenden Stoffe in ein Kältebad abgesenkt und dabei an der Phasengrenze Eis/Wasser gerührt. Die Eisschicht wächst von unten nach oben. Am Ende kann oben eine konzentrierte Lösung der zu untersuchenden Stoffe abgenommen werden. Diese Technik wurde von Schildknecht und Schlegelmilch [71], [72] beschrieben.
2. Die Kühlbirne
In der aufzukonzentrierenden Lösung hängt eine Kühlbirne, an der das Wasser ausfriert. Die Lösung wird dabei entweder gerührt, oder es wird das gesamte Gefäß gedreht. Diese Technik beschreiben Kepner [39] sowie Minear und Keith [55].
3. Der Shapiro-Typ
Die Kühlung der anzureichernden Lösung erfolgt über die Wand des Probengefäßes. Dort wächst auch die Eisschicht auf. Die Lösung wird während des Gefriervorganges intensiv gerührt. Manche Anordnungen sehen zudem vor, daß der Rührer mit zunehmender Dauer des Gefriervorganges langsam aus dem Behälter gezogen wird und so auch von der Bodenplatte her Eis aufwächst. Eine Beschreibung solcher Anlagen

findet sich bei Minear [55]. Bernauer [9] beschreibt eine Kaskaden-Konzentrierungsanlage nach diesem Verfahren, jedoch nur im Labormaßstab.

Wiederfindungsversuche mit einem Shapiro-Typ: Für die vorliegende Arbeit wurde ein Shapiro-Typ ausgewählt. Er ist in Abbildung 1 auf Seite 28 dargestellt und bei Metzger [54] beschrieben. Der zylindrische Innenraum faßte 190 Liter, gerührt wurde mit einem Paddelrührer und die Kühlung erfolgte durch einen mit Methanol betriebenen Kryostaten. Um Kontamination mit organischen Verbindungen zu vermeiden ist der Probenraum aus Edelstahl hergestellt. Der Probenraum hat an seinem tiefsten Punkt einen Auslaß, durch den bequem die aufkonzentrierte Probe und später das abgetaute Wasser abgelassen werden können. Um den Ablauf eisfrei zu halten, lief der Rührer während der gesamten Ausfrierphase ca. 10 cm über dem Auslauf.

Aus den Meßwerten in Tabelle 7 ist zu erkennen, daß bis zu Konzentrierungsfaktoren von 3.3 keine meßbaren Verluste an gelösten organischen Inhaltsstoffen (gemessen als DOC) auftraten. Bei einem Konzentrierungsfaktor von 3.8 wurden 10 % des DOC nicht mehr in gelöster Form wiedergefunden. Ausgefallene anorganische Stoffe trübten das Konzentrat bereits schwach.

Auch bei geringeren Anreicherungs-faktoren waren Verluste zu beobachten, wenn es nicht gelang eine Eisschicht an der Wand aufwachsen zu lassen, die keine Einschlüsse der flüssigen Phase hatte. Optisch zeigte sich dies durch Trübungen der Eisschicht.

Tabelle 7. Wiederfindung Gefrieranreicherung: Versuche mit membranfiltriertem Ablauf einer biologischen Klärstufe.

| Anreicherungs-faktor | Ausgangs-DOC (mg/l) | End-DOC (mg/l) | Ausgangs-Volumen (l) | End-Volumen (l) | DOC-Wiederfindung (%) |
|----------------------|---------------------|----------------|----------------------|-----------------|-----------------------|
| 2.3 | 5.2 | 11.9 | 150 | 65 | 99 |
| 3.3 | 6.2 | 21.2 | 100 | 30 | 102 |
| 3.3 | 4.7 | 13.8 | 150 | 50 | 98 |
| 3.8 | 6.2 | 21.0 | 150 | 40 | 90 |

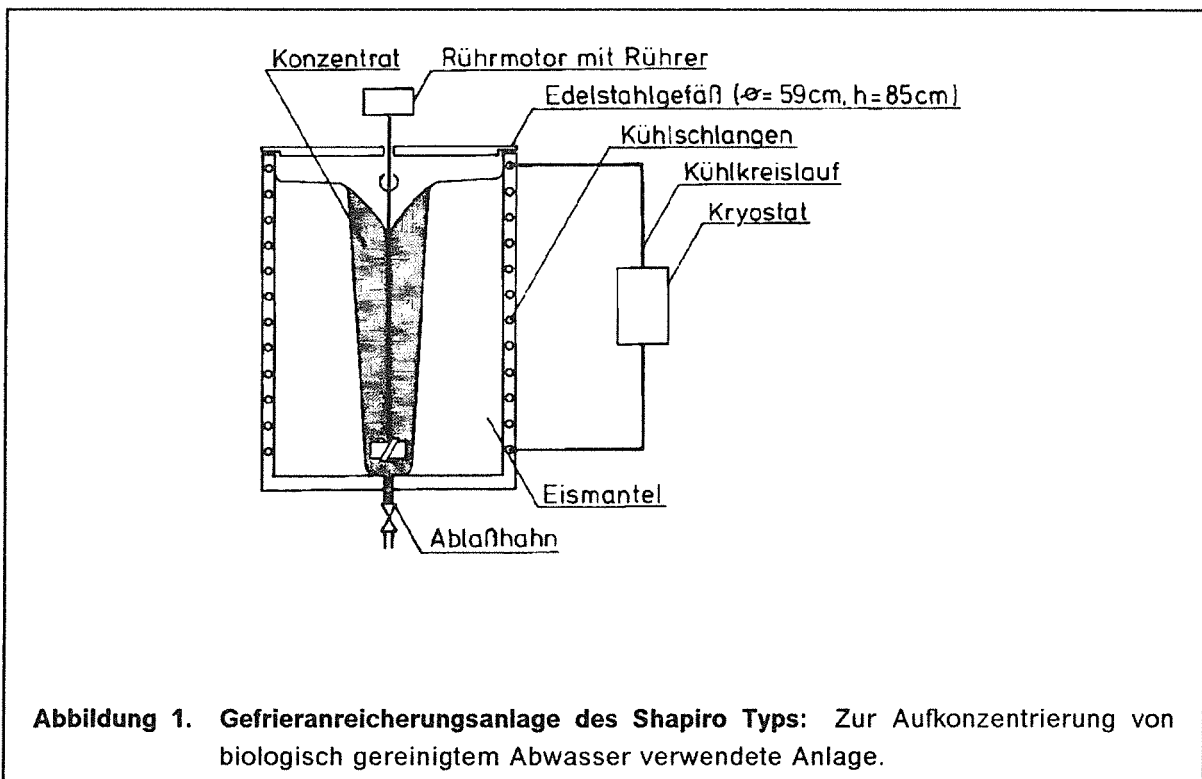
Bei Versuchen mit membranfiltriertem Ablauf einer biologischen Klärstufe wurde festgestellt, daß Trübungen der Eisschicht regelmäßig auftraten, wenn:

- Die Wandtemperatur zu Versuchsbeginn < -5 °C war. Daraus resultierte eine zu hohe Einfriergeschwindigkeit mit Einschlüssen der flüssigen Phase im Eis.

- Die Rührgeschwindigkeit am Anfang sehr hoch (> 200 U/min.) war. Dabei wurden Stücke der noch dünnen Eisschicht losgerissen, die in der Lösung weiterwuchsen, zusammenwuchsen und so ebenfalls Einschlüsse verursachten.
- Die Lösung zu "sauber" war. Bei Proben, die mittels Elektrodialyse entsalzt und zusätzlich ultrafiltriert waren, durch eine Membran der nominellen Trenngrenze 1000 Dalton, trat regelmäßig eine Unterkühlung der Lösung auf, mit anschließender spontaner Eisbildung an mehreren Stellen der Lösung. Auch dabei waren Einschlüsse die Folge.

Bei Einsatzmengen von 150 - 180 Litern Wasser war die Gefrieranreicherung nach 4 - 8 Tagen beendet. Zwischen 67 und 75 % des Wassers konnten ausgefroren werden. Die Wiederfindung für gelösten organischen Kohlenstoff im Konzentrat lag dabei zwischen 90 und 100 %.

Die oben angeführten Versuche zeigen, daß höhere Konzentrierungsfaktoren als drei bis vier nur erreichbar sind, wenn auch Verluste an organischem Material in Kauf genommen werden.



Die Verluste sind dabei bedingt durch Adsorption oder Mitreißen an sich bildende Niederschläge schwerlöslicher Salze. Aber auch die zunehmende Konzentration anorganischer Inhaltsstoffe allgemein spielt offenbar eine Rolle (Aussalzungseffekt). Stadnik und Dedkov [75] haben diesen Effekt näher untersucht. Sie verwendeten für ihre Versuche Benzoesäure. In destilliertem Wasser hatten sie eine Wiederfindungsrate von 96 %. Bereits bei einer Salzkonzentration von 0.2 g/l NaCl wurden nur noch 87 % in gelöster Form

wiedergefunden. Sie beobachteten eine ausgeprägte Abhängigkeit der Wiederfindungsraten vom Gehalt anorganischer Anteile in der Probe.

Für die später beschriebene Aufarbeitung großer Wassermengen wurde aufgrund obiger Versuche mit Proben von Kläranlagenabläufen der folgende Arbeitsablauf festgelegt:

1. Filtration durch Glasfaserfilter und anschließende Membranfiltration ($< 0.45 \mu\text{m}$).
2. Vorkühlung auf $0 \text{ }^\circ\text{C}$.
3. Absenkung der Wandtemperatur über Nacht auf $-5 \text{ }^\circ\text{C}$. Dabei nur langsames Rühren (ca. 60 U/min.). Es wächst eine schwache Eisschicht auf die Wand auf.
4. Absenkung der Wandtemperatur auf $-11 \text{ }^\circ\text{C}$ und Rühren mit ca. 100 U/min.

3.2 Vakuumverdampfung

3.2.1 Beschreibung von Verfahren zur Vakuumverdampfung

Der prinzipiell einfachste Ansatz ist der Aufbau einer normalen Vakuumdestillationsapparatur. Pitt, Jolley und Katz [66] betrieben eine solche Anlage zur Aufkonzentrierung biologisch gereinigter Abwässer. Bei einer 10- bis 30-fachen Anreicherung hatten sie Wiederfindungsraten für die organischen Bestandteile des Abwassers, die nach ihren Angaben besser als 85 % (im Niederschlag und in der flüssigen Phase) waren.

Eine Vergrößerung der Oberfläche und damit einen Zeitgewinn bei der Verdampfung des Wassers erreicht man mittels der bekannten Rotationsverdampfer. Durch die sich drehenden Kolben wird das Konzentrat und ausfallende Salze jedoch auf eine große Fläche verteilt. Dies führt bei geringen Konzentratvolumina zu praktischen Problemen bei der Weiterverarbeitung.

Eine Vergrößerung der Wasseroberfläche kann auch mit Dünnschichtverdampfern erreicht werden. Der Vorteil solcher Anlagen liegt in der halbkontinuierlichen Arbeitsweise begründet, jedoch traten bei Versuchen mit einer solchen Anlage Kontaminationsprobleme durch die Schmierung der Wischerachse auf.

Um das beim Rotationsverdampfer auftretende Problem der Verteilung von geringen Konzentratmengen über große Oberflächen und damit einhergehende Verluste an organischem Material zu umgehen, werden für geringe Probenvolumina häufig sog. Kuderna-Danish-Evaporatoren eingesetzt. Sie entsprechen vom Aufbau her einer Vakuumdestillationsanlage. Jedoch wird aus einem Spitzkolben heraus destilliert, so daß auch geringe Konzentratmengen noch verlustfrei entnommen werden können.

3.2.2 Versuche zur Wiederfindung bei Vakuumverdampfung

Es wurden Versuche mit einem Rotationsverdampfer durchgeführt. Zur technischen Beschreibung der Anlage vgl. "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123. Zwischen Vakuumsystem und Rotationsverdampfer war eine zusätzliche Kühlfalle installiert, die mit einer Isopropanol/Trockeneis Mischung gekühlt wurde. Die Temperatur für die Destillationskolben wurde auf 30 - 35 °C eingestellt. In diesem Temperaturbereich bleibt die thermische Belastung der Inhaltsstoffe gering.

Untersucht wurde die Wiederfindung an gelöstem organischem Material in Abhängigkeit vom Konzentrierungsgrad. Die wesentlichen Befunde dabei sind hier aufgelistet.

- Bei Konzentrierungsfaktoren unter 10 war noch keine Niederschlagsbildung und auch kein Verlust an organischen Stoffen durch Adsorption oder Mitreißen zu beobachten. Zwischen 8 und 13 % des DOC gelangten ins Destillat und sind damit wasser-dampf-flüchtigen Verbindungen zuzuordnen. In der Kühlfalle vor dem Vakuumsystem schieden sich Stoffe ab, die ca. 1 % des DOC ausmachten. Der geringe Anteil leichtflüchtiger Stoffe ist verständlich, weil im Belebungsbecken durch die intensive Belüftung flüchtige Stoffe bereits zum größten Teil ausgetrieben werden.
- Bei 40- bis 70-facher Aufkonzentrierung bildete sich ein gut absetzbarer Niederschlag. Im Konzentrat waren in gelöster Form noch 52 bis 71 % des DOC vorhanden. Für Proben mit ausschließlich niedermolekularen Anteilen (< 1000 D) bewegte sich der Anteil des organischen Kohlenstoffs, der im Konzentrat noch in Lösung war, zwischen 44 und 70 % (im Mittel: 63 %). Die Anreicherungsfaktoren lagen dabei zwischen 30 und 100.
- Nach vorheriger Entfernung des Hauptteils der anorganischen Inhaltsstoffe mittels Elektrodialyse wurden deutlich höhere Wiederfindungsraten bei der Vakuumverdampfung beobachtet. Sie lagen zwischen 78 und 85 % bei 100-facher Anreicherung. Auch hierbei wurde die Bildung eines Niederschlages beobachtet, jedoch hatte er eine wesentlich geringere Masse als bei nicht elektrodialysierten Proben und war von gelartiger Konsistenz. Qualitative Versuche mit Flußsäure zeigten, daß er zumindest zum Teil aus Kieselsäure bestand.

Die Messwerte zu diesen Versuchen sind im Tabellenanhang aufgeführt.

Zusammenfassung der Wiederfindungsversuche: Wenn Abwasser unmittelbar im Rotationsverdampfer aufkonzentriert wurde, traten Verluste an löslichem organischem Material in der Größenordnung von 40 % auf, wenn der Anreicherungsfaktor größer als 50 war.

Autoren, die sich dieser Aufkonzentrierungstechnik bedienen, um organische Verbindungen in Wasser zu untersuchen, hatten ebenfalls Verluste in der Größenordnung, die von mir für nicht elektrodialysierte Proben gefunden wurde. Parkin und McCarty [63]

berichtet, daß bereits bei 5 bis 10-facher Anreicherung Verluste um 50 % auftraten. Bei einer Aufkonzentrierung um den Faktor 20 fanden Tambo und Kamei [80] im Konzentrat noch 69 % des ursprünglichen DOC.

Drei Faktoren mindern dabei die Wiederfindung. Ausfallendes anorganisches Material reißt organische Stoffe mit oder adsorbiert sie. Organische Stoffe werden mit Wasserdampf in die Vorlage des Rotationsverdampfers transportiert (Wasserdampfflüchtige Stoffe). Organische Stoffe werden über das Vakuumsystem abgesaugt (flüchtige Stoffe). Der überwiegende Teil der Verluste resultierte aus Adsorption an ausfallendes anorganisches Material. Ferner gelangten 8 bis 13 % des DOC als wasserdampfflüchtige Verbindungen in das Destillat und müssen damit hinsichtlich der Konzentrierung als Verlust angesehen werden. Bei Konzentrierungsfaktoren zwischen 40 und 70 traten Gesamtverluste an DOC zwischen 30 % und 50 % auf. Der Anteil, der davon im Niederschlag zu finden ist, wurde nicht bestimmt. Zieht man jedoch einen Anteil von 10 % für wasserdampfflüchtige Verbindungen ab, so ergeben sich 20 bis 40 % DOC-Anteil im Niederschlag. Painter [61] fand bei 60 % Wiederfindung im Konzentrat, daß von den übrigen 40 % des organischen Materials 10 % im Destillat zu finden waren und 30 % im Niederschlag.

Die ergebnisse sahen wesentlich günstiger aus, wenn elektrodialysierte Proben verwendet wurden. Hier konnten ohne Probleme mehr als 80 % der organischen Verbindungen wiedergefunden werden, selbst nach 100-facher Aufkonzentrierung. Aufgrund des geringeren Salzgehaltes kommt es bei der Verwendung von elektrodialysierten Proben in geringerem Umfang zu Okklusionen oder Adsorption der organischen Inhaltsstoffe. Dieser Effekt wirkt sich um so deutlicher aus, je höher die Konzentrierungsfaktoren sind. Mit dieser Technik kann die Vakuumverdampfung effektiver und mit geringeren Verlusten betrieben werden als dies bei anderen Autoren beschrieben ist.

Für diese Arbeit sollten die organischen Inhaltsstoffe als Trockenmasse vorliegen, um damit auch Extraktionsversuche durchführen zu können. Das Einrotieren zur Trockene war jedoch ungünstig, weil die Löslichkeit der Verbindungen darunter litt. Aus diesem Grund wurde als letzter Schritt die Gefriertrocknung verwendet. Vakuumverdampfung ist für diese Stufe als Vorkonzentrierungsschritt nützlich, da die großen Probenvolumina, die zur Untersuchung organischer Einzelstoffe benötigt werden, im Labormaßstab nicht allein mittels Gefriertrocknung aufkonzentriert werden konnten.

3.3 Gefriertrocknung

Zwei Techniken der Gefriertrocknung wurden getestet:

- Das Einfrieren der Probe in einer Kristallisierschale und die anschließende Trocknung in einem dickwandigen Kunststoffaufsatz der Gefriertrocknungsanlage. Dabei war deutlich ein Verspritzen der fast trockenen Probe über die gesamte Fläche des Aufsatzes zu beobachten. Diese Technik wurde verworfen, eine Verlustbilanzierung nicht durchgeführt.

- Das Einfrieren der Probe in einem Rundkolben und den Anschluß des Kolbens direkt an das Vakuumsystem. Die Wiederfindungsrate der Trockenmasse lag bei dieser Technik bei 97 %. Hierbei waren also kaum Verluste zu beobachten.

Die Verluste, die bei der Gefriertrocknung auftreten, beruhen auf dem Mitreißen von Feststoffteilchen. Deutlich sind sie in der Kühlfalle vor der Vakuumpumpe zu erkennen. Man kann daher annehmen, daß dabei die Verlustrate für alle Inhaltsstoffe gleich ist. Die Verhältnisse der einzelnen Probenbestandteile zueinander sollten sich dadurch nicht ändern.

4. Untersuchungen zur Charakterisierung nach der molaren Masse

Der niedermolekulare Anteil wird hier definiert als "organische Stoffe mit einer molaren Masse unter 1000 Dalton". Dieser Wert gilt auch in der Biochemie als Grenze zum makromolekularen Bereich (Lehninger [45] S. 16). Im neuen SI-System [69] wird statt des Begriffs "Dalton", das "u" als Einheit für atomare Massenzahlen benutzt. Die Einheit "Dalton" ist aber in führenden Zeitschriften noch sehr verbreitet und wird auch in dieser Arbeit verwendet. Ein Dalton entspricht 1.66×10^{-27} kg.

Biologisch gereinigtes Abwasser enthält sehr viele Stoffe mit unbekanntem Anteil. Deshalb, und auch weil die organischen Inhaltsstoffe nie vollständig von den anorganischen Inhaltsstoffen getrennt werden konnten, waren die klassischen Verfahren zur Molmassenbestimmung nicht brauchbar.

In der Wasseranalytik werden üblicherweise zur Bestimmung der Verteilung der molaren Massen Membranverfahren und gelchromatographische Trennungen eingesetzt. Auch in dieser Arbeit wurden Abwasserproben mit diesen beiden Verfahren untersucht.

Eine in der Abwasseranalytik wenig gebräuchliche Methode zur Bestimmung der Molmassenverteilung stellt die Massenspektroskopie dar. Mit ihrer Hilfe wurde eine Untersuchung der später beschriebenen ETM1000 durchgeführt. Diese Probenaufarbeitung eines Kläranlagenablaufs enthielt nur noch Inhaltsstoffe mit einer molaren Masse unter 1000 Dalton. Die Experimente wurden an dem "Triple-Stage-MS" des Institutes für Siedlungswasserwirtschaft der Universität Aachen durchgeführt. Für die Bereitstellung von Meßzeit sei an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. B. Böhnke herzlich gedankt. Näheres zu diesen Untersuchungen steht im Kapitel "HPLC-MS/MS Kopplung" auf Seite 114. Dort ist auch ein typisches Massenspektrum der ETM1000 abgebildet (Abbildung 29 auf Seite 115). Zu beobachten war eine Häufung von Peaks bei Massenzahlen um 200. Es traten kaum Peaks oberhalb der Massenzahl 400 auf. Die Inhaltsstoffe der ETM1000 haben offenbar molare Massen deutlich unterhalb 1000 Dalton.

Anzumerken ist, daß zur Ionisierung der Inhaltsstoffe die Methode der chemischen Ionisierung (CI) verwendet wurde. CI-Spektren zeichnen sich aufgrund der schonenden Ionisierungstechnik dadurch aus, daß Molekülionen mit hoher Intensität gebildet werden, und man für viele Verbindungen fragmentarme Spektren erhält. Dies ist ein wichtiger Aspekt, da Fragmente im Gesamtspektrum aller Verbindungen eine Überbetonung des niederen Massenbereiches bedingen. Die CI hat für unterschiedliche Verbindungen eine unterschiedliche Reaktionswahrscheinlichkeit. Die Ionenausbeute hängt also nicht nur von der Konzentration eines Stoffes ab. Unter der Voraussetzung, daß die Ionisierungsenergien der verschiedenen Verbindungen über den untersuchten Massenbereich nicht allzusehr verschieden sind, gibt die Massenspektroskopie doch eine Information über die Verteilung der Massen.

4.1 Gelchromatographie

Bei der Gelchromatographie ist die Detektionsmethode ein entscheidender Punkt für die Bewertung der damit erhaltenen Ergebnisse. Sie erfolgt bei vielen Autoren im Durchfluß mittels UV-Photometrie. Aufgrund der um Größenordnungen verschiedenen Extinktionskoeffizienten denkbarer Abwasserinhaltsstoffe besteht hierbei die Gefahr, im Sinne einer Massenbilanz falsche Ergebnisse zu erhalten. Auch das Sammeln von Fraktionen mit anschließender Bestimmung des DOC oder des CSB wird eingesetzt. Bei diesen Detektionsmethoden wird die Verteilung der Massen korrekter ermittelt, aber der Arbeitsaufwand ist hoch. Eine in diesem Sinne sehr elegante Methode stellt die on line DOC-Bestimmung dar, wie sie Fuchs [23] beschrieben hat. Diese Detektionsmethode wurde auch in dieser Arbeit angewendet.

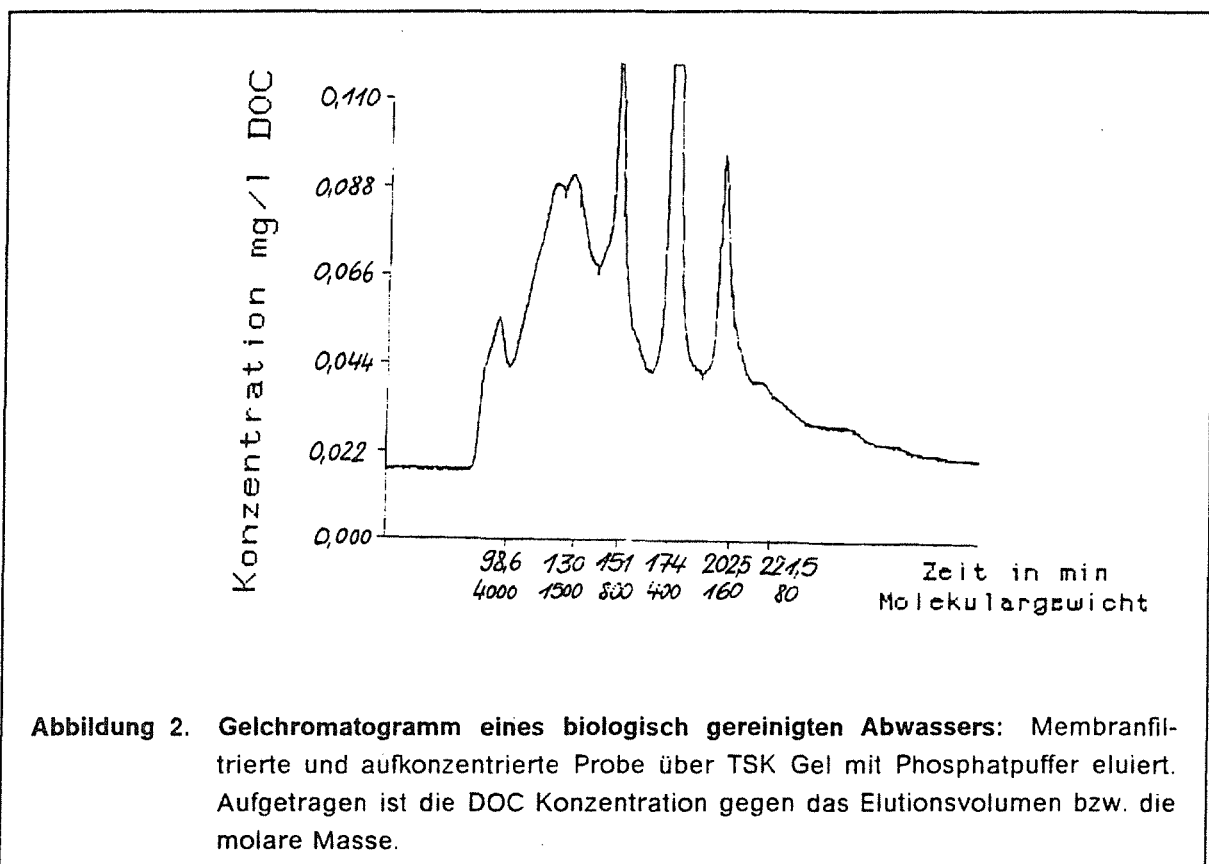


Abbildung 2. Gelchromatogramm eines biologisch gereinigten Abwassers: Membranfiltrierte und aufkonzentrierte Probe über TSK Gel mit Phosphatpuffer eluiert. Aufgetragen ist die DOC Konzentration gegen das Elutionsvolumen bzw. die molare Masse.

Versuch zur Molmassenbestimmung mittels Gelchromatographie: Ein membranfiltrierter Kläranlagenablauf wurde mittels Rotationsverdampfer 72-fach eingengt und das Konzentrat über TSK-HW-40 Gel (partiell hydroxyliertes Polyethylen) mit Hilfe eines Phosphatpuffers chromatographiert. Die Detektion der eluierten Verbindungen erfolgte über die kontinuierliche Messung der Konzentration des DOC im Säulenablauf. Die Messungen wurden im Engler-Bunte-Institut/Karlsruhe durchgeführt. Zur Umrechnung von "Elutionsvolumen" auf "molare Masse" wurde mit Kohlenhydraten und Polyethylenglykolen bekannter molarer Masse kalibriert. Das Elutionschromatogramm der untersuchten Pro-

be ist in Abbildung 2 dargestellt. Die aus dem Gelchromatogramm ermittelte Verteilung der molaren Masse in dem untersuchten biologisch gereinigten Abwasser ist in Tabelle 8 auf Seite 35 aufgeführt. Die Ergebnisse dieses Versuchs können so leicht mit Daten verglichen werden, die andere Autoren publiziert haben. Wie der Tabelle zu entnehmen ist, wurden fast 22 % des DOC irreversibel auf der Säule adsorbiert. Von den chromatographierbaren Verbindungen hatten rund 70 % (das sind rund 50 % der aufgegebenen Menge) eine molare Masse unter 1000 D und damit niedermolekularen Charakter.

Eine Reihe von Autoren [6], [38], [63], [70] haben Abläufe kommunaler Kläranlagen mit biologischer Stufe mittels Gelchromatographie untersucht. Stellvertretend sind in Tabelle 9 Ergebnisse von Sachdev [70] dargestellt. Resultate anderer Autoren finden sich im Tabellenanhang. Allen gemeinsam ist die Feststellung, daß mehr als 50 % des DOC im Bereich niederer molarer Massen zu suchen sind.

Tabelle 8. Molmassenverteilung eines biologisch gereinigten Abwassers: Eigene Untersuchungen mittels Gelchromatographie.

| Molmassenbereich (Dalton) | < 115 | 115-526 | 526-1144 | > 1144 | Adsorbiert |
|---------------------------|-------|---------|----------|--------|------------|
| Verteilung des DOC (%) | 11 | 24 | 15 | 29 | 22 |

Tabelle 9. Molmassenverteilung eines biologisch gereinigten Abwassers: Daten nach Sachdev [70]

| Molmassenbereich (Dalton) | > 120 | 120-450 | 700-1500 | > 1500 | Adsorbiert |
|---------------------------|-------|---------|----------|--------|------------|
| Verteilung des DOC (%) | 23 | 32 | 13 | 29 | 4 |

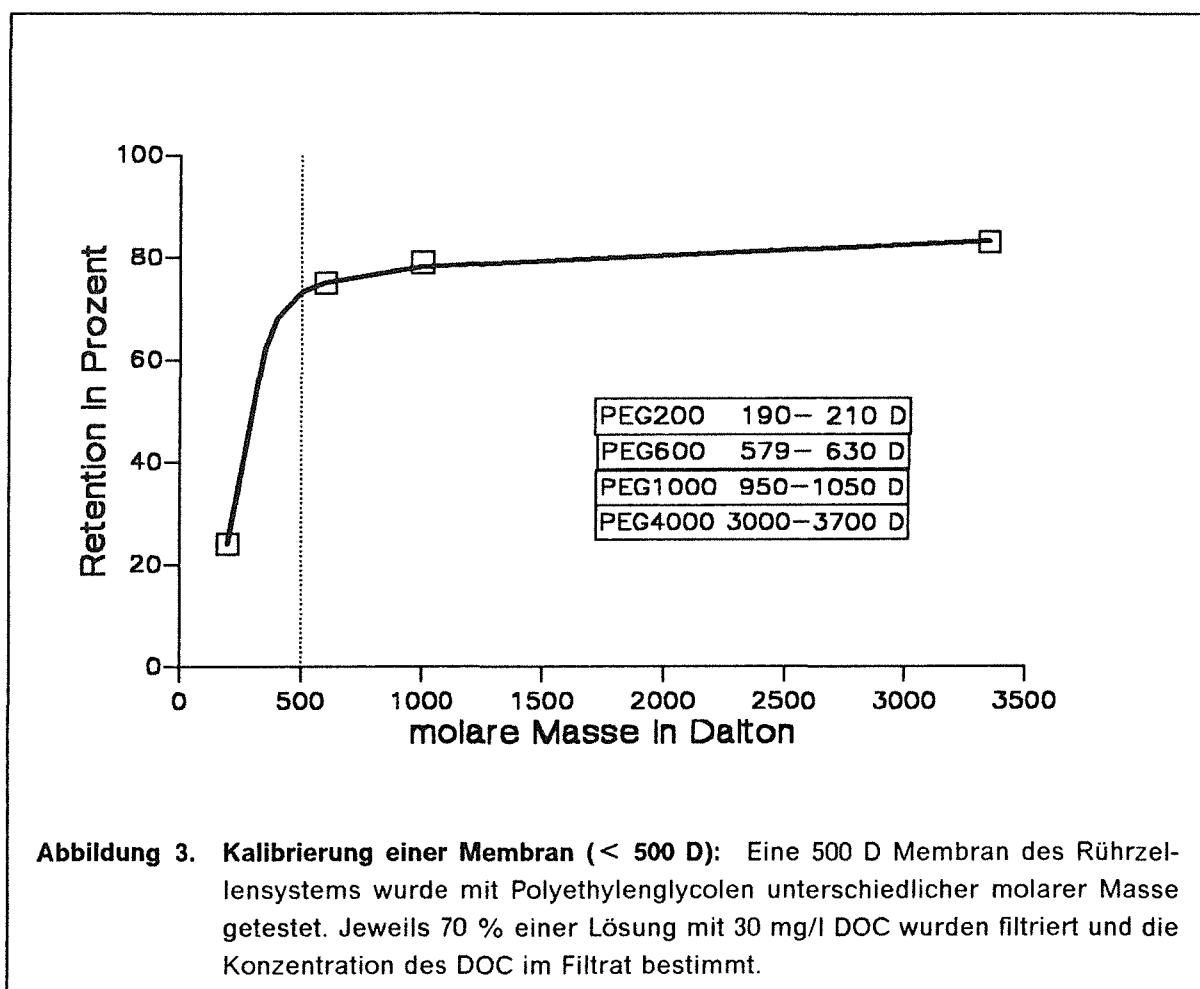
Beurteilung der Ergebnisse: Die Ergebnisse eigener Versuche zur gelchromatographischen Ermittlung der Molmassenverteilung von biologisch gereinigtem Abwasser unterscheiden sich nicht signifikant von denen entsprechender Untersuchungen anderer Autoren.

Dieser Befund entspricht der Überlegung, daß biologische Stufen bei vergleichbaren Zulaufqualitäten auch ein vergleichbares Produktspektrum produzieren. Kommunale Kläranlagen erhalten als Zulauf in der Regel überwiegend häusliches Abwasser, das in seinem Inhaltsstoff-Spektrum weltweit relativ konstant ist.

Der Anteil der irreversibel adsorbierten Verbindungen ist stärkeren Schwankungen unterworfen, wenn man einzelne Untersuchungen mit einander vergleicht (in eigenen Untersuchungen und den oben zitierten Arbeiten zwischen 4 und 40 %).

4.2 Molmassenverteilung mittels Diafiltration

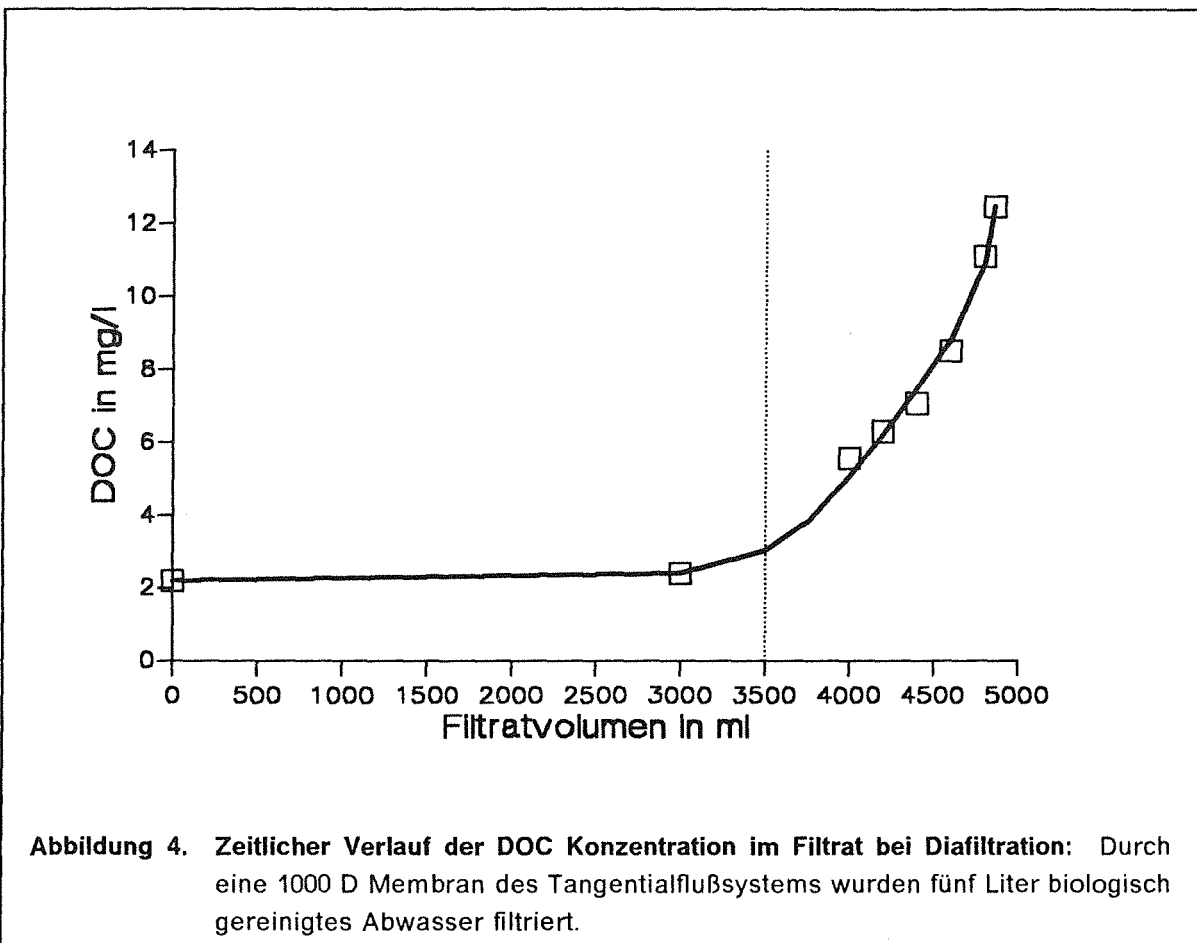
Bei der Diafiltration wird die Probe nicht verdünnt (im Gegensatz zur Gelchromatographie), sondern nur fraktioniert. Daher ist eine Untersuchung von Proben mit geringen Gehalten an organischen Verbindungen im Originalzustand möglich. Für die Analytik im Bereich unter 5 mg/l DOC ist zu beachten, daß neue Membranen selbst Kohlenstoff abgeben (Netzmittel, Konservierungsstoffe und Monomere). Neue Membrankassetten wurden grundsätzlich mit mehreren hundert Litern Wasser gespült und in Natriumazid-haltigem Wasser gelagert.



Die Kalibrierung einer Membran ist in Abbildung 3 zu sehen. Die Eichung erfolgte mit Polyethylenglycolen unterschiedlichen Polymerisationsgrades. Da die Porengröße der Membran eine statistische Verteilung um die angegebene Trenngrenze aufweist und auch die verwendeten Polyethylenglycole nur eine mittlere molare Masse aufweisen, war eine unscharfe Trenngrenze zu erwarten. Wie in Abbildung 3 zu sehen, bestätigte die Eichung die Erwartungen.

Auch bei dem Tangentialflußsystem (Beschreibung folgt unten) wurde nach dem Schema, das bei dem Rührzellensystem beschrieben ist, eine Kalibrierung vorgenommen. Die Trenncharakteristik ist für beide Systeme vergleichbar.

Auffallend bei der Kalibrierung ist die Beobachtung, daß selbst bei 2500 Dalton, das heißt, dem 5-fachen der nominellen Trenngrenze, nur 80 % Retention (Tangentialflußsystem: 90 %) zu beobachten ist. Dafür gibt es verschiedene Gründe. Das System selbst kann einen gewissen Grad an Undichtigkeit aufweisen, der es Verbindungen ermöglicht, unter Umgehung der Membran in das Filtrat zu gelangen. Weiterhin hat die Membran auch Poren, die einen größeren als den nominellen Durchmesser haben. Zum dritten sind Polyethylenglycole, die zur Eichung verwendet wurden, längliche Moleküle. Mit einer endlichen Wahrscheinlichkeit dringen sie auch durch Poren, die kleiner sind als die der molaren Masse entsprechenden. Die Polyethylenglycole haben jedoch gegenüber globulären Proteinen den Vorteil der geringeren elektrostatischen Wechselwirkung mit dem Membranmaterial.



Betrachtet man die Konzentration des DOC als Funktion des Filtratvolumens (Abbildung 4), so findet man praktisch keine Änderung der Konzentration des DOC im Filtrat bis zu etwa 70 % des eingesetzten Ausgangsvolumens. Im Bereich oberhalb 70 % erfolgt ein steiler Anstieg der DOC Konzentration. Auch für andere Membranen

wurde dieser Effekt beobachtet, wenngleich der Anstieg der DOC Konzentration dabei nicht so steil verlief wie bei der 1000 D Membran. Eine Betrachtung dieses Befundes wird unten vorgenommen.

Die eigenen Ergebnisse zur Bestimmung der Molmassenverteilung wurden in der Weise ermittelt, daß 70 % der eingesetzten Probe durch die jeweilige Membran filtriert wurden.

In drei Versuchen wurden die bei der Diafiltration erhaltenen Retentate (Filtration mit der 1000 D Membran) mit jeweils der 10-fachen Menge an destilliertem Wasser gewaschen. Dabei wurde dem Retentat jeweils genausoviel Wasser zugegeben, wie durch die Filtration entfernt worden war, so lange bis die Summe das 10-fache Ausgangsvolumen erreichte. Auf diese Weise wurde mehr organischer Kohlenstoff ausgewaschen als bei der einfachen Filtration. Im Mittel wurde 50 % mehr DOC ausgewaschen. Jedoch war bei dieser mehrfachen Diafiltration kein konstanter Wert des DOC im Retentat zu erreichen. Wie Knobel [40] zeigen konnte, wird um so mehr DOC ausgewaschen, je mehr destilliertes Wasser man einsetzt. Der Befund wird von Knobel damit begründet, daß Verbindungen mit einem Permeationskoeffizienten zwischen Null und Eins für diese Membran existieren, deren Konzentration im Filtrat stets kleiner ist als im Retentat (jedoch nicht Null). Je nach Größe des Permeationskoeffizienten reichern sich diese Stoffe zunächst im Retentat an. Im weiteren Verlauf der Filtration kann deren Konzentration im Filtrat dann aber beträchtlich ansteigen. Beim "Spülen" des Retentates werden derartige Stoffe mehr und mehr ausgewaschen, der Vorgang kann jedoch mitunter sehr hohe Volumina an Spülwasser erfordern.

Der niedermolekulare Anteil sollte für weitere Versuche in präparativem Maßstab gewonnen werden. Daher erschien es zweckmäßig auf das Auswaschen des restlichen niedermolekularen Anteils zu verzichten, um große Filtratvolumina mit sehr niedriger DOC Konzentration zu vermeiden und als niedermolekularen Anteil nur die direkt filtrierbaren Verbindungen (mit einem Permeationskoeffizienten nahe bei 1) anzusehen. Die gewählte Vorgehensweise liefert dann niedermolekulare Verbindungen bis zu einem Filtratvolumen von 70 %. Da die Konzentration des DOC im Filtrat bis zu dieser Grenze konstant ist, können später im niedermolekularen Anteil bestimmte Meßwerte über diese Konzentration auf das unfraktionierte Abwasser umgerechnet werden.

4.2.1 Beschreibung der verwendeten Apparaturen

Kommerziell erhältlich sind zwei Membransysteme:

- Der Rührzellen-Typ
- Das Tangentialfluß-System

Diese beiden Typen werden im folgenden untersucht. Angaben zu den Meßbedingungen stehen im Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123

Rührzellentyp: Beim Rührzellentyp wird die Membran in eine Halterung eingespannt und die Probenlösung mittels Gasdruck durch die Membran gedrückt. Zur Verringerung des als "Scaling" bekannten Membranverblockens durch Probenbestandteile, die die Poren verstopfen, wird die zu filtrierende Lösung gerührt. Vorteile des Systems sind seine Kompaktheit und die Tatsache, daß es relativ günstig zu erhalten ist. Nachteilig wirkt sich, insbesondere bei Membranen mit kleinen Porendurchmessern, die niedrige Flußgeschwindigkeit durch die Membranen aus. Bei der 1000 D Membran wird ein Fluß von 0.03 ml/ min cm² erreicht. Bei einer Membran mit einer Trenngrenze von nominell 500 D und bei einem Druck von 4.9 kg/cm² wurde sogar nur ein Fluß von 0.018 ml/ min cm² erreicht. Bei einem Membrandurchmesser von 43 mm wurden 0.25 ml/min gemessen. Zwar ist der Fluß druckproportional, doch kann der Druck nicht beliebig gesteigert werden, wenn die Membranintegrität gewährleistet sein soll. Der angegebene Arbeitsdruck folgt den Angaben des Herstellers.

Tangentialflußsystem: Das System ist aufgebaut aus mehreren Membranen desselben Typs, die stapelförmig übereinander liegen. Für jede Membran existiert ein eigener Kreislauf aus Zu- und Ableitung. Die Einzelkreisläufe werden gebündelt zu einem Gesamtzuleitungskreislauf und einer Gesamtableitung für das Filtrat. Im Zuleitungskreislauf wird das Retentat im Kreislauf geführt und strömt dabei permanent tangential über die Membranoberfläche hinweg. Nur ein kleiner Teil der Flüssigkeit passiert jeweils die Membranporen. Bei der 1000-D-Membran wird ein Fluß von ca. 0.01 ml/ min cm² erreicht. Bei der großen wirksamen Filterfläche von 0.46 m² hat man dennoch einen Durchsatz von 1.5 bis 2 Litern Filtrat pro Stunde. Die Tangentialströmung sorgt dafür, daß Verstopfungen der Membranporen (Scaling) immer wieder beseitigt werden. Es ist auf diese Weise ein hoher Durchsatz an Flüssigkeit über lange Zeit möglich.

Das Tangentialflußsystem ist bei gleicher Trenncharakteristik wesentlich leistungsfähiger als das Rührzellensystem. Ergebnisse von Vergleichsproben sind in Tabelle 10 für das Rührzellensystem und in Tabelle 11 auf Seite 40 für das Tangentialflußsystem dargestellt. Die präparative Gewinnung niedermolekularer Anteile von Kläranlagenabläufen (vgl. Kapitel " 7. Gewinnung einer großen Menge niedermolekularer Inhaltsstoffe (ETM1000)" auf Seite 55) wurde deshalb mit dem Tangentialflußsystem durchgeführt.

4.2.2 Bestimmung der Molmassenverteilung in biologisch gereinigtem Abwasser

Sowohl mit dem Rührzellensystem als auch mit dem Tangentialflußsystem wurde der Ablauf der gleichen Kläranlage untersucht. Da nicht für beide Systeme Membranen mit identischer Trenngrenze vorhanden waren, wurden aus den Versuchen unterschiedliche Massenbereiche erhalten, die jedoch das gleiche Gesamtbild ergeben.

Tabelle 10. Molmassenverteilung eines Kläranlagenablaufs: Untersuchungen mit dem Rührzellensystem. Massenbereiche entsprechend den nominellen Trenngrenzen der verwendeten Membranen.

| Massenbereiche (Dalton) | < 500 | 500-1000 | 1000-30000 | > 30000 |
|-------------------------|-------|----------|------------|---------|
| Verteilung des DOC (%) | 23 | 9 | 50 | 18 |

Tabelle 11. Molmassenverteilung eines Kläranlagenablaufs: Untersuchungen mit dem Tangentialflußsystem. Massenbereiche entsprechend den nominellen Trenngrenzen der verwendeten Membranen.

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | 1000-10000 | 10000-100000 | > 100000 |
|---------------------------|--------|------------|--------------|----------|
| Verteilung des DOC (%) | 34 | 43 | 15 | 8 |

Verluste durch Adsorption waren nicht zu beobachten. Der Teil unter 1000 D trägt zu einem Drittel zum Gesamt-DOC bei, und 50 % sind im mittleren Molmassenbereich zwischen 1000 D und 30000 D zu finden.

Die erhaltenen Ergebnisse entsprechen denen, die auch von anderen Autoren bei Verwendung des Rührzellentyps erhalten wurden (Arbeiten zur Trennung von Abwasser mit dem Tangentialflußsystem wurden in der Literatur nicht gefunden). Allerdings war in den eigenen Untersuchungen eine stärkere Betonung des mittleren Massenbereichs zu beobachten.

Stellvertretend für Ergebnisse anderer Autoren sind in Tabelle 12 die Resultate von Amy [4] dargestellt. Im Tabellenanhang sind weitere Ergebnisse zur Molmassenverteilung organischer Abwasserinhaltsstoffe aufgelistet [4], [51].

Tabelle 12. Molmassenverteilung eines Kläranlagenablaufs: Daten nach Amy [4]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 500 | 500-5000 | 5000-30000 | > 30000 |
|---------------------------|-------|----------|------------|---------|
| Verteilung des DOC (%) | 34 | 28 | 17 | 21 |

4.3 Diskussion der Ergebnisse zur Molmassenverteilung

Beide hier verwendete Methoden zur Ermittlung der Molekulargewichtsverteilung und zur präparativen Abtrennung der niedermolekularen Fraktion haben ihre Stärken und Schwächen. Es wurde in dieser Arbeit die Diafiltration vorgezogen, weil hierbei keine

Adsorptionsverluste auftraten, die ein geradezu falsches Bild der Verteilung der molaren Massen bewirken können.

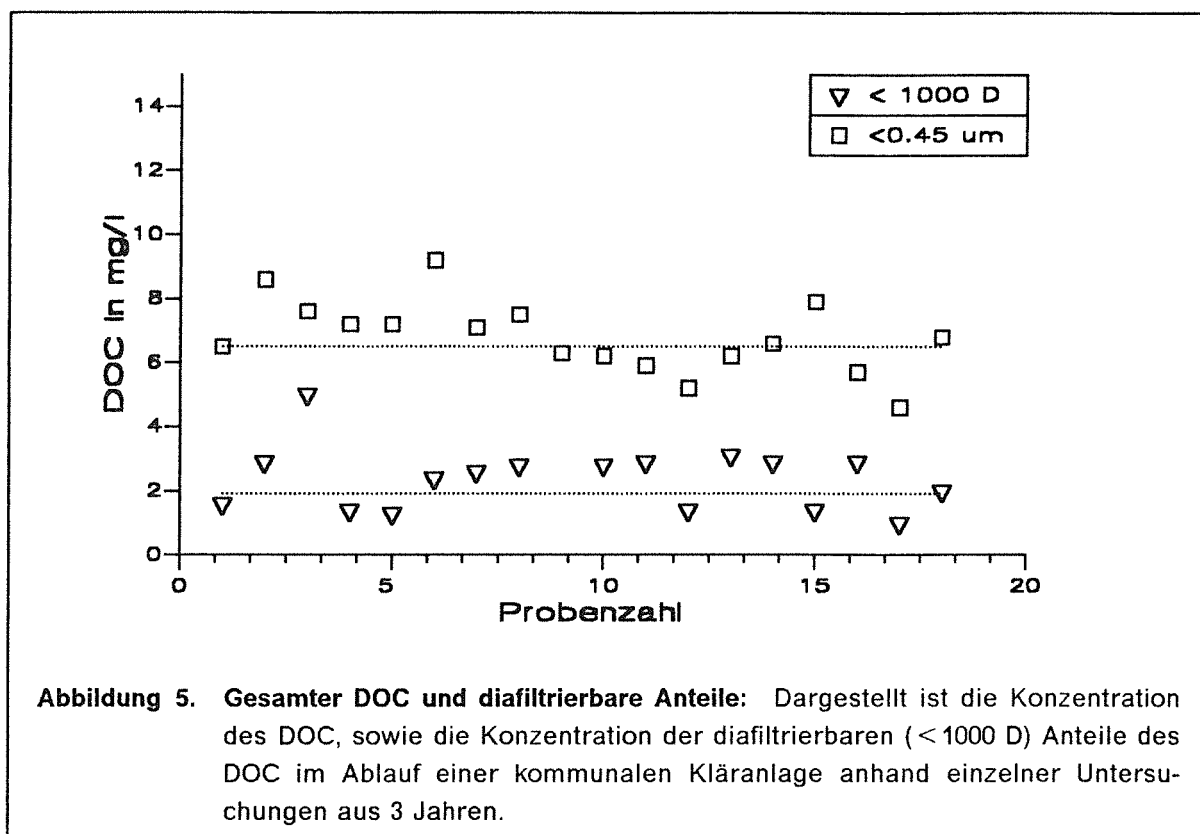
Bei einem Vergleich der mittels Gelchromatographie und Diafiltration ermittelten Verteilungen der molaren Massen in biologisch gereinigtem Abwasser fällt die Überbetonung der niedermolekularen Anteile bei den gelchromatographisch ermittelten Werten auf. Dies ist keine spezielle Eigenschaft der von mir untersuchten Probe. Ein Vergleich mit Literaturdaten von Abläufen kommunaler Kläranlagen zeigt, daß generell die gelchromatographisch ermittelten Verteilungen zu niedrigeren Massen verschoben sind.

Das legt den Verdacht nahe, daß außer der Größe der Inhaltsstoffe noch andere Eigenschaften an der Trennung innerhalb der Gelsäule beteiligt sind. Tatsächlich konnte Fuchs [24] für TSK Gele eine deutliche Retardierung von Substanzen mit bekannter molarer Masse bei zunehmender Hydrophobie feststellen. Retardierung bedeutet in diesem Fall eine Elution bei höheren Elutionsvolumina und damit bei scheinbar niedrigeren molaren Massen, als es den Substanzen selbst entspräche. Urano [84] führte die gleichen Versuche für Sephadex Gele durch. Auch er fand eine zunehmende Retardierung mit zunehmender Hydrophobie. Buttersäure (88 D) und Phenol (92 D) lagen 40 ml im Elutionsvolumen auseinander. Während für Buttersäure die Kalibrierung noch gut mit dem tatsächlichen Wert für die molare Masse übereinstimmte (exp.: 83 D), erhielt er für Phenol aus der Eichkurve sogar eine negative molare Masse.

Die Zuordnung von Elutionsvolumen und molarer Masse erfolgt üblicherweise durch Eichung mit gut wasserlöslichen Verbindungen bekannter molarer Masse. Die Gelchromatographie wirkt hier als reine Ausschlußchromatographie. Für weniger gut wasserlösliche Verbindungen stellt sich jedoch das System als eine Mischung aus Ausschlußchromatographie und Adsorptionschromatographie dar. Dieser zusätzliche Einfluß führt zur Verlängerung der Retentionszeit und damit zu scheinbar niedrigeren molaren Massen.

Auch die Diafiltration hat, wie in diesem Kapitel ausgeführt, ihre Schwächen. Zu erwähnen ist hier insbesondere die Tatsache, daß mit vertretbarem Aufwand nur die Verbindungen in präparativem Maßstab gewonnen werden können, die einen Permeationskoeffizienten nahe bei eins für die betreffende Membran besitzen. Im wesentlichen aus drei Gründen wurde der Diafiltration der Vorzug vor der Gelchromatographie gegeben: Es traten, wie bereits eingangs gesagt, keine Adsorptionsverluste auf. Die Ergebnisse erschienen reproduzierbarer. Die Diafiltration mit dem Tangentialströmungssystem kommt der präparativen Gewinnung von niedermolekularem Untersuchungsmaterial in der gewählten Arbeitsweise sehr entgegen.

In Abbildung 5 auf Seite 42 sind die Konzentrationen des DOC sämtlicher untersuchter Proben dargestellt und die jeweiligen niedermolekularen Anteile dazu. Der DOC bewegt sich zwischen 5 und 9 mg/l. Er ist damit erstaunlich konstant, wenn man berücksichtigt, daß eine Kläranlage allgemein ein stark schwankendes System ist. Die niedermolekularen Anteile liegen mit einer Ausnahme ebenfalls in einem sehr engen Bereich. Aus den Mittelwerten errechnet sich, daß niedermolekulare Verbindungen zu 30 % zum DOC beitragen. Allerdings liegen die Extremwerte (20 % und 50 %) beträchtlich entfernt.



Einen Anhaltspunkt über die Herkunft des Hauptteils der organischen Inhaltsstoffe in biologisch gereinigtem Abwasser kann man durch den Vergleich der Verteilung der molaren Massen von "echtem" und "künstlichem" geklärtem Abwasser erhalten. Der Einfluß des bakteriellen Stoffwechsels auf die Molmassenverteilung von biologisch gereinigtem Abwasser kann durch den Einsatz von Abwasser bekannter Zusammensetzung als Zulauf zur biologischen Stufe untersucht werden. In Tabelle 13 ist das Ergebnis eines solchen Versuchs von Grady et al. [28] dargestellt.

Tabelle 13. Molmassenverteilung des Ablaufs einer Modell-Kläranlage: Zulauf war künstliches Abwasser¹⁰

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | 1000 -10000 | 10000 -25000 | 25000 -100000 | > 100000 |
|---------------------------|--------|-------------|--------------|---------------|----------|
| Verteilung des DOC (%) | 37 | 5 | 15 | 17 | 26 |

Als organischer Inhaltsstoff im Zulauf war lediglich Bernsteinsäure (118 D) vorhanden. Trotzdem war ein Spektrum der molaren Massen im Ablauf der Modellkläranlage zu be-

¹⁰ C-Quelle im Zulauf zur biologischen Stufe war Bernsteinsäure. Daten nach Grady et al. [28]

obachten, das auch einem "echten" biologisch gereinigten Abwasser entsprechen könnte.

Biologisch behandeltes künstliches Abwasser wurde von mehreren Autoren untersucht. Grady et al. verwendeten ein Rührzellensystem, Gaudy und Blachly [25] dialysierten, Leidner, Fleischmann und Hamer [46] benutzten eine Sephadex-G25-Säule. Die Resultate ihrer Arbeiten sind im Tabellenanhang zu finden. Sie entsprechen durchaus denen von "natürlichen" Abläufen biologischer Klärstufen.

Link [47] verglich Ablaufwerte einer Laborkläranlage, die mit künstlichem Abwasser definierter Zusammensetzung (z. T. nur eine organische Verbindung) gespeist wurde, mit den Ablaufwerten kommunaler Kläranlagen. Seinen Ergebnissen zufolge haben 30 bis 45 % der organischen Reststoffe eine molare Masse > 1000 Dalton, wenn künstliches Abwasser biologisch gereinigt wird. Bei der Reinigung von kommunalem Abwasser liegt der Anteil hochmolekularer Reststoffe zwischen 24 und 60 %. Auch hier ist also kein signifikanter Unterschied zwischen "echtem" und "künstlichem" Abwasser zu erkennen. Selbst die Verteilung der molaren Massen in Flußwasser (Collins [17], Tabelle 56 auf Seite 153 im Tabellenanhang) paßt zu den oben beschriebenen Ergebnissen.

Es ist daher zu vermuten, daß weniger die Zusammensetzung des Zulaufs einer Kläranlage (und damit auch die anthropogenen Einflüsse) für das Produktspektrum im Ablauf verantwortlich sind als die Stoffwechselfunktionen der Biomasse in der biologischen Stufe einer Kläranlage.

5. Untersuchung der anorganischen Bestandteile

5.1 Bedeutung der anorganischen Bestandteile für die organische Analytik

Anorganische Stoffe machen im geklärten Abwasser den Hauptteil des Abdampfrückstandes aus. Sie sind für die vorliegende Arbeit vor allem deshalb von Interesse, weil sie bei der Aufkonzentrierung von Abwasser ausfallen und dabei organische Inhaltsstoffe mitreißen können. Dadurch werden diese der weiteren Analytik entzogen.

Repräsentative Zahlen zu den Hauptkonstituenten des Abwassers sind von einigen Autoren veröffentlicht worden. In Tabelle 14 sind die Daten nach Eberle [20] zusammengestellt, die als Mittelwerte aus den Abläufen von 10 kommunalen Kläranlagen ermittelt wurden. Daten von Near [56] und Jekel [2] zum gleichen Bereich finden sich im Tabellenanhang.

Tabelle 14. Anorganische Hauptbestandteile eines biologisch gereinigten Abwassers: Daten nach Eberle [20]

| Kationen | Konzentration mmol/l | Anionen | Konzentration mmol/l |
|------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| Na^+ | 3.7 | Cl^- | 2.5 |
| K^+ | 0.05 | tCO_3 | 2.6 |
| NH_4^+ | 0.43 | Gesamt-P | 0.26 |
| Ca^{2+} | 1.0 | NO_3^- | 0.97 |
| Mg^{2+} | 0.84 | SO_4^{2-} | 0.97 |

Für anorganische Hauptkonstituenten in Rohabwasser haben Koppe und Stozek [41] repräsentative Konzentrationen publiziert. Ihre Ergebnisse sind ebenfalls im Tabellenanhang (Tabelle 57 auf Seite 154) zu finden.

In biologisch gereinigtem Abwasser bildet Natrium den Hauptbestandteil bei den Kationen. Die weiteren Konstituenten dieser Gruppe sind Calcium, Magnesium, Ammonium und Kalium (in der Reihenfolge abnehmender Konzentration aufgelistet). Bei den Anionen stellen Carbonat und Chlorid zu etwa gleichen Teilen die Hauptkonstituenten. Nennenswerte Anteile tragen noch Sulfat, Nitrat und Phosphat bei.

Aus diesen Angaben ist zu schließen, daß vor allem Calciumverbindungen ausfallen können, zum Beispiel Calcit oder Calciumphosphat. Das Ausfallen dieser Verbindungen läßt sich im Prinzip durch Ansäuern der Lösung vor der Aufkonzentrierung verhindern. Auf das Ausfallen von Gips hätte eine Ansäuerung jedoch keinen Einfluß. Seine Löslichkeit liegt in der Größenordnung von 10 mmol/l, so daß bei den in Abwasser enthaltenen Konzentrationen Gips in der Regel dann ausfallen kann, wenn Konzentrierungsfaktoren von zehn überschritten werden. Wenn organische Stoffe, die in gereinigtem Abwasser

zusammen nur wenige Milligramm pro Liter ausmachen, analytisch gut erfaßt werden sollen, so ist jedoch eine Anreicherung beträchtlich über den Faktor zehn hinaus erwünscht.

Neben den anorganischen Hauptbestandteilen können bei der Aufkonzentrierung noch Aluminiumhydroxid und Kieselsäure ausfallen. Man muß mit der Anwesenheit von Aluminium und Kieselsäure rechnen. Die Konzentrationen sind zwar gering (wenige mg/l), doch ist anzunehmen, daß sich das Abwasser nahe der Sättigungsgrenze in Bezug auf Aluminiumhydroxid bzw. Kieselsäure befindet.

Der beim Einengen von biologisch gereinigtem Abwasser sich bildende Niederschlag kann also eine sehr komplexe Mischung sein.

5.2 Eigene Erfahrungen über anorganische Bestandteile in gereinigtem Abwasser

Bei den Probenahmen zu eigenen Versuchen wurde auch der anorganische Anteil chemisch analysiert.

Im Ablauf der Kläranlage Leopoldshafen schwankte der Trockenrückstand der membranfiltrierten Probe zwischen 220 mg/l und 730 mg/l. Die Leitfähigkeit der membranfiltrierten Proben lag zwischen 350 $\mu\text{S}/\text{cm}$ und 1090 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Aus den Messungen wurde als Quotient von Leitfähigkeit und Trockenmasse der Faktor 1.4 ermittelt (Streubereich zwischen 1.26 und 1.57). Für Flußwasser wird von Schäfer (zit. bei [8]) ein vergleichbarer Faktor von 1.3 angegeben.

Bei der Aufarbeitung der Proben zu den Versuchen über Aufkonzentrierung, Fraktionierung nach der molaren Masse und Elektrodialyse, bis hin zur Gefriertrocknung verhielten sich anorganische Bestandteile in biologisch gereinigtem Abwasser wie folgt:

- Bei der Gefrieranreicherung traten während des Aufarbeitungsschrittes ab etwa Konzentrierungsfaktoren von vier Trübungen durch ausfallende schwerlösliche anorganische Salze auf.
- Bei der Vakuumverdampfung waren Niederschläge ab der 10-fachen Aufkonzentrierung zu beobachten. Wie eine Analyse des auftretenden Niederschlags mittels Röntgendiffraktometrie ergab, handelte es sich dabei hauptsächlich um Calcit.
- Bei der Konzentrierung von elektrodialysierten Lösungen fielen röntgenamorphe Verbindungen aus (vermutlich viel Kieselsäure enthaltend).

Die gesamte Trockensubstanz elektrodialysierter Lösungen enthielt in erheblichem Umfang mehrwertige Ionen und Kieselsäure (ICP-Spektroskopie; Ergebnisse s. Tabellenanhang Tabelle 60 auf Seite 155)

6. Untersuchungen zur Elektrodialyse von Kläranlagenabläufen

Die in dieser Arbeit verwendete Anlage (Beschreibung vgl. Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123) wurde sowohl für das zu entsalzende "Rohwasser" als auch für das das Salz aufnehmende "Konzentrat" im Kreislauf betrieben.

In den Konzentratkreislauf wurde zunächst destilliertes Wasser eingespeist. Bei dem Durchgang durch die Dialysezelle konzentrierten sich darin die Ionen auf, die aus dem Rohwasser entfernt wurden. Beim Auftreten von Trübungen (Konzentrationsniederschläge) wurde das Wasser im Konzentratkreislauf gegen frisches destilliertes Wasser ausgetauscht. Aufgrund der Rückdiffusion von Ionen ist prinzipiell bei Kreislaufführung keine Vollentsalzung (im strengen Sinn) möglich. Der Effekt der Rückdiffusion wurde jedoch zur Ansäuerung des Rohwasserkreislaufs praktisch genutzt (s. u.).

Im Rohwasserkreislauf wurden je nach Versuchsziel zwischen 0,5 und 40 Liter Wasser eingesetzt. Auf der Konzentratseite waren es zwischen 0,5 und 5 Liter.

6.1 Grundlegende Untersuchungen

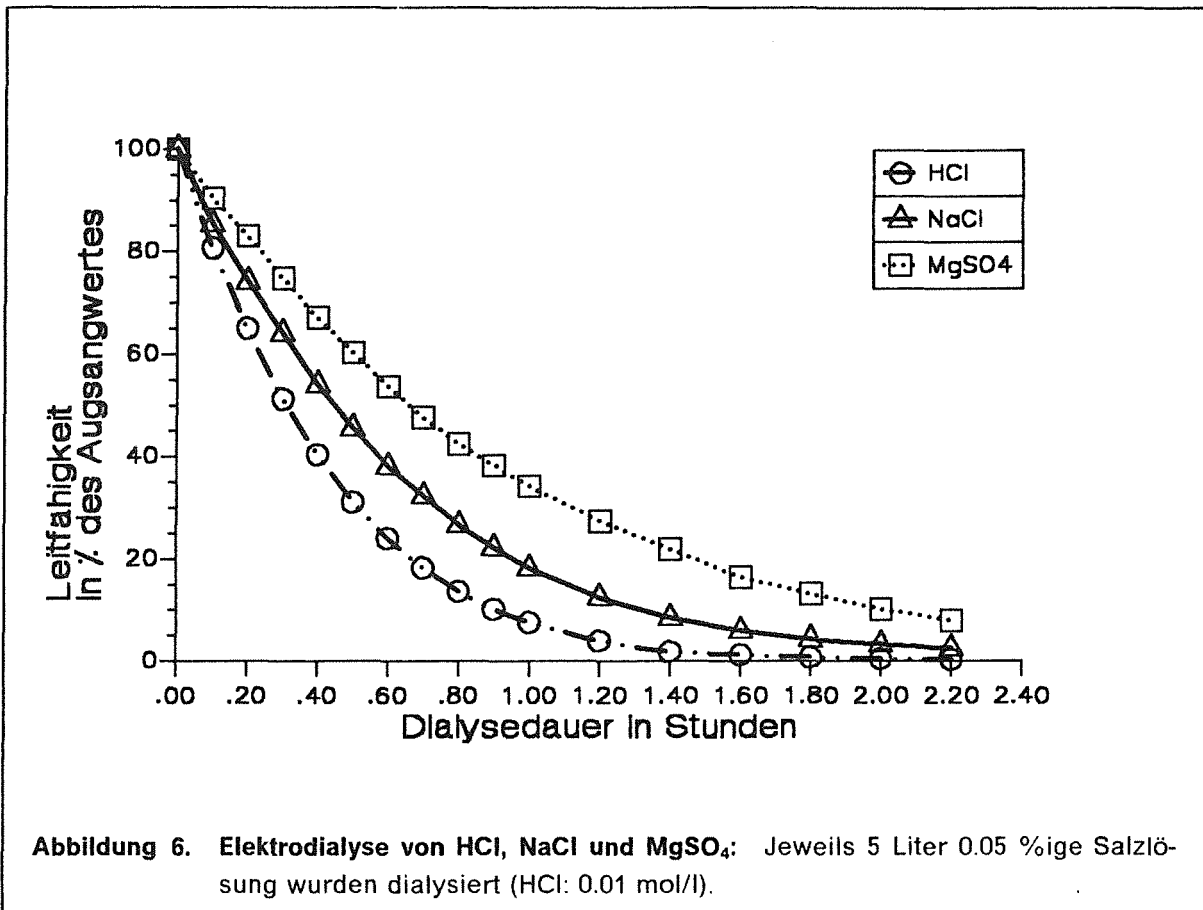
Die Entfernung anorganischer Verbindungen aus dem Rohwasser wurde anhand der Verringerung der Leitfähigkeit im Rohwasserkreislauf verfolgt. Organische Verbindungen wurden über den DOC-Gehalt ihrer Lösungen bestimmt. Ihr Verhalten bei der Elektrodialyse unter verschiedenen Bedingungen wurde anhand von Modellösungen der Verbindungen in 0,05 %iger Kochsalzlösung untersucht.

Die Dialysedauer richtete sich nach dem Volumen und der Salzbelastung der zu entsalzenden Lösungen. Sie lag im Bereich zwischen 2 Stunden für 0,5 Liter 0,05 %ige Kochsalzlösung und 260 Stunden für 40 Liter aufkonzentrierten Kläranlagenablauf.

Bei den verwendeten Modellösungen war ohne Probleme eine Reduktion der Leitfähigkeit von mehr als 98 % zu erreichen, bei Kläranlagenabläufen lag die erreichte Reduktion zwischen 82 und 95 %. Bei Verlängerung der Dialysedauer wäre wohl noch eine Verbesserung dieses Ergebnisses möglich gewesen, aber, wie in Abbildung 6 auf Seite 48 zu sehen, wird mit zunehmender Dauer der Elektrodialyse die Abnahme der Leitfähigkeit immer geringer. Da parallel dazu mit steigender Kontamination der Probe durch migrierende Inhaltsstoffe der Kunststoffteile der Anlage zu rechnen ist, ist es sinnvoll die Dialysezeit zu begrenzen.

Verhalten von anorganischen Verbindungen bei der Elektrodialyse: Mehrere Modellösungen ein- und zweiwertiger Ionen wurden untersucht. In Abbildung 6 ist die Elektrodialyse von 5 Litern 0,05 %iger Kochsalzlösung bzw. Magnesiumsulfatlösung dargestellt. Eindeutig ist zu erkennen, daß Magnesiumsulfat als Salz zweier zweiwertiger Ionen nicht so schnell durch die Elektrodialyse entfernt wird wie das aus einwertigen Ionen bestehende Kochsalz. Im gleichen Bild ist auch die Leitfähigkeitsabnahme von 0,01 molarer Salzsäure eingezeichnet. Hier ist die Abnahme sogar noch schneller als bei Kochsalz. Protonen, die bei Säuren für den Hauptteil der Leitfähigkeit verantwortlich sind, werden

offenbar sehr effizient durch die Membranen transportiert. Daten zu weiteren untersuchten Verbindungen finden sich im Tabellenanhang.



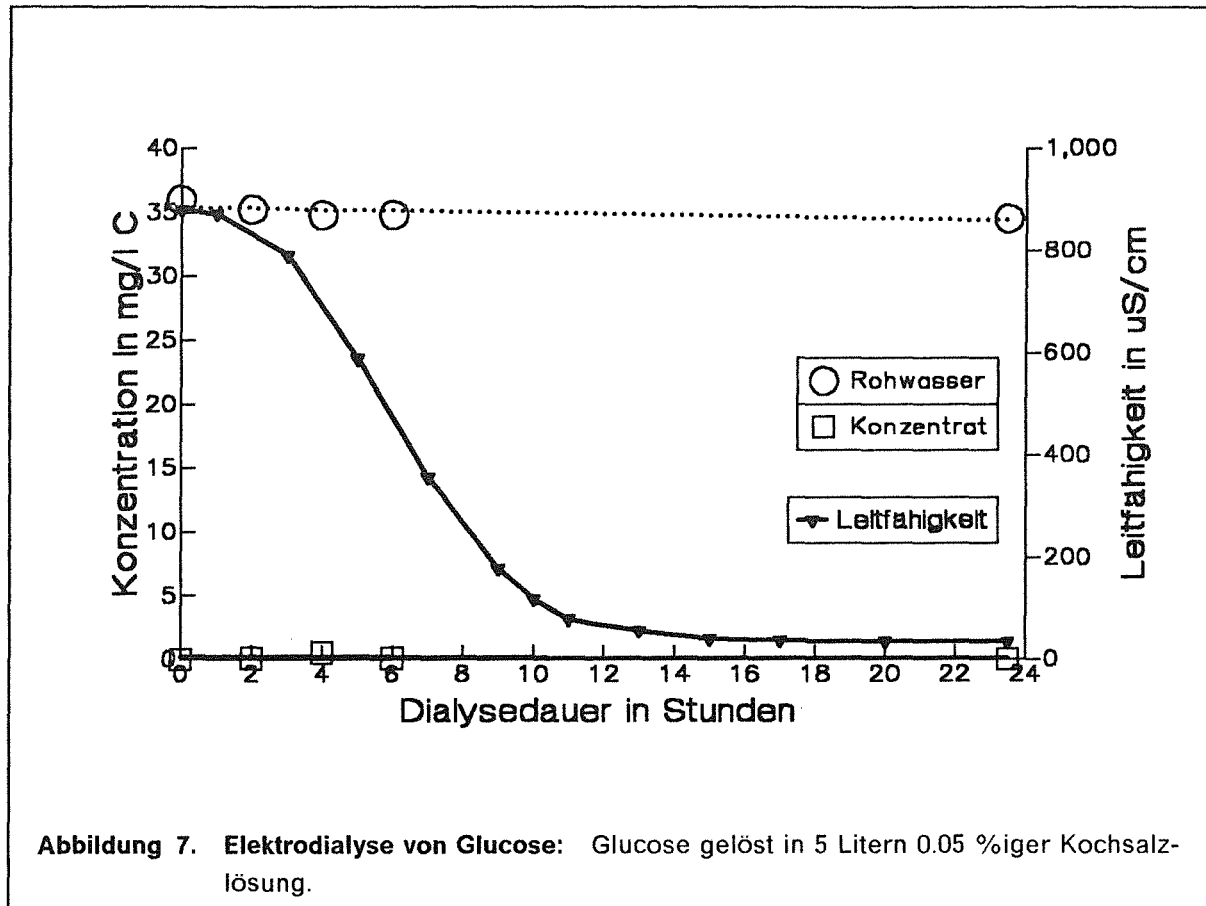
Die Geschwindigkeit der Leitfähigkeitsabnahme bei den getesteten Verbindungen folgt der Reihenfolge $\text{HCl} > \text{NaCl} > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{MgSO}_4$, das heißt, je höher die Ladung der beteiligten Ionen, desto langsamer durchdringt das Salz die Membranen.

Aufgrund der Feststellung, daß die mehrwertigen anorganischen Verbindungen schlechter durch die Elektrodialyse entfernt werden erklärt sich, warum in biologisch gereinigtem Abwasser auch nach Elektrodialyse noch anorganische Stoffe vorhanden sind.

Verhalten von organischen Verbindungen bei der Elektrodialyse: Mit drei verschiedenen Verbindungstypen (neutrale, saure und amphotere Verbindungen) wurden Versuche zum Verhalten organischer Stoffe bei der Elektrodialyse durchgeführt.

Als Modellsubstanz für gut wasserlösliche, jedoch ungeladene Verbindungen wurde Glucose ausgewählt. In Abbildung 7 auf Seite 49 ist die Konzentration der Glucose im Rohwasser und im Konzentratkreislauf während der Dialyse dargestellt. Meßgröße war der gelöste organische Kohlenstoff. Die Glucose war gelöst in 0.05 %iger Kochsalzlösung. Während der Elektrodialyse wurden Chlorid-Ionen und Natrium-Ionen aus dem Rohwasser entfernt (Reduktion der Leitfähigkeit um rund 95 %), und Glucose blieb, wie anhand der Graphik zu sehen ist, im Rohwasser zurück. Eine minimale Abnahme der

Konzentration des DOC im Rohwasser war zu beobachten (von 36 auf 35 mg/l C nach 24 h). Bei einer Wiederfindung von 97 % kann aber dennoch von einer sehr guten Rückhaltung der Glucose im Rohwasserkreislauf gesprochen werden. Die Elektrodialyse ist bei dieser Verbindungsklasse gut geeignet, organisches und anorganisches Material zu trennen.

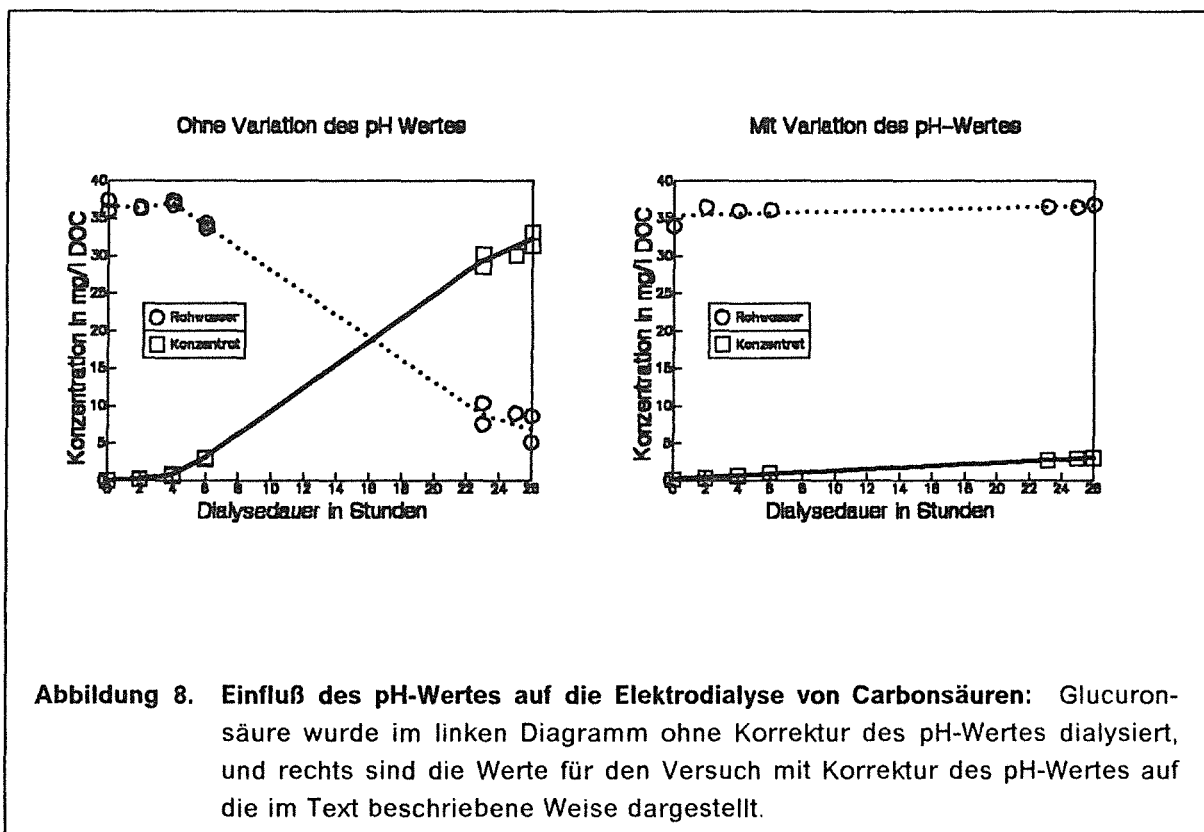


Aus der Klasse der Carbonsäuren wurden vier Verbindungen untersucht: Glucuronsäure, Caprylsäure, Capronsäure und Hydroxibenzoessäure. Bei allen war eine Abnahme der Konzentration im Rohwasser und eine Zunahme im Konzentrat während der Elektrodialyse zu beobachten. Bei der Glucuronsäure war eine 90 %ige Wiederfindung durch Addition der gemessenen Konzentrationen im Rohwasser und im Konzentrat zu erhalten (vgl. hierzu auch Abbildung 8 auf Seite 50). Bei den beiden anderen Säuren lag die Wiederfindung deutlich niedriger. Für Caprylsäure schwankte sie zwischen 33 und 40 % (Daten s. Tabellenanhang). Bei der Untersuchung von o-Phenylphenol war eine abnehmende Konzentration im Rohwasser zu beobachten, auch wenn keine Spannung angelegt, sondern die Probe nur umgepumpt wurde. Als Ursache für dieses Ergebnis ist die Adsorption an Membranen, Schläuchen und Gefäßwänden anzunehmen.

Die Permeation organischer Säuren durch die Austauschermembranen ist in Abbildung 8 auf Seite 50 am Beispiel der Glucuronsäure dargestellt. Aufgrund der Wanderung durch die Membran auf die Konzentratseite ist bei dieser Säure das Ziel, die Er-

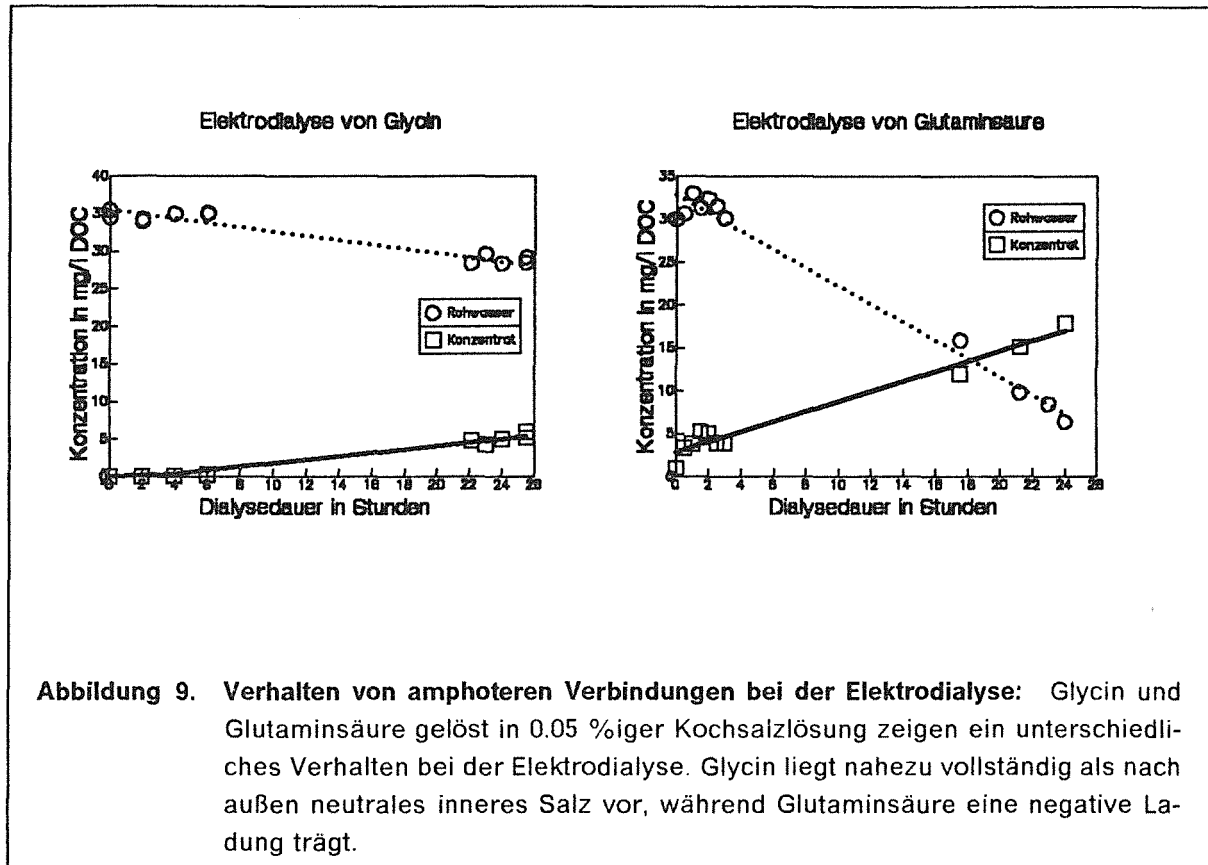
haltung im Rohwasserkreislauf (im Bild links dargestellt), nicht erreicht. Diese Permeation kann durch Ansäuern der Lösung weitgehend unterbunden werden (im Bild rechts dargestellt). Die undissoziierte Säure verhält sich wie eine neutrale Verbindung.

Protonen werden jedoch bevorzugt durch die Ionenaustauschermembranen transportiert. Würde die Rohwasserseite angesäuert, müßte der pH-Wert durch ständige Säurezugabe niedrig gehalten werden oder der mittels Dialyse erzielbare Effekt bliebe gering. Die pH-Absenkung der Rohwasserseite durch Einblasen von CO_2 -Gas, ein in der Theorie reizvolles Verfahren, weil eine zusätzliche Salzbelastung unterbleibt, wurde versucht. Jedoch genügt die durch CO_2 bewirkte Ansäuerung nicht, um die erwünschte Rückhaltung organischer Säuren im Rohwasserkreislauf zu erreichen. Versuchsdaten hierzu (untersucht: m-Hydroxibenzoessäure) sind im Tabellenanhang zu finden.



Bei einem hier erstmals angewendeten Verfahren wird die Konzentratseite angesäuert. Dabei gelangen Protonen durch Rückdiffusion und entgegen der durch das elektrische Feld vorgegebenen Wanderungsrichtung auf die Rohwasserseite. Zudem ist dabei im Rohwasser der pH-Wert dort am niedrigsten, wo er für das Verfahren entscheidend ist, nämlich unmittelbar an der Membran. Es stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Rückdiffusion und aktivem Transport durch die Membran im elektrischen Feld ein. Die Membranen sind bei dieser Technik zwar auf der Konzentratseite von Beginn an hohen Säurekonzentrationen ausgesetzt, doch halten die bei diesen Versuchen eingesetzten Membranen nach Herstellerangaben auch 10 %ige Salzsäure aus. Eine geringfügige Kontamination der Probe durch Zersetzungsprodukte der Membran war zwar in einigen Ver-

suchen feststellbar, jedoch lag sie in allen Fällen unterhalb 0.5 mg/l C. Die auf diese Weise erzielbare Rückhaltung von Carbonsäuren ist in Abbildung 8 rechts dargestellt. Es gelingt also mit dieser Arbeitstechnik organische Säuren von der anorganischen Matrix mit guter Ausbeute zu trennen. In beiden Fällen war Glucuronsäure in 0.05 %iger Kochsalzlösung gelöst. Die NaCl-Entfernung im Rohwasserkreislauf wird durch die Salzsäurezugabe nicht wesentlich beeinflusst.



Bei der Untersuchung amphoterer Verbindungen ist ebenfalls ein Einfluß des pH-Wertes für das Transportverhalten durch die Membran festzustellen. Als optimaler pH-Wert für die Rückhaltung ist der isoelektrische Punkt (IEP) der Moleküle anzusehen. In Abbildung 9 sind Glycin (IEP=5.97) und Glutaminsäure (IEP=3.22) in ihrem Verhalten während der Elektrodialyse im neutralen pH-Bereich dargestellt. Es ist klar erkennbar, daß Glycin, dessen IEP näher bei pH=7 liegt, besser zurückgehalten wird als Glutaminsäure, die in großem Umfang die Membran passiert. Bei beiden Versuchen waren die Aminosäuren in Kochsalzlösung (0.05 %) gelöst. Daten aus Untersuchungen mit der Aminosäure Leucin, die sich nicht wesentlich anders verhält als Glycin, finden sich im Tabellenanhang.

6.2 Elektrodialyse von Kläranlagenabläufen

Für Untersuchungen mit Abläufen kommunaler Kläranlagen wurden ultrafiltrierte (< 1000 Dalton) Proben verwendet. Die Leitfähigkeit der Fraktion unter 1000 D lag dabei zwischen 315 und $750 \mu\text{S}/\text{cm}$. Der Wert für die Leitfähigkeit konnte durch Elektrodialyse um bis zu 95% gesenkt werden.

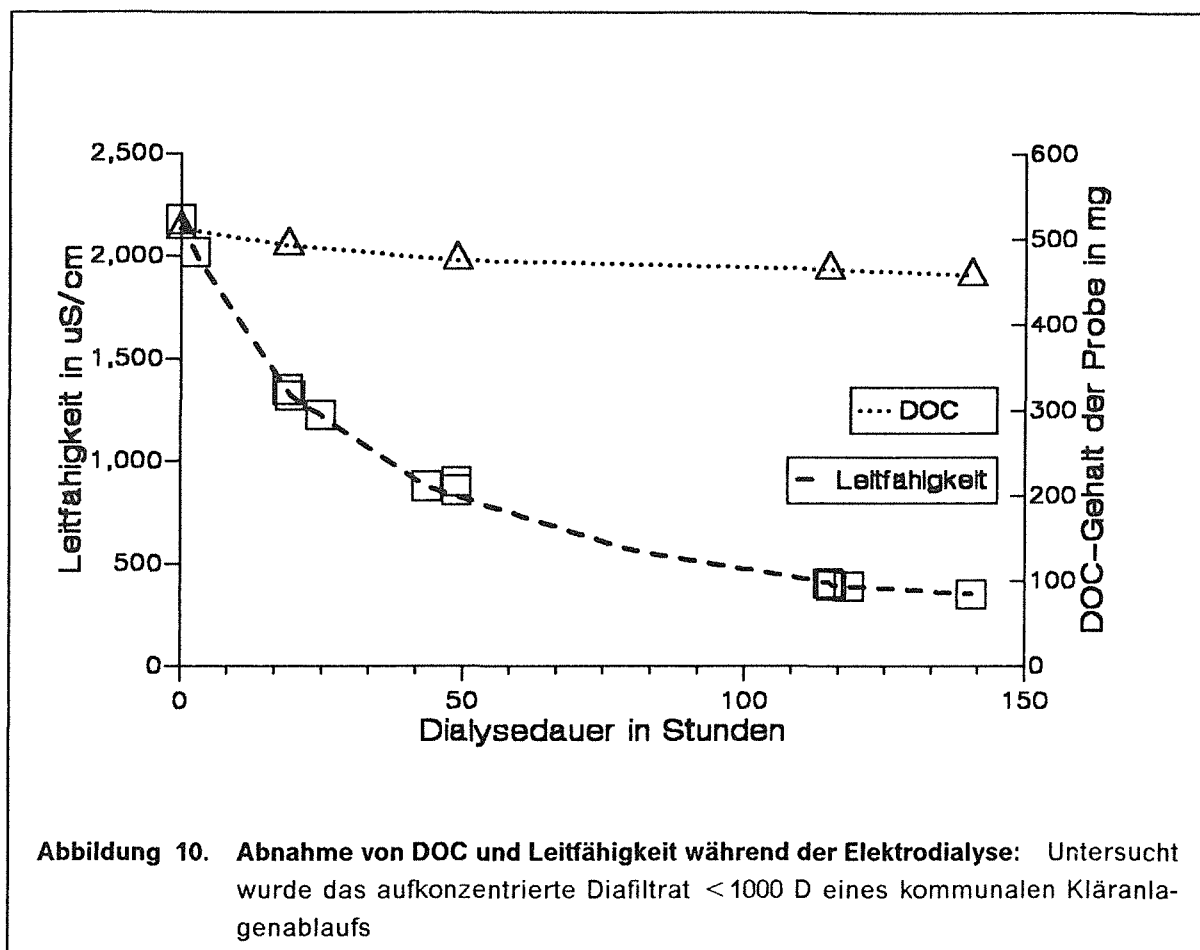
Die Reduktion der Trockenmasse war etwas geringer als die Reduktion der Leitfähigkeit. In einem Versuch wurde der Eindampfrückstand von 370 auf 50 mg/l reduziert. Dies entspricht einer Abnahme um 86% . Gleichzeitig ging die Leitfähigkeit jedoch um 93% zurück.

Für Chlorid wurde der Abtrennungsgrad bei der Elektrodialyse bestimmt. Einer Ausgangskonzentration von 114 mg/l stand eine Endkonzentration von 2.4 mg/l gegenüber. Dies entspricht einer Reduktion von 98% . Die Erwartung, daß einwertige Ionen gut eliminiert werden, wird von Chlorid erfüllt.

Bei Versuchen ohne Maßnahmen zur Regulierung des pH-Wertes blieb der gelöste organische Kohlenstoff bei der Elektrodialyse zu 70 bis 75% im Rohwasser. 15 bis 20% durchdrangen die Membranen und gelangten so zusammen mit den anorganischen Bestandteilen auf die Konzentratseite. Rund 10% konnten nicht wiedergefunden werden. Dieser Wert liegt in der Nähe der erreichbaren Genauigkeit bei solchen Versuchen, ist allerdings etwas höher als erhofft. Es läßt sich nicht ausschließen, daß etwas Substanz durch Adsorption an Kunststoffteile (Schlauchleitungen, Pumpenköpfe, Membranen) verloren ging.

Da angenommen wurde, daß hauptsächlich lipophile Verbindungen adsorbiert werden, galt ein Versuch dem Vergleich von biologisch gereinigtem Abwasser (< 1000 D) mit einem Teil der gleichen Probe, der über ein makroporöses Harz (XAD 8) perkoliert wurde, um unpolare organische Verbindungen aus der Probe zu entfernen. Jedoch lagen die Verluste bei der Elektrodialyse in beiden Fällen in der gleichen Größenordnung (-20.4% vor XAD 8, -20.5% nach XAD 8).

In zwei Versuchen (je ca. 34 Liter, 3.5 -fach aufkonzentriert) wurde die Abnahme des DOC und die Abnahme der Leitfähigkeit untersucht. In Abbildung 10 auf Seite 53 sind exemplarisch die Ergebnisse eines Versuches dargestellt. Man erkennt, daß die Leitfähigkeit zu Beginn sehr schnell abnimmt. Die Abnahme wird mit zunehmender Versuchsdauer immer geringer, so daß es sinnvoll erscheint, die Dialysezeiten nicht zu groß zu wählen. Die entfernten organischen Verbindungen verhalten sich ähnlich wie anorganische Ionen, deren Entfernung über die Messung der Leitfähigkeit beobachtet wurde. Daraus ist zu schließen, daß es sich bei dem permeierenden organischen Anteil um ionogene Stoffe handeln muß. Diese Versuche wurden mit Ansäuerung durchgeführt. Die angesprochenen ionogenen Stoffe müssen also stärker sauer sein als gewöhnliche Carbonsäuren, oder es muß sich um Kationen handeln.



Neben dem gelösten organischen Kohlenstoff wurden noch zwei weitere summarische Meßgrößen hinsichtlich ihrer Veränderung bei der Elektrodialyse untersucht: Der Gehalt an Kjeldahl-Stickstoff und der Gehalt an Anthron-positiven Substanzen (Anthron wird häufig als Reagenz auf Kohlenhydrate eingesetzt).

Stickstoffhaltige Verbindungen wurden bei Anwendung der saueren Arbeitstechnik vollständig im Rohwasserkreislauf wiedergefunden (0.28 mg/l N vor der Elektrodialyse, nach Beendigung des Versuchs wurde der gleiche Wert gemessen).

Mit Anthron wurden vor der Dialyse 2.2 mg/l Anthron-positive Verbindungen (berechnet als Glucose) bestimmt. Nach der Dialyse war im Rohwasserkreislauf nichts mehr nachweisbar. Dieses Ergebnis ist überraschend, sollten doch Kohlenhydrate, auch wenn sie Carboxylgruppen tragen, unter den gewählten Arbeitsbedingungen nicht nennenswert aus dem Rohwasser entfernt werden. Anscheinend werden durch die Dialyse Stoffe aus der Lösung entfernt, die mit Anthron reagieren und so Kohlenhydrate vortäuschen. Weitere Untersuchungen hierzu sind im Kapitel "Photometrische Bestimmung mit Anthron" auf Seite 86 aufgeführt.

Wert der Elektrodialyse als Probenvorbereitung: Zusammenfassend kann über die Elektrodialyse als Mittel zur Probenaufbereitung in der Abwasseranalytik folgendes gesagt werden:

Es gelingt, rund 90 % der organischen Verbindungen und alle stickstoffhaltigen organischen Verbindungen auf der Rohwasserseite zu halten. Von den restlichen 10 % bleibt ein erheblicher Teil in der Anlage zurück, findet sich somit auch nicht im Konzentrat.

Verteilung des DOC nach Elektrodialyse

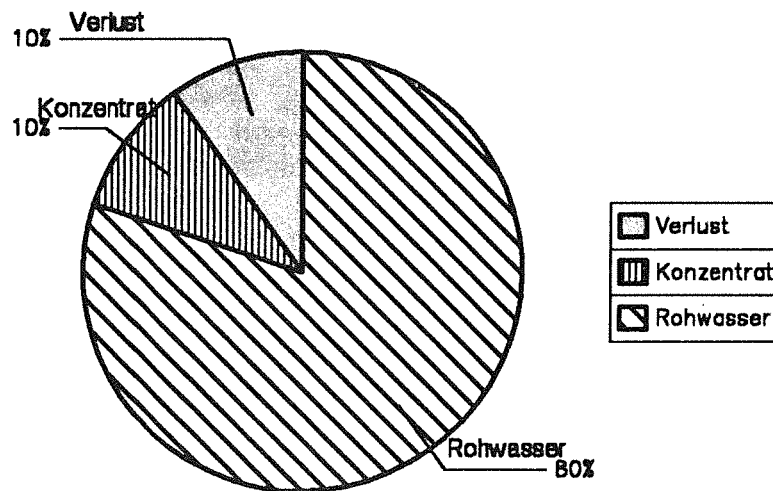


Abbildung 11. Verteilung des eingesetzten DOC nach der Elektrodialyse

Die obigen Zahlen gelten für die Elektrodialyse im saueren Milieu. Wird neutral dialysiert, permeieren weitere 10 % des DOC zusammen mit den anorganischen Verbindungen die Austauschermembranen und gelangen auf die Konzentratseite. Vermutlich handelt es sich dabei um Verbindungen mit aciden H-Atomen, zum Beispiel Carbonsäuren. Die Größenordnung stimmt mit Untersuchungen anderer Autoren überein, bei denen der Anteil an Säuren z. B. durch den Vergleich von Lösungsmittelextraktionen bei saurem und neutralem pH-Wert der Wasserphase ermittelt wurde. Vergleiche hierzu das Unterkapitel des Literaturüberblicks "Bestimmung als summarische Meßgrößen" auf Seite 10.

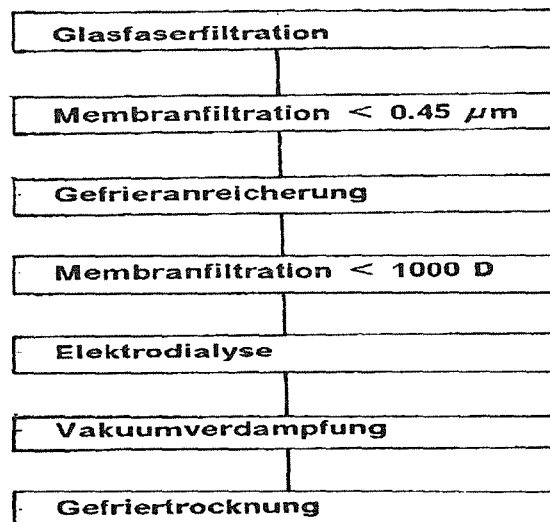
Die Entfernung der anorganischen Verbindungen gelingt zu ca. 90 %. Damit werden bereits wesentliche Störeinflüsse für die weitere Analytik eliminiert. Das Verhältnis von organischen Verbindungen zu anorganischen Verbindungen wird von 1:75 auf 1:10 verbessert.

7. Gewinnung einer großen Menge niedermolekularer Inhaltsstoffe (ETM1000)

Zur vergleichenden Betrachtung der einzelnen Analysenverfahren und zur Charakterisierung der niedermolekularen organischen Inhaltsstoffe war es wünschenswert, eine größere Menge an niedermolekularem Material zu haben, um die Versuche mit der selben Probe durchführen zu können.

Aufbauend auf die in Vorversuchen zu den einzelnen Aufarbeitungsschritten gewonnenen Erkenntnisse, wurden 1000 Liter eines kommunalen Kläranlagenablaufs verarbeitet. Es wurde der Ablauf des Klärwerkes Leopoldshafen ausgewählt, das ca. 6000 Einwohner entsorgt.

Die einzelnen Aufarbeitungsschritte folgten dem unten abgebildeten Fließschema.



Die Kapazität der verwendeten Geräte war nicht ausreichend, um das gesamte Probenvolumen auf einmal zu verarbeiten. Daher wurde die Probe nach der Glasfaserfiltration, die innerhalb eines Tages zu bewerkstelligen war, in einem Tank aus Edelstahl bei 2 °C unter Rühren gelagert und in vier Portionen verarbeitet.

Es wurden jeweils ca. 250 Liter entnommen und mit Hilfe des Tangentialflußsystems membranfiltriert (< 0.45 µm). Das Filtrat "1" (70 % des eingesetzten Volumens) wurde gefrierangereichert; die erzielten Konzentrierungsfaktoren lagen zwischen drei und vier. Das dabei resultierende Konzentrat wurde durch eine Membran der nominellen Trenn-

grenze 1000 Dalton filtriert (ebenfalls Tangentialflußsystem, ebenfalls 70 % des eingesetzten Volumens als Produkt). Das so erhaltene Filtrat "2" wurde anschließend bis zu 250 Stunden der Elektrodialyse unterworfen. Nach der Einengung am Rotationsverdampfer erfolgte zum Schluß für jede Portion die Gefriertrocknung. Eine Übersicht über Aufarbeitungszeiten der einzelnen Portionen in den jeweiligen Arbeitsschritten, über Wiederfindungen und über erzielte Reduktionen der anorganischen Bestandteile in der Trockenmasse ist im Tabellenanhang in Tabelle 81 auf Seite 162 zusammengestellt.

Insgesamt war die Verarbeitung der 1000 Liter in fünf Monaten abgeschlossen. Sehr lange dauerte die Einengung am Rotationsverdampfer, da hierzu ein Technikums-Rotationsverdampfer (30 Liter Fassungsvermögen) des Engler-Bunte-Institutes in Karlsruhe benutzt werden mußte, der auch von den einzelnen Abteilungen dieses Institutes benötigt wurde.

Nach der Gefriertrocknung lagen 38 Gramm des Anreicherungsproduktes ETM1000 vor, wobei **ETM1000** für **Trockenmasse** nach Filtration der Probe durch ein Membranfilter der nominellen Trenngrenze **1000 Dalton** und **Elektrodialyse** steht. Die Elementaranalyse ergab, daß in der ETM1000 1.3 Gramm organisch gebundener Kohlenstoff enthalten waren. Dies entspricht etwa 2.5 Gramm organischer Substanz. Die Wiederfindung in den einzelnen Portionen lag zwischen 81 % und 91 % bezogen auf die niedermolekularen Anteile des gelösten organischen Kohlenstoffs im Original-Ablauf der Kläranlage.

Entgegen den Hoffnungen bestand die ETM1000 noch zu über 90 % aus anorganischem Material. Ein Natriumhydroxid-Aufschluß der Probe wurde mittels ICP-Spektroskopie (Hauptabteilung Sicherheit des KfK) untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 60 auf Seite 155 zusammengestellt. Als Elemente mit den größten Anteilen an der Trockenmasse zeigten sich: Silizium (7.1 % der TM), Calcium (5.5 %), Schwefel (4.2 %) und Bor (1.5 %). Für Magnesium und Aluminium wurden 0.9 % bzw. 0.3 % ermittelt.

Phosphor wurde nicht mittels ICP bestimmt, sondern photometrisch nach den deutschen Einheitsverfahren (DEV, mit Aufschluß). Der Phosphorgehalt der Trockenmasse nach Elektrodialyse lag bei 0.47 %.

Silizium wurde parallel zur ICP-Analyse auch photometrisch bestimmt. Aus zwei Ansätzen wurde ein Anteil von 6.8 % bzw. 7.1 % an der Trockenmasse nach Elektrodialyse ermittelt.

Der Anteil des Chlorids an der ETM1000 war 3.5 % (ionenchromatographisch bestimmt).

8. Weitere Abtrennung organischer Stoffe von der anorganischen Matrix

Die ETM1000 enthielt trotz erheblicher Reduktion anorganischer Anteile mittels Elektrodialyse noch über 90 % anorganisches Material. Anorganische Bestandteile in höheren Konzentrationen stören die meisten Analysemethoden zur Bestimmung organischer Wasserinhaltsstoffe massiv.

In diesem Kapitel werden zwei Verfahren untersucht, um die anorganischen und organischen Bestandteile zu trennen: Die Lösungsmittelextraktion und die Festphasenextraktion.

8.1 Abtrennung mittels Lösungsmittelextraktion

Für die Extraktionsversuche wurde die Trockenmasse nach Elektrodialyse (ETM1000) verwendet. Dabei wurde allerdings nicht nur die nach Kapitel " 7. Gewinnung einer großen Menge niedermolekularer Inhaltsstoffe (ETM1000)" auf Seite 55 hergestellte ETM1000 eingesetzt, sondern auch, um diese "wertvolle" Substanz zu schonen, ETM1000 aus Vorversuchen, die in diesem Kapitel als ETM1000a bezeichnet wird.

Bei den Versuchen mit verschiedenen Lösungsmitteln wurden die Einwaagen an ETM1000a im Meßkolben mit dem Extraktionsmittel versetzt, im Ultraschallbad suspendiert und die erhaltene Suspension über gewogene Membranfilter aus Celluloseacetat bzw. Teflon filtriert. Nach Trocknung bei 105 °C und Rückwaage konnte so die Masse des unlöslichen Anteils bestimmt werden. Durch vorsichtiges Abkratzen konnten Proben für eine Bestimmung des organisch gebundene Kohlenstoffs im Rückstand erhalten werden. Der lösliche Anteil des Kohlenstoffs wurde bestimmt, indem das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand in Wasser aufgenommen wurde. In dieser wässrigen Lösung konnte der DOC bestimmt werden.

Der Kohlenstoffgehalt der ETM1000 wurde über eine Verbrennungsanalyse bestimmt. Die Bestimmung des löslichen organisch gebundenen Kohlenstoffs erfolgte aus einer wässrigen Suspension der Trockenmasse nach Membranfiltration durch UV-Oxidation.

Durch Extraktion mit Wasser wurde zunächst kontrolliert, ob die organischen Verbindungen noch vollständig löslich sind. Bei einer Extraktion mit Wasser gingen 70 -78 % Trockenmasse in Lösung. Die Hauptmenge der löslichen Trockenmasse stellen anorganische Verbindungen dar. In Tabelle 15 auf Seite 58 sind für vier Proben die Untersuchungsparameter Gesamtkohlenstoff und wasserlöslicher Kohlenstoff aufgeführt. Die Meßergebnisse in Tabelle 15 auf Seite 58 zeigen, daß die organischen Inhaltsstoffe praktisch vollständig wasserlöslich sind, das heißt, sie haben ihre Löslichkeit durch die Probenaufarbeitung nicht eingebüßt.

Tabelle 15. Wasserlösliche organische Anteile der ETM1000

| | % C in ETM1000 (Gesamter org. C) | % DOC in ETM1000 (Wasserlösl. org. C) | Abweichung in % |
|----------------|---|--|----------------------------|
| Probe 1 | 2.81 | 2.79 | -0.9 |
| Probe 2 | 2.83 | 2.93 | + 3.5 |
| Probe 3 | 3.43 | 3.43 | 0.0 |
| Probe 4 | 6.66 | 6.73 | + 1.1 |

Extraktion mit Methanol: Mit Methanol konnten 33 % der Trockensubstanz gelöst werden (Einwaage: 50 mg/25 ml Methanol). Im getrockneten Rückstand nach der Extraktion waren noch 20 % des Kohlenstoffgehaltes der ETM1000a zu finden.

Tabelle 16. Extraktion der ETM1000 mit Methanol

| | Trockenmasse | TOC |
|----------------------|---------------------|------------|
| Ausgangsmenge | 200 mg | 5.1 mg |
| 1. Fraktion | 64.6 mg | 3.5 mg |
| 2. Fraktion | 12.5 mg | 0.2 mg |
| 3. Fraktion | 3.6 mg | 0.0 mg |
| unlöslich | 116.4 mg | 0.8 mg |
| Wiederfindung | 98.6 % | 88.2 % |

Bei einer genaueren Studie des Wertes von Methanol als Lösungsmittel wurden 200 mg ETM1000a mit 3 x 25 ml Methanol extrahiert. Dabei wurden insgesamt 41.8 % der Trockenmasse gelöst und im Rückstand war der C-Gehalt auf 0.7 % abgesunken. Aus den Daten der Tabelle 16 ist die Menge an gelöstem organischem Material in den einzelnen Methanolfractionen zu sehen. Bereits die dritte Fraktion enthält keinen meßbaren Anteil mehr an löslichem Kohlenstoff.

Mit Methanol werden zwar rund 40 % des anorganischen Anteils der ETM1000a gelöst, aber auch 70 % des Kohlenstoffs gehen mit Methanol in Lösung. Somit herrscht in methanolischer Lösung ein etwas besseres Verhältnis von organischem Anteil zu anorganischem Anteil als bei Wasser als Extraktionsmittel. Nachteilig ist die Tatsache, daß der organische Anteil auch bei wiederholter Extraktion nicht vollständig in Lösung zu bringen ist.

Extraktion mit weiteren Lösungsmitteln: Vier weitere organische Extraktionsmittel wurden getestet. Extrahiert wurde hier ebenfalls eine ETM1000a mit 2.54 % Kohlenstoff. Bei

der Verwendung von Dioxan war eine Verminderung des Rückstandes um 10 % zu beobachten, aber der C-Gehalt im Rückstand war mit 2.65 % gegenüber dem Ausgangswert sogar leicht erhöht. Offenbar löst Dioxan in diesem Fall mehr anorganisches als organisches Material. Nach Abdampfen des Dioxans im Filtrat und Aufnahme des Rückstandes in Wasser konnte darin kein meßbarer Gehalt an DOC gefunden werden.

Ein Versuch mit Acetonitril unter gleichen Bedingungen brachte eine Verminderung des Rückstandes um 11.2 % und 2.42 % C im Rückstand. Dies bedeutet einen leichten Rückgang der Konzentration des Kohlenstoffs im Rückstand gegenüber dem Ausgangswert von 2.54 % in der ETM1000a. Im Abdampfrückstand des Filtrates war jedoch ebenfalls kein meßbarer Kohlenstoff-Anteil zu finden. Erfolg versprechen offenbar nur sehr polare organische Lösungsmittel. Aus diesem Grund wurden Extraktionsversuche mit Petrolether und Diethylether nicht mehr über eine Bilanzierung des Verbleibs der organischen Inhaltsstoffe ausgewertet.

Dennoch werden in diesen unpolaren Lösungsmitteln organische Inhaltsstoffe gelöst, auch wenn deren Anteil mit summarischen Meßgrößen wie der Bestimmung des DOC nicht mehr erfaßbar ist. Dies belegen empfindlichere Verfahren (beispielsweise die GC/MS-Kopplung). Gaschromatographische Untersuchungen an den Methanol-, Diethylether und Petroletherextrakten sind in "Identifizierung von Inhaltsstoffen der ETM1000 mittels Gaschromatographie und Massenspektroskopie" auf Seite 93 diskutiert.

Die Untersuchungen über die Lösungsmittelsextraktion zeigen, daß es nicht gelingt, auf diese Art und Weise substantielle Mengen an organischen Inhaltsstoffen vom anorganischen Anteil der ETM1000 zu trennen. Der Methode bleibt ihr Wert unbenommen, wenn es um die Analytik unpolarer Verbindungen geht oder wenn definierte Verbindungen bestimmt werden sollen und es daher möglich ist, einen Verteilungskoeffizient anzugeben über dessen Einbeziehung in die Berechnung auch bei relativ schlechter Löslichkeit der zu bestimmenden Stoffe quantitative Aussagen möglich sind.

Für die Untersuchung unbekannter, polarer Wasserinhaltsstoffe (im Sinn eines vollständigen Überblicks über die Zusammensetzung des DOC) hat die Lösungsmittelsextraktion aber nur einen eingeschränkten Wert.

8.2 Festphasenextraktion

Für die Untersuchungen zur Festphasenextraktion wurde diafiltrierter (< 1000 D) Kläranlagenablauf über Aktivkohle und XAD-8 perkoliert. In einem Fall wurde auch ein wässriger Extrakt der ETM1000 über XAD-8 geleitet. Es sei schon hier erwähnt, daß er sich nicht sichtbar anders verhielt als das Diafiltrat ohne Aufkonzentrierung und Entsalzung.

Adsorptionsversuche an XAD-8 und Aktivkohle wurden sowohl ohne Modifikation des pH-Wertes als auch nach Einstellen der Probe auf pH=2 ausgeführt. Eine Beschreibung der verwendeten Festphasen findet sich in Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123.

Jeweils 10 Liter MF1000 ¹¹ wurden auf Säulen gegeben, die mit Adsorbens gefüllt waren. Die Flußkontrolle erfolgte über Tropftrichter, um Kontamination mit organischem Material (Pumpenköpfe, Schlauchverbindungen) soweit als möglich zu vermeiden. Die Konzentration des DOC im Säulenablauf wurde laufend kontrolliert. Der konstante Wert im Verlauf eines Versuchs zeigte, daß die Kapazität der Adsorbensmenge ausreichend bemessen war.

Die Ergebnisse der Versuche zur Festphasenextraktion sind in Tabelle 17 dargestellt und werden im folgenden besprochen.

Tabelle 17. Festphasenextraktion organischer Inhaltsstoffe

| | XAD-8 (pH 7.7) | XAD-8 (pH 2.0) | XAD-8 ETM1000 (pH 2.0) | Aktivkohle (pH 8.3) | Aktivkohle (pH 2.0) |
|--|-------------------|-------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|
| Adsorption | 33 % | 41 % | 40 % | 72 % | 72 % |
| Desorption mit Methanol ¹² | 104 % | 124 % | 97.8% | -- | -- |
| Desorption mit NaOH ¹² | 34 % | 34 % | -- | 16 % | 16 % |

Versuche mit XAD-8: An XAD-8 wurden ohne pH-Modifikation (pH=7.7) 33 % und bei Ansäuerung (pH=2) 41 % des DOC gebunden. Absolut gesehen wurden etwa 10 mg DOC adsorbiert. Mit Natronlauge ($c_{\text{NaOH}} = 0.1\text{mol/l}$) konnte bei beiden Versuchen je 34 % der adsorbierten Menge desorbiert werden.

In einem zweiten Versuch wurden die Säulen wie oben beladen und mit Methanol desorbiert. Es wurde etwas mehr Kohlenstoff desorbiert als dem adsorbierten Anteil des DOC entsprochen hätte. Erklärbar ist dieser Befund durch ein Auswaschen von Säulenmaterial in geringem Umfang.

Ein Versuch zur Adsorption von organischen Inhaltsstoffen an XAD-8 wurde auch mit dem wasserlöslichen Anteil der ETM1000 durchgeführt. 9.49 mg organischer Kohlenstoff wurden auf die Säule aufgegeben (in Form eines wässrigen, auf pH=2 eingestellten Extraktes der ETM1000). Die Säule wurde mit zweimal 50 ml und einmal 100 ml Wasser gespült. Anschließend wurde über eine Messung des Spülwasser-DOC der adsorbierte Anteil der organischen Verbindungen bestimmt. 40 % wurden adsorbiert. Davon konnten mit Methanol 98 % desorbiert werden.

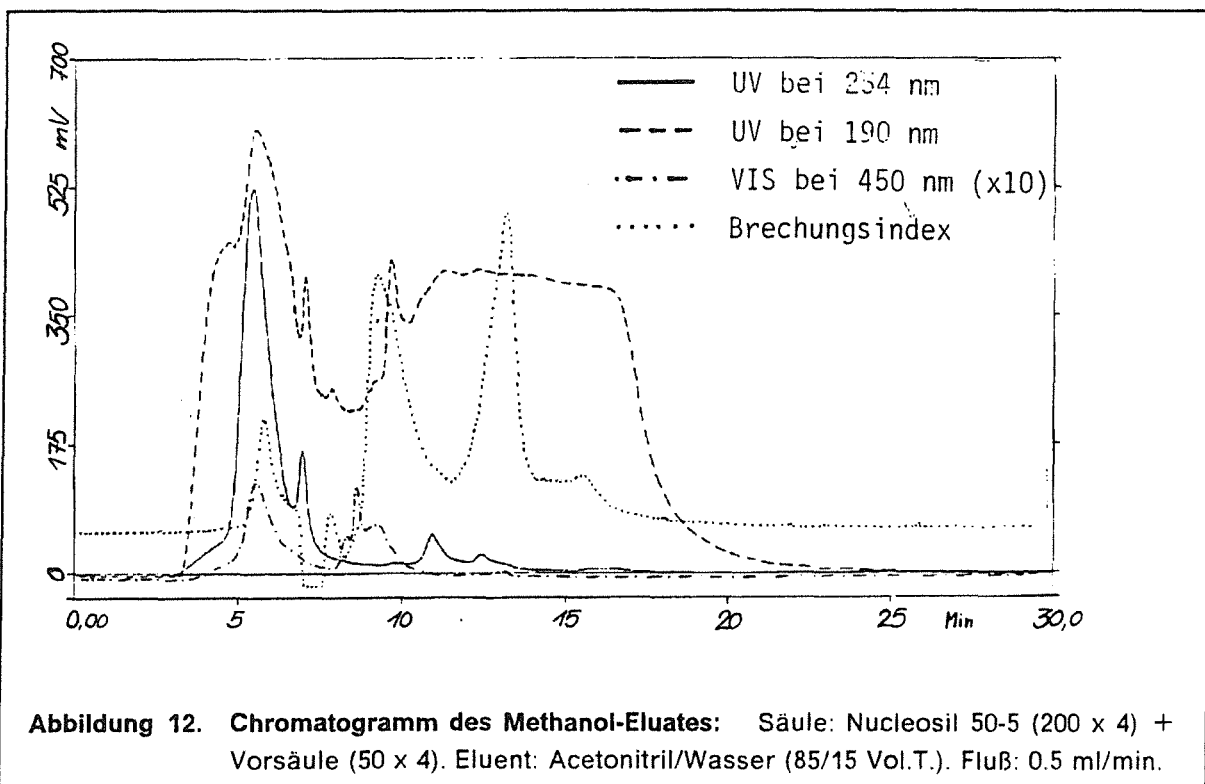
¹¹ Membranfiltrierter Kläranlagenablauf mit organischen Inhaltsstoffen unter 1000 D molarer Masse

¹² Die Desorptionswerte beziehen sich auf adsorbierte Menge = 100 % .

Versuche mit Aktivkohle: An Aktivkohle wurde deutlich mehr organisches Material adsorbiert. 72 % des DOC blieben unabhängig vom pH-Wert auf der Säule fixiert. Allerdings konnte mit Natronlauge deutlich weniger desorbiert werden. 16 % der adsorbierten Menge waren so desorbierbar. Mit Methanol konnte kein desorbierter DOC-Anteil gemessen werden, da sich beide Proben (Adsorption bei pH 8.3/2.0) bei der Entfernung von Lösungsmittelresten im Trockenschrank braun verfärbten. Eine Bestimmung der Trockenmasse bei angenommenen 50 % Kohlenstoffanteil ergab 36 % Desorption (Versuch bei pH=8.3) und 136 % Desorption (pH=2.0).

Die Festphasenextraktion erlaubt es nach obigen Versuchen nicht, mehr als 50 % des niedermolekularen Anteils des DOC in weiter untersuchbarer Form zu gewinnen. Vermutlich werden insbesondere die sehr hydrophilen Verbindungen nicht auf den Festphasen zurückgehalten. Dies gilt auch für die weitere Reinigung der organischen Anteile der ETM1000.

Chromatographische Untersuchung der Säuleneluate: Um erkennen zu können, ob Methanol und Natronlauge unterschiedliche Verbindungen eluieren, wurden beide Lösungen des XAD-8 Versuches über eine Kieselgelsäule mit Acetonitril/Wasser Gemisch (85/15) chromatographiert. Das Elutionsprofil wurde nacheinander bei 190 nm, bei 254 nm und im Chromatogramm des Methanol-Eluates auch bei 450 nm registriert. Gleichzeitig wurde jeweils die Änderung des Brechungsindex aufgezeichnet. Die Chromatogramme sind in Abbildung 12 und in Abbildung 13 auf Seite 62 dargestellt.

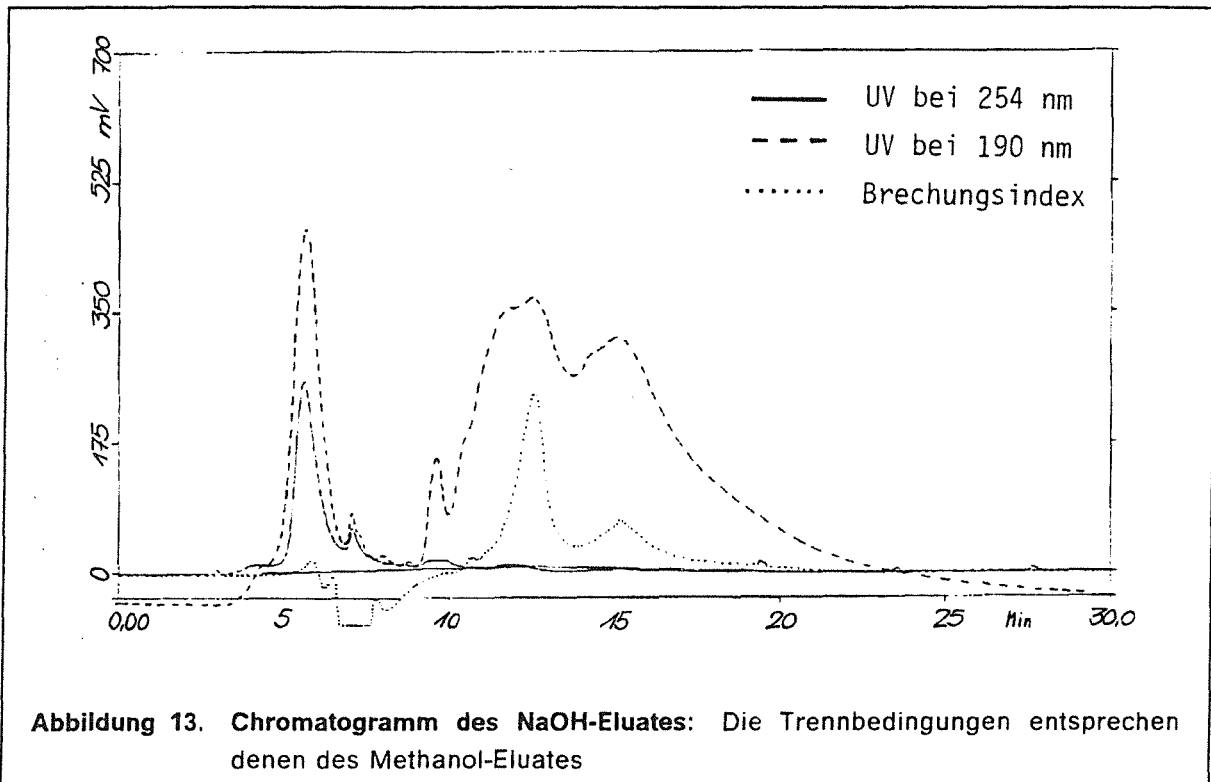


Vom Verlauf her sind die beiden Chromatogramme etwa identisch. Lediglich in der Konzentration der eluierten Stoffe sind Unterschiede feststellbar. Speziell beim Betrachten des Verlaufs des Brechungsindex und der UV-Absorption bei 190 nm wird dieser Aspekt deutlich.

Die Chromatogramme können anhand des Verlaufs der Brechungsindex-Änderung in 4 Bereiche unterteilt werden.

- 3 Minuten bis 7 Minuten mit einem großen Peak
- 7 Minuten bis 10 Minuten mit mehreren kleinen Peaks
- 10 Minuten bis 13 Minuten mit einem breiten Peak
- 13 Minuten bis 20 Minuten mit einem breiten Peak

Es handelt sich bei den Peaks vermutlich nicht um einzelne Substanzen, sondern um Substanzgruppen mit ähnlicher Retentionscharakteristik unter den gewählten chromatographischen Bedingungen.



Ergänzend zur Einteilung in zeitliche Chromatogrammbereiche, ist die Betrachtung der einzelnen Detektionsmethoden (UV₁₉₀, UV₂₅₄ und Brechungsindex) zu verstehen.

Der Brechungsindex-Detektor ist zwar universell, aber unempfindlich. Die empfindlichste der drei Methoden ist für fast alle Verbindungen die Detektion bei 190 nm. Die Absorption von UV-Licht der Wellenlänge 254 nm, ist eine Eigenschaft, die besonders Aromaten besitzen. Die Detektion bei dieser Wellenlänge, dient hier als zusätzliche Information über die Art der eluierten Verbindungen.

Zu Beginn der Trennung eluieren Verbindungen, die auch bei 254 nm stark absorbieren. Es könnte sich um Moleküle mit aromatischen Teilen handeln.

Im zweiten Abschnitt des Chromatogramms sind Peaks zu erkennen, bei denen die Absorption bei 254 nm wesentlich kleiner ist als die Absorption bei 190 nm. Hier ist an Carbonyl-Gruppen oder Säuren zu denken.

Gegen Ende der chromatographischen Trennung eluieren Verbindungen, die nur noch bei 190 nm eine nennenswerte Absorption aufweisen. Hierbei kann es sich um Verbindungen handeln, die als funktionelle Gruppen nur Hydroxyl- oder Aminogruppen besitzen.

Die Betrachtung der Veränderung des Brechungsindex im Verlauf der Trennung zeigt mehrere deutliche Peaks. Da diese Detektionsmethode eher ein massenproportionales Signal liefert, als die UV-Detektion, ist damit auch eher zu erkennen, wann substantielle Mengen an organischen Inhaltsstoffen eluiert werden.

Ergebnisse der Extraktionsversuche: Es gelang auf keine Art und Weise die Gesamtmenge an organischen Verbindungen vollständig von der Gesamtmenge an anorganischen Verbindungen zu trennen.

Bei Verwendung von Lösungsmitteln zur Extraktion zeigte nur der hochpolare Methylalkohol ein substantielles Vermögen organische Probenbestandteile zu lösen. Dies ist gleichzeitig mit einer beträchtlichen Auflösung anorganischer Anteile verbunden. Das Verhältnis von gelösten organischen Bestandteilen zu gelösten anorganischen Bestandteilen ist nur wenig günstiger als bei Wasser. Dabei werden in Wasser allerdings alle organischen Inhaltsstoffe der ETM1000 gelöst, in Methanol nur 70 %.

Bei der Festphasenextraktion kommt neben der generellen Frage der Adsorbierbarkeit der Probeninhaltsstoffe noch das Problem der anschließenden Desorption dazu. Bei Adsorption auf XAD-8 konnten die gesamten 40 % adsorbierbare Verbindungen mit Methanol desorbiert werden. Von Aktivkohle konnte bei zwar besserem Adsorptionsvermögen (72 %) fast nichts mehr desorbiert und so für weitergehende analytische Schritte verwendet werden.

Von anderen Autoren wurden Resultate in der gleichen Größenordnung beobachtet. Amy et al. [4] führten für biologisch gereinigtes Abwasser ebenfalls die Adsorption an XAD-8 bei pH=2 durch. Bei der Verwendung von Proben, die durch ein Membranfilter der Porenweite 0.45 μm filtriert waren, konnten sie zwischen 51.2 und 57.2 % des DOC adsorbieren. Collins, Amy und Steelink [17] untersuchten auch Flußwasser nach dieser Methode. Dabei wurden ebenfalls zwischen 50 und 60 % des DOC auf dem Harz zurückgehalten.

Versuche zur Adsorption an Aktivkohle führten Parkin und McCarty [63] durch. Allerdings nicht in der Anordnung der durchströmten Säule, sondern als Batch-Experiment. 77 % des organischen Materials war an Aktivkohle adsorbierbar.

Die im Vergleich zu eigenen Ergebnissen etwas höheren Werte sind damit zu erklären, daß die Autoren das gesamte Molmassenspektrum im biologisch gereinigten Abwasser und Flußwasser untersuchten.

Zielsetzung dieser Versuche war, ein Verfahren zur möglichst vollständigen Trennung der organischen und der anorganischen Inhaltsstoffe der niedermolekularen Fraktion eines Kläranlagenablaufs zu finden. Mittels Lösungsmittelextraktion und mittels Festphasenextraktion an XAD-8 und Aktivkohle war dies nicht zu bewerkstelligen.

Die organischen Inhaltsstoffe niederer molarer Masse in biologisch gereinigtem Abwasser lassen sich auf der Basis der Extraktionsversuche und des chromatographischen Verhaltens wie folgt charakterisieren.

Es handelt sich zum überwiegenden Teil um polare Verbindungen, denn nur in Wasser und Methanol waren substantielle Mengen des organischen Anteils löslich, wie sich bei Extraktionsversuchen der Trockenmasse zeigte.

Die Verbindungen, die auf XAD-8 adsorbiert werden können, sind mittels HPLC auf einer Kieselgelsäule und Acetonitril/Wasser als Eluentengemisch fraktionierbar. Verbindungen, die sehr schnell eluieren, nehmen einen großen Bereich dieses organischen Anteils ein. Sie sind dadurch gekennzeichnet, daß sie bei 190 nm und bei 254 nm UV-Licht absorbieren. Ebenfalls einen erheblichen Anteil haben Stoffe die nur bei 190 nm absorbieren. Diese werden sehr stark auf der Säule zurückgehalten.

Eine Chromatographie von wässrigen bzw. methanolischen Extrakten der ETM1000 war durch anorganische Probeninhaltsstoffe stark behindert.

Versuche mit Kieselgel: Kieselgel wurde nicht zur Aufkonzentrierung organischer Inhaltsstoffe verwendet, sondern lediglich zur weitergehenden Abtrennung der anorganischen von den organischen Stoffen. In dieser Versuchsreihe wurde jeweils nur ein geringes Volumen hochkonzentrierte wässrige Lösung der ETM1000, auf die Säule aufgegeben und dann mit Acetonitril unter Zusatz von 15 % Wasser eluiert.

Es ist sinnvoll ein mit Wasser mischbares Elutionsmittel zu nehmen, das aber nur eine geringe Affinität zu den anorganischen Probenbestandteilen hat. Dies gewährleistet eine höhere Rückhaltung der anorganischen Bestandteile auf der Säule. Acetonitril hat, wie in "Abtrennung mittels Lösungsmittelextraktion" auf Seite 57 gezeigt, diese Eigenschaft. Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, Acetonitril in Kombination mit einer geringen Menge Wasser einzusetzen, da Acetonitril allein die meisten der Abwasserinhaltsstoffe nicht gut löst. Der Ablauf wurde in Fraktionen aufgeteilt, um die Elution der organischen Verbindungen besser verfolgen zu können.

Mit der beschriebenen Versuchsanordnung wurde ein nahezu salzfreier Säulenablauf erhalten, der über 50 % des eingesetzten DOC enthielt. Die anorganischen Bestandteile und der Rest des DOC konnten mit Wasser als Elutionsmittel von der stationären Phase gewaschen werden. Dieser Teil des DOC war dann nicht mehr salzfrei. Daten zu diesem Versuch sind im Tabellenanhang zusammengestellt. Mit den so gereinigten organischen Inhaltsstoffen waren zum ersten Mal vernünftige flüssigkeitschromatographische Trennungen möglich. Auch die Derivatisierung der organischen Inhaltsstoffe mit Diazomethan für anschließende gaschromatographische Untersuchungen gelang erst mit den gereinigten Proben. Diese Versuche sind in späteren Kapiteln beschrieben.

Charakterisierung der niedermolekularen organischen Inhaltsstoffe

9. Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit

Die biologische Abbaubarkeit der Reststoffe in biologisch gereinigtem Abwasser ist eine wichtige Größe zur Bewertung ihrer Umweltbelastung. Stoffe, die gar nicht, nur schwer oder nur durch speziell adaptierte Mikroorganismen abbaubar sind, müssen als grundsätzlich belastend für ein Gewässer angesehen werden, weil sie sich darin anreichern können.

Es gibt eine Reihe von Techniken zur Überprüfung der biologischen Abbaubarkeit. Halt- rich [29] bietet eine gute Zusammenstellung häufig verwendeter Methoden. Eine weit verbreitete Methode ist der OECD-Confirmatory Test, der z. B. zur Bestimmung der Abbaubarkeit von Tensiden in Waschmitteln vorgeschrieben ist. Dabei wird die Abbaubarkeit durch Dosierung der betreffenden Verbindung in den Zulauf einer Modell-Kläranlage untersucht. Die Abbaurate ermittelt man durch Bestimmung der Konzentration der Substanz im Zulauf und im Ablauf. Sie kann auch durch Bestimmung einer typischen Eigenschaft der Substanz (z. B. Methylenblau-Aktivität) bestimmt werden. Die Bildung von Metaboliten ist bei solchen substanzspezifischen Bestimmungen nicht berücksichtigt. Diese erfaßt man, wenn summarische Meßgrößen, zum Beispiel der gelöste organisch gebundene Kohlenstoff (DOC), der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) oder der biologische Sauerstoffbedarf (BSB) verwendet werden. Die für diesen Test benötigten hohen Konzentrationen an organischen Verbindungen im Zulauf lassen ihn für die in dieser Arbeit betrachteten Spuren von Ablauf-Inhaltsstoffen (wenige mg/l DOC) problematisch erscheinen.

In jüngster Zeit wurde auch von Versuchen berichtet, die biologische Abbaubarkeit durch die Verwendung der Aktivkohle-Testfilter nach Sontheimer [30] zu bestimmen. Dieses Verfahren benötigt ebenfalls relativ große Substanzmengen.

Ein brauchbarer anderer Ansatz zur Beurteilung der biologischen Abbaubarkeit ist es, das Verhältnis von BSB zu CSB bei den betreffenden Stoffen zu untersuchen. Der maximale Wert für dieses Verhältnis wird durch Verwendung von gut abbaubaren Testsubstanzen erhalten (z. B. beträgt das Verhältnis von biologischem Sauerstoffbedarf nach fünf Tagen (BSB_5) zum CSB für eine Mischung von Glucose und Glutaminsäure rund 0.75). Für kommunales Abwasser wird etwa 0.5 angegeben.

Für diesen Ansatz werden geringere Stoffmengen benötigt, er wurde aus diesem Grund in der vorliegenden Arbeit verwendet.

9.1 Bestimmung des biologischen Sauerstoffbedarfs

Für die Bestimmung des BSB erschien es unnötig, die Probenvorbereitung nach dem in Kapitel " 7. Gewinnung einer großen Menge niedermolekularer Inhaltsstoffe (ETM1000)" auf Seite 55 beschriebenen Verfahren bis zur Gewinnung der Trockenmasse ETM1000 durchzuführen. Die Aufarbeitung wurde nach der Fraktionierung in molare Massenberei-

che und 20 - 40-facher Konzentrierung am Rotationsverdampfer abgebrochen. Bei einer Probe wurde zusätzlich der Elektrodialyseschritt durchgeführt.

Für die Bestimmung des biologischen Sauerstoffbedarfs existieren mehrere Meßmethoden. In der vorliegenden Arbeit wurde die "Sapromat-Methode" unter Zusatz von Allylthioharnstoff (dieser unterdrückt die Ammoniumoxidation) verwendet. Sie ist einfach zu handhaben und erlaubt eine kontinuierliche Messung des Sauerstoffbedarfs. Es wurde sowohl der übliche BSB₅ als auch der biologische Sauerstoffbedarf nach 20 Tagen (BSB₂₀) gemessen. Der BSB₅ ist bei der Untersuchung von Abwasser üblich, der BSB₂₀ wird oft verwendet als Maß für die Abbaubarkeit im Gewässer.

Bei der Aufkonzentrierung der Proben ohne Elektrodialyseschritt wurden zwangsläufig auch hohe Salzkonzentrationen erhalten. Ein Zusatz bekanntermaßen gut abbaubarer Verbindungen zu einem Ablaufkonzentrat niedermolekularer organischer Inhaltsstoffe (DEV-Standard und Probe im Volumenverhältnis 1 + 1), zeigte jedoch, daß der biologische Abbau auch in dieser Matrix funktioniert.

BSB/CSB-Verhältnis: In Tabelle 18 sind Ergebnisse dargestellt. Bei den Meßlösungen aus dem Ablauf der kommunalen Kläranlage Leopoldshafen war das Verhältnis von BSB₅ zum CSB kleiner als 0.1. Der niedermolekulare Anteil der organischen Inhaltsstoffe ist offenbar sehr schwer biologisch abbaubar. Das Verhältnis BSB₂₀ zu CSB ist etwa 0.1 was bedeutet, daß diese Stoffe auch in Gewässern auf biochemischem Weg nur schwer oxidierbar sind. Zur Überprüfung der Anwesenheit eines bakterientoxischen Stoffes wurde eine Probe mit 50 vol.% des DEV-Standards (Glucose/Glutaminsäure) für BSB-Messungen versetzt und diese parallel zum reinen Standard bebrütet. Man erhielt bei beiden Ansätzen praktisch das gleiche BSB/CSB-Verhältnis. Eine toxische Hemmung liegt also nicht vor.

Tabelle 18. Untersuchungen zum biologischen Sauerstoffbedarf

| | DOC _{vor} (mg/l) | DOC ₂₀ (mg/l) | BSB ₅ (mg/l O ₂) | BSB ₂₀ (mg/l O ₂) | CSB _{vor} (mg/l O ₂) | BSB ₂₀ /CSB _{vor} |
|--|------------------------------|-----------------------------|--|---|--|---------------------------------------|
| Leo < 1000 D | 32 | 27 | 4 | 9 | 83 | 0.11 |
| Leo < 1000 D elektrodialysiert | 25 | | 1 | 5 | 66 | 0.07 |
| Leo < 1000 D + 50 % Standard | 83 | 16 | 105 | 185 | 233 | 0.79 |
| DEV-Standard | 123 | 5 | 225 | 225 | 303 | 0.74 |

¹³ CSB-Werte sind auf der Basis DOC/0.38 errechnet.

DOC/CSB Verhältnis: Aus diesem Verhältnis ist eine Aussage über den mittleren Oxidationsgrad der organischen Inhaltsstoffe möglich.

Eigene Versuche, bei denen die Konzentration des DOC und der chemische Sauerstoffbedarf bestimmt wurden, ergaben als Quotient aus CSB und DOC den Wert 0.38. Koppe und Stozek [41] geben für diesen Faktor in biologisch gereinigtem Abwasser eine Spannweite von 0.29 bis 0.40 an. Bei Reinhard [68] variiert er zwischen 0.33 und 0.43. Diese Zahlen zeigen, daß die organischen Verbindungen in biologisch gereinigtem Abwasser einen mittleren Oxidationsgrad besitzen. Die Größe des Faktors entspricht Kohlenhydraten oder Essigsäure. Werte, die in Oberflächengewässern gefunden wurden, liegen in der gleichen Größenordnung.

DOC-Elimination: Die Abnahme des DOC bei den untersuchten Ablauffraktionen betrug ca. 20 %, was im Vergleich zum BSB/CSB-Verhältnis überraschend viel ist. Ein möglicher Grund ist, daß sich schwerlösliche Stoffe bilden, bzw. eine Adsorption an die Biomasse stattfindet. Eine andere Erklärung könnte sein, daß der festgestellte geringe Abbau eine Stofffraktion betrifft, die noch verhältnismäßig gut abbaubar ist, und von der ein größerer Teil in die Biomasse eingebaut wird. Die hohe DOC-Elimination bei dem Ansatz Probe/Standard ist mit dem Abbau der Inhaltsstoffe des Standards zu erklären.

Vergleich mit Literaturdaten: Es sind in der Literatur einige Arbeiten zu diesem Thema zu finden. Die hier referierten Veröffentlichungen befassen sich mit biologisch gereinigtem kommunalem Abwasser. Allerdings sei einleitend bemerkt, daß der Vergleich der Daten mit Vorsicht vorzunehmen ist, da häufig experimentelle Rahmenbedingungen nicht mit angegeben wurden.

Lahl und Burbaum [42] fanden für das BSB/CSB-Verhältnis Werte zwischen 0.12 und 0.18. Chudoba [13] gibt BSB-Werte unter 5 mg/l O₂ für lösliche Verbindungen und ein BSB/CSB Verhältnis von unter 0.1 an. Bei Legube und Doré [44] (0.25-0.33), sowie bei Koppe und Stozek [41] (0.23-0.48) werden etwas höhere Werte angegeben, aber auch diese erreichen nicht den Wert 0.75, der für bekanntermaßen gut abbaubare Verbindungen bestimmt werden kann.

Versuche von Haltrich und Sontheimer [30] mit einem Testbettfilter erbrachten die Reduktion des DOC eines biologisch gereinigten Abwassers um 30 %.

Parkin und McCarty [63] verfolgten die Abbauleistung einer biologischen Klärstufe anhand des gelösten organischen Stickstoffs (DON). Im Ablauf der biologischen Stufe fanden sie, daß 40 bis 100 % der stickstoffhaltigen Verbindungen (im Mittel 63 %) nicht mehr weiter biologisch abbaubar waren.

Allgemein gesehen stimmen die hier referierten Ergebnisse gut mit den Resultaten dieser Arbeit überein.

9.2 Interpretation der Ergebnisse

Die relativ schlechte biologische Oxidierbarkeit von Verbindungen, die in den Abläufen von Kläranlagen mit biologischer Behandlungsstufe vorkommen, zeigt, daß die biologischen Reinigungsstufen der untersuchten Kläranlagen sehr effektiv arbeiten. Daß überhaupt noch organische Inhaltsstoffe das Belebungsbecken verlassen, liegt eher in der Natur der Verbindungen selbst, das heißt, sie sind tatsächlich auf biologischem Weg nicht metabolisierbar, als an den Rahmenbedingungen für den Abbau in der biologischen Stufe.

Ein wesentlicher Aspekt zur Beurteilung der Reststoff-Problematik ist die Aufklärung der Herkunft dieser Verbindungen. Durch die Bakterien des Belebungsbeckens werden nicht nur Abbauleistungen, sondern auch Syntheseleistungen vollbracht. Umfangreiche Untersuchungen zur Syntheseleistung von Bakterien im Belebtschlamm führten Chudoba und Mitarbeiter [13], [14], [15], [31] durch. Er schätzt den Anteil komplett neu gebildeter Verbindungen an der biologisch nicht abbaubaren Komponente eines Kläranlagenablaufs auf 1 % bis 10 %. In Versuchen mit Einzelsubstanzen konnte er zeigen, daß der "nicht abbaubare CSB" eine lineare Funktion der zugegebenen organischen Stoffmenge ist, während der BSB praktisch konstant bleibt. Die Menge der nicht abbaubaren Verbindungen, die gebildet werden, war höher, wenn sich die Bakterien in der Log-Phase, d. h. in einer Phase starken Wachstums, befanden, als wenn das System in stationärem Zustand betrieben wurde, bei dem die Bakterienmasse nur geringfügig zunimmt. Dies deutet darauf hin, daß wirklich der bakterielle Metabolismus für die Bildung refraktärer Verbindungen ursächlich ist. Hejzlar untersuchte zusammen mit Chudoba [31] den hochmolekularen Anteil dieser Verbindungen. Zwischen 30 und 50 % entfielen auf Polymere von im einzelnen identifizierten Zuckern, Aminozuckern und Aminosäuren, also typischen Hüll-Bestandteilen der Bakterien. Diese Verbindungen wurden sowohl bei der Verwendung von künstlichem Abwasser für den Zulauf zur biologischen Stufe, als auch bei der Verwendung von "echtem" Abwasser nachgewiesen.

Untersuchungen, die Teramachi und Takakuwa [81] durchführten, waren in ihren Ergebnissen mit denen des Arbeitskreises um Chudoba vergleichbar. Auch sie fanden ein direkt proportionales Verhältnis von Ausgangs-CSB und biologisch nicht mehr weiter abbaubarem CSB im Abwasser nach der biologischen Stufe. In Übereinstimmung mit Chudoba vermuten sie, daß der biologisch nicht weiter abbaubare CSB-Anteil weniger aus der Autoxidation, d. h. dem Zellerfall der Bakterien, herrührt, sondern aus dem bakteriellen Metabolismus stammt. Allerdings deuten die Versuche der beiden auch darauf hin, daß bereits im Kläranlagenzulauf eine gewisse Menge an Verbindungen vorhanden ist, die sich der biologischen Oxidation entziehen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß zwischen 60 % und 90 % der organischen Inhaltsstoffe des untersuchten biologisch behandelten Abwassers refraktären Charakter haben. Diese Stoffe können in 4 Gruppen eingeteilt werden:

- Stoffe, die schon im Rohabwasser vorhanden sind und nicht abgebaut werden.

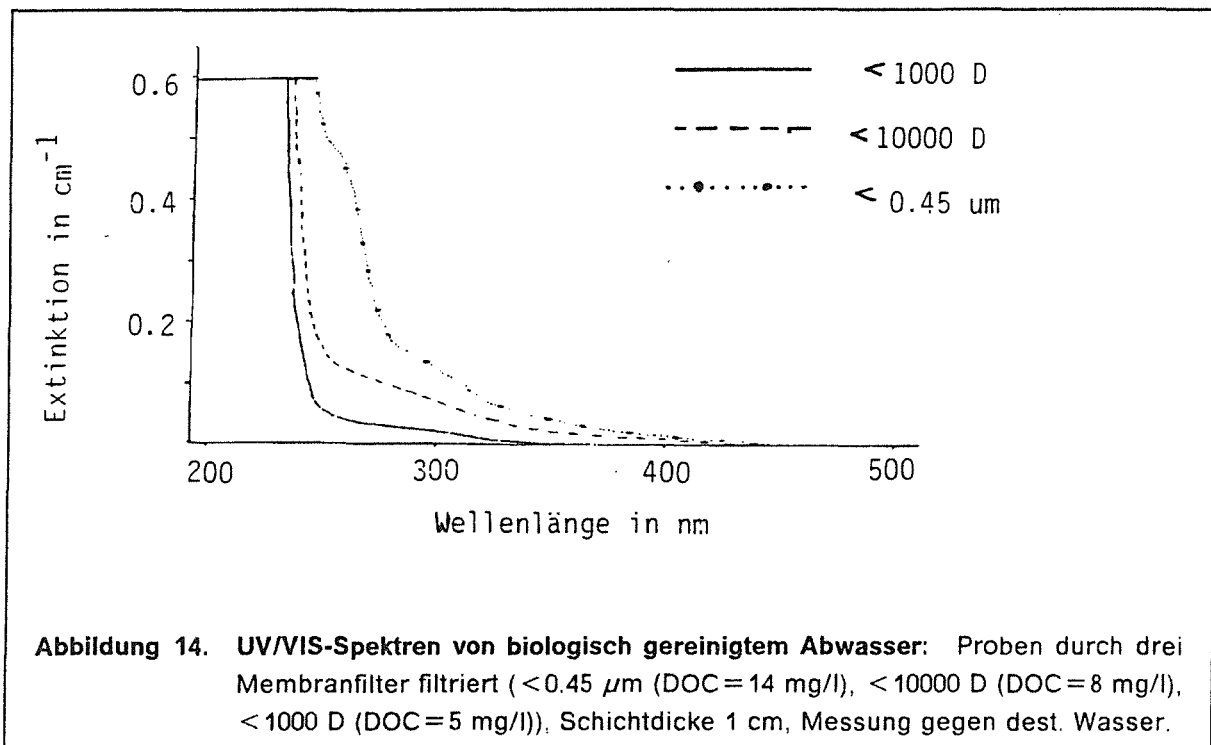
- Stoffe, die nur unvollständig metabolisiert wurden.
- Stoffe, die als Metabolite des biologischen Abbaus entstehen.
- Stoffe, die bei der Autolyse von Bakterien entstehen.

Verbindungen, die zu den Klassen eins und zwei zählen, sind vermutlich zum größten Teil anthropogenen Ursprungs, während Verbindungen der Punkte drei und vier dem System der biologischen Abwasserreinigung inhärent sind. Daß auch diese Verbindungen sich über alle Substanzklassen und den gesamten Molmassenbereich erstrecken, zeigen die verschiedenen Versuche mit künstlichem Abwasser, die von einigen Autoren [25], [28], [46], [47] durchgeführt wurden.

10. Untersuchung der Lichtabsorption

Biologisch gereinigtes Abwasser ist ein komplex zusammengesetztes System. Hingegen liefert die Spektroskopie im ultravioletten, sichtbaren und infraroten Bereich die eindeutigsten Aussagen bei der Untersuchung einzelner Stoffe. Dennoch kann bei ihrer Anwendung auf Abwasser aus den erhaltenen Ergebnissen auf die Art der gelösten Verbindungen geschlossen werden. Sie ist in diesem Fall als "Fingerprint"-Methode für die untersuchte Probe zu sehen.

Zur UV/VIS-spektroskopischen Untersuchung wurden Kläranlagenabläufe um den Faktor zwei aufkonzentriert und mittels Membranfiltration in verschiedene Massenbereiche fraktioniert. In Abbildung 14 sind UV/VIS-Spektren von drei Fraktionen eines Kläranlagenablaufs dargestellt (Filter mit $0.45 \mu\text{m}$, 10000 D, 1000 D Porenweite). Die Konzentrationen an gelöstem organisch gebundenem Kohlenstoff lagen bei 14, 8 und 5 mg/l. Untersuchungen an zwei weiteren Kläranlagen ergaben ein ähnliches Bild. Der Spektrenverlauf im sichtbaren Bereich ist bis zu einer Obergrenze von 500 nm aufgezeichnet. Im weiteren Verlauf bis 800 nm war keine meßbare Absorption mehr zu beobachten. Die Gesamtprobe ($< 0.45 \mu\text{m}$) und die Fraktion $< 10000 \text{ D}$ erschienen mit bloßem Auge schwach gelb (Schichtdicke war 1 cm). Entsprechend war in diesen Spektren um 400 nm noch eine schwache Lichtabsorption zu beobachten. Die niedermolekulare Fraktion war farblos.



Bei allen untersuchten Fraktionen steigt die Lichtabsorption ab 370 nm an. Bei 290 nm ist ein Nebenmaximum angedeutet, das bei der Aufarbeitung $< 1000 \text{ D}$ in einen plateauför-

migen Verlauf des Spektrums und den Endanstieg bei 240 nm mündet. Bei den Fraktionen $< 0.45 \mu\text{m}$ und $< 10000 \text{ D}$ ist ein zweites Nebenmaximum bei 260 nm zu erkennen. Zwischen der niedermolekularen und der hochmolekularen Fraktion bestehen Unterschiede im Spektrenverlauf, die nicht allein mit der unterschiedlichen Konzentration an gelöstem organischem Material erklärt werden können. Gekennzeichnet sind diese Unterschiede vor allem durch längerwellige Absorptionen (bis in den VIS-Bereich) für die hochmolekularen Anteile, die damit über ausgedehntere chromophore Systeme (evtl. aromatische Gruppen) verfügen. Der Endanstieg bei 240 nm deutet bei allen Fraktionen auf Inhaltsstoffe mit Carbonyl-, Carboxyl- oder Aldehydfunktionen hin. Alkoholische Gruppen und Aminogruppen absorbieren erst bei noch kürzeren Wellenlängen und können damit im gemessenen Spektrum nicht mehr erkannt werden.

Bestimmung des SAK_{254} : Die Messung der Intensität der Lichtabsorption bei einer Wellenlänge wird in der Wasseranalytik ebenso als Indikator für die Belastung von Wasser mit organischen Verbindungen verwendet, wie andere summarische Meßgrößen (CSB, BSB₅). Die Angabe der Werte erfolgt als spektraler Absorptionskoeffizient (SAK), das heißt, als Quotient aus eintretender und austretender Lichtintensität bei einer durchstrahlten Schichtdicke von einem Meter. Als Index wird die verwendete Wellenlänge mit angegeben.

Der SAK_{254} von drei Kläranlagenabläufen lag im Mittel bei 13 m^{-1} für Proben, die durch ein Membranfilter der Porenweite $0.45 \mu\text{m}$ filtriert wurden. Bei einem Porendurchmesser von 1000 Dalton als Ausschlußgrenze lag der SAK_{254} im Mittel bei 2.6 m^{-1} . Die Daten zweier Kläranlagen waren fast identisch. Bei der dritten Anlage wurde in allen Massenbereichen ein höherer SAK beobachtet.

Tabelle 19. Extinktionsmoduln bei 254 nm bezogen auf den DOC: Werte von drei kommunalen Kläranlagen. Jeweils gesamter Massenbereich und niedermolekulare Anteile.

| | Leopoldshafen | Neureut | KfK |
|----------------------|--|--|--|
| | Extinktionsmodul in $\text{m}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{l}$ | Extinktionsmodul in $\text{m}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{l}$ | Extinktionsmodul in $\text{m}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{l}$ |
| $< 0.45 \mu\text{m}$ | 1.95 | 1.51 | 1.86 |
| $< 1000 \text{ D}$ | 0.4 | 0.9 | 1.4 |

In Tabelle 19 ist der Extinktionsmodul bezogen auf den DOC (gemessen bei 254 nm) des $< 0.45 \mu\text{m}$ -Filtrates dem Extinktionsmodul im niedermolekularen Bereich gegenüber gestellt. Man erkennt, daß der Extinktionsmodul im niedermolekularen Bereich in allen Fällen niedriger liegt als bei Betrachtung des gesamten molaren Massenbereichs. Dieser Befund bedeutet, daß chromophore Systeme in Molekülen höherer molarer Masse in größerem Umfang vorhanden sind als bei Verbindungen mit niedriger molarer Masse.

Im Vergleich zu Rheinwasser, wo bei Neuburgweier ein SAK_{254} von 6.6 m^{-1} (Jahresmittel nach [5]) gemessen wurde, hatten die untersuchten Kläranlagenabläufe etwa doppelt so hohe Werte (SAK_{254} des nicht fraktionierten Ablaufs zwischen 10.4 m^{-1} und 17.1 m^{-1}). Das kommunale Abwasser das in den Rhein eingeleitet wird, erfährt dabei eine Verdünnung um mindestens den Faktor 100. Sein Beitrag zum gemessenen SAK_{254} im Rhein wird also nur gering sein.

Der niedermolekulare Bereich des biologisch gereinigten Abwassers wurde auch infrarotspektroskopisch untersucht. Verwendung fand die nach Kapitel " 7. Gewinnung einer großen Menge niedermolekularer Inhaltsstoffe (ETM1000)" auf Seite 55 hergestellte ETM1000 als KBr-Pressling. Dabei war vor allem im Bereich von 1100 cm^{-1} eine intensive Absorption zu beobachten, die vermutlich durch Sulfat, Phosphat oder Silikat verursacht wird. Daß anorganische Inhaltsstoffe das Spektrum bestimmen, ist deshalb zu vermuten, weil diese noch 90 % der ETM1000 ausmachen.

Bei der Untersuchung eines methanolischen- bzw. Chloroformextraktes konnten allerdings bereits deutlich Banden erkannt werden, die durch organische Inhaltsstoffe verursacht werden. Sowohl im Methanol- als auch im Chloroformextrakt war ein breiter, strukturierter Peak zwischen 3700 cm^{-1} und 3000 cm^{-1} zu sehen. In diesem Bereich absorbieren OH- und NH-Schwingungen. Strukturierungen deuten darauf hin, daß unterschiedliche Bindungsformen vorliegen. Im Methanolextrakt war weiterhin eine intensive Absorption bei 1700 cm^{-1} , ebenfalls strukturiert, zu erkennen (dort absorbieren Carboxylgruppen und alkoholische Gruppen); daneben zwei Banden bei 2900 cm^{-1} , wo C-H-Schwingungen absorbieren. In diesem Bereich waren beim Chloroformextrakt drei Banden zu sehen. Beide Extrakte hatten in ihren Spektren noch mehrere Banden im Bereich unter 1500 cm^{-1} , die im einzelnen nicht zugeordnet wurden.

11. Untersuchung definierter Stoffgruppen

Bei der Untersuchung von Abwasser werden in großem Umfang stoffgruppenspezifische Methoden verwendet. Damit ist es möglich, ein Abwasser zu charakterisieren, auch wenn man über die Identität der einzelnen Stoffe nur unzureichend informiert ist.

Die in diesem Zusammenhang am häufigsten verwendete Größe, die Menge aller gelösten organischen Inhaltsstoffe, ausgedrückt als Menge gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC), wird in diesem Kapitel nicht behandelt. Dieser Parameter ist in allen Kapiteln dieser Arbeit ausreichend charakterisiert. Behandelt werden die unten aufgezählten Bereiche:

- Stickstoffhaltige Verbindungen
 - DON (hier als organischer Anteil des Kjeldahl-Stickstoffs)
 - Aminogruppen
 - freie und gebundene Aminogruppen
 - Aminosäuren (DC, HPLC)
 - Kernbasen
- Kohlenhydrate
 - Als Anthron-positive Substanz
 - Ergänzend zur Anthron-Methode wurde versucht, einzelne Kohlenhydrate mittels DC und HPLC nachzuweisen.
- Organisch gebundener Schwefel
- Methylenblau-aktive Substanzen
- Bismut-aktive Substanzen

11.1 Stickstoffhaltige Verbindungen

Die Bestimmung des zum DOC analogen Parameters für Stickstoff, der gelöste organisch gebundene Stickstoff (DON), wird in der Praxis als Bestimmung des "Kjeldahl-Stickstoffes" durchgeführt.

Erfasst werden fast alle organischen Bindungsformen des Stickstoffs (Stickstoff in Heterozyklen mit geringerem Wirkungsgrad). Der organisch gebundene Stickstoff wird in Ammoniumstickstoff umgewandelt und als solcher bestimmt. Von den hauptsächlich anorganischen Bindungsformen Nitrit, Nitrat und Ammonium, ist nur die letztere für die Bestimmung relevant, da Ammonium entweder zuvor quantitativ bestimmt oder abgetrennt werden muß.

11.1.1 Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffs

Die Arbeitsvorschrift für diese Untersuchungen ist als "American Standard Method No. 3690" in [3] publiziert.

Zunächst wurden Bestimmungen des DON im membranfiltrierten ($< 0.45 \mu\text{m}$) Ablauf der Kläranlage Leopoldshafen durchgeführt. Bei sechs untersuchten Proben lag der Mittelwert bei $0.83 \pm 0.2 \text{ mg/l N}$. Extremwerte waren 0.58 mg/l N und 1.15 mg/l N .

Im niedermolekularen Bereich wurden vier Messungen durchgeführt. Hier war das Ergebnis $0.25 \pm 0.05 \text{ mg/l N}$ (Bereich: $0.17 - 0.32$).

Die Verteilung des DON über die molare Masse wurde an drei Kläranlagen untersucht. In Tabelle 20 sind Mittelwerte dargestellt. Die einzelnen Meßwerte finden sich im Tabellenanhang. Durchgeführt wurde die Fraktionierung nach molaren Massen mittels Membranfiltration. Dabei wurde nach dem gleichen Schema vorgegangen, wie es in Kapitel "Molmassenverteilung mittels Diafiltration" auf Seite 36 für die Verteilung des DOC über die molare Masse beschrieben ist. Es ist aus der Tabelle deutlich zu sehen, daß etwa die Hälfte des Stickstoffs in Molekülen gebunden vorliegt, die eine molare Masse oberhalb 10000 Dalton haben. Dies ist bemerkenswert, da entsprechende Untersuchungen für den DOC zeigen, daß die Mehrzahl organischer Verbindungen im Massenbereich unterhalb 10000 D liegen. Der niedermolekulare Bereich ($< 1000 \text{ D}$) entspricht mit 30 % etwa dem bei der Verteilung des DOC gefundenen Wert.

Tabelle 20. Verteilung des DON über die molare Masse: Mittelwerte von drei Kläranlagen

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | $1000 - 10000$ | $10000 - < 0.45 \mu\text{m}$ |
|---------------------------|----------|----------------|------------------------------|
| Verteilung des DON in % | 30 | 20 | 50 |

In Tabelle 21 sind Mittelwerte für die DOC/DON-Verhältnisse aufgelistet. Betrachtet man das Verhältnis DOC/DON über die molare Masse, so zeigt sich, daß im Bereich $< 1000 \text{ D}$ und im Bereich 1000 bis 10000 D etwa die gleichen Verhältnisse herrschen. Die Quotienten liegen hier im Mittel bei 9.0 bzw. 10.7. Wenn man den Bereich ab 10000 D molarer Masse anschaut, so hat der Quotient hier einen Mittelwert bei 4.8. Er liegt somit deutlich niedriger als in den anderen beiden Bereichen.

Tabelle 21. Verhältnis DOC/DON über die molare Masse: Mittelwerte von drei Kläranlagen

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | $1000 - 10000$ | $10000 - < 0.45 \mu\text{m}$ |
|---------------------------|----------|----------------|------------------------------|
| Verhältnis DOC/DON | 9.0 | 10.7 | 4.8 |

Die Untersuchungen zeigen, daß der Bereich der Makromoleküle in großem Umfang durch stickstoffhaltige Verbindungen gebildet wird. Im Tabellenanhang sind die C/N Verhältnisse der wichtigsten Aminosäuren und Nukleotide aufgeführt. Diese liegen in derselben Größenordnung wie die gemessenen DOC/DON Quotienten für den Massenbereich oberhalb 10000 D in Kläranlagenabläufen. Beispielsweise ist der Wert für Glutaminsäure 4.3 und für Phenylalanin 7.7.

Literaturdaten zur Verteilung des DON : Betrachtet man die Verteilung des DON über die molare Masse, so sind hier wesentlich weniger Daten publiziert, als über die entsprechende Verteilung des DOC. Insbesondere wurden in der Literatur keine vergleichbaren Daten gefunden, die mittels Membranfiltration gewonnen wurden. Zwei Autoren veröffentlichten Werte, die mittels Gelchromatographie als Fraktionierungstechnik bestimmt wurden. Auf die Problematik der Vergleichbarkeit von Membranfiltration und Gelchromatographie sei hier nochmals hingewiesen (vgl. "Gelchromatographie" auf Seite 34). In Tabelle 22 sind die Ergebnisse von Keller [38] dargestellt. Die Ergebnisse von Parkin [63] sind im Tabellenanhang aufgelistet.

Tabelle 22. Verteilung des DON über die molare Masse: Daten nach Keller

| Molmassenbereich (Dalton) | < 165 | 165-800 | 800-1800 | > 1800 |
|---------------------------|-------|---------|----------|--------|
| DON in % | 7 | 27 | 32 | 34 |

Keller findet, vereinfacht ausgedrückt, eine gleichmäßige Verteilung des DON über die von ihm ausgewählten molaren Massenbereiche. Stickstoffhaltige Verbindungen in biologisch gereinigtem Abwasser haben jedoch einen sehr polaren Charakter, so daß eine Analyse der Verteilung der molaren Masse mittels Gelchromatographie bei dieser Gruppe von Verbindungen zumindest problematisch erscheint.

11.1.2 Bestimmung der Aminogruppen

Für die Bestimmung der Aminogruppen existiert mit Ninhydrin ein sehr empfindliches Reagenz. Zwei Moleküle Ninhydrin reagieren mit einer Aminogruppe zu einem intensiv violetten Farbstoff. Ninhydrin reagiert aber auch mit Ammoniumionen, die in Abwasser und in biologisch gereinigtem Abwasser in substantieller Menge vorhanden sind. Diese müssen also vor der Bestimmung der Aminogruppen entweder quantitativ bestimmt, oder selektiv entfernt werden.

Versuche, Ammoniumionen in alkalischem Milieu mit Stickstoff auszustrippen, brachten erst ab pH = 12 reproduzierbar gute Ergebnisse. Koppe und Stozek ([41], S. 212) zeigten,

daß selbst bei pH=11 der Stripp-Prozeß nur sehr langsam vor sich geht. Bei diesem Verfahren ist mit Veränderungen des organischen Anteils zu rechnen.

Als günstiger hat sich erwiesen, die Ammoniumionen mittels Wasserdampfdestillation im schwach-alkalischen Bereich abzutrennen.

Bei der Bestimmung des gesamten, in Form von Aminogruppen gebundenen Stickstoffs ist ein hydrolytischer Schritt notwendig, um auch gebundene Aminogruppen (z. B. Amide) zu erfassen. Nur freie Aminogruppen reagieren mit Ninhydrin. Da bei der saueren Hydrolyse aber auch Ammoniumionen abgespalten werden können, war es notwendig, diesen Prozeß hinsichtlich des Stickstoffs zu bilanzieren. Dafür wurde der Kjeldahlstickstoff-Gehalt der ETM1000 bestimmt, ohne zuvor Ammoniumionen durch Wasserdampfdestillation zu entfernen. Die Menge an NH_4^+ wurde in einem zweiten Ansatz mit Dichlorisocyanurat und Salizylat nach DEV E 5 [18] bestimmt. Ninhydrin und Nessler's Reagenz hatten sich als ungeeignet zur selektiven Bestimmung von Ammonium erwiesen, da mit diesen Reagenzien auch Aminosäuren erfaßt werden. Bei der Bestimmung nach DEV reagieren Aminosäuren nur ganz schwach. Norleucin und Lysin erbrachten in einem Blindversuch, in einer Konzentration von 10 mg/l N eingesetzt, nur eine scheinbare Konzentration von 0.4 mg/l bzw. 0.3 mg/l $\text{NH}_4^+\text{-N}$. Nach saurerer Hydrolyse wurde erneut der Gehalt an Ammoniumionen bestimmt. Wie aus Tabelle 23 ersichtlich ist, werden tatsächlich Ammoniumionen in beträchtlichem Umfang während der Hydrolyse gebildet. Als Konsequenz des oben Gesagten kann festgestellt werden, daß ein erheblicher Anteil der niedermolekularen stickstoffhaltigen Verbindungen unter den Bedingungen der saueren Hydrolyse NH_4^+ abspalten. Leidner et al. [46] stellten bei der Untersuchung eines künstlichen, biologisch gereinigten Abwassers das gleiche fest.

Als Quellen kommen z. B. Amide und Nukleotide in Frage, die bei der saueren Hydrolyse in gewissem Umfang auch desaminiert werden (Lönneberg/Kappi [49]).

Tabelle 23. Bildung von Ammonium bei Hydrolyse der ETM1000

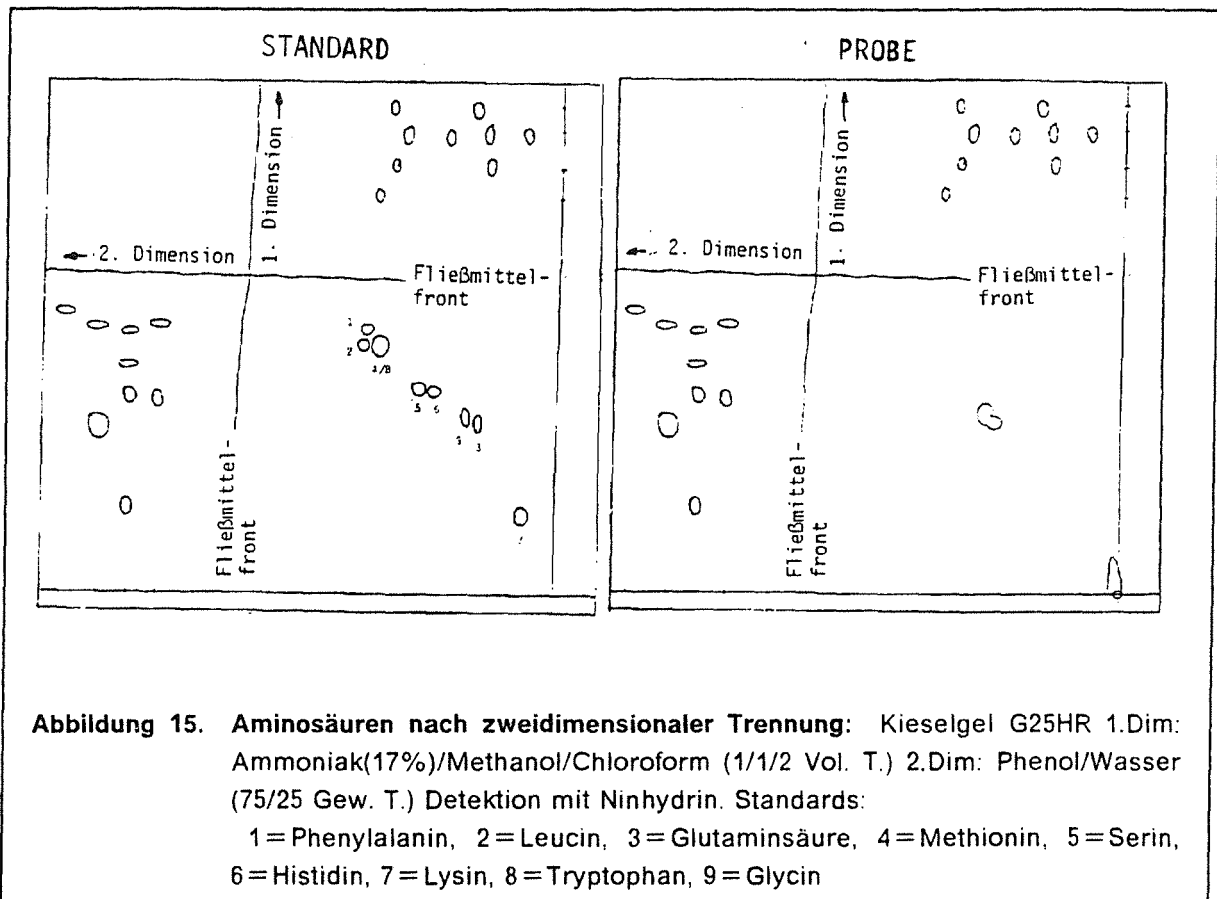
| | |
|---|---------------------------|
| DON + $\text{NH}_4^+\text{-N}$ | 0.48 % der ETM1000 |
| $\text{NH}_4^+\text{-N}$ vor Hydrolyse | 0.105 % |
| $\text{NH}_4^+\text{-N}$ nach Hydrolyse | 0.345 % |

In einer konzentrierten wässrigen Lösung der ETM1000 wurden nach Entfernung der Ammoniumionen die freien Aminogruppen mit Ninhydrin bestimmt. Vor der Hydrolyse wurden 11 $\mu\text{g/l}$ Aminostickstoff gemessen. Nach saurerer Hydrolyse verdoppelte sich dieser Wert auf 25 $\mu\text{g/l}$. Diese Werte sind bereits umgerechnet auf die Konzentration im Kläranlagenablauf. Rund 10 % des niedermolekularen Anteils des DON können als freie und gebundene Aminogruppen zugeordnet werden.

11.1.3 Aminosäuren

11.1.3.1 Aminosäureanalytik mittels Dünnschichtchromatographie

Qualitativ wurde zunächst versucht, Aminosäuren mittels Dünnschichtchromatographie nachzuweisen.



Die Inhaltsstoffe eines wässrigen Extraktes der hydrolysierten ETM1000 wurden mit zwei verschiedenen Fließmitteln (Phenol/Wasser 75/25 und Ammoniak/Methanol/Chloroform 1/2/2) auf Kieselgelplatten zusammen mit Vergleichssubstanzen zweidimensional chromatographiert. Abbildung 15 zeigt die Trennung von Standard-Aminosäuren und des Extraktes. Pro Aminosäure wurden ca. 30 μg aufgetragen. Bei der Probe wurden 3.5 μg (berechnet als DOC) aufgegeben. Genaue Angaben zum Arbeitsablauf sind in Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123 beschrieben. Bei der Probe ergaben sich neben einem nicht aufgetrennten Areal im Bereich des Startpunktes zwei Flecke (Rf-Werte: 0.53/0.58 und 0.41/0.45), die jedoch mit keiner der Standardsubstanzen übereinstimmten. Die Tatsache, daß überhaupt zwei Flecke erhalten wurden, ist bei der geringen Auftragsmenge im Vergleich zu der Menge der Standards schon bemerkenswert. Das heißt nicht, daß nur zwei ninhydrinpositive Verbindungen in der ETM1000 vorhanden sind. Es ist sehr wahrscheinlich, daß pro Fleck mehrere Substanzen vorhanden

sind. Aber diese zeigen zumindest ein chromatographisch ähnliches Verhalten, das heißt, sie sind möglicherweise auch strukturell ähnlich. Weiterhin ist damit zu rechnen, daß einige der mit Ninhydrin nachweisbaren Verbindungen sich auf der Platte unterhalb der Nachweisgrenze befinden.

11.1.3.2 Aminosäureanalytik mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie

Zum empfindlicheren Nachweis und um Matrixproblemen zu begegnen, wurden die Aminosäuren als Dansylderivate chromatographiert. Derivatisierungsvorschrift und Gradientenprogramm sind in Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123 beschrieben. Drei Proben (ETM1000, ETM1000a, ETM1000b) wurden hydrolysiert und der wässrige Extrakt der angegebenen Derivatisierung unterworfen. Die dabei gefundenen Konzentrationen sind im einzelnen im Tabellenanhang in Tabelle 94 auf Seite 167 aufgelistet. Die unten aufgeführten Konzentrationen stellen Mittelwerte der drei Messungen dar. Die beobachteten Konzentrationsschwankungen in den drei Proben sind z. T. beträchtlich (Faktor 10 bis 100), die Zusammensetzung des Aminosäurespektrums ist nicht konstant.

Im einzelnen wurden in der ETM1000 folgende Aminosäuren gefunden (Ergebnisse umgerechnet in nmol Aminosäure pro Liter Ablauf)

| | | | |
|--|------------|-----------------------|------------|
| Alanin | 235 nmol/l | Norleucin/Tryptophan/ | |
| α -Aminobuttersäure | 30 nmol/l | Phenylalanin | |
| Asparagin | 127 nmol/l | (ber. als Norleucin) | 13 nmol/l |
| Asparaginsäure/Glutamin (ber. als Asparaginsäure) | 71 nmol/l | Lysin | 4 nmol/l |
| Cystein | 65 nmol/l | Methionin | 14 nmol/l |
| Glycin | 148 nmol/l | Serin | 114 nmol/l |
| Histidin | 36 nmol/l | Thyrosin | 31 nmol/l |
| Leucin/i-Leucin | 31 nmol/l | Valin | 25 nmol/l |

Einige Aminosäuren waren nicht eindeutig von anderen zu trennen (z. B. Leucin/i-Leucin). In diesen Fällen sind Konzentrationsangaben als Summe der aufgeführten Aminosäuren zu verstehen.

Abbildung 16 auf Seite 83 zeigt exemplarisch das Chromatogramm einer Probe. zu Beginn der Chromatogramms sind mehrere intensive Peaks zu erkennen. Zum Teil handelt es sich um Inhaltsstoffe der jeweiligen Probe, zum anderen aber auch um Nebenprodukte der Derivatisierungsreaktion. Beim letzten Peak dieser Gruppe handelt es sich um Dansylhydroxid.

Innerhalb des Bereiches, in denen Aminosäuren eluieren (10 Min. bis Chromatogrammende), waren auch Peaks zu beobachten, die nicht zuzuordnen waren. Die zugeordneten Anteile im angesprochenen Chromatogrammbereich waren in den drei Versuchen 41, 42 und 26 Prozent (bezogen auf die Anzahl der Peaks) und 20, 17, 20 Prozent bezogen auf die Flächen der Peaks. Die Diskrepanz zwischen zugeordneten Peaks und Flächen beruht primär darauf, daß ein intensiver Peak bei 72 Minuten keiner der verwendeten Standard-Aminosäuren zugeordnet werden konnte.

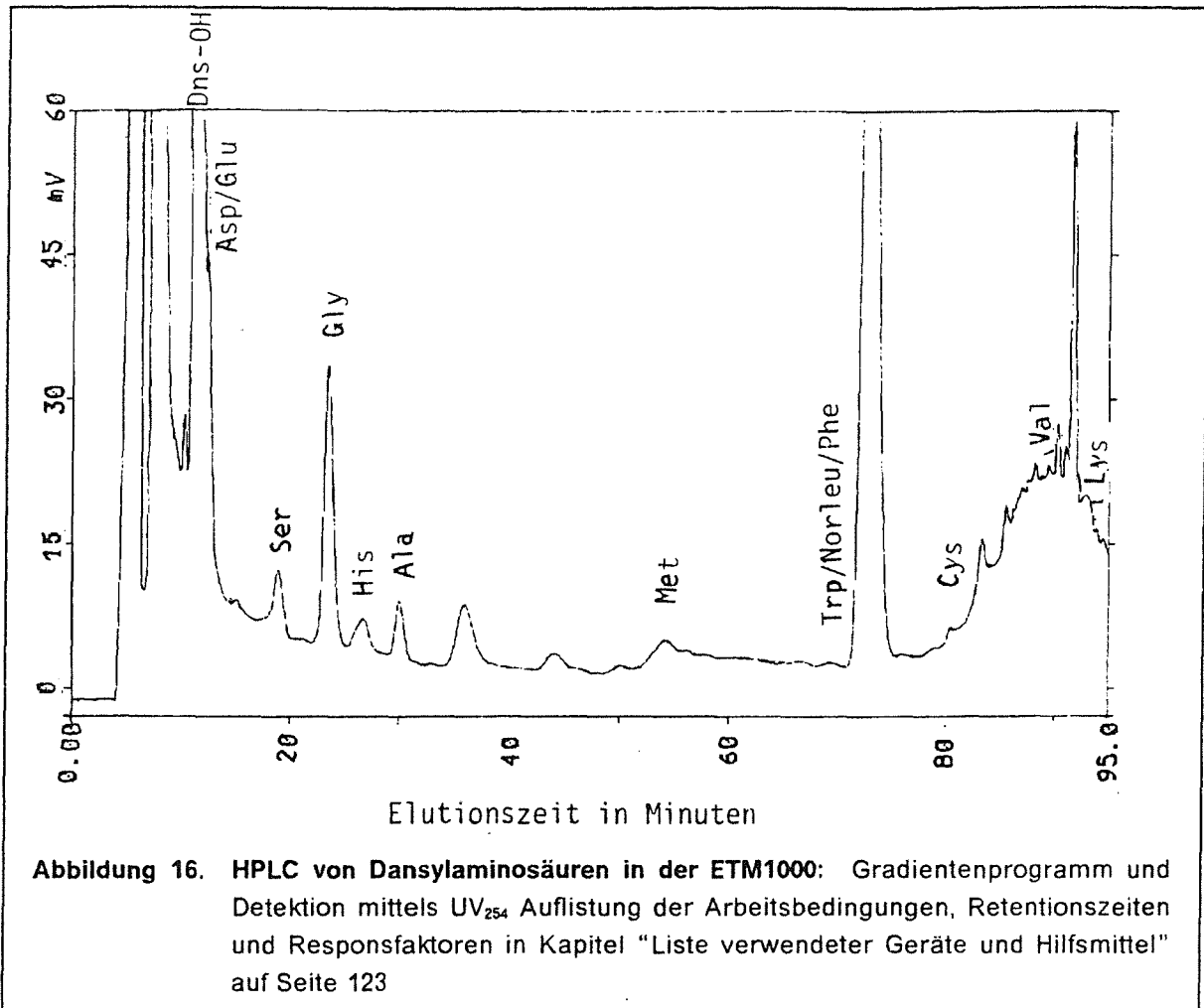


Abbildung 16. HPLC von Dansylaminosäuren in der ETM1000: Gradientenprogramm und Detektion mittels UV₂₅₄ Auflistung der Arbeitsbedingungen, Retentionszeiten und Responsfaktoren in Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123

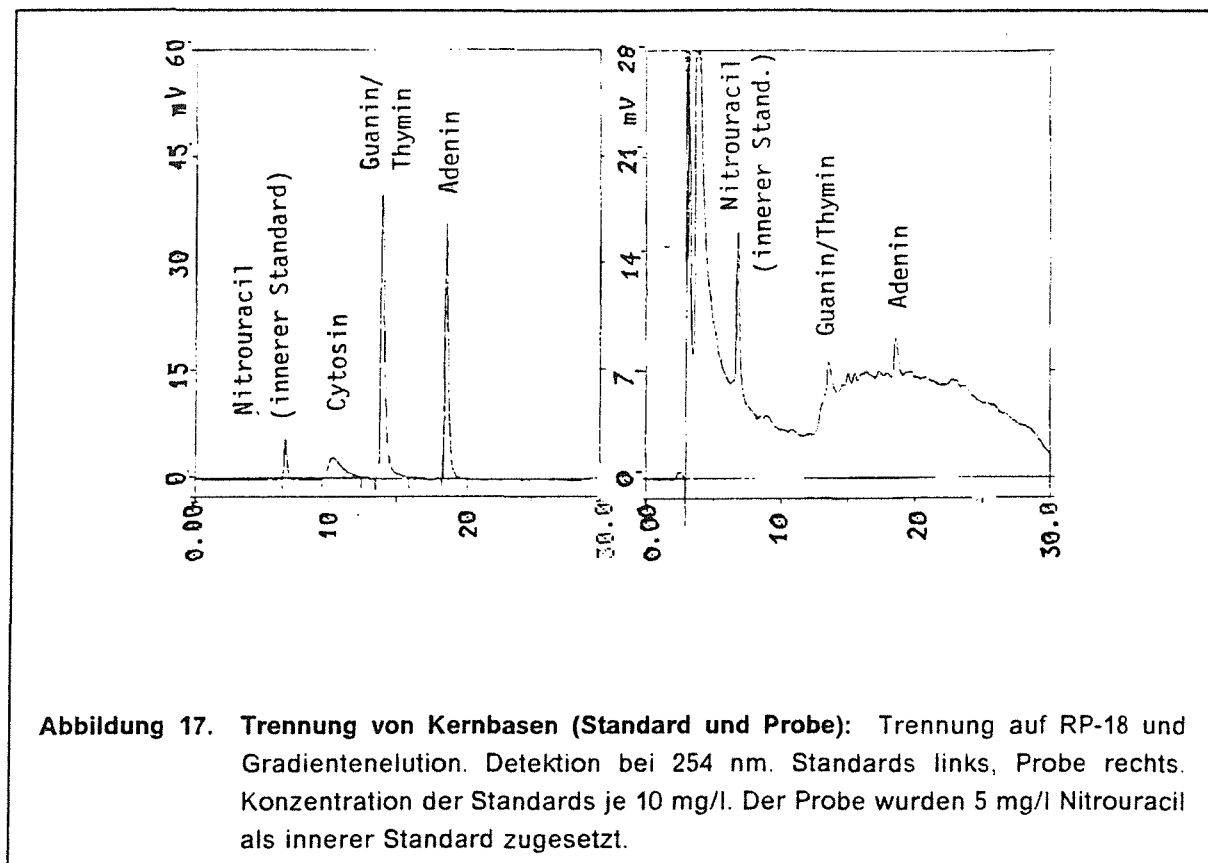
Bei einem Gehalt von 3.3 % organischem Kohlenstoff in der ETM1000 hatte der Aminosäure-Kohlenstoff einen Anteil am TOC von 2.2 %

Der Gehalt an organischem Stickstoff lag bei 0.38 %. Daraus errechnet sich, daß Aminosäuren in freier und gebundener Form mit 4.1 % am DON beteiligt waren.

11.1.4 Bestimmung von Kernbasen mittels HPLC

Da die Biomasse in Belebungsbecken hauptsächlich aus Bakterien besteht, und diese wiederum einen hohen Anteil RNA besitzen, darf man unter den organischen Inhaltsstoffen eines Bio-Ablaufes auch RNA-Bestandteile vermuten. Von drei Kläranlagen wurden Proben gezogen. In 100-fach aufkonzentrierten Ablauf-Präparaten, sowie 40-fach aufkonzentrierten Hydrolysaten der Ablauf-Präparate wurde nach Kernbasen, den charakteristischen Bestandteilen der RNA, gesucht. Die Wiederfindung nach Zugabe von Standards lag bei 90 %. In Abbildung 17 auf Seite 84 ist die chromatographische Trennung von Standard-Kernbasen dargestellt und -exemplarisch- die Trennung einer hydro-

lysierten Ablauf-Fraktion auf einer RP18-Säule mit Phosphat-Puffer Methanol Gradient (beschrieben bei Zakaria und Brown [86]).



In allen Chromatogrammen waren die erhaltenen Peaks wenig intensiv. Guanin und Thymin konnten bei Aufstockungsversuchen nicht getrennt werden. Rückgerechnet auf die Originalkonzentration ergab sich für die untersuchten Kernbasen ein Konzentrationsbereich zwischen 1 und 10 $\mu\text{g/l}$. Eine genauere Konzentrationsangabe ist angesichts der Tatsache, daß die Konzentrationen im Bereich der Bestimmungsgrenze lagen, nicht sinnvoll.

Zusammenfassung der Ergebnisse: Stickstoffhaltige Verbindungen mit einer molaren Masse < 1000 Dalton wurden im biologisch gereinigten Abwasser einer kommunalen Kläranlage untersucht. Der gesamte organisch gebundene Stickstoff in diesem Massenbereich lag bei 0.3 mg/l DON. Aminogruppen hatten daran einen Anteil von 10 %. 40 % der Aminogruppen waren Aminosäuren zuzuordnen. Etwa 10 % sind auf Kernbasen anzurechnen, die ebenfalls Aminogruppen besitzen. 50 % des Aminostickstoffs bleiben danach unidentifiziert. Mögliche Quellen sind biogene Amine, die beispielsweise beim Abbau von Aminosäuren gebildet werden und Hexosamine, die Strukturbestandteile von Bakterien sind. Von den übrigen 90 % des DON können ca. 5 % dem heterocyclisch gebundenen Stickstoff der untersuchten Kernbasen zugeordnet werden. Ein großer Anteil des gesamten organisch gebundenen Stickstoffs gehört nicht zu den bestimmten Ver-

bindungen. Eine summarische Meßgröße "Heterocyclen" konnte nicht ermittelt werden. Möglicherweise tragen Metabolite aus dem Porphyrin-Abbau (Blut-, Gallen- und Blattfarbstoffe) wesentliche Anteile zur Stickstoffbilanz bei. Auch an Schiffsche Basen (Imino-Gruppen), die zum Beispiel bei der Reaktion von Aminosäuren und Kohlenhydraten gebildet werden, ist zu denken.

11.2 Versuch zur Bestimmung des organischen Schwefelanteils

Der organisch gebundene Schwefel (DOS) wurde nach Hochtemperaturpyrolyse im Sauerstoffstrom bestimmt.

Diese Bestimmung wurde mit der ETM1000 durchgeführt. Weiterhin auch mit einem getrockneten wässrigen Extrakt der ETM1000 und mit ETM1000, die mit Bariumhydroxid versetzt wurde, um die Miterfassung von Schwermetallsulfaten zu verhindern.

In allen drei Fällen war kein Schwefel nachweisbar, das heißt, der organische Schwefelanteil der Probe lag unter der Nachweisgrenze von 0.1 % bezogen auf die ETM1000. Bezüglich des Verhältnisses von DOC zu organischem Schwefel kann nur gesagt werden, daß es größer als 25 ist. Es ist zu vermuten, daß in den höhermolekularen Bereichen der organischen Bestandteile von Kläranlagenabläufen mehr Schwefel zu finden ist, denn Link [48] fand in hochmolekularen Präparaten zwischen 1 % und 3 % organisch gebundenen Schwefel und ein DOS/DOC-Verhältnis von 1 zu 20. Schnitzler et al. [73] haben in Rheinwasser die summarische Meßgröße "absorbierbarer organisch gebundener Schwefel" (AOS) bestimmt. Bei Werten von 70 µg/l AOS und ca. 3 mg/l DOC ergibt sich daraus ein DOC/AOS-Verhältnis von 43. Es wurden keine Daten bezüglich des Verhältnisses AOS/DOS gefunden, so daß das oben angeführte Verhältnis von 43 lediglich als Anhaltspunkt dienen kann und keinen direkten Vergleich mit dem von mir bestimmten Verhältnis > 25 erlaubt.

11.3 Untersuchungen zum Tensidanteil mittels summarischer Meßgrößen

11.3.1 Bestimmung methylenblau-aktiver Substanzen (MBAS)

Anionische grenzflächenaktive Stoffe bilden mit Methylenblau einen chloroformlöslichen Komplex. Tensidmetabolite, die diese Eigenschaft verloren haben, werden mit dieser Methode nicht erfaßt. Die Auswertung erfolgt durch Messung der Farbintensität des Chloroformextraktes und Vergleich mit einer Eichkurve, die mit der Eichsubstanz Dodecylbenzolsulfonsäure aufgestellt wurde.

In der ETM1000 wurden 0.028 % MBAS gefunden. Dies entspricht 0.52 % des DOC, wenn der C-Gehalt der Eichsubstanz zugrunde gelegt wird.

Die Menge der Methylenblau-aktiven Substanzen der ETM1000 (Ablauf Kläranlage Leopoldshafen) entspricht einer Konzentration im Originalablauf von 0.05 mg/l. Die Konzentration der MBAS zweier weiterer biologisch gereinigter Abwässer (Neureut: 0.24 mg/l

und Heidelberg: <0.2 mg/l - Daten von den entsprechenden Klärwerksverwaltungen) liegen in der gleichen Größenordnung.

Nach Säurehydrolyse stieg der Anteil auf 0.9 % an. Diese Erhöhung war zu erwarten, da durch die Hydrolyse Esterbindungen gespalten und freie Säuregruppen gebildet werden, die wiederum zur Bildung des Methylenblaukomplexes beitragen.

Die mit dieser Methode erfaßten Stoffe brauchen nicht notwendigerweise anthropogenen Ursprungs zu sein (waschaktive Substanzen). Manche Steroid-Verbindungen und langkettige Carbonsäuren, die beide auch mikrobiell gebildet werden, reagieren mit Methylenblau. Hellmann [34] S.129ff., [35] konnte dies bei seinen Untersuchungen über die Tensidanalytik in Fluß- und Abwässern zeigen.

11.3.2 Bismut-aktive Substanzen

Nach der Methode DEV H 23 [18] kann man nichtionische Tenside durch Fällung mit Dragendorffschem Reagenz bestimmen.

Nichtionische Tenside sollten durch die Aufarbeitungsschritte bis zur ETM1000 nicht in wesentlichem Umfang abgetrennt werden, und müßten somit in dieser Trockenmasse nachweisbar sein. Bei einem Einsatz von bis zu 320 mg ETM1000 konnten keine nichtionischen Tenside nachgewiesen werden. Daraus errechnet sich, eine Konzentration an nichtionischen Tensiden von weniger als 0.02 mg/l im untersuchten Abwasser.

Dieses Ergebnis war etwas überraschend, weil nach Auswertung von Literaturdaten zum Vorkommen von nichtionischen Tensiden in Kläranlagenabläufen (Kapitel " 2. In Kläranlagenabläufen bisher identifizierte Verbindungen" auf Seite 5) ein Konzentrationsbereich von 0.02 mg/l bis 0.07 mg/l nichtionische Tenside zu erwarten war. Die DEV-Methode ist für nichtionische Tenside ab einer Kettenlänge von vier Ethylenoxid-Einheiten anwendbar. Die durchschnittliche Kettenlänge von Handelstensiden liegt bei 10 EO-Einheiten. Giger [26] bestimmte die Verteilung der Kettenlänge der nichtionischen Tenside in biologisch gereinigtem Abwasser. Er zeigte, daß ein ausgeprägtes Maximum bei ein bis zwei EO-Einheiten pro Tensidmolekül zu finden ist. Diese würde man mit der DEV-Methode nicht erfassen.

11.4 Untersuchungen zum Kohlenhydratanteil

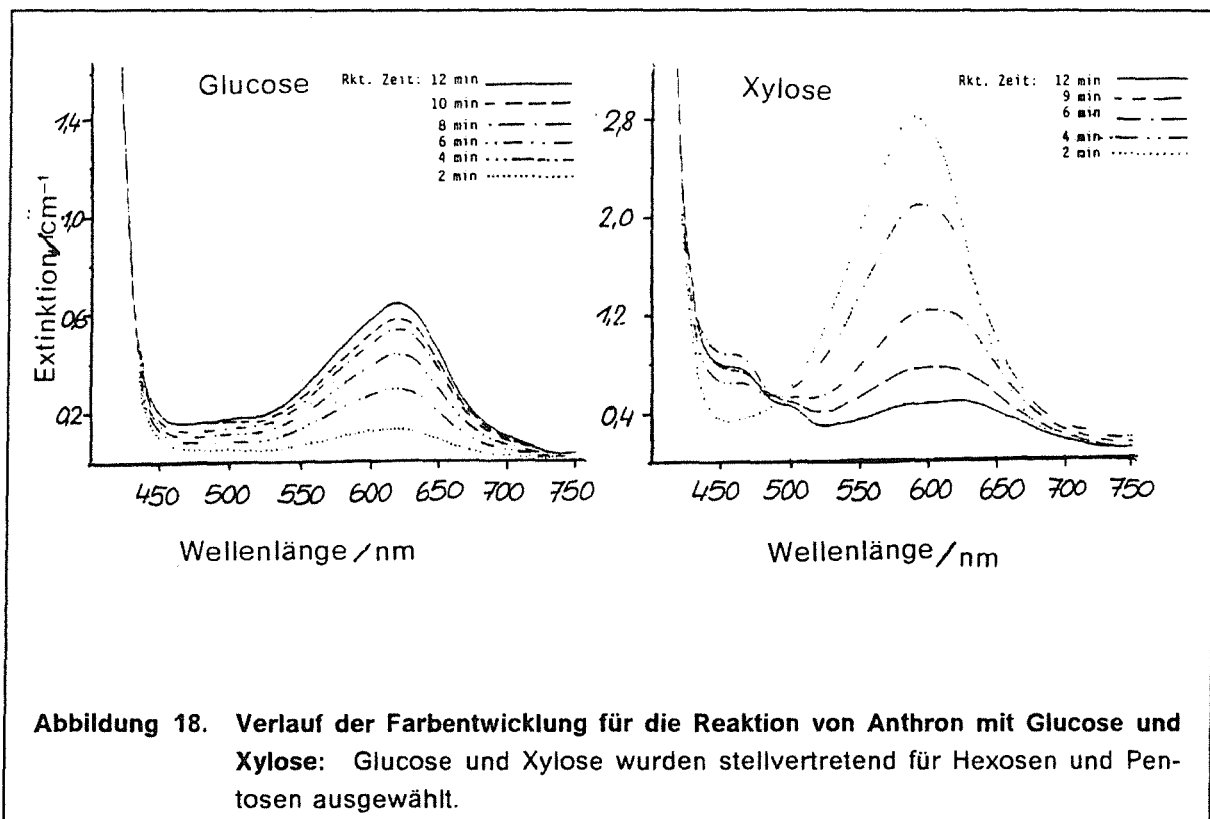
11.4.1 Photometrische Bestimmung mit Anthron

Auf dem Gebiet der Abwasseranalytik wird zur Bestimmung der Gesamtkohlenhydrate hauptsächlich die Farbreaktion mit Anthron und anschließende Photometrie verwendet. In der vorliegenden Arbeit wurde nach einer Vorschrift von Conroy (zitiert in [55] S. 72) gearbeitet, bei der die Farbreaktion in 80 %iger Schwefelsäure nach Erwärmung im Wasserbad abläuft. Die Aufstellung der Eichkurven erfolgte mit der Hexose Glucose und der Pentose Xylose. Für Xylose wurde eine wesentlich steilere Eichkurve erhalten als für

Glucose. Arbeitsvorschrift und Eichkurve sind in Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123 aufgeführt. Die Nachweisgrenze lag für Hexosen bei 1.5 mg/l und für Pentosen bei 10 mg/l.

Die elektrodialysierte Trockenmasse wurde direkt mit dem Reagenz versetzt und nach Ablauf der Reaktionszeit unlösliche Feststoffreste abfiltriert (Teflonfilter). Wird die anschließend gemessene Extinktion bei 627 nm als Hexosen berechnet, so beträgt der Kohlenhydratgehalt der ETM1000 0.27 %. Für die Berechnung als Pentosen ergeben sich 2.1 %. Bei einem Anteil von 4 % Kohlenstoff in der zur Untersuchung verwendeten ETM1000 und 40 % Kohlenstoff in den Kohlenhydraten errechnet sich der Anteil der Kohlenhydrate am ETM1000-Kohlenstoff zu 2.7 % (ber. als Hexosen) bzw. 20.8 % (ber. als Pentosen).

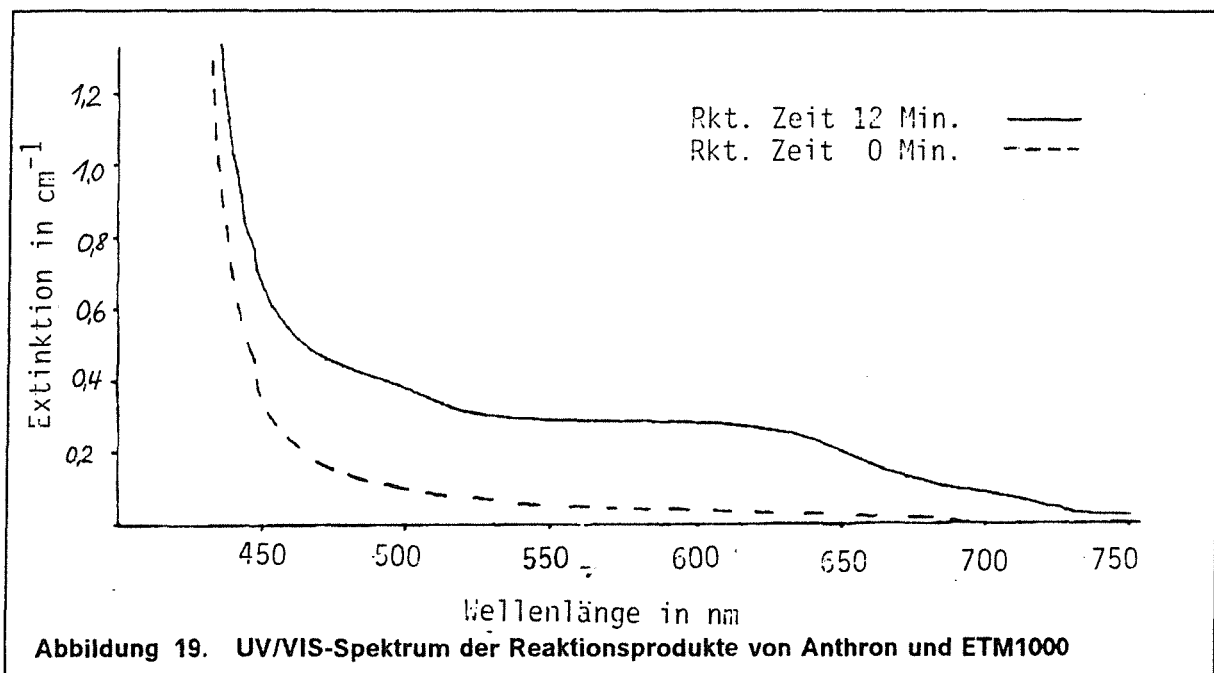
Aufgrund der großen Diskrepanz der Ergebnisse bei der Verwendung unterschiedlicher Eich-Kohlenhydrate und den negativen Ergebnissen bei den unten beschriebenen qualitativen Bestimmungen einzelner Kohlenhydrate wurde die Reaktion von Kohlenhydraten mit Anthron näher betrachtet.



UV/VIS-Spektren, zu verschiedenen Zeiten während der Gesamtreaktionsdauer von 12 Minuten aufgenommen, zeigten, daß die Hexose-Reaktionsprodukte bei 625 nm das Hauptmaximum (blau-grüne Farbe) aufweisen. Dieses nimmt während der Erwärmung der Reaktionsmischung an Intensität langsam zu. Bei Pentosen hingegen bildet sich die blau-grüne Farbe sehr schnell, um dann langsam wieder abzunehmen. Die Lösung färbt

sich dann gelb, und ein Absorptionsmaximum bei 464 nm wächst heran. Hexosamine verhalten sich wie Hexosen, die Methylpentose Fucose verhält sich wie Pentosen, ebenso der als Triose aufzufassende Glycerinaldehyd. Uronsäuren reagieren fast nicht unter den angegebenen Reaktionsbedingungen.

Das Spektrum der Reaktionsprodukte der ETM1000 mit Anthron ist in Abbildung 19 dargestellt. Abgebildet ist ebenfalls das als "Blindwert" anzusehende Spektrum zu Beginn der Reaktion. Die Anwesenheit von Kohlenhydraten läßt sich aus diesem Spektrum nicht belegen. Das Spektrum der Probe nach 12 Minuten ist zwar als Überlagerung von Hexosen- und Pentosen-Spektren diskutierbar, doch ist das nicht beweisbar. Man muß sich vielmehr die Frage stellen, ob nicht auch andere Verbindungen mit Anthron reagieren.



Dafür gibt es mehrere Anhaltspunkte:

Es werden in der Literatur wesentlich höhere Werte für die Meßgröße "Gesamtkohlenhydrate" in biologisch gereinigtem Abwasser referiert, als für einzelne Kohlenhydrate.

In eigenen Versuchen war festzustellen, daß die Menge der anthronpositiven Substanzen bei der Elektrodialyse erheblich reduziert wurde (2.2 mg/l vor, < 1.5 mg/l nach ED), obwohl nachweislich weder einfache Zucker noch Uronsäuren in nennenswertem Umfang durch die Elektrodialyse entfernt werden.

Kohlenhydrate werden durch die Schwefelsäure des Reagenzes zu Furanen oxidiert. Diese reagieren mit Anthron zu gefärbten Verbindungen [36]. Es ist daher zu erwarten, daß außer Kohlenhydraten auch Substanzen, die von vornherein furanoide Strukturen besitzen, als anthronpositive Verbindungen erfaßt werden.

Aus der Spannweite der Ergebniswerte und unter Berücksichtigung der Tatsache, daß auch andere Verbindungen mit Anthron reagieren, muß geschlossen werden, daß die Meßgröße "Anthon-positive Substanzen" nicht pauschal in "Gesamtkohlenhydrate" umbenannt werden darf. Vielmehr bedarf es dazu weiterer Untersuchungen, bei denen die Kohlenhydrate selektiv bestimmt werden. Als Bestimmungsverfahren wurden zwei chromatographische Techniken untersucht, die im folgenden beschrieben sind.

11.4.2 Dünnschichtchromatographische Untersuchungen

Es wurde die Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel mit Acetonitril/Wasser als Fließmittel angewendet und mit Diphenylamin/Anilin-Sprühreagenz detektiert. Neben dem Rf-Wert ist dabei noch eine gruppenspezifische Färbung für Hexosen und Pentosen zu erhalten. In Abbildung 20 sind die Chromatogramme von Standards und Probenaufarbeitungen abgebildet. Zur Arbeitsvorschrift vgl. "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123. Man erkennt, daß die Trennung der Standards gut gelingt.

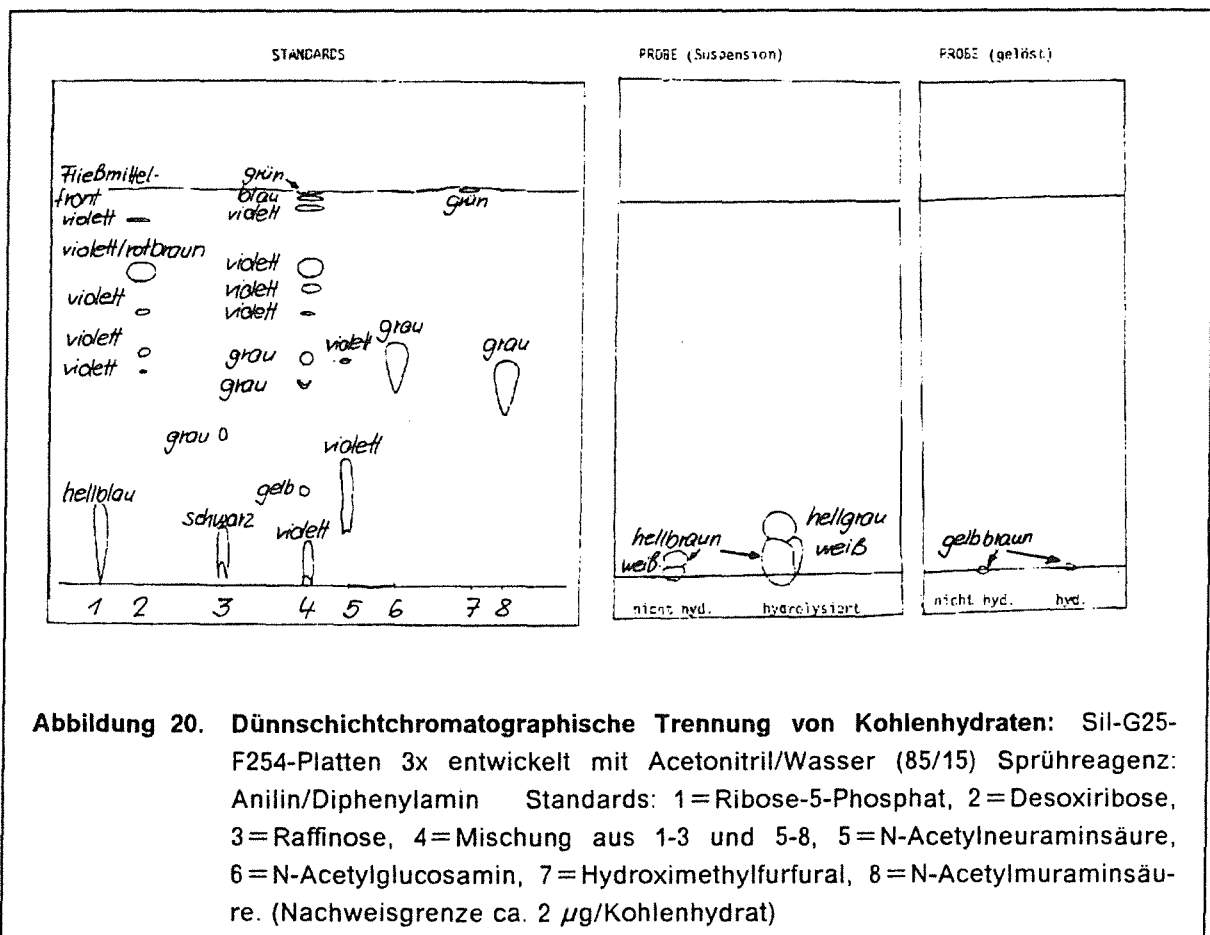


Abbildung 20. Dünnschichtchromatographische Trennung von Kohlenhydraten: Sil-G25-F254-Platten 3x entwickelt mit Acetonitril/Wasser (85/15) Sprühreagenz: Anilin/Diphenylamin Standards: 1=Ribose-5-Phosphat, 2=Desoxiribose, 3=Raffinose, 4=Mischung aus 1-3 und 5-8, 5=N-Acetylneuraminsäure, 6=N-Acetylglucosamin, 7=Hydroximethylfurfural, 8=N-Acetylmuraminsäure. (Nachweisgrenze ca. 2 µg/Kohlenhydrat)

Mit wässrigen Extrakten der ETM1000 konnten auf diese Weise keine Flecke auf den Platten beobachtet werden. Auftragsmengen erreichten dabei 80 µg organische Sub-

stanz. Daraus ist zu schließen, daß einzelne Kohlenhydrate jeweils weniger als 2.5 % Anteil an der organischen Substanz haben. Der Einsatz größerer Extraktmengen oder konzentrierterer Lösungen führte zum Verschmieren der chromatographischen Trennung. Die Hydrolyse der ETM1000 brachte keine Verbesserung.

Die Nachweisgrenze dieser Methode ($2 \mu\text{g}$ pro Kohlenhydrat) reichte also nicht aus, um in der Probe einzelne Kohlenhydrate zu identifizieren.

11.4.3 Untersuchungen mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie

Eine hochleistungs-flüssigkeitschromatographische Methode, die auch in der Lage ist, Triosen und Tetrosen aufzutrennen, wurde angewendet (Trennbedingungen vgl. Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123). Zur Detektion waren simultan ein Brechungsindex-Detektor, sowie ein UV-Detektor ($\lambda = 190 \text{ nm}$) eingesetzt. Damit wurde die Sicherheit der Identifizierung verbessert. Insbesondere sind Fehlinterpretationen bei Verwendung eines UV-Detektors leichter leichter zu vermeiden. In Abbildung 21 sind Chromatogramme von Standards (Verbindungen mit Hydroxylgruppen) und von einem wässrigen Extrakt der ETM1000 abgebildet.

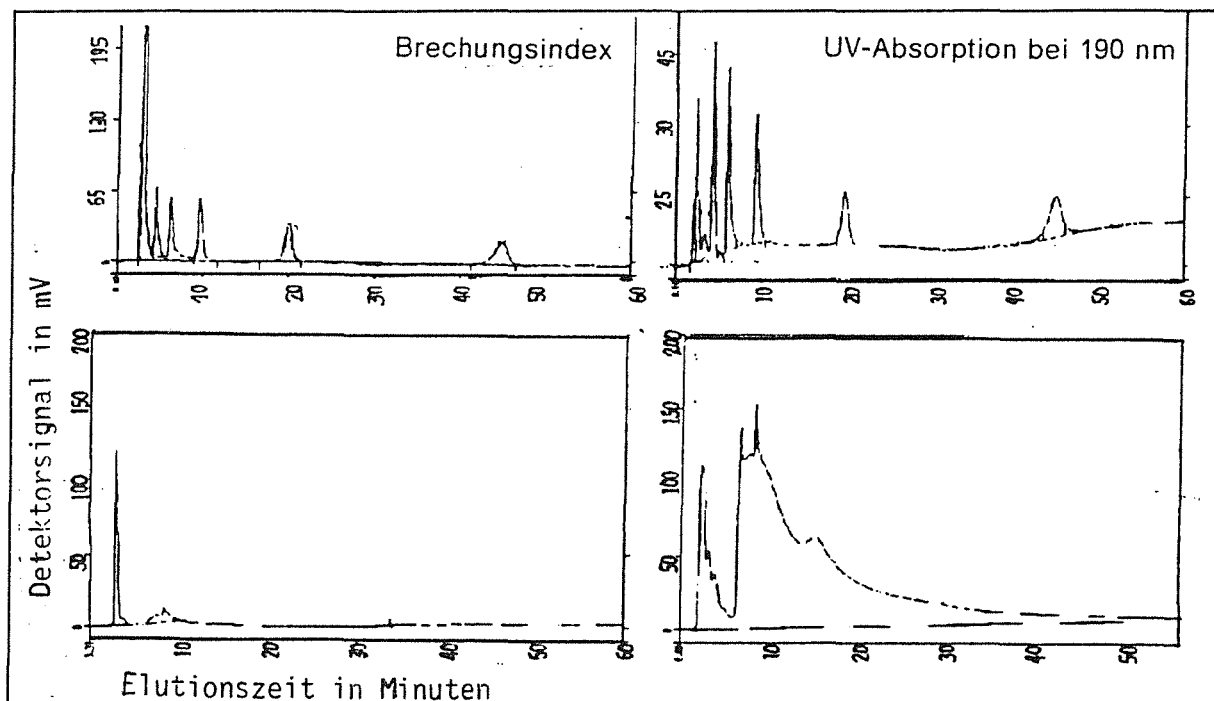


Abbildung 21. Chromatogramm einzelner Kohlenhydrate mit RI/UV190-Detektion (Standards und Probe): Links Brechungsindex als Detektionsmethode, rechts UV-Detektor Säule: Nucleosil-5-NH₂ (200x4) + Vorsäule SI100 30 μm (30x4) Acetonitril/Wasser 80/20 (v/v) 1 ml/min. Im oberen Chromatogramm wurden Standards getrennt. Unten ist die Trennung eines wässrigen Extraktes der ETM1000 dargestellt. Elutionsreihenfolge der Standards: Butanol(1), Wasser, Glycerin, Glycerinaldehyd, Xylose, Glucose, Maltose.

Die Nachweisgrenze für dieses Verfahren liegt bei 4 μg (UV) und 4 μg (RI) jeweils mit Xylose gemessen. Unter Einsatz einer 100 μl -Probenschleife wird so eine Nachweisgrenze von 40 mg/l erreicht.

Bei den Standards ist eine gute Übereinstimmung der beiden Detektorsignale zu erkennen. Bei der Probe hingegen wird ein intensives Signal bei der UV-Detektion erhalten, dem sehr geringe Signalintensitäten des Brechungsindex-Detektors gegenüberstehen. Allein bei der Verwendung eines UV-Detektors hätte man auf die Anwesenheit von Kohlenhydraten schließen können, entsprechende Signale des RI-Detektors waren jedoch nicht zu beobachten. Deren schwache Signale bei UV-Detektion werden offenbar von anderen Verbindungen völlig überlagert.

Daraus ist zu schließen, daß Kohlenhydrate in der ETM1000 trotz Anthron-positiver Reaktion mit spezifischeren Methoden nicht nachgewiesen werden konnten.

12. Kopplung von chromatographischen und spektroskopischen Methoden

Die vorausgegangenen Versuche mit pauschalen Meßgrößen hatten ergeben, daß zumindest bei der untersuchten ETM1000 keine belastbare Identifizierung organischer Inhaltsstoffe möglich war. Echte Identifizierungen gelangen nur bei Aminosäuren und Kernbasen unter Verwendung flüssigkeitschromatographischer Methoden. Die Identifizierungen gelangen durch die Verwendung von Standards und Vergleich der Retentionszeiten oder Aufstockungen. Diese Vorgehensweise ist sehr zeitaufwendig und liefert im Prinzip immer nur Informationen über die An- oder Abwesenheit bekannter (d. h. als Standards vorhandener) Stoffe.

In diesem Kapitel sollen Versuche beschrieben werden, Identifikationen mittels spektroskopischer Methoden zu erhalten. Angewendet wurde die Kopplung von chromatographischer Trennung und spektroskopischer Untersuchung, weil diese Anordnung für die erwartete Vielzahl von Verbindungen in geringer Konzentration günstiger ist als die getrennte Isolierung und Spektroskopie der Inhaltsstoffe.

Die Mehrzahl der hier untersuchten Stoffe ist nicht flüchtig, deshalb wurde neben der bereits weiter verbreiteten Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektroskopie auch die flüssigkeitschromatographische Trennung in Verbindung mit Massenspektroskopie und Infrarotspektroskopie untersucht. Ergebnisse hierzu sind im zweiten Teil dieses Kapitels zusammengestellt.

12.1 Identifizierung von Inhaltsstoffen der ETM1000 mittels Gaschromatographie und Massenspektroskopie

Mit der Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektrometer konnten bisher in Fluß- und Trinkwasser eine Fülle von Substanzidentifizierungen erreicht werden. Beispielsweise haben Coleman et al. [16] auf diese Weise in einem Trinkwasserpräparat rund 460 Verbindungen nachgewiesen. Für Abwasser gibt es wesentlich weniger Ergebnisse, insbesondere ist auf die Arbeiten von Legube und Doré [44] und von Ellis et al. [21] hinzuweisen. Auf diese Arbeiten wird nachstehend im Vergleich mit eigenen Ergebnissen eingegangen.

Versuche zur Trennung und Identifizierung von organischen Inhaltsstoffen niedriger molarer Masse in biologisch gereinigtem Abwasser wurden ausgehend von der ETM1000 (zur Gewinnung vgl. Kapitel " 7. Gewinnung einer großen Menge niedermolekularer Inhaltsstoffe (ETM1000)" auf Seite 55) durchgeführt.

In ersten Versuchen wurde die ETM1000 extrahiert mit Petrolether, Diethylether und Methanol. Lediglich in Methanol war ein substantieller Anteil (ca. 70 %) der organischen Inhaltsstoffe löslich (vgl. hierzu auch Kapitel " 8. Weitere Abtrennung organischer Stoffe von der anorganischen Matrix" auf Seite 57).

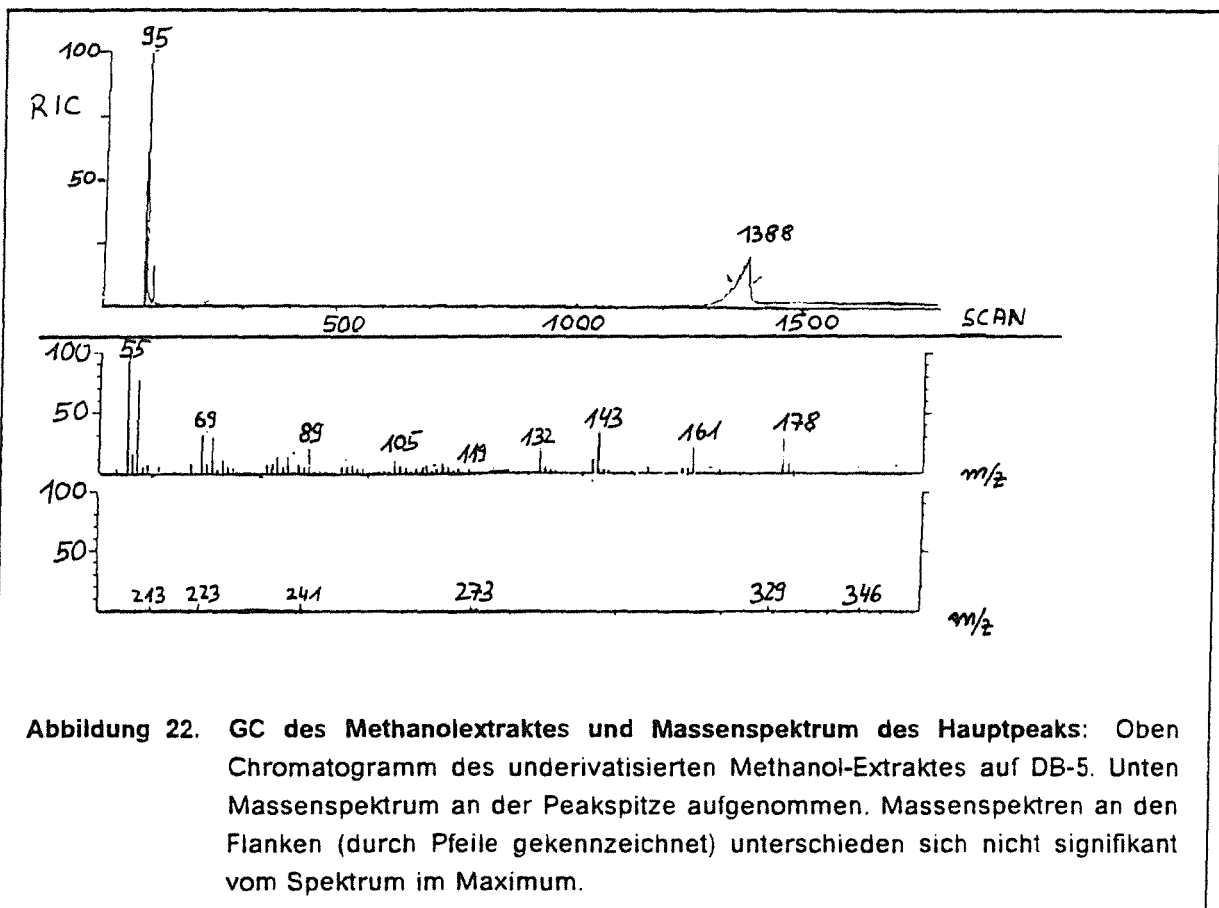
Bei den Untersuchungen der Extrakte ohne vorherige Derivatisierung ließen sich anhand des Vergleiches mit Referenz-Massenspektren die in Tabelle 24 aufgeführten Verbindungen identifizieren. Insgesamt waren 16 Verbindungen zu erkennen, wobei überraschenderweise der Petrolether-Extrakt und der Methanol-Extrakt gleichviel Identifizierungen ergaben, wenn auch nicht in allen Fällen dieselben. Erwartet worden war, daß im Petrolether-Extrakt vor allem unpolare Verbindungen und im Methanol-Extrakt eher polare Verbindungen auftreten. Bei den identifizierten Verbindungen ohne Derivatisierung war dies nicht so. Auffallend ist, daß im Gaschromatogramm des Diethylether-Extraktes überhaupt nur vier Peaks als Probeninhaltsstoffe identifiziert werden konnten.

Im methanolischen Extrakt wurden Verbindungen gefunden, die eigentlich auch in Diethylether und Petrolether löslich sind, dort aber nicht nachgewiesen werden konnten. Ursache hierfür könnte die bessere Benetzbarkeit der gefriergetrockneten Probe mit Methanol sein. Bei den nachgewiesenen Verbindungen handelt es sich um Paraffine, einen langkettigen Alkohol, BHT und sein Oxidationsprodukt Di-tert.-Butylchinon, einen Phthalsäureester, sowie Nonylphenol.

Tabelle 24. Mittels GC-MS ohne Derivatisierung identifizierte Verbindungen: In verschiedenen Extrakten der ETM1000 nachgewiesene Verbindungen. Chromatogr. Bed.: DB-5, 25 m, 5 min. iso bei 50 °C, dann mit 3 °C/min. auf 275 °C

| Verbindung | Petrolether-Extrakt | Diethylether-Extrakt | Methanol-Extrakt |
|-----------------------------------|---------------------|----------------------|------------------|
| 1-Hexadecanol | X | X | X |
| 2,6,10,18-Tetramethylheptadecan | | | X |
| 2-Methyldodecan | X | | |
| 5-Methylundecan | X | | |
| 5-Octadecan | X | X | X |
| 10-Methyleicosan | X | | |
| C ₁₈ H ₃₆ | X | | |
| C ₃₂ H ₆₆ | | | X |
| C ₃₂ H ₆₂ | | | X |
| C ₃₆ H ₇₂ | | | X |
| Cyclodecan | X | | |
| Di-tert.-butylhydroxitoluol (BHT) | X | | X |
| Di-tert.-butylchinon | | | X |
| Heptadecan | X | | |
| Nonylphenol | | X | |
| Phthalsäure-di-isooctylester | | X | X |

Insgesamt gesehen ergab die direkte Untersuchung der Extrakte überraschend wenig Identifizierungen. Es fehlen unter anderem hydroxylierte Verbindungen und Säuren, die nach der biologischen Oxidation von Abwasser im Belebungsbecken erwartet wurden. Eine Ursache des Nichtfindens derartiger Verbindungen - und überhaupt von mehr Verbindungen - läßt sich bei genauerer Betrachtung des Gaschromatogramms des Methanolextraktes erkennen. Abbildung 22 zeigt dieses Chromatogramm. Neben einigen sehr kleinen Peaks ist ein prominenter Peak bei einer Retentionszeit von 46 Minuten zu erkennen. Das im gleichen Bild unterhalb des Chromatogramms dargestellte Massenspektrum dieses Peaks zeigt eine große Zahl von Massen. Es ist anzunehmen, daß es sich dabei um ein Mischmassenspektrum mehrerer gleichzeitig eluierter Verbindungen handelt.

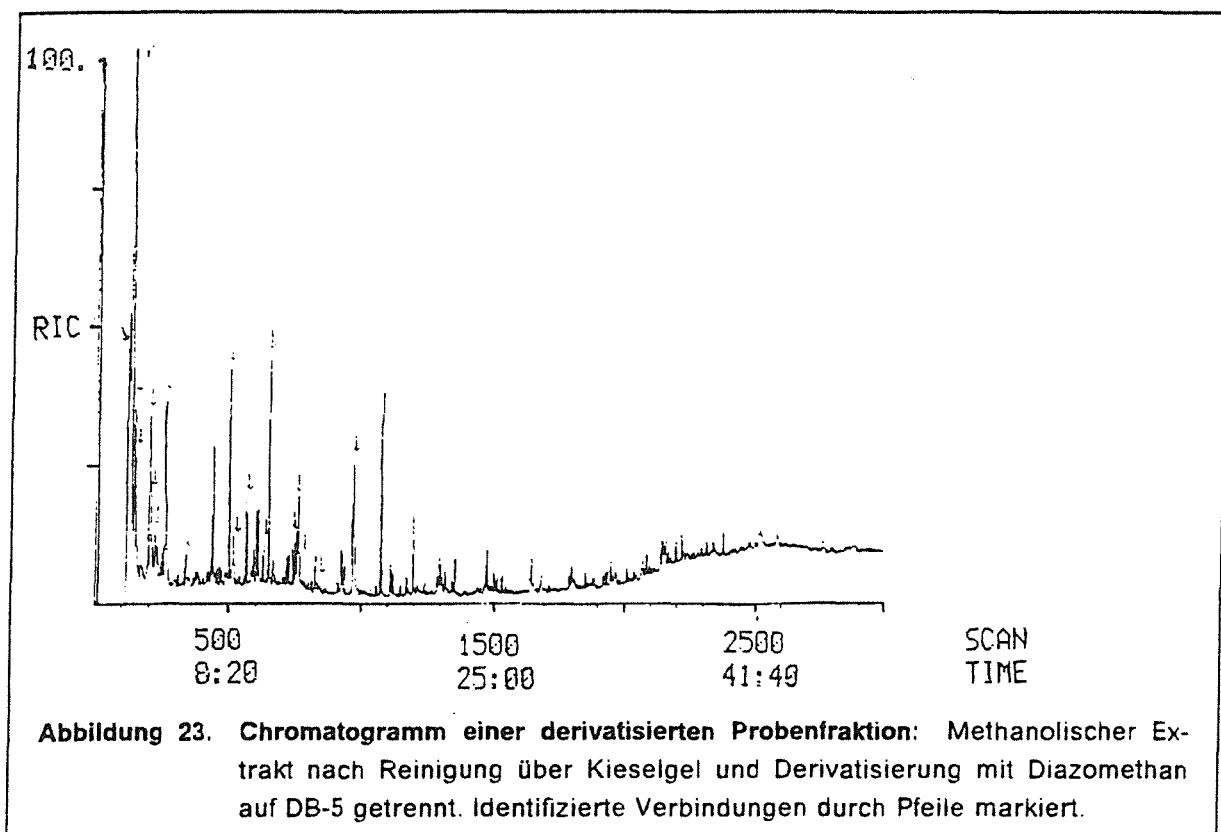


Der Peak erscheint im Chromatogramm bei einer hohen Retentionszeit. Es handelt sich also um eine oder mehrere Verbindungen, die entweder aufgrund einer hohen molaren Masse oder aufgrund höherer Polarität schwer flüchtig sind. Darüber hinaus ist zu vermuten, daß eine Reihe von extrahierten Verbindungen aufgrund mangelnder Flüchtigkeit gar nicht erst im Gaschromatogramm auftauchen.

Massenspektren, die an den Flanken des Peaks aufgenommen wurden, zeigten dieselben Massen, die auch im Massenspektrum an der Peakspitze beobachtet wurden. Dies bedeutet zwar noch nicht, daß es sich um eine einzige Verbindung handelt, aber man

kann vermuten, daß es sich um strukturell ähnliche Verbindungen handelt, zumal auch das chromatographische Verhalten ähnlich ist. Eine Variierung der chromatographischen Parameter ergab keine Verbesserung der Trennung.

Eine wesentliche Verbesserung der gaschromatographischen Trennung ließ sich nach Derivatisierung erwarten und wurde durch Methylierung mit Diazomethan auch erreicht. Dazu wurde der wässrige Extrakt der ETM1000 über eine Kieselgelsäule gereinigt (vgl. Kapitel " 8. Weitere Abtrennung organischer Stoffe von der anorganischen Matrix" auf Seite 57), erneut getrocknet, die Trockenmasse mit Diazomethan in etherischer Lösung derivatisiert und in Methanol/Dichlormethan (1+1) aufgenommen. In Abbildung 23 ist beispielhaft ein Chromatogramm einer solchen Aufarbeitung dargestellt. Man erkennt, daß weit mehr Peaks auftreten als in dem Chromatogramm der underivatisierten Probe, und daß der prominente Peak bei 46 Minuten verschwunden ist.



Die Identifizierung erfolgte über Spektrenvergleich mit Datenbankspektren. Als identifiziert gelten hierbei Peaks, deren Spektren zu mindestens 80 % mit dem Referenzspektrum übereinstimmen, und deren Peakreinheit mindestens 35 % beträgt. In erheblichem Umfang wurden in der Probe auch Siloxane nachgewiesen, die jedoch wahrscheinlich durch die Methylierung löslicher Polykieselsäuren entstanden sind und aus diesem Grund nicht als originäre organische Probenbestandteile angesehen werden können. Sämtliche, in der derivatisierten und nicht derivatisierten Probe identifizierte Verbindungen sind in Tabelle 25 auf Seite 97 aufgeführt. In den Spalten zwei und drei dieser Tabelle sind zusätzlich Ergebnisse anderer Autoren aufgelistet. Insgesamt konnten in der

vorliegenden Untersuchung 72 Verbindungen mittels GC-MS-Kopplung identifiziert werden. Unter Einbeziehung der beiden Literaturstellen führt die Liste 169 Verbindungen auf, die in biologisch gereinigtem Abwasser identifiziert wurden.

Es ist darauf hinzuweisen, daß die Liste nur die mittels GC-MS-Kopplung identifizierten Verbindungen enthält. In dieser Arbeit wurden darüberhinaus noch Aminosäuren und Kernbasen (vgl. Kapitel " 11. Untersuchung definierter Stoffgruppen" auf Seite 77) bestimmt. Literaturdaten über weitere Einzelverbindungen wurden in Kapitel " 2. In Kläranlagenabläufen bisher identifizierte Verbindungen" auf Seite 5 bereits angegeben.

In der folgenden Aufstellung sind die eigenen Befunde (in Spalte 1) den Ergebnissen von Legube [44](in Spalte 2) und Ellis [21] (in Spalte 3) gegenübergestellt. Auf die Auflistung identifizierter chlorierter Kohlenwasserstoffe wurde hierbei verzichtet. Deren Anwesenheit in gereinigtem Abwasser ist aufgrund der intensiven Forschungsarbeit der letzten Jahre bekannt. Legube fand aus dieser Gruppe 9 Verbindungen, Ellis fand 6.

Tabelle 25. Mittels GC-MS-Kopplung identifizierte Verbindungen:

1=Ergebnisse dieser Arbeit 2=Ergebnisse von Legube und Doré [44]
3=Ergebnisse von Ellis et al. [21]

| Substanznamen | 1 | 2 | 3 | Substanznamen | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. Aliphatische Kohlenwasserstoffe | | | | | | | |
| C6H14 | | X | | 3-Methylpentan | | X | |
| C9H18 | | X | | Cyclohexan | X | | |
| C10H16 | | | X | 2,2,4 Trimethylpentan | | X | |
| C11H24 | | X | | 3,3 Dimethylhexan | | X | |
| C14H28 | | | X | Cyclodecan | X | | |
| C18H36 | X | | | 2,3,5-Trimethyloctan | X | | |
| C20H40 | | | X | 5-Methylundecan | X | | |
| C24H46 | | | X | 2-Methyldodecan | X | | |
| C26H54 | | X | | 2,5 Dimethyltetradecan | X | | |
| C27H56 | | X | | Heptadecan | X | | |
| C32H62 | X | | | 2,6,10,18 Heptamethyldecan | X | | |
| C32H66 | X | | | 10-Methyleicosan | X | | |
| C36H72 | X | | | 5-Octadecan | X | | |
| 2. Aromatische Kohlenwasserstoffe | | | | | | | |
| Toluol | | X | X | Propylbenzol | | X | |
| Dimethylbenzol | | X | | Divinylbenzol | | X | |
| Ethylbenzol | | X | | Naphthalin | | X | X |
| Styrol | | X | | Methylnaphthalin | | | X |
| 3. Ether | | | | | | | |
| Di-(1-Methyl, 2-Hydroxi-propyl)ether | | X | | Dimethyldioxan | | X | |
| 1,3-Dioxolan | | | X | 2,4-Diethyl,-3,5-Dimethyl,-4,6-Dihydrofuran | | X | |
| Tetraethylenglycol-dimethylether | | X | | 2-Pentenylfuran | | X | |

| Substanznamen | 1 | 2 | 3 | Substanznamen | 1 | 2 | 3 |
|--|---|---|---|---|---|---|---|
| 4. Aldehyde, Ketone | | | | | | | |
| Di-tert.butylchinon | X | X | | 2-Methylpentenal | | | X |
| Benzophenon | | | X | 3-Methyl-2-Butenal | X | | |
| Benzaldehyd, 4-Methyloxim | X | | | Dimethoxyacetophenon | | X | |
| Benzaldehyd | | X | X | Hydroxi-Methoxyacetophenon | | X | |
| 2-Methyl-2-Butenal | X | | | 1-H-Pyrrol-2,5-Dion | X | | |
| Zimtaldehyd | | X | | -3-Ethyl, -4-Methyl | | | |
| 1-(2H)-Naphthalinon-3,4-Dihydro, -5,8-Dimethyl | X | | | 2-Furfural | | X | |
| 4-Ethylacetophenon | | X | | 5-Methoxyfurfural | | X | |
| 5. Carbonsäuren und Ester | | | | | | | |
| Benzoltriacetat | | X | | Hydroxifumarsäuredimethylester | X | | |
| Diethylphthalat | | | X | 3,3-Dimethyl-3-Phenylpropionsäure | | X | |
| Phthalsäure -butyl-2-Methylpropylester | X | | | Benzoessäuremethylester | X | X | |
| Dibutylphthalat | | X | X | Furandicarbonsäuredimethylester | X | | |
| Phthalsäurediisooctylester | X | | | 4-Isopropylbenzoesäure | | X | |
| Propylbenzylisobutylester | | X | | Hydroxi-Butandicarbonsäuredimethylester | X | | |
| Fumarsäuredimethylester | X | | | 2,4-Hexandiendicarbonsäuredimethylester | X | | |
| Dimethylbenzoesäuremethylester | | X | | Mandelsäuremethylester | | | X |
| Decandicarbonsäuredimethylester | X | | | Laurinsäuremethylester | | | X |
| Methoximethylbenzoesäuremethylester | | X | | Myristinsäuremethylester | | | X |
| Diethoxyessigsäureethylester | X | | | Palmitinsäuremethylester | | | X |
| Methylphthalsäuredibutylester | | X | | Margarinsäuremethylester | | | X |
| 1-H-Pyrrol-2-Carbonsäureethylester | X | | | Stearinsäuremethylester | | | X |
| 5-Phenylpentansäure | | X | | Palmitinsäureethylester | | | X |
| Phenylpropionsäuremethylester | | X | | Palmitinsäure-n-octylester | | | X |
| Phthalsäurediethylhexylester | | X | | 16-Methylheptadecansäure | | X | |
| Phthalsäuredimethylester | X | X | | 13-Methylpentadecansäure | | X | |
| Phthalsäuredioctylester | | X | | Brenztraubensäuremethylester | | X | |
| 2,4,5-Trimethylbenzoesäuremethylester | | X | | Äpfelsäuredimethylester | | X | |
| 4-Vinylbenzoesäuremethylester | | X | | 11-Hexadecensäuremethylester | | X | |
| Ameisensäure | | X | | Methacrylsäure | | X | |
| Essigsäure | | X | | 9,12-Octadecadiensäuremethylester | | X | |
| Capronsäuremethylester | | X | | 9-Octadecaensäuremethylester | | X | |
| Oenanthsäuremethylester | | X | | Ethylenglycolmonoacetat | | X | |
| Pelargonsäuremethylester | | X | | Milchsäuremethylester | | X | |
| Caprinsäuremethylester | | X | | | | | |

| Substanznamen | 1 | 2 | 3 | Substanznamen | 1 | 2 | 3 |
|--|---|---|---|--|---|---|---|
| 6. Alkohole, Phenole | | | | | | | |
| Methylhexanol | | X | | p-Tetramethylbutylphenol | | | X |
| Heptanol | | | X | Nonylphenol | X | | |
| Hexadecanol | X | | | Alpha-Terpineol | | | X |
| Phenol | | X | | 2-Ethoxyethanol | | X | |
| Methylphenol | | X | X | 2,2-Diethoxyethanol | X | | |
| Allylphenol | | X | | Isopropylethoxyethanol | | X | |
| p-Tert. Amylphenol | | | X | D,L 1,6-Di-Deoxyalditol | X | | |
| 3-(1,1-Dimethylethyl)-phenol | X | | | -3,4-di-O-Methyl | | | |
| Methyl-tert.-butylphenol | | | X | Allo-Inosit | X | | |
| 4-Methyl-2,6-Di-tert.-butylphenol | X | X | | p-Propoxyphenol | | | X |
| | | | | 5-Methyl-Hydroxyphenol | X | | |
| | | | | 1,1-Diethyl-4-Methoxyphenol | X | | |
| 7. Verbindungen mit Hetero-Atomen | | | | | | | |
| 1-H-Imidazol,-4-Ethanolamin,-5-Methyl | X | | | N,N-Dimethylbenzolsulfonamid | X | | |
| Benzothiazol | | X | | 2-Methylpyridin | X | | |
| Acetaminophen | | | X | 2,4-Dimethylpyridin | X | | |
| N,N-Diisopropyl-p-phenylendiamin | | X | | 3-Ethylpyridin | X | | |
| 2-(Methylthio)benzthiazol | | | X | 2-Diethoxymethyl-1H-Imidazol | X | | |
| Benzoethanolamin, N-Alpha-dimethyl | X | | | 4-Pyridincarbonsäuremethylester | X | | |
| Benzothiadiazol | | | X | 1-H-Indol | X | | |
| N,N-Dimethylbarbitural | | X | | 1-H-2-H-2,4-Pyrimidindion-1,3-Dimethyl | X | | |
| Phosphorsäuretrimethylester | X | | | 4-Methoxybenzamid | X | | |
| N,N-Dimethylphenobarbiton | | X | | 3-Methylphenylcarbaminsäuremethylester | X | | |
| 4-Cyanobenzoesäure-4-Methylphenylester | X | | | 1-H-Isoindol-1,3-dion | X | | |
| 2-Methyl-8-Chinolin | | X | | 2-Methyl | | | |
| Phosphoramsäuredimethylester | X | | | N,N,4-trimethylbenzolsulfonamid | X | | |
| Trimethylphosphin | | X | | 2,2-Dimethylpyrrolidin | X | | |
| Trithiopentane | | X | | -1-(2-Dimethylamino)-1,1-Dimethylethoxy- | | | |
| 2-Thioxo-4-Imidazolion | X | | | -2,2-Dimethyl- | | | |
| 1-H-Indol-3-Essigsäureethylester | X | | | N,4-Dimethylbenzolsulfonamid | X | | |
| Benzolsulfonsäuremethylester | X | | | 2-Chlorethanolphosphat | X | | |
| 2-Chlorchinazolin | X | | | 1-H-Purin-2,6-dion | X | | |
| 4-Methylbenzolsulfonsäuremethylester | X | | | -3,7Dihydro-, -1,3,7-trimethyl- | | | |
| 4-Methylbenzolsulfonsäureethylester | X | | | 1-H-Indol-3-Ethanolamin | X | | |
| 4-Ethylheptanamid | X | | | -N,1-Dimethyl,-2-tetrahydrofuranyl- | | | |
| 5-Methylheptanamid | X | | | 2-H-Hexahydroazepion | X | | |
| | | | | 4-Methyl-2-Pyridinamin | X | | |

Bemerkenswert ist, daß zwischen den drei Untersuchungen nur vereinzelt Übereinstimmung besteht. Bei der Zusammensetzung biologisch gereinigter Abwässer ergeben sich häufig Unterschiede im Detail, weil die eingetragenen Stoffe, vor allem die schwer abbaubaren Stoffe, von Ort zu Ort und auch zu verschiedenen Zeiten sehr unterschiedlich sein können. Im vorliegenden Fall muß man jedoch vermuten, daß primär die unter-

schiedliche Vorgehensweise bei der Aufkonzentrierung für das unterschiedliche Spektrum der identifizierten Verbindungen verantwortlich ist.

Bei den eigenen Untersuchungen wurde ein Aufarbeitungsschema angewendet, das vor allem auf die möglichst vollständige Erfassung der nichtflüchtigen Verbindungen ausgelegt war. Konzentrierungs- und Trocknungsschritte wurden im Vakuum durchgeführt, dabei gingen flüchtige Verbindungen weitgehend verloren.

Sowohl Legube als auch Ellis arbeiteten mit der Lösungsmittlextraktion und der Festphasenextraktion (XAD-Harze). Dabei werden flüchtige Stoffe erfaßt, aber polare, gut wasserlösliche Verbindungen gehen zum großen Teil verloren. Dementsprechend fanden beide Autoren flüchtige Stoffe in größerem Umfang. Hingegen wurden in den eigenen Untersuchungen nur sehr wenig niedrig-siedende organische Verbindungen gefunden, aber in großer Zahl polare organische Heteroverbindungen. Über deren Anwesenheit in biologisch gereinigtem Abwasser wird hier zum ersten Mal berichtet.

Ein weiterer auffälliger Aspekt ist, daß nur Legube und Doré Fettsäuren bzw. deren Methyl ester in größerem Umfang nachweisen konnten. Fettsäuren sind regelmäßig in kommunalem Abwasser zu finden und sollten, da auch deren Abbaurate keinesfalls 100 % erreicht, auch im gereinigten Abwasser noch nachweisbar sein. Ein Grund für die abweichenden Befunde der drei Arbeiten in diesem Punkt kann die Leistungsfähigkeit der biologischen Stufe in Kombination mit der Qualität des Rohabwassers sein. Legube und Doré untersuchten den Ablauf einer Kläranlage, die zum Teil Abwasser aus Schlachtereien zu verarbeiten hatte. Diese Abwässer sind besonders hoch mit Fettsäuren belastet. Ein zweiter Grund für das Nichtfinden von Fettsäuren in dieser Arbeit und in der Arbeit von Ellis et al. könnte sein, daß diese Verbindungsklasse gut an Kunststoffe (z. B. Membranen) adsorbiert wird und daher während der Aufarbeitung verloren geht. In Vorversuchen zur Elektrodialyse als Aufarbeitungsschritt konnte das in dieser Arbeit gezeigt werden. Bei den verschiedenen Aufarbeitungsschritten des für diese Untersuchungen verwendeten Konzentrierungsverfahrens wird das Wasser wiederholt intensiv mit Membranoberflächen in Kontakt gebracht. Eine Elimination von Fettsäuren durch Adsorption in einem Ausmaß, das deren späteren Nachweis unmöglich macht, erscheint plausibel.

Weder Ellis noch Legube machen Angaben über den Prozentsatz der von ihnen angereicherten Verbindungen am Gesamt-DOC. Aus eigenen Versuchen (vgl. " 8. Weitere Abtrennung organischer Stoffe von der anorganischen Matrix" auf Seite 57) ist jedoch bekannt, daß mit den Verfahren der Lösungsmittlextraktion und der XAD-8-Adsorption etwa 40 % des niedermolekularen Anteils des DOC aufkonzentriert werden können. Wird hingegen die Trockenmasse gewonnen, so sind darin 80 bis 90 % der niedermolekularen organischen Verbindungen enthalten. Deshalb wird trotz des Verlustes flüchtiger Verbindungen und des Risikos der unerwünschten Adsorption von Inhaltsstoffen das in dieser Arbeit verwendete Verfahren für günstiger gehalten.

Für die gaschromatographische Analytik ohne Derivatisierungsschritt spielt dieser Unterschied keine Rolle, da die direkt gaschromatographierbaren Verbindungen in aller Regel auch mittels Lösungsmittlextraktion oder Festphasenextraktion angereichert werden können. Sowohl in der eigenen Arbeit als auch bei Legube und Ellis wurden hingegen mittels Diazomethan derivatisierte Proben untersucht. Verbindungen, die zu

polar sind, um unzersetzt gaschromatographisch untersucht zu werden, sind oft auch nicht mittels Festphasenadsorption oder Lösungsmittlextraktion von der wässrigen Matrix zu isolieren. Legube konnte sehr viele Carbonsäuren bestimmen, die ebenfalls sehr polar sind, jedoch reduzierte er ihre Polarität durch Absenkung des pH-Wertes und machte sie so XAD-8-adsorbierbar; ein Verfahren, das nicht auf alle polaren Verbindungen anwendbar ist. Die hier angesprochenen Carbonsäuren wurden in mit Diazomethan behandelten Proben als Methylester identifiziert. Es ist zu vermuten, jedoch nicht sicher, daß die Säuren in den ursprünglichen Proben in freier Form vorlagen.

Abschätzung der Menge der identifizierten Verbindungen: Eine genaue quantitative Bestimmung der einzelnen Inhaltsstoffe wäre über Eichreihen oder Aufstocken der Probe mit den betreffenden Verbindungen möglich. Betrachtet man die Komplexität der Chromatogramme, so ist ersichtlich, daß dies ein sehr mühsames Verfahren ist, wenn man alle Verbindungen quantifizieren will; zumal einige der Inhaltsstoffe nicht kommerziell erhältlich sind, und somit zunächst synthetisiert werden müßten.

Eine Schätzung der Mengenanteile ist jedoch möglich unter der Annahme, daß der Totalionenstrom, der im Massenspektrometer registriert wird, in erster Näherung mengenproportional ist und im ganzen gesehen nicht zu stark von der Art der untersuchten Verbindungen abhängt. Unter dieser Voraussetzung kann eine Testmischung bekannter Zusammensetzung zur Abschätzung der Menge der aufgetrennten Probeninhaltsstoffe verwendet werden. Im vorliegenden Fall wurde hierzu eine Mischung mehrerer Phenole, die auch zur Kontrolle der Konstanz der Retentionszeiten verwendet wurden, eingesetzt. In Tabelle 26 sind die verwendeten Phenole und der jeweilige Quotient aus gemessenem Totalionenstrom und bekannter eingespritzter Menge aufgeführt. Zahlenwerte für den Totalionenstrom und eingespritzte Mengen stehen im Tabellenanhang. Der errechnete Quotient schwankt um den Faktor zwei. Das Verfahren erlaubt es also aus dem gemessenen Totalionenstrom für eine Verbindung deren Konzentrationsniveau abzuschätzen.

Tabelle 26. Eichsubstanzen und Quotient aus Totalionenstrom (TIC) und Substanzmenge

| Substanzname | Quotient aus TIC in Counts und Substanzmenge in ng |
|----------------------|--|
| Nitrophenol | 180 |
| Dimethylphenol | 253 |
| Dichlorphenol | 256 |
| Chlor-Methylphenol | 249 |
| Trichlorphenol | 266 |
| Dinitrophenol | 119 |
| Dinitro-Methylphenol | 167 |

Die gemessenen Peakintensitäten und daraus abgeschätzte Konzentrationen der Verbindungen im gereinigten Abwasser sind in Abbildung 24 auf Seite 102 dargestellt und in Tabelle 99 auf Seite 172 im Tabellenanhang zahlenmäßig aufgelistet.

| Identifizierte Verbindung | Intensität des Ionenstromes | Konz. in $\mu\text{g/l}$ |
|--|-----------------------------|--------------------------|
| Allo-Inositol | | 3 |
| 1-H-Imidazole-4-Ethanolamine, -5-Methyl | | 8 |
| Ethanol -2,2-Diethoxy | | 0.4 |
| Benzeneethanamine -N,Alpha Dimethyl(S)- | | 2 |
| Phosphoric Acid Trimethylester | | 2 |
| Acetic Acid -Diethoxy Ethylester | | 1 |
| 2-Butenal -3-Methyl | | 1 |
| Benzoic Acid -4-Cyano, 4-Methylphenylester | | 0.4 |
| Octane -2,3,5 Trimethyl | | 1 |
| Phosphoramidic Acid Dimethylester | | 1 |
| 4-Imidazolinone -2-Thioxy | | 3 |
| 2-Pyridinamine -4-Methyl | | 1 |
| 4-Imidazolinone -2-Thioxy | | 1 |
| 1-H-Indole-3-Acetic Acid Ethylester | | 1 |
| Benzenesulfonic Acid Methylester | | 3 |
| Phenol (1,1 Diethyl) -4-Methoxy | | 1 |
| Chinazoline -2-Chloro | | 1 |
| 4-Methylbenzenesulfonic Acid Methylester | | 1 |
| 4-Methylbenzenesulfonic Acid Ethylester | | 1 |
| Benzenesulfonamide -N,N Dimethyl | | 2 |
| Pyridine -2-Methyl | | 1 |
| 2-Butenal -2-Methyl | | 1 |
| Pyridine -2,4 Dimethyl | | 1 |
| Pyridine -3-Ethyl | | 0.4 |
| Butenedioic Acid (E), Dimethylester | | 1 |
| 1-H-Imidazole -(2-(Diethoxymethyl)) | | 0.4 |
| Benzoic Acid Methylester | | 3 |
| 2-H-Azepin-2-one -Hexahydro | | 1 |
| 1-H-Pyrrole-2-Carboxylic Acid Ethylester | | 1 |
| Butenedioic Acid -Hydroxy Dimethylester | | 0.3 |
| 4-Pyridinecarboxylic Acid Methylester | | 1 |
| 1-H-Indole | | 1 |
| 2,4 (1-H, 3-H) Pyrimidinedione -1,3 Dimethyl | | 1 |
| 1-H-Pyrrole 2,5-Dione -3-Ethyl-4-Methyl | | 1 |
| 2-Pyridinecarboxylic Acid Methylester | | 1 |
| Benzeneamide -4-Methoxy | | 0.4 |
| Carbamic Acid -3-Methylphenyl Methylester | | 1 |
| Benzaldehyde -4-Methyl-Oxime (E) | | 0.4 |
| Phenol -3-(1,1 Dimethylethyl) | | 0.4 |
| D,L Alditol -1,6-Dideoxy -3,4- Di-O-Methyl | | 1 |
| Benzenediole -5-Methyl | | 0.3 |
| Furanedicarboxylic Acid Dimethylester | | 1 |
| 1-H-Isindole -1,3(2H)Dione -2-Methyl | | 1 |
| 2,4 Hexadienoic Acid Dimethylester (E,E) | | 1 |
| Tetradecane -2,5-Dimethyl | | 5 |
| 1,2 Benzenedicarboxylic Acid Dimethylester | | 0.4 |
| Benzenesulfonamide -N,N,4-Trimethyl | | 0.3 |
| Pyrrolidine -1-((2-Dimethylamino) -1,1-Dimethylethoxy) -2,2-Dimethyl | | 1 |
| Benzenesulfonamide -N,4-Dimethyl | | 2 |
| Ethanol -2-Chloro Phosphate | | 0.3 |
| 1-H-Purine-2,6-Dione-3,7-Dihydro-1,3,7-Trimethyl | | 2 |
| 1,2-Benzenedicarboxylic Acid -Butyl-2-Methylpropylester | | 6 |
| 1-H-Indole-3-Ethanolamine -N,1-Dimethyl | | 2 |
| -2-(Tetrahydro-2-Furanyl) | | |
| 1-(2-H)-Naphthalenone-3,4-Dihydro-5,8-Dimethyl | | 2 |
| 1,2-Benzenedicarboxylic Acid Diisooctylester | | 7 |
| Heptanamide -4-Ethyl -5-Methyl | | 6 |
| Decanedioic Acid -bis-(2-Ethylhexyl)ester | | 2 |

Abbildung 24. Geschätzte Konzentrationen identifizierter Inhaltsstoffe: Verbindungen der Fraktion F2 der ETM1000 mit graphischer Darstellung des gemessenen Totalionenstroms und abgeschätzten Konzentrationen im gereinigten Abwasser.

Das so ermittelte Konzentrationsniveau liegt zwischen 0.1 und 10 $\mu\text{g/l}$, sehr häufig sind Werte um 1 $\mu\text{g/l}$. Berechnet als organisch gebundener Kohlenstoff beträgt die Summe der in der Fraktion F2 der ETM1000 so ermittelten Konzentrationen ca 40 $\mu\text{g/l C}$. Zählt man die in Tabelle 98 auf Seite 171 im Tabellenanhang aufgelisteten Verbindungen der Fraktion F4 dazu, so machen die mit dieser Methode identifizierten Verbindungen (insgesamt 72 Stück) etwa 3 % des niedermolekularen organischen Anteils aus. Das heißt, die einzelnen Verbindungen tragen jeweils zu weniger als 0.1 % zur Massenbilanz des DOC bei. Trotz der Vielzahl der gefundenen Verbindungen ist offensichtlich nur ein kleiner Teil des organischen Anteils identifiziert. Die Annahme, daß ein biologisch gereinigtes Abwasser aus sehr vielen Einzelverbindungen mit jeweils geringem individuellem Anteil an der Gesamtmasse besteht, wird durch diese Untersuchungen bestätigt.

Überlegungen zur Herkunft der identifizierten Verbindungen: Unter den Verbindungen sind Abbauprodukte von Tensiden (z. B. Nonylphenol und Derivate der Benzolsulfonsäure) und als Weichmacher für Kunststoffe verwendete Verbindungen (z. B. Phthalsäureester) zu finden. Es ist davon auszugehen, daß diese Stoffe bereits im Rohabwasser vorhanden waren. Ihre relativ schlechte biologische Abbaubarkeit ist bekannt. Die ebenfalls nachgewiesenen Fettsäuren (als Methylester) und einige der stickstoffhaltigen Verbindungen (z.B. Indolderivate und Purinkörper) sind ebenfalls bereits im Zulauf vorhanden. Diese sind jedoch besser abbaubar und deren Nachweis im Kläranlagenauslauf deutet entweder auf unvollständigen Abbau hin (biologische Stufen erreichen bekanntlich auch für sehr gut abbaubare Stoffe keine 100 % Wirkungsgrad) oder auf Zersetzungsvorgänge in der Biomasse, bei denen ebenfalls solche Verbindungen zu erwarten sind. Auch die Verwendung von Haushaltschemikalien ist eine Quelle stickstoffhaltiger Verbindungen im Rohabwasser (z. B. Imidazolderivate als Weißtöner in Waschmitteln). Genaue Aussagen über die Herkunft organischer Inhaltsstoffe im Ablauf biologischer Klärstufen bei etwa 3 % Zuordnung bezogen auf den niedermolekularen Anteil nicht sinnvoll. Ein Weg zur Verbesserung der Identifizierungsquote ist die Verwendung der Flüssigkeitschromatographie. Sie kennt das Hauptproblem der Gaschromatographie (nur Trennung flüchtiger Verbindungen) nicht. Untersuchungen dazu sind in den folgenden Abschnitten zu finden.

Zusammenfassung der GC-MS Versuche: Eine direkte gaschromatographische Trennung gelingt für flüchtige, in der Regel unpolare Verbindungen. Diese tragen jedoch nur zu einem Bruchteil zur Massenbilanz der organischen Inhaltsstoffe in biologisch gereinigtem Abwasser bei.

Polare Verbindungen lassen sich nach Derivatisierung der die Polarität bedingenden funktionellen Gruppen auftrennen. In den oben beschriebenen Experimenten wurden acide H-Atome mit Diazomethan durch Methylgruppen substituiert. Es ist aber damit zu rechnen, daß dabei noch nicht alle polaren Verbindungen erfaßt wurden.

Die Derivatisierung von unbekanntem Verbindungen wirft eine Fülle von Fragen auf, wie z. B. die Fragen nach Ausbeute und Nebenreaktionen.

Sinnvoll ist es daher, die on line Kopplung von Massenspektrometern mit Flüssigkeitschromatographen anzustreben, bei denen die limitierende Eigenschaft der Flüchtigkeit nicht existiert, und deshalb auch auf eine Derivatisierung verzichtet werden kann.

12.2 Versuche zur Identifizierung mittels HPLC und Massen- bzw. IR-Spektroskopie

12.2.1 Vorversuche zur flüssigkeitschromatographischen Trennung

Die Flüssigkeitschromatographie sollte besonders gut geeignet sein zur Trennung von organischen Inhaltsstoffen biologisch gereinigter Abwässer. Bei der biologischen Oxidation entstehen nicht-flüchtige, hydrophile Verbindungen. Gleichzeitig werden durch die intensive Belüftung flüchtige, hydrophobe Stoffe ausgetrieben.

Ziel war es, ein Trennsystem mit möglichst hoher Trennleistung zu suchen. Angewendet wurden die beiden gebräuchlichsten Formen, die Dünnschichtchromatographie (DC) und die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC). Die Lage der Substanzen im Chromatogramm wird bei der DC als "hRf"-Wert angegeben (Quotient aus ausgemessener Lauflänge der Probe und der Lauflänge des Fließmittels multipliziert mit 100) und bei der HPLC in Retentions- oder Elutionszeiten (Bezug ist der Zeitpunkt der Probenaufgabe auf die Säule).

Dünnschichtchromatographie: Als stationäre Phase wurde Kieselgel-60-F254 (0.25 mm Schichtdicke) eingesetzt.

Als mobile Phasen wurden verwendet:

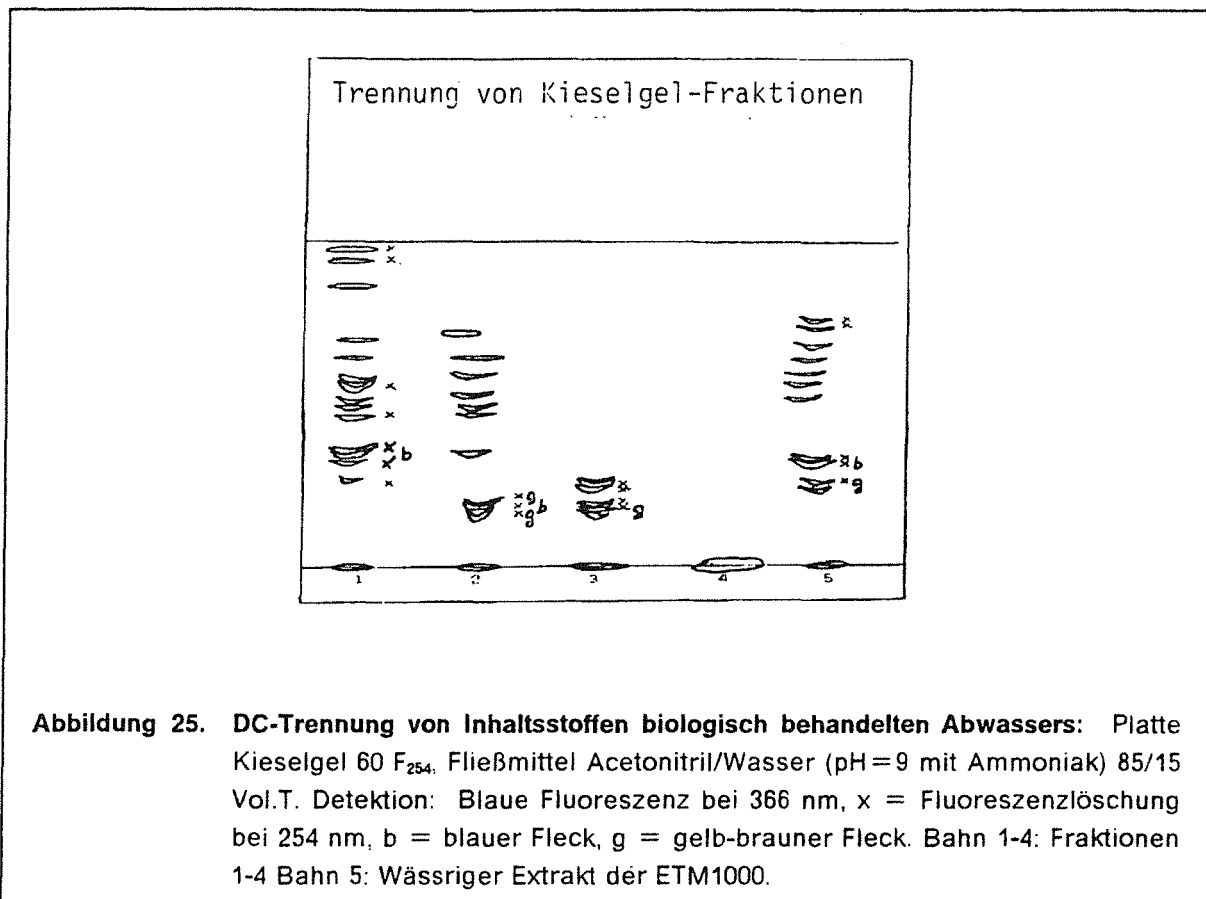
- Acetonitril/Wasser in unterschiedlichen Verhältnissen.
- n-Butanol/i-Propanol/Borsäurelösung (0.5 %)/Essigsäure im Verhältnis 37/63/12/2.5 Volumenteile.
- Aceton/Wasser/Diethylether 60/30/10 Volumenteile.
- Tetrahydrofuran/Dichlormethan in unterschiedlichen Verhältnissen.

Die besten Ergebnisse (d. h. die meisten Flecke) ergab Acetonitril/Wasser (85/15 Vol. T.) als mobile Phase. Damit wurden vier Fraktionen untersucht, die nach der Reinigung eines wässrigen Extraktes der ETM1000 über eine Kieselgel-Säule erhalten wurden (Abbildung 25 auf Seite 105). Detektionsmethoden waren dabei:

- Tageslicht (im Bild mit "b" oder "g" gekennzeichnet).
- Fluoreszenzlöschung bei 254 nm (im Bild mit "X" gekennzeichnet).
- Fluoreszenz bei 366 nm.

Im wässrigen Extrakt ohne Reinigung waren 12 Flecke zu sehen. In der Fraktion 1 waren es allein 14. Die Reinigung über Kieselgel verbessert offenbar die chromatographische Trennung. Erkennbar ist zudem, daß die hRf-Werte der Flecke in den einzelnen Fraktio-

nen immer geringer werden. In Fraktion 4 war überhaupt keine Wanderung von Inhaltsstoffen mehr zu beobachten.



Die Verwendung von Sprühreagenzien zur Charakterisierung der getrennten Flecke brachte keine substantiellen Ergebnisse. Lediglich mit dem Universal-Reagenz Alkalische Permanganat-Lösung waren auch nach dem Besprühen noch mehrere Flecke zu erkennen. Bei den übrigen (aufgelistet im Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123) waren entweder nur ein bis zwei Flecke zu erkennen oder auch gar nichts. Der Nachweis mit diesen Sprühmitteln erfordert wohl wesentlich höhere Stoffmengen pro Einzelverbindung auf der Platte.

Versuche zur präparativen Trennung wurden sowohl mit käuflichen als auch mit selbst hergestellten Platten durchgeführt. Bei Versuchen zur Isolierung und spektroskopischen Identifizierung (UV, IR) zeigte sich, daß die beobachteten Flecke zum einen wohl als Überlagerung mehrerer Verbindungen angesehen werden müssen, zum anderen sehr wenig organisches Material enthielten. Deshalb konnten nach Untergrundsubtraktion nur sehr verrauschte und schwer interpretierbare Spektren erhalten werden.

Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie: Eine Übertragung der Trennbedingungen der dünnenschichtchromatographischen Trennung auf die HPLC erbrachte den überraschenden Befund, daß hier (bei Verwendung der UV-Detektion bei 200 nm) weniger und

breitere Peaks erhalten wurden. Die relativ selektive Detektion bei der DC (Fluoreszenz, Fluoreszenzlöschung) führt gegenüber der Anwendung der UV-Detektion zu einer geringeren "Ausbeute" an Verbindungen und damit zu scheinbar besseren Trennungen. In Abbildung 26 auf Seite 107 ist die angesprochene HPLC-Trennung der Fraktion F1 dargestellt.

Verschiedene stationäre Phasen wurden daraufhin hinsichtlich ihrer Trennleistung untersucht:

- Kieselgel
- Polyol-Phase
- Amino-Phase
- Cyano-Phase
- RP18-Phase

Der Trennmechanismus reicht in obiger Liste von der reinen Verteilungschromatographie bei Kieselgel zu Adsorptionsschromatographie bei der Umkehrphase (RP18). Bei der Amino-Phase trägt die Möglichkeit Wasserstoffbrückenbindungen einzugehen zur Trennung von hydroxylgruppenhaltigen Verbindungen (Kohlenhydrate) bei.

Das primäre Auswahlkriterium bei den mobilen Phasen war die Löslichkeit der zu trennenden Verbindungen, bzw. deren Mischbarkeit mit Wasser, da häufig wässrige Lösungen der Inhaltsstoffe zur Trennung gelangten. Bei den verwendeten Eluenten handelte es sich um:

- Wässrige Puffersysteme
- Wasser
- Methanol
- Acetonitril
- Tetrahydrofuran
- Dichlormethan

Die Eluenten sind in absteigender Reihenfolge ihrer Elutionskraft aufgelistet. Bei wässrigen Puffersystemen wurde mit Blick auf angestrebte Kopplungsexperimente (LC-MS) auf nichtflüchtige Salze verzichtet. Zur Einstellung des pH-Wertes dienten Ammoniak, Essigsäure, Trifluoressigsäure und Salzsäure.

Die beste Trennleistung (d. h. die meisten Peaks) wurde mit der RP18-Phase als stationäre Phase erzielt. Als Elutionsmittel wurde dabei ein Gradient aus Wasser (pH = 2.1) und Acetonitril/Methanol verwendet (vgl. Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123). Die Abbildung eines Chromatogramms ist in Abbildung 26 auf Seite 107 zu sehen. Man erkennt über 160 Peaks, also weit mehr als mit der Normalphasenchromatographie.

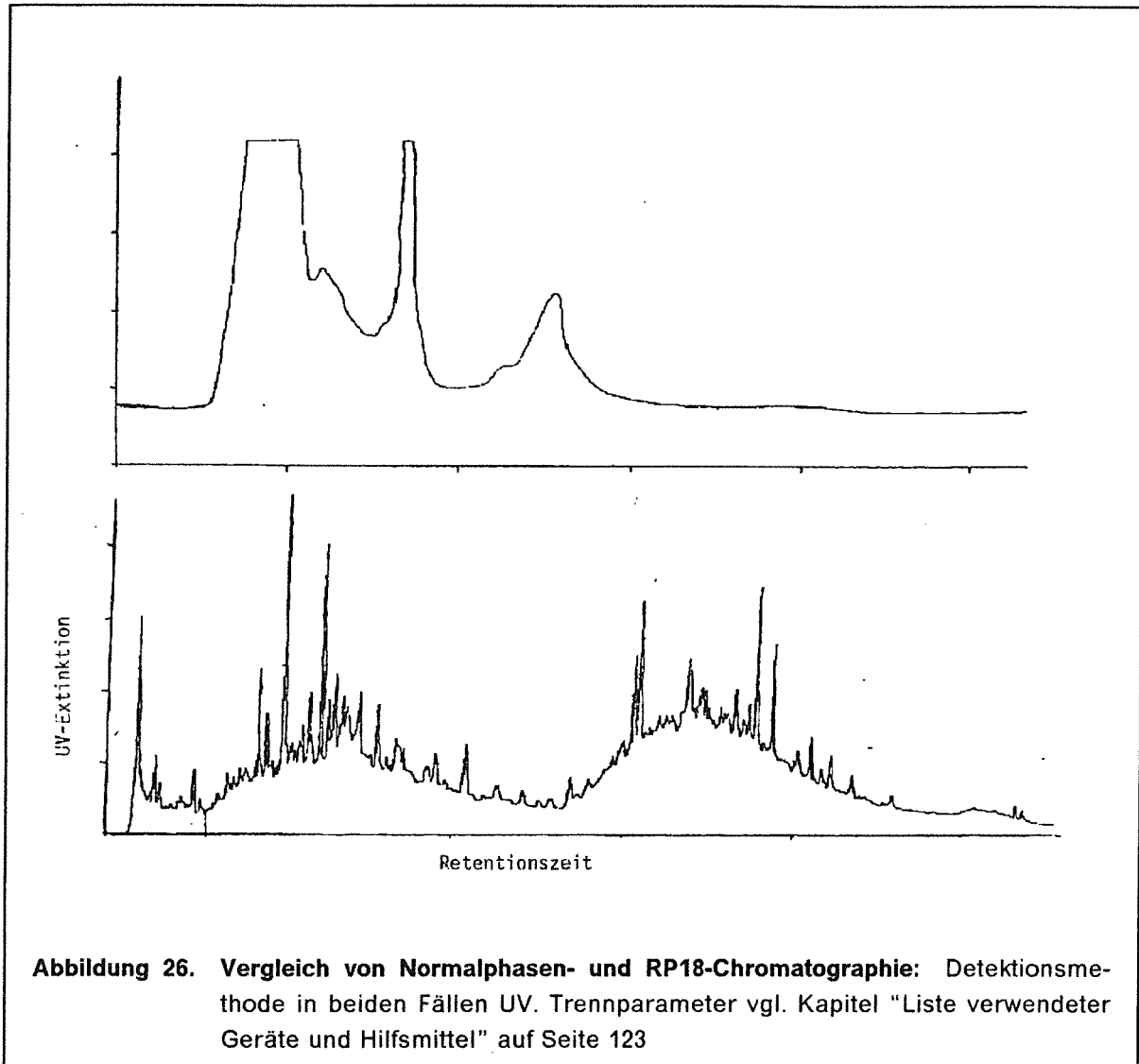


Abbildung 26. Vergleich von Normalphasen- und RP18-Chromatographie: Detektionsmethode in beiden Fällen UV. Trennparameter vgl. Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123

Sowohl mit der Normalphasen-HPLC, als auch mit der Umkehrphasen-HPLC wurden die im folgenden beschriebenen Kopplungs-Experimente durchgeführt.

12.2.2 Kopplung von HPLC und Massen- bzw. IR-Spektroskopie

Während die Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie bereits sehr verbreitet ist, gehören die Kopplungen HPLC-MS und HPLC-IR noch nicht zum Bereich der Routineanalytik. Die einzelnen Verfahren sind daher etwas ausführlicher beschrieben.

Die verwendeten Massenspektrometer, oder besser: Massenfilter (es handelt sich im allgemeinen um Quadrupolgeräte) sind bei GC-MS und HPLC-MS dieselben. Jedoch sind bei der Verwendung des Massenspektrometers als Detektor für einen Flüssigkeitschromatographen an die Vakuumpumpen wesentlich höhere Anforderungen zur Aufrechterhaltung des Vakuums in der Ionenquelle zu stellen. Es sind in diesem Fall deutlich hö-

here Stoffmengen pro Zeiteinheit zu entfernen (1 ml/min Eluentenfluß ergeben je nach Bedingungen 150 ml/min bis 1200 ml/min Dampf) als bei der Kopplung GC-MS. Des weiteren müssen die verwendeten Eluenten natürlich vollständig verdampfbar sein. In der Reversed-Phase Chromatographie werden aber häufig wässrige Puffersysteme eingesetzt, die diese Bedingung nicht erfüllen.

Bis vor kurzem war auch ein wichtiges Kriterium im Zusammenhang mit Multikomponenten-Analysen für die HPLC-MS Kopplung nicht erfüllt: Die erhaltenen Massenspektren konnten nicht mit käuflichen Datenbank-Spektren verglichen werden. Ist es doch gerade die Möglichkeit, Spektren unbekannter Verbindungen über Datenbanken zu identifizieren, die dem Bereich der GC-MS Kombination allgemeine Einsetzbarkeit vermittelt hat.

Die Ursache, warum das für die HPLC-MS Technik bisher nicht so war, liegt darin begründet, daß Datenbankspektren fast immer als 70 eV EI Spektren¹⁴ vorliegen, d. h. die Spektren, die dort archiviert sind, wurden durch Stoßionisierung der entsprechenden Verbindungen mit Elektronen der Energie 70 Elektronenvolt erhalten. Eine andere Ionisierungstechnik ist die chemische Ionisierung (CI), bei der die Elektronen zunächst ein anderes Molekül (z. B. ein Molekül des Trägergases bei der GC-MS-Kopplung oder ein Eluentenmolekül bei der HPLC-MS-Kopplung) ionisieren, das dann in einem zweiten Schritt das interessierende Molekül ionisiert. EI Spektren sind dann zu erhalten, wenn in der Ionisationszone die Konzentration der interessierenden Moleküle gegenüber der Konzentration der Trägergas- bzw. Eluentenmoleküle groß ist. Bei der GC-MS-Kopplung ist dieses Verhältnis ausreichend um EI Spektren zu erhalten, da die verwendeten Trägergase allgemein wesentlich flüchtiger sind als die aufgetrennten Verbindungen und somit bei einer Absaugung der Gase durch das Vakuumsystem des Massenspektrometers gleichsam eine Aufkonzentrierung der aufgetrennten Verbindungen erreicht wird.

Bei Verwendung der Massenspektroskopie als Detektionsmethode für flüssigkeitschromatographisch getrennte Verbindungen gelingt die Abtrennung des Eluenten von den Probenbestandteilen nicht mehr so einfach. Bei mehr als 100 μ l/min. Eluentenfluß werden daher ohne zusätzliche Maßnahmen CI Spektren erhalten, die sich von den EI-Spektren deutlich unterscheiden.

Darüber hinaus wird diese CI nicht wie gewohnt durch ein Reaktantgas vermittelt, sondern es sind Bestandteile des Eluenten, die auf die zu untersuchenden Verbindungen ionisierend wirken. Eluenten werden je nach Trennproblem variiert, und somit werden keine allgemein übertragbaren Fragmentierungsmuster erhalten. Für jedes Trennproblem müßte eine eigene Spektrenbibliothek erstellt werden, daher sind keine allgemein verfügbaren Datenbanken oder Spektrenatlanten zu diesem Bereich erhältlich.

Seit 1988 wird allerdings ein System angeboten, mit dem auch bei der Kopplung HPLC-MS 70 eV EI Spektren der eluierten Verbindungen erhalten werden, und auch unter definierten (d. h. Eluent-unabhängigen) Bedingungen die chemische Ionisierung angewendet werden kann.

Mit drei verschiedenen HPLC-MS-Systemen und einer HPLC-IR-Kopplung wurden Versuche durchgeführt. Typen und Standorte sind im folgenden kurz aufgelistet, bei den

¹⁴ EI = electron impact

verantwortlichen Herren bedanke ich mich an dieser Stelle. Angaben zu den Meßbedingungen finden sich im Kapitel "Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel" auf Seite 123.

Thermospray-Verfahren (CI) HPLC 1090, MS 5988 (beide Hewlett Packart) bei Fa. BASF, Ludwigshafen (Dr. Merz, Dr. Randt)

Particle Beam-Verfahren (EI/CI) HPLC 1050, MS 5988 (beide Hewlett Packart) bei Fa. Hewlett Packart, Waldbronn (Dr. Günther)

HPLC-MS/MS (CI bzw. FAB¹⁵) HPLC 510 (Waters), MS 7070 (Finnigan) am Inst. für Siedlungswasserwirtschaft der TH Aachen (Dr. Schröder)

HPLC-IR HPLC C21, Spektrometer IFS62 (beide Bruker) bei Fa. Bruker (Herr Landt)

Zur besseren Vergleichbarkeit wurden jeweils die selbe Säule (bei Normalphasenchromatographie Nucleosil 50-5 (200x4) und bei Reversed Phase Nucleosil 120-3 C₁₈) bei den einzelnen Versuchen in die Geräte eingebaut.

12.2.2.1 Direkte Kopplung von HPLC und MS

Bei diesem System führt eine Kapillare das gesamte Säuleneluat direkt in die Ionenquelle. Dort im Vakuum werden Eluentenkomponenten und getrennte Verbindungen verdampft und die Hauptmenge des Eluenten über Vakuumpumpen abgesaugt. Probenbestandteile werden nicht im selben Maß mit abgesaugt. Man erreicht so eine Aufkonzentrierung der Probeninhaltsstoffe. Die Ionisierung wird durch Beschuß mit Elektronen durchgeführt und erreicht im ersten Schritt fast nur Komponenten des Eluenten, da diese trotz Absaugung noch in beträchtlichem Überschuß vorhanden sind. Im zweiten Schritt werden durch diese primären Ionen auch die aufgetrennten Bestandteile der zu untersuchenden Probe ionisiert.

Diese Form der Ionisierung ist sehr schonend, so daß in den meisten Fällen das Molekölion der betreffenden Verbindung beobachtet werden kann. Es tritt allerdings auch sehr wenig Fragmentierung der erzeugten Ionen auf, was die Interpretation der Spektren erschwert.

Zur Untersuchung wurde ein chromatographisches System eingesetzt, dessen Parameter, insbesondere die Form des Lösungsmittelgradienten, mittels UV-Detektion optimiert worden war. Ein Vergleich der UV Spur mit dem Verlauf des Chromatogramms anhand des Totalionenstromes (TIC) der negativen Ionen zeigt, daß sich die Chromatogramme in ihrem Aussehen ähneln, wenngleich auch die Intensitäten der Peaks deutlich voneinander abweichen.

¹⁵ FAB = fast atom bombardement, Ionisierung durch Beschuß mit Argon

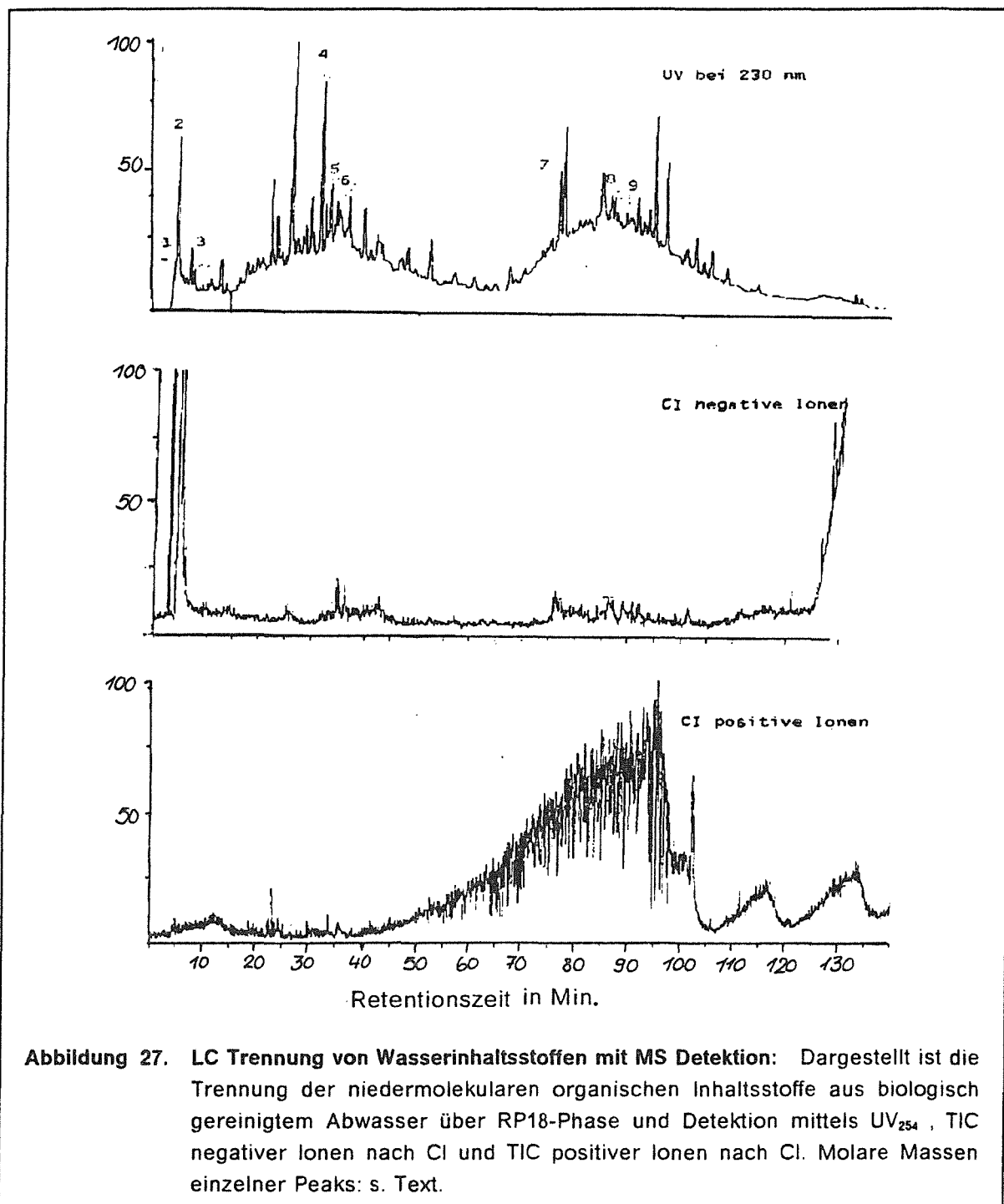


Abbildung 27. LC Trennung von Wasserinhaltsstoffen mit MS Detektion: Dargestellt ist die Trennung der niedermolekularen organischen Inhaltsstoffe aus biologisch gereinigtem Abwasser über RP18-Phase und Detektion mittels UV₂₅₄, TIC negativer Ionen nach CI und TIC positiver Ionen nach CI. Molare Massen einzelner Peaks: s. Text.

Bei der Anwendung eines UV Spektrometers als Detektor waren über den gesamten Bereich des Chromatogramms z. T. sehr intensive Peaks erkennbar, während man bei der Auftragung des TIC aller negativen Ionen gegen die Zeit nur zu Beginn der chromatographischen Trennung intensive Peaks sehen konnte. Bei Betrachtung des TIC der positiven Ionen ergab sich ein anderes Bild. Hier wurde die höchste Intensität im mittleren Chromatogrammbereich zwischen 60 und 100 Minuten als nicht aufgelöster, breiter Peak erhalten. In Abbildung 27 sind die drei Chromatogrammpuren zusammen dargestellt.

Bei einigen Peaks konnte eine molare Masse zweifelsfrei zugeordnet werden. In der UV-Spur sind diese durch Nummern über dem betreffenden Peak gekennzeichnet. Den Peaks konnten im einzelnen folgende molaren Massen zugeordnet werden:

| Peak-Nr. | molare Masse (D) |
|----------|------------------|
| 1 | 196 |
| 2 | 126 |
| 3 | 130 |
| 4 | 164 |
| 5 | 214 |
| 6 | 189 |
| 7 | 214 |
| 8 | 224 |
| 9 | 362 |

Wie bereits zuvor ausgeführt, ist es mit den erhaltenen CI Spektren nicht möglich, in den üblichen MS-Datenbanken nach entsprechenden Referenzspektren zu suchen, um so zu einer Identifizierung zu gelangen.

12.2.2.2 Kopplung von HPLC und MS über ein Interface

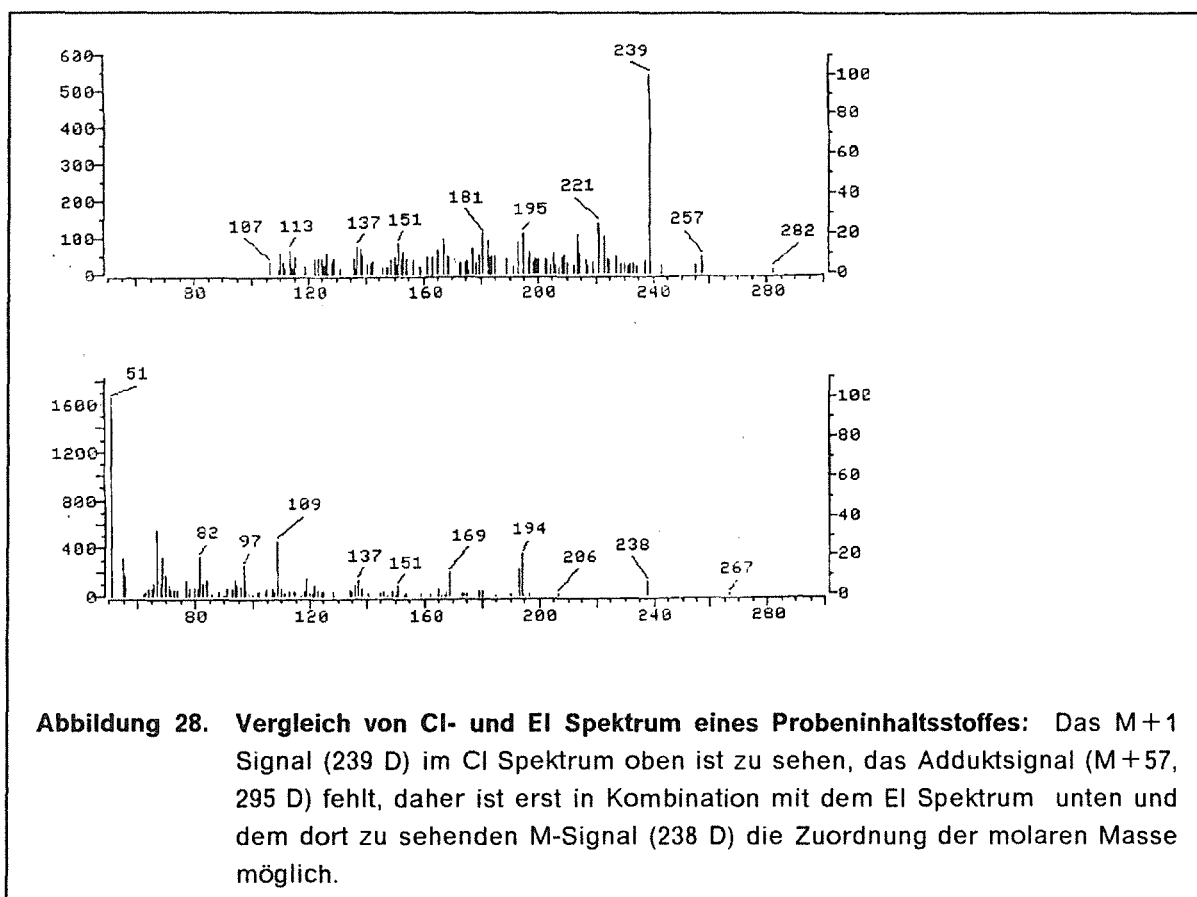
Ein Interface zwischen Flüssigkeitschromatograph und Massenspektrometer hat die Aufgabe, das Hauptproblem der Kopplung zu lösen, die Entfernung der Eluenten unter Erhaltung der Probenbestandteile und deren Transfer in die Ionenquelle. Dafür gibt es im Augenblick zwei prinzipielle Lösungsansätze:

Die zeitlich ältere Lösung ist das sog. "Moving Belt Interface". Dabei wird das Eluat zusammen mit aufgetrennten Probenbestandteilen nach der HPLC-Säule auf ein Transportband gesprüht, dann an einem Heizdraht vorbeigeführt. Dort verdampfen die flüchtigen Bestandteile (Lösungsmittel) und werden abgesaugt. Das Transportband bringt die verbleibenden Bestandteile direkt in die Ionenquelle, wo sie entweder thermisch desorbiert und elektronisch ionisiert, oder mittels Felddesorption in einem Vorgang desorbiert und ionisiert werden. Das Band wird über eine Reinigungsanlage zurückgeführt und kann erneut beladen werden.

Ein auf dem Markt neues Interface nützt die Tatsache aus, daß allgemein in der HPLC die zu trennenden Verbindungen wesentlich höhere molare Massen besitzen als die Bestandteile der mobilen Phase. Das Eluat wird in diesem Interface in eine Kammer eingedüst und vernebelt. Vakuumpumpen ziehen die Lösungsmittelmoleküle ab, die infolge ihres kleineren Trägheitsmoments leichter aus der ursprünglichen Flugbahn abgelenkt werden als die schwereren Probenbestandteile. Diese durchqueren die Kammer und gelangen durch Lochblenden in die Ionenquelle. Die Abtrennung der Eluenten ist so gut, daß von den Probenbestandteilen auch EI-Spektren aufgenommen werden können, und damit die Möglichkeit des Vergleichs mit Datenbankspektren besteht.

Mit der Moving Belt Technik wurden keine Versuche durchgeführt. Mit dem zweiten beschriebenen Interface wurden zwei Versuchsreihen mit Inhaltsstoffen biologisch gereinigter Abwässer durchgeführt.

Die Interface-Technik, bietet neben der Option, die Spektren mit Datenbankeinträgen zu vergleichen, zusätzliche Informationen für die Handauswertung von Massenspektren. Als Beispiel sei hier die Ermittlung der wahren molaren Masse erläutert:



Das Molekülion, das bei der CI erhalten wird, ist bei Detektion positiver Ionen entweder das M+1-Ion (Anlagerung eines Protons) oder das Addukt aus Molekül und Reaktantgas-Ion (z. B. bei der Verwendung von iso-Butan, nach Anlagerung des iso-Butyliions, das M+57-Ion). Werden beide Massenzahlen im Spektrum gefunden, kann die molare Masse der gesuchten Verbindung relativ sicher ermittelt werden. Sind im Spektrum keine zwei Peaks hoher Massenzahl und der entsprechenden Differenz zu sehen, sondern nur ein prominenter Peak wie im folgend beschriebenen Beispiel, ist unklar, um welches Addukt es sich dabei handelt. Die Angabe einer molaren Masse ist deshalb unsicher. Ist in diesem Fall noch ein EI Spektrum zur Hand, so kann dieses die benötigte Information liefern, da in diesem Fall das Molekülion die Massenzahl M (M⁺) hat. In Abbildung 28 ist ein solcher Fall dargestellt. Die chemische Ionisierung wurde hier mit iso-Butan als Reaktantgas durchgeführt und, im Spektrum sind mehrere Signale hoher Massenzahlen zu beobachten, ohne daß zwei von ihnen die typische Differenz von 56 D hätten. Wird das

intensivste Signal (239 D) im CI Spektrum als M + 1 Massenzahl angesehen, so ist im EI Spektrum die entsprechende M + Masse bei 238 D ebenfalls zu finden, woraus sich für die untersuchte Verbindung die molare Masse von 238 D ergibt.

Mittels Reversed-Phase Chromatographie wurden über Kieselgel gereinigte Fraktionen der ETM1000 untersucht. Zum Reinigungsmodus vgl. Kapitel "Festphasenextraktion" auf Seite 59 und Tabelle 85 auf Seite 164 im Tabellenanhang. Die Fraktionen F1, F2 und F3 ergaben bei den Vorversuchen mit photometrischer Detektion vergleichbare Chromatogramme. Da die Anlage insgesamt nur an zwei Tagen zur Verfügung stand, konnte aus Zeitgründen nur eine Probe untersucht werden. Die Fraktion F2 wurde ausgewählt.

Hierbei ergab sich chromatographisch das bereits aus den Versuchen mit der Direktkopplung bekannte Bild. (Abbildung 27 auf Seite 110).

Bei Anwendung der EI Technik und Auftragung des Totalionenstromes war hierbei neben einer Anzahl Peaks zu Beginn des Chromatogramms, die auch bei den Versuchen mit direkter Kopplung zu sehen waren, eine ganz erhebliche Ionenausbeute in der zweiten Hälfte des Chromatogramms zu beobachten. Ein ähnlicher Verlauf ergab sich, wenn chemisch mit iso-Butan als Reaktantgas ionisiert wurde und der TIC der positiven Ionen aufgetragen wurde. Auch hierbei ist Übereinstimmung mit der Direktkopplung zu beobachten.

Die automatische Suche von aufgenommenen Spektren unbekannter Verbindungen in Datenbanken verlief nicht befriedigend. Wie in Tabelle 27 zu sehen ist, wurden ausschließlich Verbindungen vorgeschlagen, deren Spektren nicht gut mit den gemessenen Probenspektren übereinstimmen.

Tabelle 27. Strukturvorschläge für einzelne Peaks bei HPLC-MS-Kopplung: Verbindungen nach Vergleich mit Datenbankspektren und deren Übereinstimmung mit den Spektren der Probenpeaks.

| Ret. Zeit in Min. | Verbindungsvorschlag | Wahrscheinlichkeit in % |
|-------------------|---|-------------------------|
| 42.7 | Octahydropentalen | 41 |
| 47.3 | Cyclopentanoxim | 20 |
| 49.2 | Bicyclo-(2,2,2)-octa-2,5-dien, -1,4,7,7,8,8-hexafluoro, -2-methyl | 20 |
| 54.2 | 3,5-Dimethoxybenzylamin | 28 |
| 58.9 | Trifluoressigsäure | 76 |
| 60.2 | 3,6-Dimethylheptadien (1,5) | 26 |
| 72.5 | Thiazolo-(5,4-f)-2,9-Dimethylchinolin | 25 |
| 75.3 | 2,3,6-Trimethylheptadien | 35 |

Die Verbindung mit der höchsten Zuordnungsrate (Trifluoressigsäure mit 76 %) stammt vermutlich aus dem System selbst, da der pH-Wert der Eluenten mit Trifluoressigsäure eingestellt wurde.

Zum einen kann es sich bei den unbekanntem Substanzen natürlich um Verbindungen handeln, die noch in keiner Datenbank mit ihren Spektren vertreten sind. Die Mehrzahl der Spektren in MS-Datenbanken wurde bisher mittels GC-MS Kopplung aufgenommen und archiviert. Dieser Technik sind allerdings nur unzersetzt verdampfbare Verbindungen zugänglich.

Zum anderen enthält die Fraktion F2, die als Probe für diese Untersuchungen verwendet wurde, noch so viele Verbindungen, daß selbst bei einer Dauer für die chromatographische Trennung von fast zwei Stunden noch mit einer erhebliche Anzahl von Peaküberlagerungen zu rechnen ist. Bei der massenspektroskopischen Auswertung eines solchen komplexen Gemisches sind selbst bei Anwendung der Spektrensubtraktion Mischmassenspektren nicht auszuschließen.

Mittels Normalphasenchromatographie (Kieselgel/Acetonitril/Wasser) wurden die gleichen Fraktionen der ETM1000 untersucht wie mit der Reversed-Phase Chromatographie. In Übereinstimmung mit den Trennversuchen mittels Dünnschichtchromatographie, wo mit der gleichen Eluentenzusammensetzung mehrere Flecke im UV-Licht zu erkennen waren, zeigte die photometrische Detektion bei 200 nm mehrere Peaks. Hingegen wurde bei der HPLC-MS-Kopplung jeweils nur zu Beginn eines jeden chromatographischen Laufes ein Signal registriert.

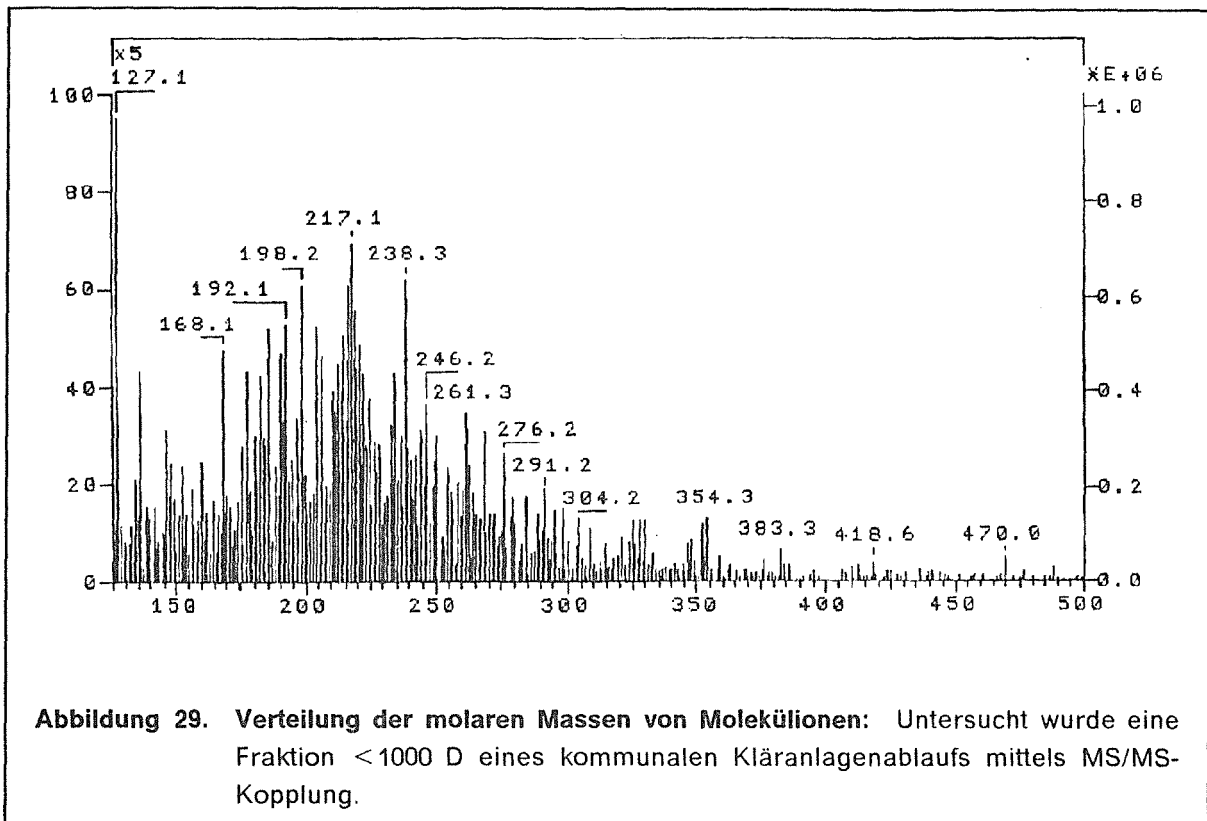
Um zu überprüfen, inwiefern Verbindungen an der stationären Phase adsorbiert bleiben und so dem chromatographischen Prozess entzogen werden, wurden die Probenfraktionen unter Umgehung der Säule in das Interface gebracht (Bypass-Schaltung). Die dabei erhaltenen Ionenausbeuten waren in der Tat höher, jedoch wohl hauptsächlich aufgrund der Tatsache, daß die organischen Verbindungen bei Passage der Säule über ein größeres Flüssigkeitsvolumen verteilt werden, wobei die Nachweisempfindlichkeit vermindert wird.

Bei der Verteilung der Massen war zwischen der Bypass-Schaltung und dem ersten Peak der chromatographischen Trennung kein signifikanter Unterschied zu beobachten. Die höchsten Intensitäten im Bereich oberhalb 45 Dalton erreichten bei den Fraktionen F1-F3 die Masse 69 und 97. Bei der Fraktion F4 waren 48 und 64 und 80 die Hauptmassenzahlen. Daraus folgt, daß offenbar bei dieser Art der Trennung die Hauptmenge der zu trennenden Verbindungen gleich zu Beginn in einem Peak eluiert werden. Die weiteren, mittels UV Photometer noch beobachtbaren Verbindungen tragen nicht wesentlich zur Massenbilanz bei.

12.2.2.3 HPLC-MS/MS Kopplung

Die untersuchte MS/MS Konfiguration (eigentlich sind es sogar drei Quadrupolgeräte, daher häufig auch die Bezeichnung "Triple Stage MS"), war mit einer HPLC Anlage direkt gekoppelt, d. h. ohne ein dazwischengeschaltetes Interface. Das erste Quadrupolgerät arbeitet im positiv-CI Modus und erzeugt in erster Linie Molekülionen.

Im zweiten Gerät wird aus den erzeugten Molekülionen gezielt eine Masse ausgeblendet und in eine Reaktionskammer zur Stoßionisation mit Argon geleitet. Die dabei erhaltenen Fragmente werden durch das dritte Gerät als Massenspektrum dargestellt.



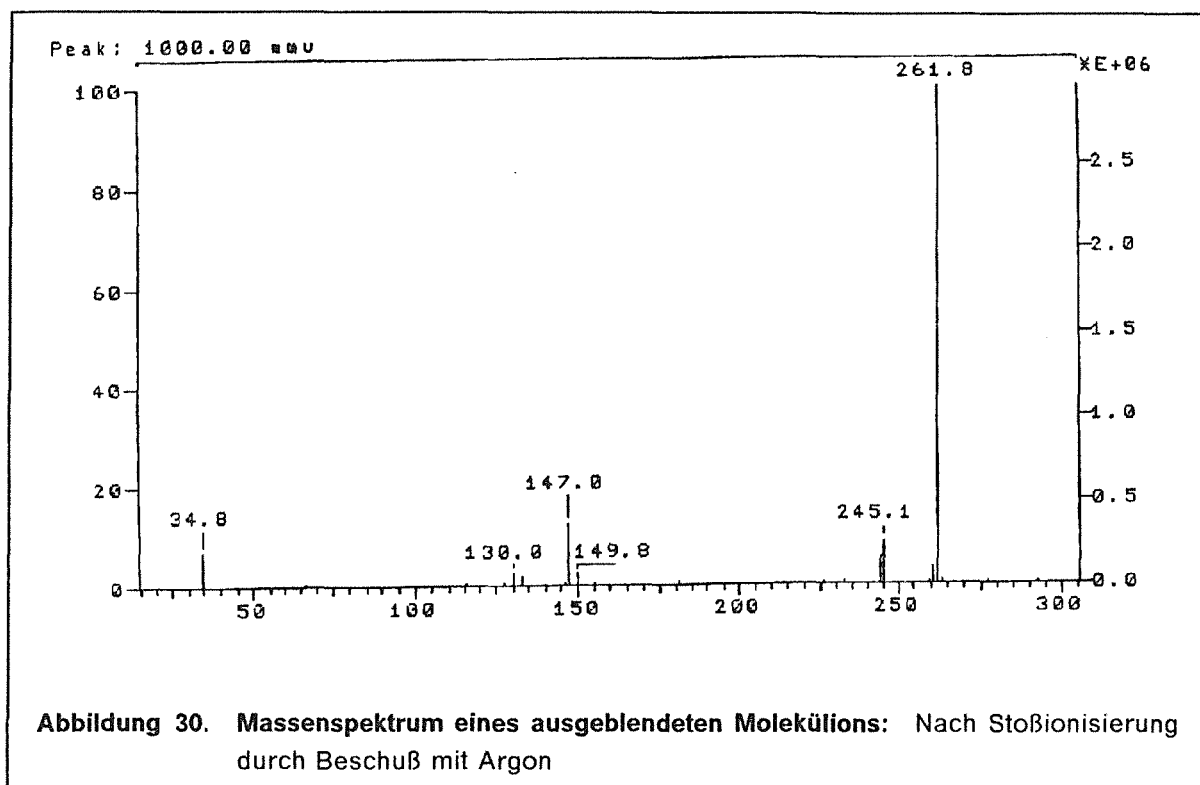
Bei der Direktinjektion von Proben unter Umgehung des chromatographischen Systems ergab sich das in Abbildung 29 dargestellte Bild. Da in erster Linie Molekülonen erzeugt wurden entspricht das dargestellte Bild etwa den in der untersuchten Probe vorhandenen molaren Massen der Inhaltsstoffe. Es ist darauf hinzuweisen, daß im vorliegenden Fall die Untergrenze des Massenspektrums bei 126 Dalton liegt. Die Eluenten enthielten Ammoniumacetat und bei der Massenzahl 125 tritt das Molekülion der dimeren Essigsäure auf. Aufgrund seiner hohen Intensität würde seine Darstellung eine erhebliche Spreizung der Intensitätsachse (Y-Achse) erfordern, wonach andere Signale nicht mehr zu erkennen wären.

Es ergab sich ein Maximum bei etwa 220 D molarer Masse. Die Verteilung ist annähernd glockenförmig und läuft gegen höhere Massen (> 400 D) flach aus.

Erwähnenswert ist die Tatsache, daß nur in sehr geringem Umfang Massenzahlen über 400 Dalton beobachtet wurden. Die Abtrennung mittels Membranfiltration, die während der Probenvorbereitung vorgenommen wurde, sollte alle Verbindungen < 1000 Dalton erfassen. Offenbar liegt der Hauptteil der so abgetrennten Verbindungen im Bereich unterhalb 400 Dalton.

Bei ausgewählten Molekülonen wurde auch die Fragmentierung nach Beschuß mit Argon betrachtet. In allen Fällen wurden nur wenige Fragmente erhalten. Dies deutet darauf hin, daß es sich dabei um Verbindungen handelt, bei denen Energieübertragung durch Stöße nicht unbedingt zum Bindungsbruch führt, sondern bis hin zu hohen Stoßenergien

z. B. durch Deformation des Moleküls verbraucht werden können. Langkettige Verbindungen (z. B. Tenside) zeigen ein solches Verhalten. In Abbildung 30 auf Seite 116 ist exemplarisch das erhaltene Massenspektrum einer solchen Verbindung dargestellt. Aufgrund der wenigen erhaltenen Fragmente ließ sich nicht herausfinden, um welche Verbindung es sich dabei handelt.



Bei vorgeschalteter chromatographischer Trennung (Normalphasen Chromatographie) ergab sich das in Kapitel "Vorversuche zur flüssigkeitschromatographischen Trennung" auf Seite 104 bereits beschriebene Ergebnis: Es konnte bei Registrierung des Totalionenstroms nur ein stark verrauschtes Signal bei einer Retentionszeit von 6.7 Minuten beobachtet werden, die simultane photometrische Detektion bei 200 nm zeigte hingegen mehrere intensive Peaks.

Dieses unbefriedigende Ergebnis entspricht im wesentlichen dem Resultat, das auch mit dem in Kapitel "Kopplung von HPLC und MS über ein Interface" auf Seite 111 beschriebenen System und Normalphasenchromatographie erhalten wurde.

Ein Unterschied erscheint jedoch bemerkenswert. In diesem Versuch wurde der Totalionenstrom der Massen oberhalb 125 Dalton registriert. Das ist nur ein Bruchteil des gesamten Ionenstroms, daher auch das stark verrauschte Signal. In dem anderen Versuch wurde der Totalionenstrom der Massen oberhalb 45 Dalton dargestellt und ein wesentlich intensiveres Signal erhalten. Beide Signale sind nicht deckungsgleich. Das intensive Signal fällt mit dem ersten, sehr intensiven Peak bei UV-Detektion zusammen, das Signal das nur Massen oberhalb 125 Dalton entspricht einem kleinen UV-Peak. Man kann vermuten, daß zu Beginn des Chromatogramms Verbindungen eluieren, die entweder sehr

klein sind (< 125 Dalton) oder zu sehr kleinen Bruchstücken fragmentieren. Wohingegen etwas später Verbindungen erscheinen, die größer als 125 Dalton sind und offenbar nicht so stark fragmentieren. Diese Beschreibung trifft zum Beispiel auf Tenside zu, die aufgrund ihrer Kettenstruktur leichte Stöße durch Schwingung absorbieren und erst bei intensiveren Stößen mit Bindungsbrüchen reagieren.

12.2.2.4 HPLC-IR Kopplung

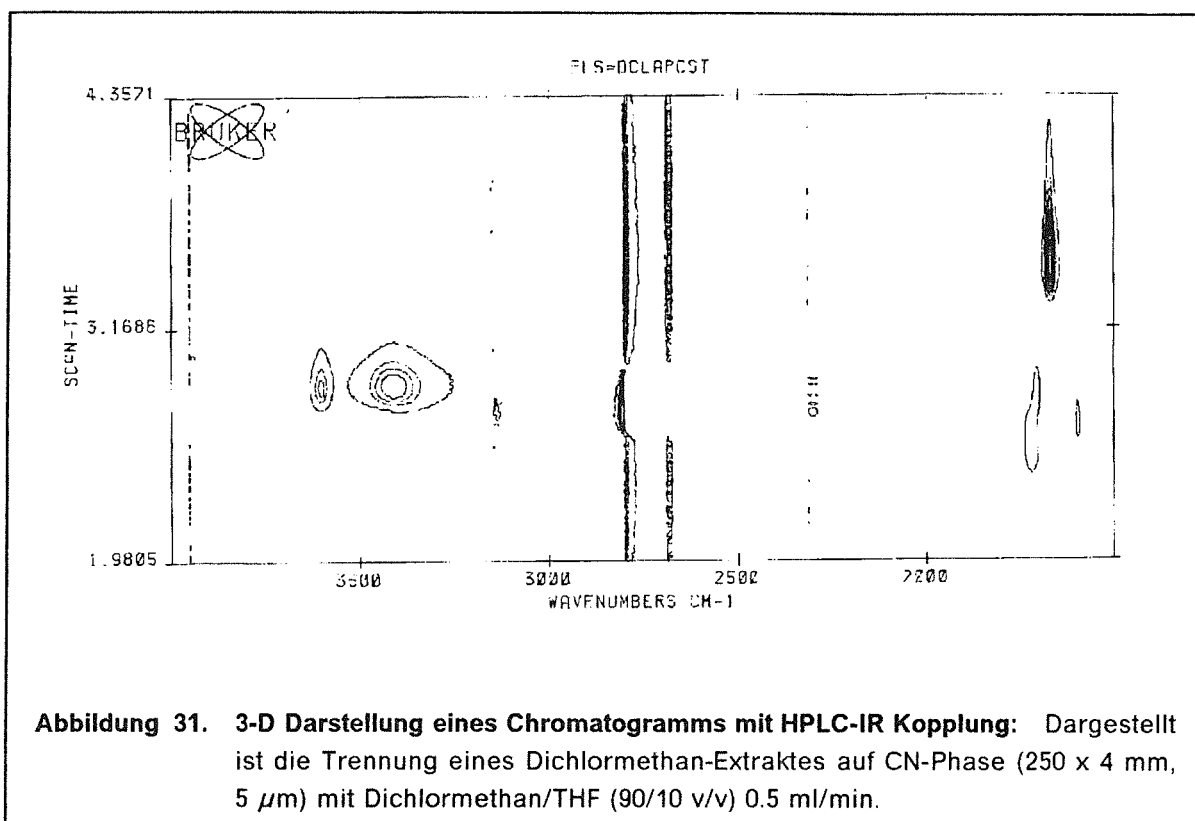
Neben dem Massenspektrometer als Detektor hat auch das Infrarotspektrometer als chromatographischer Detektor seinen Anwendungsbereich in der Analytik gefunden. Dies gilt vor allem für gaschromatographische Trennungen.

Auf dem Sektor der Flüssigkeitschromatographie steht der allgemeinen Verbreitung der Infrarotspektroskopie neben der Nachweisempfindlichkeit besonders ein Problem entgegen: Die meisten zur Trennung verwendeten Eluenten absorbieren selbst in relevanten spektralen Bereichen. Man ist deshalb in der Auswahl des Trennsystems mobile Phase/stationäre Phase auf wenige Lösungsmittel festgelegt, wenn die häufig in der Kopplungstechnik eingesetzten Durchflußzellen verwendet werden. Die direkte Kopplung HPLC-IR hat aus diesem Grund bisher nur in der Analytik organischer Polymere (Ausschlußchromatographie mit z. B. THF als Eluent) eine stärkere Verbreitung gefunden. Einen guten Ansatz die Eluenten-Problematik zu umgehen zeigten Hellegeth und Taylor [32]. Sie sprühten den Eluentenstrom nach der Trennsäule auf festes Kaliumbromid, verdampften das Lösungsmittel und nahmen Spektren der zurückbleibenden organischen Verbindungen mit Hilfe der diffusen Reflektions-Infrarotspektroskopie auf. Dieses Verfahren ist jedoch noch im Entwicklungsstadium.

Eigene Versuche auf diesem Gebiet orientierten sich an der Tatsache, daß nur relativ unpolare Lösungsmittel als Eluenten für die HPLC-IR Kopplung geeignet sind.

Da die meisten niedermolekularen organischen Inhaltsstoffe von biologisch gereinigtem Abwasser sehr polar sind (vgl. hierzu auch die Lösungsversuche in Kapitel " 8. Weitere Abtrennung organischer Stoffe von der anorganischen Matrix" auf Seite 57), würden sich bei der Verwendung einer polaren Normalphase als stationäre Phase zu hohe Retentionszeiten ergeben, wenn überhaupt eine chromatographische Trennung zustande käme. Es wurde daher ein chemisch modifiziertes, unpolares Kieselgel (Cyano-Phase) verwendet. Als Eluenten wurden Tetrahydrofuran (THF) und Dichlormethan eingesetzt. Diese beiden Lösungsmittel sind noch in akzeptabler Weise infrarot-transparent. Wässrige Extrakte sind mit diesen beiden Lösungsmitteln nicht kompatibel, es wurde daher der methanolische Extrakt eines gefriergetrockneten Kläranlagenablaufs (ETM1000) verwendet. Daneben gelangten Extrakte mit Dichlormethan und THF zum Einsatz. Bei jeder chromatographischen Trennung wurden nur wenige Peaks erhalten. Dies hat seine Ursache vor allem darin, daß sich in den verwendeten organischen Lösungsmitteln nur geringe Anteile der organischen Inhaltsstoffe eines Kläranlagenablaufs lösen (speziell THF und Dichlormethan), was zur Folge hat, daß nur wenige Verbindungen überhaupt in den chromatographischen Prozeß gelangen, und zum zweiten natürlich auch das Trennsystem selbst für diese Gruppen nicht optimal ist. Von den getrennten Verbindungen konnten jeweils im Bereich 1500 cm^{-1} bis 4000 cm^{-1} on line Infrarotspektren erhalten

werden. Eine Tabelle der dabei gefundenen Absorptionsbanden findet sich im Tabellenanhang. Abbildung 31 auf Seite 118 zeigt die Trennung des Dichlormethanextraktes in dreidimensionaler Darstellung: In x-Richtung ist die Wellenzahl aufgetragen, in y-Richtung der chromatographische Verlauf als Zeitachse. Die "Höhenlinien" der Absorptionsbanden geben deren Intensität an.



Erhaltene Absorptionsbanden wurden mit Spektrenkatalogen verglichen und eine Zuordnung - zumindest der Stoffklassen - versucht. In Tabelle 28 auf Seite 119 sind Retentionszeiten und Stoffklassen-Vorschläge für die Peaks des obigen Bildes aufgelistet. Eine präzisere Zuordnung wäre vermutlich durch computergestützte Vergleiche von gemessenen- und Referenz-Spektren möglich gewesen. Diese Option stand jedoch nicht zur Verfügung. Es ist klar, daß die hierbei nachgewiesenen Verbindungen nicht repräsentativ sind für die Zusammensetzung des organischen Anteils der Inhaltsstoffe von biologisch gereinigtem Abwasser. Dazu ist die Probenaufarbeitung und das chromatographische System zu selektiv ausgelegt.

Diese Versuchsreihe steht für die Möglichkeit, durch sehr selektive Bedingungen an der Aufklärung organischer Inhaltsstoffe in Abwasser zu arbeiten und befindet sich damit im Gegensatz zu der Absicht, die bei Experimenten zur HPLC-MS Kopplung als eher generalistischem Ansatz verfolgt wurden.

Tabelle 28. Strukturvorschläge zur HPLC-IR Kopplung: Verbindungsklassen, deren Banden zu den beobachteten Banden des Dichlormethanextraktes passen.

| | |
|------|--------------------------------------|
| 2.55 | α -Dicarboxyl-Verbindung |
| 2.63 | Stilben-Derivat |
| 2.71 | Imidazol-Derivat |
| 2.85 | Quart. Ammoniumverbindung |
| 3.50 | Stickstoffhaltige, chinoide Struktur |

12.3 Zusammenfassung der Untersuchungen zu Kopplungsmethoden

Von den untersuchten Kombinationen GC-MS, HPLC-MS, HPLC-MS/MS und HPLC-IR hat bisher einzig die Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektroskopie weitere Verbreitung erfahren.

Bei der Anwendung dieser Methode müssen die bekannten Nachteile der Gaschromatographie akzeptiert werden. Dennoch sind Identifizierungen der Inhaltsstoffe, die mit diesem Verfahren getrennt werden können, am leichtesten möglich, da für diesen Bereich umfangreiche Referenzdaten vorhanden sind.

Die HPLC-MS Kopplung kennt prinzipiell keine Beschränkung für die Art der zu trennenden Verbindungen. Eine gewisse Flüchtigkeit ist sinnvoll für das Erreichen einer vernünftigen Nachweisgrenze im Massenspektrometer. Für polare Verbindungen fehlen häufig entsprechende Referenzspektren, so daß die automatisierte Auswertung im Moment noch wenig sinnvolle Ergebnisse liefert. Die HPLC erreicht auch nicht die hohe Auflösung der Kapillar-GC, aus diesem Grund ist eine Fraktionierung komplexer Mischungen, wie sie auch die Abläufe biologischer Klärstufen darstellen, unumgänglich. Durch die größere Variationsbreite der Trennparameter ist jedoch auch die Lösung anspruchsvoller Trennprobleme möglich.

Bei der Verbindung von HPLC und IR tritt in der zur Zeit verwendeten Kopplungsform der Durchflußküvette die Limitierung auf wenige verwendbare Lösungsmittel als Schwachstelle hervor. Diese lösen allesamt nur geringe Anteile der niedermolekularen Ablauf-Inhaltsstoffe, so daß hier wiederum - wie bei der Verwendung der GC-MS Technik - nur ein Ausschnitt des gesamten Inhaltsstoffspektrums untersucht werden kann. Wenn jedoch die Interface-Entwicklung weiterschreitet, wozu berechtigte Hoffnung besteht, mag das dieser Technik auf dem Gebiet der Abwasseranalytik verbreiteten Einsatz ermöglichen.

Obwohl in der vorliegenden Arbeit mit den auf HPLC basierenden Kopplungsverfahren noch keine belastbaren Substanzidentifizierungen möglich waren, bietet diese Technik doch den aussichtsreichsten Weg zur Aufschlüsselung des DOC in biologisch gereinigtem Abwasser. Die darin vorliegenden Verbindungen sind, wie die bisherigen Resultate zeigen, überwiegend polarer Natur, was man auch als Ergebnis einer biochemischen Oxidation erwarten muß.

Der Einsatz der auf HPLC basierenden Kopplungsverfahren ist eng verbunden mit der Computer-gestützten Suche nach Referenzspektren in entsprechenden Spektrenbibliotheken. Bei polaren Verbindungen existieren hierbei noch große Lücken.

Für flüchtige, in aller Regel unpolare Verbindungen sind diese Bibliotheken bereits sehr umfangreich. Daran hat die Verbreitung der GC-MS-Technik entscheidenden Anteil, denn durch Daten, die mit dieser Technik gewonnen werden, werden diese Spektrensammlungen laufend ergänzt. Konsequenterweise bietet die Analytik unbekannter Verbindungen mit dieser Technik auch die größte Wahrscheinlichkeit, ein passendes Referenzspektrum zu finden.

Für polare Verbindungen ist die GC-MS-Technik nur nach Derivatisierung der zu trennenden Verbindungen einsetzbar. Methoden, polare Verbindungen durch Kopplung von Flüssigkeitschromatographie und Spektroskopie in einem Arbeitsgang zu trennen und zu identifizieren sind (mit Ausnahme der HPLC-Diodenarray-Technik für die UV/VIS-Spektroskopie) noch nicht weit verbreitet. Da die Anwendung dieser Verfahren Voraussetzung für die Bereitstellung großer Mengen an Referenzspektren in Datenbanken ist, ist auf diesem Gebiet für die Zukunft mit einer ähnlichen Dynamik zu rechnen, wie sie seit der Einführung der GC-MS-Technik auf breiter Basis für die Analytik unpolarer Verbindungen zu beobachten war.

Anhang

Liste verwendeter Geräte und Hilfsmittel

Zu Kapitel " 3. Versuche zur Aufkonzentrierung der organischen Inhaltsstoffe" auf Seite 25

Daten zur Probenvorbereitung durch Filtration sind aus den Beschreibungen zum Kapitel " 4. Untersuchungen zur Charakterisierung nach der molaren Masse" zu entnehmen.

Gefrieranreicherung

Probengefäß

Zylindrischer Edelstahlbehälter mit Acrylglasabdeckung und Isolierschicht.
190 Liter Innenvolumen.

Rührer IKA RW47 (Janke & Kunkel) mit Paddelrührer (Blattbreite 25 cm)

Kühlung Ultrakryostat (Colora Meßtechnik/Lorch) Methanol als Kühlmittel

Vakuumverdampfung

Verdampfer

Rotavapor R (Büchi) mit Heizbad

Vakuumsystem

Vakuumpumpe VakUUbrand RD8 (Brand) und Vakuumkonstanthalter
Fischer HVKH100 (Fischer)

Kühlung Je nach Anforderung: Leitungswasser, geschlossener Kühlkreislauf mit Kryostat RC20 (MGW Lauda), Kühlfallen (Isopropanol/Trockeneis)

Betriebsparameter

Heizbadtemperatur: 35 °C
Vakuum zunächst auf 60 Torr (bis Schäumen beendet), dann 1 Torr.

Gefriertrocknung

Gefriertrockner

Gamma IA (Christ)

Betriebsparameter

Vakuum bei 0.1 mbar und Kondensatortemperatur bei -60 °C

Messung des gelösten organisch gebundenen Kohlenstoffs (DOC)

Aufgrund der Wichtigkeit dieser Meßgröße wurden drei Systeme untersucht. Alle arbeiten mit IR-Detektoren, die aus der Probe gebildetes CO₂ in einem Trägergas-Strom bestimmen. Unterschiede bestehen prinzipiell in der Art der Oxidation der organischen Inhaltsstoffe der Probe.

Gerät mit UV-Rührreaktor

Oxidationseinheit

UV-DOC-UNOR (Maihak, Hamburg)

Detektionseinheit

UNOR 4 N (Maihak, Hamburg)

Betriebsparameter

Probenvorbereitung (ggv. verdünnen und Membranfiltration (<0.45 µm)); in der Oxidationseinheit Vorlage von 250 ml dest. Wasser (pH=2.5 mit Schwefelsäure); Zugabe von bis zu 5 ml Probe. Strippen von Kohlendioxid, das aus anorganischen Bestandteilen gebildet wird (mit Sauerstoff 4.6). Einschalten der UV-Lampe, 10 Minuten Reaktionszeit im geschlossenen System. Danach Ausstripfen des aus organischen Bestandteilen gebildeten Kohlendioxids mit Sauerstoff und Transfer in die Detektionseinheit.

Eichung mit Oxalsäure.

Gerät mit UV-Dünnschichtreaktor

Oxidationseinheit

Dünnschichtreaktor (Grüntzel/Karlsruhe)

Detektionseinheit

Ultramat 3 (Siemens/Karlsruhe)

Betriebsparameter

Probenvorbereitung (ggv. verdünnen und Membranfiltration (<0.45 µm)); Nullwasseranlage betrieben mit dest. Wasser (pH=2.5 mit Schwefelsäure); Kontinuierliche Messung der Probe. Automatische Verdünnung im Verhältnis 1/3. Automatische Entfernung von Kohlendioxid, das aus Carbonat nach Ansäuerung gebildet wird.

Eichung mit Kaliumhydrogenphthalat.

Gerät zur Hochtemperaturveraschung

Oxidationseinheit

Beckman 915 B (Beckman Instruments, München)

Detektionseinheit

eingebauter IR-Detektor

Betriebsparameter

Probenvorbereitung (ggv. verdünnen und Membranfiltration ($< 0.45 \mu\text{m}$)), dann ansäuern auf $\text{pH}=3$ und stripfen von Kohlendioxid. Einspritzen der Probe ($150 \mu\text{l}$).

Eichung nach Herstellerangaben mit Oxalsäure.

Für Konzentrationsbereiche, in denen alle drei Gerätetypen verwendet werden konnten, ergaben sich in der Größenordnung vergleichbare Ergebnisse. Die Nachweisgrenze des Hochtemperaturgerätes hängt vom Zustand des Oxidationskatalysators im Hochtemperaturbereich ab. Die Qualität der Ergebnisse bei Verwendung des ersten Gerätes hängt vom Grad der Aufsalzung durch Mehrfacheinspritzungen und große Probenvolumina ab. Die Wirksamkeit der 183-nm-Linie der UV-Tauchlampe läßt mit zunehmender Aufsalzung stark nach. Konstruktionsbedingt war dieser Effekt bei Verwendung des Dünnfilmreaktors nicht zu beobachten.

Aufgrund seiner sehr niedrigen Nachweisgrenze wurde in den meisten Fällen der UV-Dünnfilmreaktor zur Bestimmung des DOC verwendet.

Zu Kapitel " 4. Untersuchungen zur Charakterisierung nach der molaren Masse" auf Seite 33

Grobfiltration

Glasfaserfilter SM134 (Sartorius, Göttingen) mit Filterhalter aus Edelstahl und Druck-Vorratsgefäß mit 30 Litern Volumen (Amicon, Witten)
Max. Druck: 1.5 At

Rührzellensystem

Filterhalter mit integriertem Rührer und 50 ml Fassungsvermögen (Amicon) für Membranen mit 43 mm Durchmesser.

Membrane < 0.45 μm(SM113, Sartorius)

Membrane 30000 D Trenngrenze.....(PM30, Amicon)

Membrane 10000 D Trenngrenze.....(UM10, Amicon)

Membrane 1000 D Trenngrenze.....(UM2, Amicon)

Membrane 500 D Trenngrenze.....(UM05, Amicon)

Druckerzeugung pneumatisch (Stickstoff), max 4.9 kg/cm²

Tangentialströmungs-System

Pellicon Kassetten-System (Millipore/Eschborn)

Membrane < 0.45 μm HVLP 0.46 m² (Millipore)

Membrane 100000 D nominelle Trenngrenze PTHK 0.46 m² (Millipore)

Membrane 10000 D nominelle Trenngrenze .PLGC 0.46 m² (Millipore)

Membrane 1000 D nominelle Trenngrenze ...PCAC 0.46 m² (Millipore)

Druckerzeugung mittels Zahnradpumpe: 1.5 At

Gelfiltration

TSK-HW-40 als stationäre Phase (Merck/Darmstadt) und Natriumdihydrogenphosphat ($C_{\text{NaH}_2\text{PO}_4} = 0.01 \text{ mol/l}$) als Eluent; Fluß: 1 ml/min.; Anlage am Engler-Bunte-Institut/Karlsruhe (Dr. Fuchs).

Zu Kapitel " 5. Untersuchung der anorganischen Bestandteile" auf Seite 45

Röntgendiffraktometrie von auftretenden Niederschlägen

Durchgeführt am Inst. f. Neutronenphysik und Reaktortechnik des KfK (Dr. Schumacher).

ICP-Spektroskopie von NaOH-Auflösungen der Probe

Bei der Hauptabteilung Sicherheit des KfK durchgeführt.

Ionenchromatographie von Anionen

Ionenchromatograph 2000i (Dionex) nach den Vorschriften des Herstellers.

Phosphat-Bestimmung

Nach DEV ([18]) mit Aufschluß

Silikat-Bestimmung

Nach Page [60] (Entsp. DEV-Vorschrift mit einer Modifikation des Aufschlusses).

Zu Kapitel " 6. Untersuchungen zur Elektrodialyse von Kläranlagenabläufen" auf Seite 47

Elektrodialyse-Anlage

BEL 2 (Berghof, Eningen)

Austauschermembranen

Kationenaustauschermembran: Seleminon CMV

Anionenaustauschermembran: Seleminon AMV

Elektrische Spannung

2 Volt/Membranpaar

Elektrodenpülung

0.1 % Na_2SO_4

Vorlage Konzentratseite

Dest. Wasser oder 0.1 % HCl

**Zu Kapitel " 8. Weitere Abtrennung organischer Stoffe von der anorganischen Matrix"
auf Seite 57**

Adsorption an Kieselgel

Säule: 30 cm Länge, 2.6 cm i. D.; gefüllt mit Kieselgel Woelm 32 - 64 μm (80 g).

Elutionsmittel: Acetonitril (p. A.)/Wasser 85/15 Volumenteile

Flußrate: 1 ml/min.

Pumpe: Serva LDP13A

Fraktionensammler: UltraRAC (LKB)

Proben: wässrige Extrakte der ETM1000

Adsorption an XAD-8

XAD-8 (Serva/Heidelberg 42863) gereinigt mit Acetonitril, Diethylether, Methanol und Wasser (Soxhlet-Extraktor); in Chromatographiesäule aus Glas (I.D. = 2 cm, Betthöhe = 7 cm)

Kohlenstoffabgabe an dest. Wasser: < 0.1 mg/l.

Jeweils 10 Liter Probe (Bioablauf < 1000 D) über Säule mittels Tropftrichter.

Fluß = 22 ml/min. und 10 ml/min.

Desorption mit 100 ml Methanol bzw. 200 ml Natronlauge (0.1 mol/l)

Adsorption an Aktivkohle

Aktivkohle (Merck Nr.2186/Darmstadt) gereinigt mit Acetonitril, Diethylether Methanol und Wasser (Soxhlet-Extraktor); in Chromatographiesäule aus Glas (I.D. = 2 cm, Betthöhe = 7 cm)

Kohlenstoffabgabe an dest. Wasser: < 0.1 mg/l.

Jeweils 10 Liter Probe (Bioablauf < 1000 D) über Säule mittels Tropftrichter.

Fluß = 14 ml/min.

Desorption mit Methanol bzw. Natronlauge (0.1 mol/l)

Bestimmung des gesamten organisch gebundenen Kohlenstoffs (TOC)

Coulomat 701 (Ströhlein, Kaarst)

Zu Kapitel " 9. Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit" auf Seite 67

Bestimmung des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB)

Küvettest CSB150 (WTW). Nach Angaben des Herstellers.

Bestimmung des biologischen Sauerstoffbedarfs (BSB)

Sapromat (Voith). Nach Angaben des Herstellers.

Bis zu 20 Tagen Inkubationszeit.

Eichung mit Glutaminsäure/Glucose-Standard nach DEV

Hemmung der Nitrifikation mit Allylthioharnstoff.

Zu Kapitel " 10. Untersuchung der Lichtabsorption" auf Seite 73

UV/VIS-Spektroskopie

Pye Unicam PU 8800 (Philips, Kassel)

Typ 8451 (Hewlett Packart, Waldbronn)

IR-Spektrometer

Typ 283 (Perkin-Elmer, Überlingen)

Zu Kapitel " 11. Untersuchung definierter Stoffgruppen" auf Seite 77

Bestimmung des DON

Aufschluß Bis 500 ml Probe in Kjeldahlkolben geben, mit NaOH (30 %) auf pH = 11 bringen. Gegebenenfalls mit Wasser auf 500 ml auffüllen. Zur Entfernung von NH_4^+ 200 ml Wasser abdestillieren, 20 ml Schwefelsäure (96 %) und 1 Spatelspitze Se-Reaktionsgemisch nach Wieninger (Merck, Darmstadt) zugeben. Kochen bis weiße Schwefeltrioxid-Nebel auftauchen und bis eine klare Lösung entsteht.

Destillation

Überspülen des Aufschlusses in eine Destillationsapparatur, alkalisieren mit NaOH (30 %) und abdestillieren des Ammoniaks in Vorlage, die einige Milliliter Borsäure-Lösung (1 %) enthält. Nach 200 ml Destillat auffüllen mit Wasser auf 500 ml.

Phot. Bestimmung

20 ml aus der Vorlage abpipettieren, 30 ml destilliertes Wasser und 1 ml Nessler's Reagenz zugeben.

Nach 20 Min. phot. Bestimmung bei 425 nm mit 1 cm Schichtdicke gegen Wasser.

Eichkurve mit Ammoniumchlorid.

| | | |
|---------------------|--------|------------------------|
| Reagenzienblindwert | 0.0032 | AU in cm^{-1} |
| 0.1 mg/l N: | 0.0040 | |
| 0.5 mg/l N: | 0.0344 | |
| 1.0 mg/l N: | 0.0653 | |
| 3.0 mg/l N: | 0.1917 | |
| 7.0 mg/l N: | 0.4234 | |
| 10.0 mg/l N: | 0.6142 | |

Wiederfindung mit Leucin als Standard: 99.2 % (Mittelwert aus 3 Best.)

Aminogruppenbestimmung

Reagenz

1. 80 g Ninhydrin in 750 ml Methylcellosolve lösen
2. 1.6 g SnCl_2 in 250 ml Natriumacetat/Essigsäure-Puffer (jew. 4 mol/l) lösen.
3. Beide Komponenten mischen. Reagenz jeweils frisch bereiten.

Reaktion Klare wässrige Probe im Verhältnis 1 + 1 (v/v) mit dem Reagenz mischen.

20 min. bei 80 °C reagieren lassen und auf Raumtemp. abkühlen.
Zum Teil tritt bei Proben Trübung auf, dann Filtration durch Celluloseacetat-
Filter (< 0.45 µm)

Photometrie

Bei 570 nm mit 1 cm Schichtdicke gegen Wasser

Eichkurve mit Leucin als Eichsubstanz

| | |
|---------------------|-------------------------------|
| Reagenzienblindwert | 0.0053 AU in cm ⁻¹ |
| 1 mg/l Leucin: | 0.107 |
| 3 mg/l | 0.250 |
| 5 mg/l | 0.387 |
| 10 mg/l | 0.720 |
| 20 mg/l | 1.413 |

Entfernung von Ammoniumionen durch Stickstoff oder Wasserdampf

Stickstoff 5 ml Probe + 40 µl Natronlauge (30 %) mischen.
30 min Stickstoff durch den Ansatz leiten.
Anschließend 1 Tr. Phenolphthaleinlösung zugeben und mit Salzsäure neu-
tralisieren zur photometrischen Bestimmung.
Dieses Verfahren ist ab pH > 12 brauchbar.

Kläranlagenablauf : 0.03 mg/l N und 0.04 mg/l Amino-N
Kläranlagenablauf + 20 mg/l NH₄⁺: 0.03 mg/l N und 0.02 mg/l Amino-N

Wasserdampf

Bis 500 ml Probe (ggf. mit Wasser auffüllen) mit Natronlauge auf pH = 11 ein-
stellen. 200 ml abdestillieren und mit Salzsäure gegen Phenolphthalein neu-
tralisieren.

Hydrolyse gefriergetrockneter Präparate

0.1 g Probe in 5 ml Trifluoressigsäure (C_{CF₃COOH} = 2mol/l) suspendieren. In
Glasampulle füllen, evakuieren und zuschmelzen. 8 Std. bei 105 °C hydroly-
sieren. Anschließend erneut Gefriertrocknung.

Dünnschichtchromatographie von Aminosäuren

Plattenmaterial

Kieselgel G25HR, 0.25 mm Schichtdicke (Roth, Karlsruhe)

Fließmittel für Entwicklung in erste Dimension

Ammoniaklösung (17 %)/Methanol/Chloroform (1 + 1 + 2 Vol. T.)

Fließmittel für Entwicklung in zweite Dimension

Phenol/Wasser (3 + 1 Gew. T.)

Aminosäurestandards

Merck, Darmstadt, und Serva, Heidelberg. Eingesetzt wurden Lösungen von 10 g/l je Aminosäure. Die Auftragsmenge war 3 μ l.

Probenmaterial

Wässrige, hydrolysierte Extrakte der ETM1000. Maximal auf die Platten auf-gegebene Menge: 3.5 μ g DOC pro Startfleck.

Entwicklung

In einer "U-Kammer" in jede Dimension einmal unter Zwischentrocknung (105 °C/10 min)

Detektion Besprühen mit Ninhydrin-Reagenz und Erwärmen der Platte (105 °C/5 min). Das Reagenz ist unter "Aminogruppenbestimmung" beschrieben.

HPLC-Bestimmung von Aminosäuren

Derivatisierung

Nach Parris/Gallelli [64]

8.6 mg Dansylchlorid (Serva) in 2 ml Aceton gelöst. Jeden Tag frisch bereiten. Proben in Natriumcarbonat-Lösung ($C_{\text{NaCO}_3} = 0.1 \text{ mol/l}$) lösen und mit Salzsäure ($C_{\text{HCl}} = 6 \text{ mol/l}$) auf pH=9 einstellen.

Probenlösung und Reagenzlösung im Verhältniss 1 + 1 (v/v) mischen.

Nach 10 Minuten 100 μ l davon mit 2 ml Eluent 1 verdünnen und sofort chromatographieren (100 μ l Einspritzmenge).

Chromatographische Ausrüstung

2 Pumpen Mod. 414 mit hochdruckseitiger Mischkammer (Kontron, Eching).

UV/VIS Spektralphotometer UVICON mit 8 μ l Durchflußzelle (Kontron). Zur Aminosäureanalytik auf 254 nm eingestellt

Steuer- und Auswerteeinheit ANACOMP 220 (Kontron).

Einspritzblock Mod. 7125 mit 100 μ l Probenschleife (Rheodyne)

Säule RP18 (Spherisorb 5 ODS 250 x 4.6), Vorsäule 30 x 4.6.

Elutionsmittel 1:

Natriumacetatlösung ($C_{\text{NaAc}} = 0.05 \text{ mol/l}$)/Acetonitril/Isopropanol (825/125/50 v/v) mit Salzsäure auf pH=6.3 eingestellt.

Elutionsmittel 2:

Natriumacetatlösung ($C_{\text{NaAc}} = 0.05 \text{ mol/l}$)/Acetonitril/Isopropanol (490/500/10 v/v) mit Salzsäure auf pH=6.5 eingestellt.

Fluß = 1 ml/min

Gradientenprogramm :

| | |
|-----------|---------------------------------|
| 00.00 Min | 00.0 % B |
| 37.00 Min | 13.0 % B |
| 42.00 Min | 16.0 % B |
| 46.00 Min | 33.0 % B isokratisch bis 68 Min |
| 68.10 Min | 40.0 % B |
| 72.00 Min | 50.0 % B |
| 82.00 Min | 90.0 % B |
| 90.00 Min | 97.0 % B |

Relative Empfindlichkeit des gesamten Verfahrens : (Peakfläche/Stoffmenge in mV min/nmol)

| Aminosäure | Resp.faktor mV Min/nmol | inj. Menge nmol | Aminosäure | Resp.faktor mV Min/nmol | inj. Menge nmol |
|-----------------------|----------------------------|--------------------|--------------|----------------------------|--------------------|
| Alanin | 4.25 | 4.29 | Lysin | 13.25 | 1.90 |
| α -Am.butters. | 7.94 | 1.87 | Methionin | 8.21 | 2.27 |
| Asparagin | 3.45 | 1.68 | Norleucin | 12.52 | 1.32 |
| Asparaginsre. | 4.38 | 1.46 | Phenylalanin | 9.09 | 1.03 |
| Cystein | 6.43 | 1.81 | Serin | 4.31 | 2.34 |
| Glutamin | 4.62 | 1.58 | Thyrosin | 6.6 | 2.46 |
| Glycin | 10.10 | 5.34 | Tryptophan | 10.09 | 1.64 |
| Histidin | 11.76 | 1.95 | Valin | 9.95 | 2.84 |
| Leucin/i-Leu. | 8.55 | 4.23 | | | |

Normierte Retentionszeiten ($t' = t_{AS} - t_{\text{Dansylhydroxid}}$ in Min) :

| Aminosäure | rel. Ret. Zeit | Aminosäure | Rel Ret. Zeit |
|----------------------------|----------------|--------------|---------------|
| Alanin | 18.55 | Lysin | 82.57 |
| α -Aminobuttersäure | 26.44 | Methionin | 43.52 |
| Asparagin | 3.84 | Norleucin | 61.35 |
| Asparaginsäure | 1.17 | Phenylalanin | 61.35 |
| Cystein | 68.98 | Serin | 7.93 |
| Glutamin | 1.17 | Thyrosin | 79.65 |
| Glycin | 12.50 | Tryptophan | 58.69 |
| Histidin | 15.72 | Valin | 78.05 |
| Leucin/iso-Leu | 56.29 | | |

Bestimmung Methylenblau-aktiver Verbindungen

Methode DEV H 23 [18]

Photometer

Pye Unicam 8800 (Philips, Kassel)

Eichkurve 265.4 mg Dodecylbenzolsulfonsäuremethylester nach Vorschrift verseift und auf 500 ml aufgefüllt. Davon 25 ml auf 500 ml verdünnt und davon jeweils 1, 2, 4, 8 ml auf 100 ml aufgefüllt. Nach Bildung und Extraktion des Ionenpaar-komplexes mit Methylenblau wird die Extinktion des Tensid-Methylenblau-Komplexes bei 650 nm gegen Chloroform bei 1 cm Schichtdicke bestimmt.

| | | |
|---------------------|-------|------------------------|
| Reagenzienblindwert | 0.011 | AU in cm ⁻¹ |
| 210,2 µg/l Tensid: | 0.135 | |
| 420.4 µg/l | 0.222 | |
| 840.7 µg/l | 0.443 | |
| 1681,5 µg/l | 0.821 | |

Bestimmung von Kohlenhydraten mit Anthron

Reagenz 20 mg Anthron p. A. (Merck, Darmstadt) in 80 ml Schwefelsäure conc. lösen und vorsichtig 20 ml Wasser zugeben.

Durchführung der Farbreaktion

1 ml Probe in Erlenmeyer Kolben (100 ml) mit Schliff geben

1 ml Salzsäure conc. dazupipettieren

0.1 ml Ameisensäure (88 %) zugeben

8 ml Anthron-Reagenz zufügen, vorsichtig (schäumt) mischen und 12 min im siedenden Wasserbad reagieren lassen.

Unter dem Wasserhahn abkühlen, in Küvetten füllen, im Exsikkator kurz evakuieren (Gasblasen werden entfernt).

Photometrie

Gerät wie in ob. Methode. Messung bei 627.5 nm gegen Wasser mit 5 cm Schichtdicke.

Eichkurve mit Xylose als Standard

| | | |
|---------------------|-------|------------------------|
| Reagenzienblindwert | 0.082 | AU in cm ⁻¹ |
| 25 mg/l Xylose | 0.172 | |
| 50 mg/l | 0.295 | |

Eichkurve mit Glucose als Standard

| | | |
|---------------------|-------|------------------------|
| Reagenzienblindwert | 0.082 | AU in cm ⁻¹ |
| 1 mg/l Glucose | 0.128 | |
| 4 mg/l | 0.183 | |
| 7 mg/l | 0.303 | |
| 10 mg/l | 0.379 | |

Bestimmung von Kohlenhydraten mittels DC

Plattenmaterial

SIL G 25 (Macherey & Nagel, Düren)

Fließmittel

Acetonitril/Wasser (85/15 Vol. T.) 3 x entwickelt

Detektion Sprühreagenz: 1 g Diphenylamin in 1 ml Anilin lösen, 50 ml Methanol zugeben und mit 5 ml Phosphorsäure ansäuern.

Nach Besprühen 10 Min. bei 105 °C im Trockenschrank erwärmen.

Konzentration der Standards

0.2 % in Methanol/ Wasser (40/60 v/v)

Nachweisgrenze bei 2 µg/Kohlenhydrat.

Bestimmung von Kohlenhydraten mittels HPLC

HPLC-Anlage

Vergleiche "HPLC-Bestimmung von Aminosäuren" auf Seite 133

Säule Nucleosil-5-NH₂ (200x4) und Vorsäule (30x4)

Eluent Acetonitril/Wasser (80/20 Vol.T.) 1 ml/min.

Detektion UV-Licht bei 190 nm (Photometer der HPLC-Anlage).

RI-Detektor Typ 1034 (Hewlett Packart, Waldbronn), in Serie mit UV-Detektor geschaltet.

Zu Kapitel "Vorversuche zur flüssigkeitschromatographischen Trennung" auf Seite 104

Anlage Alle Versuche zur Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie wurden mit der bereits beschriebenen Anlage ("HPLC-Bestimmung von Aminosäuren" auf Seite 133) durchgeführt.

Eluenten zur HPLC

Die als Eluenten eingesetzten Lösungsmittel hatten HPLC-Qualität ("LiChrosolv"/Merck, "Gradient Grade"/Baker). Verwendet wurden hauptsächlich Acetonitril, Methanol und Isopropanol. Wässrige Eluenten (Puffer) wurden aus destilliertem Wasser hergestellt, das speziell durch UV-Oxidation von organischen Spurenstoffen befreit wurde. Nach Herstellung der Puffer wurden diese durch anorganische Membranfilter (Anotop/Merck 0.2 μm) in einem Filterhalter aus Edelstahl (SM 16201/Sartorius) filtriert, um partikelfreie Lösungen zu erhalten.

Verwendete Säulen:

Nucleosil 50-5 (200x4) und Vorsäule (30x4) (Macherey & Nagel, Düren)
Nucleosil 300-5 C₁₈ (250x4) und Vorsäule (30x4) (Macherey & Nagel)
Nucleosil 5 CN (200x4) und Vorsäule (30x4) (Macherey & Nagel)
SI60 Polyol 3 μm (250x4) (Serva, Heidelberg) und Vorsäule SI100 30 μm (30x4) (Merck, Darmstadt)

Verwendete Detektoren

UV-Photometer der HPLC-Anlage, sowie Brechungsindex-Detektor Typ 1034 (Hewlett Packart, Waldbronn)

Dünnschichtchromatographie

Trennkammern

U-Kammern (Desaga, Heidelberg)

Plattenmaterial

SIL G 25 (20x20) (Macherey & Nagel, Düren)
Kieselgel 60 F₂₅₄ (20x20) (Merck, Darmstadt)
PSC Kieselgel F₂₅₄ (20x20) (Merck)
HPTLC CNF₂₅₄ (10x10) (Merck)
RP18F₂₅₄S (5x10) (Merck)

Stationäre Phase für selbstgestrichene Platten

Kieselgel 60 PF₂₅₄ gipshaltig (Merck)

Menge für unterschiedliche Schichtdicken nach den Angaben des Herstellers in Wasser suspendiert und auf Platte in PVC-Rahmen gegossen. Aktivierung der getrockneten Platten bei 105 °C.

Fließmittel

Aus Lösungsmitteln in "p. A."- oder vergleichbaren Qualitäten.

Verwendete Sprühreagenzien

Herstellung nach Stahl [76]

- Alkalische Permanganat-Lösung (reduzierende Verbindungen).
- Diphenylamin/Anilin/Phosphorsäure in Methanol (Kohlenhydrate)
- Dichlorphenol/Indophenol (organische Säuren)
- Ninhydrin in Cellosolve (Aminogruppen)
- Jod in Kaliumjodid-Lösung (organische Verbindungen allgemein)
- Dibromchinonchlorimid (Phenole)
- Dinitrophenylhydrazin (Carbonyl-Gruppen)
- Dimethylaminozimtaldehyd (Indole)

Spektrometer zur Untersuchung der präparativen Fraktionen

IR-Spektrometer Typ 283 (Perkin-Elmer, Überlingen) für normale KBr-Presslinge und Mikro-Presslinge mit Bleimanschette.

FTIR-Spektrometer Digilab FTS 40 (Biorad) des Engler-Bunte-Institutes in Karlsruhe (Herr Scheck) für Mikropresslinge mit Bleimanschette.

UV-Diodenarray-Spektrometer Typ 8451 (Hewlett Packart, Waldbronn)

Zu Kapitel " 12. Kopplung von chromatographischen und spektroskopischen Methoden" auf Seite 93

HPLC/IR-Kopplung

HPLC-Anlage

Typ C 21 (Bruker, Karlsruhe)

Säule Nucleosil-5-CN 200x4 u. Vorsäule 30x4

Eluent Dichlormethan/Tetrahydrofuran (90/10 Vol. T.)
Fluß: 0.5 ml/min

Interface NaF-Durchflußzelle m. Überdrucksicherung

Spektrometer

IFS62 FTIR-Spektralphotometer (Bruker, Karlsruhe)

Die Messungen wurden in Zusammenarbeit mit der Fa. Bruker (Herr Landt) durchgeführt.

HPLC-MS-Kopplung

Drei verschiedene Systeme wurden verwendet.

1.) Direktinjektion des Eluenten in die Ionenquelle:

HPLC-Anlage

Typ 1090 (Hewlett Packart, Waldbronn)

Säule Nucleosil 120-3 C₁₈ (250x4) und Vorsäule (30x4) (Macherey & Nagel)

Mobile Phase

Eluent A: Dest. Wasser pH = 2.1 mit Salzsäure

Eluent B: Acetonitril/Methanol (90/10 Vol.T.)

Gradient:

| | | |
|------------|---------------------------|---------|
| 00.00 Min | 00.0 % B isokratisch bis | 5 Min |
| 10.00 Min | 10.0 % B isokratisch bis | 20 Min |
| 60.00 Min | 50.0 % B | |
| 100.00 Min | 100.0 % B isokratisch bis | 110 Min |

Massenspektrometer

Typ 5988 (Hewlett Packart) mit beheizbarer Eluenten-Transferleitung.

Untersuchungen wurden durchgeführt in Zusammenarbeit mit der Fa. BASF, Ludwigshafen (Dr. Merz, Dr. Randt).

2.) Überführung des Eluenten mittels Zerstäuber in die Ionenquelle:

HPLC-Anlage

Typ 1050 (Hewlett Packart, Waldbronn)

Säule Nucleosil 120-3 C₁₈ (250x4) und Vorsäule (30x4) (Macherey & Nagel)

Mobile Phase

Eluent A: Dest. Wasser + 0.1 % Trifluoressigsäure

Eluent B: Acetonitril/Methanol (90/10 Vol.T.) + 0.1 % Trifluoressigsäure

Fluß: 0.5 ml/min

Gradient

| | | |
|------------|---------------------------|---------|
| 00.00 Min | 00.0 % B isokratisch bis | 5 Min |
| 10.00 Min | 10.0 % B isokratisch bis | 20 Min |
| 60.00 Min | 50.0 % B | |
| 100.00 Min | 100.0 % B isokratisch bis | 110 Min |

Interface zwischen HPLC und MS

Particle Beam Interface (Hewlett Packart)

Massenspektrometer

Typ 5988 (Hewlett Packart)

Untersuchungen wurden durchgeführt in Zusammenarbeit mit der Fa. Hewlett Packart, Waldbronn (Dr. Günther).

3.) Kopplung von HPLC und Triple-Stage Massenspektrometer

HPLC-Anlage

Ytp 510 (Waters, Eschborn)

Säule Nucleosil 50-5 (200x4) und Vorsäule (30x4) (Macherey & Nagel)

Mobile Phase

Eluent A: Acetonitril

Eluent B: Wasser

Fluß: 0.5 ml/min

Gradient

| | | |
|-----------|---------------------------|--------|
| 00.00 Min | 00.0 % B isokratisch bis | 5 Min |
| 35.00 Min | 100.0 % B isokratisch bis | 45 Min |
| 60.00 Min | 0.0 % B | |

Für Probenaufarbeitungen mit wesentlichen Mengen an anorganischen Inhaltsstoffen ist es nötig, mit höherem Wasseranteil zu beginnen. In Acetonitril schlecht lösliche Verbindungen fallen sonst am Säulenkopf aus und reißen organische Bestandteile mit.

Massenspektrometer

TSQ 7070 (Finnigan MAT, Bremen)

Untersuchungen wurden durchgeführt in Zusammenarbeit mit dem Institut für Siedlungswasserwirtschaft der TH Aachen (Dr. Schröder)

GC-MS-Kopplung

GC-System

GC-MS-System 4500 B (Finnigan MAT, Bremen)

Injektor KAS-1 (Gerstel, Mühlheim)

Säule DB-5 25 m

Temperaturprogramm

3 min auf 70 °C

mit 10 °C/min auf 150 °C

mit 5 °C/min auf 275 °C

Messungen durchgeführt am Inst. für heiße Chemie des Kernforschungszentrums Karlsruhe (Dr. Stieglitz, Herr Roth).

Tabellenanhang

Tabellen zu " 2. In Kläranlagenabläufen bisher identifizierte Verbindungen" auf Seite 5

Tabelle 29. Einzelne identifizierte Kohlenhydrate und ihr Anteil am DOC: Mit (*) bezeichnete Verbindungen nach Waggott [85] direkt im Kläranlagenablauf bestimmt. Alle übrigen Verbindungen nach Hejzlar [31] als Monomere von Polysacchariden.

| Verbindung | Anteil am DOC in % | Verbindung | Anteil am DOC in % |
|-----------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| Glucose (*) | 0.1 | Ribose/Arabinose | 0.005 |
| Fructose (*) | 0.05 | Xylose | 0.011 |
| Rhamnose/Fucose | 0.15 | N-Acetyl-Galactosamin | 0.005 |
| Mannose | 0.002 | Glucosamin | 0.029 |
| Galactose | 0.048 | Galactosamin | 0.016 |
| Glucose | 0.060 | Fucosamin | 0.009 |

Tabelle 30. Einzelne identifizierte Aminosäuren: Pitt, Legube und Scully bestimmten Aminosäuren ohne Hydrolyse. Hejzlar untersuchte nur die hochmolekulare Ablauffraktion. Sämtliche Daten beziehen sich auf membranfiltriertes biologisch gereinigtes Abwasser.

| | Legube µg/l AS | Waggott µg/l AS | Scully µg/l AS | Pitt µg/l AS | Parkin µg/l AS | Hejzlar µg/l AS |
|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-----------------|-------------------|--------------------|
| Alanin | 1.1 | 5 | Spuren | | 10 | 30 |
| 2-Amino-Buttersre. | | 100 | | | | 0.6 |
| Arginin | 0.2 | | | | | 1.4 |
| Asparaginsäure | | 0.1 | Spuren | | 33 | 30 |
| Glutaminsäure | 0.7 | 10 | Spuren | | 7 | 0.6 |
| Glycin | 0.3 | | 15 | 30 | 19 | 58 |
| Histidin | 0.2 | | | | 11 | Spuren |
| Isoleucin | | | 5 | | 2.6 | 18 |
| Leucin | | | 11 | | | |
| Lysin | | | 4 | | 23 | 18 |
| Methionin | | | | | | Spuren |
| Phenylalanin | | 40 | | | 3.5 | 25 |
| Prolin | | | | | | 11 |
| Serin | 0.2 | 0.5 | Spuren | | 41 | 15 |
| Threonin | 0.4 | 0.3 | Spuren | | 18 | 22 |
| Thyrosin | | | Spuren | | 2.6 | 6.3 |
| Valin | | 100 | 11 | | | 10 |

Tabelle 31. Summarische Meßgrößen von Waschmittelinhaltsstoffen: Alle Angaben beziehen sich auf den DOC-Gehalt des Ablaufs der biologischen Klärstufe

| | Anion. Tenside (MBAS) in % des DOC | Kation Tenside (DSBAS) in % des DOC | N.ion. Tenside (BiAS) in % des DOC | opt. Aufheller in % des DOC |
|---------------------|--|---|--|--------------------------------|
| Painter (1961) | 10 | | | |
| Painter 1973 | 3.2 | | 1.6 | 0.5 |
| Helfgott/Hunter | 10 | | | |
| Rebhun/Manka (1971) | 7 | | | |
| Rebhun/Manka (1974) | 16 | | | |
| Rebhun/Manka (1980) | 15 | | | |
| Waggott | 3.5 | | 1.5 | 9 |
| Topping/Waters | 3 | 1 | 0.6 | |
| Giger | | | 0.3 | |
| Turner | 4 | | 2 | |
| Petts | 1.5 | | | |
| Brown/de Henau | | | 0.43 | |
| Brown/de Henau | | | 0.74 | |
| Lahl/Burbaum | 0.7 | 0.2 | 2.7 | |

Tabelle 32. Einzelne identifizierte Waschmittelinhaltsstoffe: Fettsäuren sind mit aufgeführt, da sie als MBAS miterfaßt werden. Zusammenstellung der Daten mehrerer Autoren. Prozentangaben beziehen sich auf den Anteil am DOC.

| | | |
|--|----------------------------------|---------|
| Komplexbildner 1.01 % | EDTA | 0.30 % |
| | NTA | 0.03 % |
| | Polycaboxylate | 0.68 % |
| Optische Aufheller 8.60 % | Cumarin-Deriv. | 0.01 % |
| | Dimorpholin-Deriv. | 2.80 % |
| | Tetraanilin-Deriv. | 1.10 % |
| | Di-N-Me-Ethanolamin-D. | 0.35 % |
| | Trans-p-Stilben-Deriv. | 2.8 % |
| | Cis-p-Stilben-Deriv. | 1.4 % |
| Nichtionische Tenside 1.44 % | Nonylphenol | 0.18 % |
| | NP-1-EO | 0.64 % |
| | NP-2-EO | 0.33 % |
| | Octylphenol-1-EO | 0.03 % |
| | OP-2-EO | 0.05 % |
| | OP-1-Ethoxycarboxylat | 0.10 % |
| | OP-2-Ethoxycarboxylat | 0.09 % |
| | OP-4-Ethoxycarboxylat | 0.02 % |
| Kationische Tenside 0.54 % | Distearyldimethylammoniumchlorid | 0.500 % |
| | Laurylmethylammoniumchlorid | 0.007 % |
| | Myristylmethylammoniumchlorid | 0.006 % |
| | Palmitylmethylammoniumchlorid | 0.009 % |
| | Stearylmethylammoniumchlorid | 0.013 % |
| Fettsäuren 7.40 % | Capronsäure | 0.42 % |
| | Laurinsäure | 0.19 % |
| | Myristinsäure | 0.42 % |
| | Palmitinsäure | 1.50 % |
| | Palmitoleinsäure | 1.50 % |
| | Stearinsäure | 1.30 % |
| | Ölsäure | 1.70 % |
| | Linolsäure | 0.30 % |
| | Arachidonsäure | 0.05 % |
| | Erucasäure | 0.02 % |

Tabelle 33. Summarische Meßgrößen und ihr Anteil am DOC: Zusammenstellung von Literaturdaten für ausgewählte summarische Meßgrößen.

| Meßgröße | Bereich der Werte | Mittelwert ⁶ |
|--------------------------------|-------------------|-------------------------|
| Gesamtkohlenhydrate | 2.4 - 11.8 % | 6.4 % |
| Freie Aminosäuren | 0.3 - 2.8 % | 1.1 % |
| Proteine ⁷ | 2.2 - 10.0 % | 5.3 % |
| Methylenblau-aktive Substanzen | 1.5 - 17.2 % | 8.6 % |
| Disulfidblau-aktive Substanzen | 0.2 - 1.0 % | 0.6 % |
| Wismut-aktive Substanzen | 0.3 - 2.7 % | 1.1 % |
| Optische Aufheller | 0.5 - 8.6 % | |
| Komplexbildner | 1.0 % | |

Tabelle 34. Einzelstoffe und ihr Anteil am DOC: Zusammenstellung von Literaturdaten für ausgewählte Einzelstoffe und deren Zusammenfassung zu Stoffgruppen zum Vergleich mit Summenparameter-Daten.

| Klasse der Einzelstoffe | Anteil am DOC |
|--|---------------|
| Kohlenhydrate ⁹ | 0.6 % |
| Freie und gebundene Aminosäuren ⁹ | 1.0 % |
| Fettsäuren | 7.0 % |
| Kationische Tenside | 0.5 % |
| Abbauprodukte nichtionischer Tenside | 1.1 % |
| Komplexbildner | 1.0 % |
| Flüchtige Säuren | 1.4 % |
| Flüchtige Basen | 0.04 % |
| Kernbasen und Derivate | 1.0 % |
| Weichmacher | 0.5 % |
| Steroide | 0.3 % |
| Chlorierte Verbindungen | < 0.01 % |

Tabellen zu " 3. Versuche zur Aufkonzentrierung der organischen Inhaltsstoffe" auf Seite 25

Tabelle 35. Wiederfindung Gefrieranreicherung: Versuche mit membranfiltriertem Ablauf einer biologischen Klärstufe.

| Anreicherungs-faktor | Ausgangs-DOC (mg/l) | End-DOC (mg/l) | Ausgangs-Volumen (l) | End-Volumen (l) | DOC-Wiederfindung (%) |
|----------------------|---------------------|----------------|----------------------|-----------------|-----------------------|
| 2.3 | 5.2 | 11.9 | 150 | 65 | 99 |
| 3.3 | 6.2 | 21.2 | 100 | 30 | 102 |
| 3.3 | 4.7 | 13.8 | 150 | 50 | 98 |
| 3.8 | 6.2 | 21.0 | 150 | 40 | 90 |

Tabelle 36. Wiederfindung Vakuumverdampfung (1): Versuche mit membranfiltriertem (0.45 µm) Ablauf einer biologischen Klärstufe. Technische Parameter siehe Text.

| Probe | Ausgangs-DOC (mg/l) | End-DOC (mg/l) | Ausgangs-Volumen (ml) | End-Volumen (ml) | DOC-Wiederfindung (%) |
|---------------|---------------------|----------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
| Leo < 0.45 µm | 8.6 | 178 | 2000 | 50 | 51.8 |
| Leo < 0.45 µm | 8.5 | 237 | 2000 | 50 | 69.7 |
| Leo < 0.45 µm | 8.54 | 425 | 3480 | 50 | 70.6 |

Tabelle 37. Wiederfindung Vakuumverdampfung (2): Versuche mit diafiltriertem (< 1000 D) und elektrodialysiertem Ablauf einer biologischen Klärstufe. Technische Parameter siehe Text.

| Probe | Ausgangs-DOC (mg/l) | End-DOC (mg/l) | Ausgangs-Volumen (ml) | End-Volumen (ml) | DOC-Wiederfindung (%) |
|--------------------------------|---------------------|----------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
| Leo < 1000 D elektrodialysiert | 1.4 | 119 | 1000 | 10 | 85.1 |
| Leo < 1000 D elektrodialysiert | 1.6 | 201.3 | 500 | 3.1 | 78 |

| Probe | Ausgangs-DOC (mg/l) | End-DOC (mg/l) | Ausgangsvolumen (ml) | Endvolumen (ml) | DOC-Wiederfindung Konzentrat (%) | DOC-Wiederfindung Destillat (%) |
|----------------------|---------------------|----------------|----------------------|-----------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Leo < 1000 D | 2.6 | 134.1 | 4000 | 50 | 64.5 | - |
| Leo < 1000 D | 2.4 | 50.6 | 1000 | 30 | 63.7 | - |
| Leo < 1000 D | 2.0 | 201.3 | 500 | 5 | 43.6 | - |
| Leo < 1000 D | 2.0 | 42.7 | 500 | 15 | 68.3 | - |
| Leo < 1000 D | 2.7 | 164.5 | 5000 | 50 | 63.0 | 9.0 |
| Leo < 1000 D | 2.4 | 36.2 | 2000 | 80 | 60.3 | 8.3 |
| Leo < 1000 D | 2.4 | 85 | 1000 | 17 | 61.8 | 12.5 |
| Leo < 1000 D pH 4 | 2.8 | 78.2 | 2000 | 100 | 70.3 | 8.8 |

Tabelle 38. Wiederfindung Vakuumverdampfung (3): Versuche mit diafiltriertem (< 1000 D) Ablauf einer biologischen Klärstufe. Technische Parameter siehe Text.

Tabellen zu " 4. Untersuchungen zur Charakterisierung nach der molaren Masse" auf Seite 33

Tabelle 39. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (1): Untersuchungen mittels Gelchromatographie an einem biologisch gereinigten Abwasser. Eigene Untersuchungen durchgeführt im Engler-Bunte-Institut/Universität Karlsruhe.

| Molmassenbereich (Dalton) | < 115 | 115-250 | 250-526 | 526-1144 | > 1144 | Adsorbiert |
|---------------------------|-------|---------|---------|----------|--------|------------|
| Verteilung des DOC (%) | 11.2 | 9.6 | 14.2 | 14.5 | 28.6 | 21.9 |

Tabelle 40. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (2): Untersuchungen mittels Gelchromatographie an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Sachdev [70]

| Molmassenbereich (Dalton) | > 120 | 120-450 | 700-1500 | > 1500 | Adsorbiert |
|---------------------------|-------|---------|----------|--------|------------|
| Verteilung des DOC (%) | 21.1 | 33.7 | 17.4 | 20.4 | 7.2 |

Tabelle 41. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (3): Untersuchungen mittels Gelchromatographie an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Sachdev [70]

| Molmassenbereich (Dalton) | > 120 | 120-450 | 700-1500 | > 1500 | Adsorbiert |
|---------------------------|-------|---------|----------|--------|------------|
| Verteilung des DOC (%) | 22.5 | 31.6 | 12.7 | 28.8 | 4.4 |

Tabelle 42. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (4): Untersuchungen mittels Gelchromatographie an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Parkin/McCarty [63]

| Molmassenbereich (Dalton) | > 165 | 165-340 | 340-780 | 780-1800 | > 1800 | Adsorbiert |
|---------------------------|-------|---------|---------|----------|--------|------------|
| Verteilung des DOC (%) | 6 | 7 | 22 | 16 | 9 | 40 |

Tabelle 43. Molmassenverteilung eines Klärschlammextraktes: Untersuchungen mittels Gelchromatographie an einem Klärschlammextrakt durch Baham/Sposito [6]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 700 | 700-1500 | > 1500 | Adsorbiert |
|---------------------------|-------|----------|--------|------------|
| Verteilung des DOC (%) | 24 | 22.5 | 43 | 8.5 |

Tabelle 44. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (5): Untersuchungen mittels Gelchromatographie an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Keller et al. [38]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 165 | 165-800 | 800-1800 | > 1800 | Adsorbiert |
|---------------------------|-------|---------|----------|--------|------------|
| Verteilung des DOC (%) | 6 | 21 | 30 | 43 | 3 |

Tabelle 45. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (6): Untersuchungen mittels Membranfiltration an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Amy/Bryant/Belyani [4]

| Molmassenbereich (D) | < 500 | 500-5000 | 5000-10000 | 10000-30000 | 30000-100000 | > 100000 |
|------------------------|-------|----------|------------|-------------|--------------|----------|
| Verteilung des DOC (%) | 38 | 3 | 26.1 | 7 | 4.9 | 22 |

Tabelle 46. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (7): Untersuchungen mittels Membranfiltration an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Amy/Bryant/Belyani [4]

| Molmassenbereich (D) | < 500 | 500-5000 | 5000-10000 | 10000-30000 | 30000-100000 | > 100000 |
|------------------------|-------|----------|------------|-------------|--------------|----------|
| Verteilung des DOC (%) | 34 | 28 | 17 | 0 | 11 | 10 |

Tabelle 47. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (8): Untersuchungen mittels Membranfiltration an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Amy/Bryant/Belyani [4]

| Molmassenbereich (D) | < 500 | 500-5000 | 5000-10000 | 10000-30000 | 30000-100000 | > 100000 |
|------------------------|-------|----------|------------|-------------|--------------|----------|
| Verteilung des DOC (%) | 33 | 31 | 18 | 0 | 9 | 9 |

Tabelle 48. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (9): Untersuchungen mittels Membranfiltration an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Manka und Rebhun [51]

| Molmassenbereich (D) | < 500 | 500-1000 | 1000-10000 | 10000-20000 | > 20000 |
|------------------------|-------|----------|------------|-------------|---------|
| Verteilung des DOC (%) | 17 | 8 | 7 | 7 | 61 |

Tabelle 49. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (10): Eigene Untersuchungen an einem membranfiltrierten ($< 0.45 \mu\text{m}$) biologisch gereinigten Abwasser mit dem Rührzellensystem.

| Molmassenbereich (Dalton) | < 500 | 500-1000 | 1000-30000 | > 30000 |
|---------------------------|-------|----------|------------|---------|
| Verteilung des DOC (%) | 23.2 | 9.20 | 50.0 | 17.6 |

Tabelle 50. Molmassenverteilung eines gereinigten Abwassers (11): Eigene Untersuchungen an einem membranfiltrierten ($< 0.45 \mu\text{m}$) biologisch gereinigten Abwasser mit dem Tangentialflußsystem.

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | 1000-10000 | 10000-100000 | > 100000 |
|---------------------------|--------|------------|--------------|----------|
| Verteilung des DOC (%) | 33.7 | 43.0 | 15.1 | 8.1 |

Tabelle 51. Molmassenverteilung eines künstlichen gereinigten Abwassers (1): Untersuchungen an einem membranfiltrierten ($< 0.45 \mu\text{m}$) biologisch gereinigten Abwasser mit dem Rührzellensystem. Einzige C-Quelle im Zulauf zur biologischen Stufe war Bernsteinsäure. Grady et al. [28]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | 1000-10000 | 10000-25000 | 25000-100000 | > 100000 |
|---------------------------|--------|------------|-------------|--------------|----------|
| Verteilung des DOC (%) | 37 | 5 | 15 | 17 | 26 |

Tabelle 52. Molmassenverteilung eines künstlichen gereinigten Abwassers (2): Untersuchungen an einem membranfiltrierten ($< 0.45 \mu\text{m}$) biologisch gereinigten Abwasser mit dem Rührzellensystem. Im Zulauf zur biologischen Stufe nur gut abbaubare niedermolekulare Verbindungen sowie Hefeextrakt und Fleischextrakt. Grady et al. [28]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | 1000-10000 | 10000-25000 | 25000-100000 | > 100000 |
|---------------------------|--------|------------|-------------|--------------|----------|
| Verteilung des DOC (%) | 45 | 18 | 6 | 18 | 13 |

Tabelle 53. Molmassenverteilung eines künstlichen gereinigten Abwassers (3): Untersuchungen an einem membranfiltrierten ($< 0.45 \mu\text{m}$) biologisch gereinigten Abwasser mittels Dialyse durch eine Membran mit der Porenweite 4.8 nm (entsp. ca. 30000 D). Im Zulauf zur biologischen Stufe Glucose als einzige C-Quelle.

| Molmassenbereich (Dalton) | < 30000 | > 30000 |
|---------------------------|---------|---------|
| Verteilung des DOC (%) | 65 | 35 |

Tabelle 54. Molmassenverteilung eines künstlichen gereinigten Abwassers (4): Untersuchungen an einem membranfiltrierten ($< 0.45 \mu\text{m}$) biologisch gereinigten Abwasser mittels Gelchromatographie (Sephadex G25). Im Zulauf zur biologischen Stufe Glucose und Glutaminsäure als C-Quellen. Leidner et al. [46]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 500 | 500-1800 | 1800-2700 | > 2700 |
|---------------------------|-------|----------|-----------|--------|
| Verteilung des DOC (%) | 50 | 25 | 10 | 10 |

Tabelle 55. Molmassenverteilung eines Flußwassers: Untersuchungen mittels Membranfiltration an einem biologisch gereinigten Abwasser durch Collins et al. [17]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 500 | 500-1000 | 1000-30000 | > 30000 |
|---------------------------|-------|----------|------------|---------|
| Verteilung des DOC (%) | 22.5 | 22.8 | 50.0 | 2.7 |

Tabellen zu " 5. Untersuchung der anorganischen Bestandteile" auf Seite 45

Tabelle 56. Anorganische Hauptbestandteile eines Abwassers: Die wichtigsten Ionen in häuslichem Abwasser vor der biologischen Reinigung in einer Kläranlage nach Koppe und Stozek [41]

| Kationen | Konzentration mmol/l | Anionen | Konzentration mmol/l |
|------------------------------|----------------------|---|----------------------|
| Na ⁺ | 5.4 | Cl ⁻ | 3.0 |
| K ⁺ | 0.6 | HCO ₃ ⁻ | 6.0 |
| NH ₄ ⁺ | 0.3 | H ₂ PO ₄ ⁻ | 0.5 |
| Ca ²⁺ | 3.0 | HPO ₄ ²⁻ | 0.25 |
| Mg ²⁺ | 0.35 | SO ₄ ²⁻ | 1.5 |

Tabelle 57. Anorganische Hauptbestandteile eines gereinigten Abwassers (1): Die wichtigsten Ionen in häuslichem Abwasser nach der biologischen Reinigung in einer Kläranlage nach Near [56]

| Kationen | Konzentration mmol/l | Anionen | Konzentration mol/l |
|------------------------------|----------------------|--------------------------------|---------------------|
| Na ⁺ | 5.39 | Cl ⁻ | 4.03 |
| K ⁺ | 0.31 | HCO ₃ ⁻ | 3.89 |
| NH ₄ ⁺ | 0.94 | Gesamt-P | 0.26 |
| Ca ²⁺ | 1.64 | SiO ₃ ³⁻ | 0.57 |
| Mg ²⁺ | 1.33 | SO ₄ ²⁻ | 0.87 |

Tabelle 58. Anorganische Hauptbestandteile eines gereinigten Abwassers (2): Die wichtigsten Ionen in häuslichem Abwasser nach der biologischen Reinigung. Daten nach Eberle [20]

| Kationen | Konzentration mmol/l | Anionen | Konzentration mmol/l |
|------------------------------|----------------------|-------------------------------|----------------------|
| Na ⁺ | 3.73 | Cl ⁻ | 2.51 |
| K ⁺ | 0.05 | tCO ₃ | 2.62 |
| NH ₄ ⁺ | 0.43 | Gesamt-P | 0.26 |
| Ca ²⁺ | 1.04 | NO ₃ ⁻ | 0.97 |
| Mg ²⁺ | 0.84 | SO ₄ ²⁻ | 0.97 |

Tabelle 59. Anorganische Hauptbestandteile eines gereinigten Abwassers (3): Die wichtigsten Ionen in häuslichem Abwasser nach der biologischen Reinigung. Daten nach Jekel [2]

| Kationen | Konzentration mmol/l | Anionen | Konzentration mmol/l |
|------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| Na^+ | 4.03 | Cl^- | 2.43 |
| K^+ | 0.49 | tCO_3 | 3.63 |
| NH_4^+ | 1.59 | Gesamt-P | 0.16 |
| Ca^{2+} | 1.37 | NO_3^- | 0.32 |
| Mg^{2+} | 1.66 | SO_4^{2-} | 0.85 |

Tabelle 60. Analyse der elektrodialysierten Trockenmasse: Untersuchung eines NaOH-Aufschlusses der elektrodialysierten Trockenmasse eines biologisch gereinigten Abwassers mittels ICP-Spektroskopie. Phosphor wurde photometrisch, Chlorid ionenchromatographisch bestimmt. Aufgeführt sind Elemente mit einem höheren Anteil als 0.1 %.

| Element | Anteil an TM (%) | Element | Anteil an TM (%) |
|-----------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
| Bor | 1.54 | Aluminium | 0.25 |
| Calcium | 5.54 | Magnesium | 0.86 |
| Schwefel | 4.17 | Antimon | 0.45 |
| Cer | 0.79 | Silizium | 7.1 |
| Eisen | 0.13 | Blei | 0.19 |
| Arsen | 0.13 | | |
| Phosphor | 0.47 | Chlorid | 3.5 |

Tabellen zu " 6. Untersuchungen zur Elektrodialyse von Kläranlagenabläufen" auf Seite 47

Tabelle 61. Elektrodialyse und Vergleich der Abnahme von Leitfähigkeit und DOC: Untersuchungen mittels Elektrodialyse an einer biologisch gereinigten Abwasserfraktion (<1000 D). Vergleich des Verhaltens aller Inhaltstoffe mit denen, die nicht an XAD-8 Harz adsorbiert werden.

| | Abnahme der Leitfähigkeit (%) | Abnahme des DOC (%) |
|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------|
| Bioablauf <1000 Dalton | 98.6 | 20.4 |
| Bioablauf <1000 Dalton nach XAD 8 | 98.5 | 20.5 |

Tabelle 62. Elektrodialyse bei Ansäuerung der Konzentratseite: Untersuchungen mittels Elektrodialyse an einer biologisch gereinigten Abwasserfraktion (<1000 D). Durch die Absenkung des pH-Wertes im System wurde der DOC zu 95 % im Rohwasserkreislauf gehalten.

| Dialysedauer (Stunden) | pH-Wert | Leitfähigkeit ($\mu\text{S}/\text{cm}$) | DOC (mg/l) | DON (mg/l) |
|------------------------|---------|---|------------|------------|
| 0 | 8.7 | 2070 | 1.90 | 0.28 |
| 6.45 | 8.45 | 1530 | | |
| 7.92 | 8.45 | 1440 | | |
| 24.04 | 5.95 | 4.91 | | |
| 28.24 | 5.50 | 390 | | |
| 32.36 | 5.25 | 306 | | |
| 48.83 | 3.60 | 195 | | |
| 55.38 | 3.50 | 174 | 1.80 | 0.28 |

Tabelle 63. Vergleich der DOC-Rückhaltung in Abhängigkeit zum pH-Wert: Untersuchungen mittels Elektrodialyse an biologisch gereinigten Abwasserfraktionen (<1000 D). Die Absenkung des pH-Wertes erfolgte durch Ansäuern des Konzentratkreislaufs. Deutlich ist eine höhere Rückhaltung des DOC zu erkennen, der auf Carbonsäuren hinweist.

| | Wiederfindung DOC ohne Ansäuerung (%) | Wiederfindung DOC mit Ansäuerung (%) |
|--|---------------------------------------|--------------------------------------|
| Bioablauf <1000 Dalton (Leopoldshafen) | 79.5 | 95 |
| Bioablauf <1000 Dalton (Kernforschungszentrum) | 80.0 | -- |

Tabelle 64. Verhalten von Summenparametern bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse an ultrafiltrierten (< 1000 D) Kläranlagenablauf. Teilweise wurde die Dialyse im saueren Milieu durchgeführt.

| Untersuchter Parameter | pH-Bereich Rohwasser | Konzentration (mg/l) vor Dialyse | Konzentration (mg/l) nach Dialyse | Abweichung (%) |
|------------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------|
| DOC | neutral | 8.77 | 7.16 | 18.5 |
| DOC | neutral | 2.6 | 2.2 | 20.0 |
| DOC | sauer | 10.5 | 11.6 | 110 |
| DOC | sauer | 4.8 | 4.67 | 2.70 |
| DOC | sauer | 4.95 | 4.67 | 6 |
| DOC | sauer | 3.8 | 3.6 | 5 |
| Kjel-N | sauer | 0.28 | 0.28 | 0 |
| Anthron-pos. | sauer | 2.2 | n.n. | 100 |

Tabelle 65. Verhalten von pHB bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Parahydroxibenzoessäure in 500 ml 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration pHB (mg/l) | Leitfähigkeit (μ S/cm) |
|------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| 0 | 4.1 | 976 |
| 0.3 | 3.1 | 856 |
| 0.6 | 2.3 | 561 |
| 1.2 | 0.7 | 97 |

Tabelle 66. Verhalten von mHB bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Metahydroxibenzoessäure in 500 ml 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration mHB (mg/l) | Leitfähigkeit (μ S/cm) |
|------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| 0 | 9.68 | 922 |
| 0.5 | 2.66 | 248 |
| 1.0 | 0.56 | 14 |

Tabelle 67. Adsorption von pHB bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Parahydroxibenzoessäure in 500 ml 0.05 %iger Kochsalzlösung

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration pHB im Rohwasser (mg/l) | Konzentration pHB im Konzentrat (mg/l) |
|------------------------|---------------------------------------|--|
| 0.6 | 4.0 | n.n. |
| 1.5 | n.n. | 1.4 |

Tabelle 68. Verhalten von Orthophenylphenol bei der Elektrodialyse (1): Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Orthophenylphenol in 500 ml 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l) | Leitfähigkeit ($\mu\text{S/cm}$) |
|------------------------|----------------------|------------------------------------|
| 0 | 8.46 | 1040 |
| 0.5 | 5.27 | 556 |

Tabelle 69. Verhalten von Orthophenylphenol bei der Elektrodialyse (2): Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Orthophenylphenol in 500 ml 0.05 %iger Kochsalzlösung, mit HCl auf pH=2 angesäuert.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l) | Leitfähigkeit ($\mu\text{S/cm}$) |
|------------------------|----------------------|------------------------------------|
| 0 | 6.54 | 5689 |
| 0.5 | 4.52 | 392 |

Tabelle 70. Verhalten von Orthophenylphenol bei der Elektrodialyse (3): Untersuchungen einer Standardlösung von Orthophenylphenol in 500 ml 0.05 %iger Kochsalzlösung. Betrieb der Anlage ohne Strom. Die Substanz wird trotzdem adsorbiert.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l) |
|------------------------|----------------------|
| 0.4 | 20.3 |
| 1.2 | 11.2 |
| 2.9 | 7.4 |
| 3.5 | 6.9 |
| 5.7 | 6.7 |

Tabelle 71. Verhalten von Glucose bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Glucose in 5 l 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration im Rohwasser (mg/l C) | Konzentration im Konzentrat (mg/l C) |
|------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 0 | 36 | 0 |
| 2.0 | 35.2 | 0.11 |
| 4.0 | 34.8 | 0.6 |
| 6.0 | 34.8 | 0.1 |
| 23.5 | 34.5 | 0 |

Tabelle 72. Verhalten von Glucuronsäure bei der Elektrodialyse (1): Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Glucuronsäure in 5 l 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l C) im Rohwasser | Konzentration (mg/l C) im Konzentrat |
|------------------------|--|---|
| 0 | 7.48 | n.n |
| 2 | 7.26 | 0.03 |
| 4 | 7.36 | 0.18 |
| 6 | 6.86 | 0.572 |
| 23 | 0.15 | 6.04 |
| 26 | 0.10 | 6.62 |

Tabelle 73. Verhalten von Glucuronsäure bei der Elektrodialyse (2): Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Glucuronsäure in 5 l 0.05 %iger Kochsalzlösung angesäuert auf pH=3.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l C) im Rohwasser | Konzentration (mg/l C) im Konzentrat |
|------------------------|--|---|
| 0 | 6.80 | n.n |
| 2 | 7.30 | 0.06 |
| 4 | 7.20 | 0.13 |
| 6 | 7.22 | 0.20 |
| 23 | 7.30 | 0.54 |
| 26 | 7.36 | 0.60 |

Tabelle 74. Verhalten von Glycin bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Glycin in 5 l 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l C) im Rohwasser | Konzentration (mg/l C) im Konzentrat |
|------------------------|--|---|
| 0 | 6.90 | n.n |
| 2 | 6.84 | n.n. |
| 4 | 7.00 | 0.02 |
| 6 | 7.02 | 0.04 |
| 22 | 5.70 | 0.96 |
| 26 | 5.70 | 1.04 |

Tabelle 75. Verhalten von Leucin bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Leucin in 5 l 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l C) im Rohwasser | Konzentration (mg/l C) im Konzentrat |
|------------------------|--|---|
| 0 | 6.00 | 0.57 |
| 2.5 | 5.54 | 0.62 |
| 4 | 5.85 | 0.70 |
| 5 | 5.46 | 0.66 |
| 23 | 4.82 | 0.88 |

Tabelle 76. Verhalten von Glutaminsäure bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Glutaminsäure in 5 l 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l C) im Rohwasser | Konzentration (mg/l C) im Konzentrat |
|------------------------|--|---|
| 0 | 6.58 | 0.57 |
| 2 | 6.15 | 0.8. |
| 3 | 5.94 | 0.92 |
| 21 | 2.07 | 3.07 |
| 24 | 1.48 | 3.39 |

Tabelle 77. Verhalten von Caprylsäure bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Caprylsäure in 5 l 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l C) im Rohwasser | Konzentration (mg/l C) im Konzentrat |
|------------------------|--|---|
| 0 | 6.40 | n. n. |
| 2 | 4.40 | 0.01 |
| 4 | 4.60 | 0.01 |
| 6 | 3.80 | 0.05 |
| 22 | 1.10 | 1.00 |
| 25 | 0.96 | 1.16 |

Tabelle 78. Verhalten von Capronsäure bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse einer Standardlösung von Capronsäure in 5 l 0.05 %iger Kochsalzlösung.

| Dialysedauer (Stunden) | Konzentration (mg/l C) im Rohwasser | Konzentration (mg/l C) im Konzentrat |
|------------------------|--|---|
| 0 | 6.74 | n. n. |
| 1.20 | 6.74 | 0.21 |
| 2.10 | 6.74 | 0.17 |
| 18.63 | 2.17 | 1.91 |
| 21.37 | 2.10 | 1.95 |
| 26.92 | 1.58 | 3.02 |

Tabelle 79. Entfernung anorganischer Bestandteile bei der Elektrodialyse: Untersuchungen mittels Elektrodialyse an verschiedenen Salzen. Zahlenangaben beziehen sich auf Leitfähigkeit im $\mu\text{S}/\text{cm}$. Konzentration aller Salze 0.05 %, HCl: 0.01 mol/l.

| Zeit (Stunden) | HCl | NaCl | Na ₂ SO ₄ | MgSO ₄ | Na ₃ PO ₄ |
|----------------|------|------|---------------------------------|-------------------|---------------------------------|
| 0.00 | 3060 | 782 | 685 | 365 | 369 |
| 0.20 | 2120 | 613 | 634 | 303 | 301 |
| 0.50 | 1110 | 442 | 481 | 220 | 213 |
| 0.70 | 685 | 318 | 377 | 174 | 171 |
| 1.00 | 313 | 205 | 254 | 125 | 120 |
| 2.00 | -- | 44 | 62 | 37 | 33 |

Tabellen zu " 7. Gewinnung einer großen Menge niedermolekularer Inhaltsstoffe (ETM1000)" auf Seite 55

Tabelle 80. Zeitbedarf und Wiederfindung bei Verarbeitung von 1000 Litern Ablauf

| 1000 Liter Ausgangsvolumen nach Glasfaserfiltration | | | | |
|--|----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | Portion 1 | Portion 2 | Portion 3 | Portion 4 |
| Volumen (0.45 µm fil- triert) | 167.2 l | 176.4 l | 175.8 l | 177.6 l |
| Konzentrie- rungsfaktor Gefrieranrei- cherung | 3.03 | 3.64 | 3.40 | 4.02 |
| Verarbei- tungszeit- raum | 3.12.87 - 24.1.88 | 9.12.87 - 2.2.88 | 22.12.87 - 15.3.88 | 4.1.88 - 12.5.88 |
| Davon Gefrie- ranreiche- rung | 6 Tage | 11 Tage | 9 Tage | 14 Tage |
| Davon 1000 D Filtration | 1 Tag | 1 Tag | 1 Tag | 1 Tag |
| Davon Elek- tro dialyse | 5 Tage | 5 Tage | 6 Tage | 11 Tage |
| Davon Gef- riertrock- nung | 6 Tage | 6 Tage | 6 Tage | 6 Tage |
| Erzielte Re- duktion der Leitfähigkeit | 88 % | 82 % | 84 % | 92 % |
| Ausbeuten nach Gefrier- trocknung | 9.29 g | 12.14 g | 11.80 g | 5.13 g |
| darin enthal- tener Kohlen- stoff | 295.4 mg | 378.8 mg | 404.8 mg | 254.3 mg |
| Wiederfin- dung | 80.6 % | 87.5 % | 91.1 % | 80.5 % |

Tabellen zu " 8. Weitere Abtrennung organischer Stoffe von der anorganischen Matrix" auf Seite 57

Tabelle 81. Wasserlösliche organische Anteile der ETM1000: Untersuchungen mit der elektrodialysierten Trockenmasse. Der organisch gebundene Kohlenstoff ist auch in getrockneter Form noch in vollem Umfang wasserlöslich.

| | TOC | DOC | Abweichung in % |
|---------|------|------|-----------------|
| Probe 1 | 2.81 | 2.79 | -0.9 |
| Probe 2 | 2.83 | 2.93 | + 3.5 |
| Probe 3 | 3.43 | 3.34 | |
| Probe 4 | 6.66 | 6.73 | + 1.1 |

Tabelle 82. Extraktion der ETM1000 mit Methanol: 200 mg ETM1000 wurden mit 3 x 25 ml Methanol extrahiert. Nach der 2. Extraktion war kein weiterer organischer Anteil mehr löslich.

| | Trockenmasse | TOC |
|---------------|--------------|--------|
| Ausgangsmenge | 200 mg | 5.1 mg |
| 1. Fraktion | 64.6 mg | 3.5 mg |
| 2. Fraktion | 12.5 mg | 0.2 mg |
| 3. Fraktion | 3.6 mg | 0.0 mg |
| unlöslich | 116.4 mg | 0.8 mg |
| Wiederfindung | 98.6 % | 88.2 % |

Tabelle 83. Adsorption von organischen Inhaltsstoffen: An zwei verschiedenen Adsorbentien und neben dem original pH-Wert auch bei pH 2. Die Desorptionswerte beziehen sich auf adsorbierte Menge = 100 % .

| | XAD-8 (pH 7.7) | XAD-8 (pH 2.0) | XAD-8 ETM1000 (pH 2.0) | Aktivkohle (pH 8.3) | Aktivkohle (pH 2.0) |
|--|-------------------|-------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|
| Adsorption | 33 % | 41 % | 40 % | 72 % | 72 % |
| Desorption mit Methanol ¹² | 104 % | 124 % | 97.8% | -- | -- |
| Desorption mit NaOH ¹² | 34 % | 34 % | -- | 16 % | 16 % |

Tabelle 84. Fraktionierung des DOC über Kieselgel: Wässriger Extrakt der ETM1000 wurde mit Acetonitril/Wasser (85/15 Vol. T.) über Kieselgel chromatographiert. Die Inhaltsstoffe der Fraktion 4 waren nur mit Wasser eluierbar.

| | Probe 1 | Probe 2 | Probe 3 | Probe 4 | Probe 5 |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Gesamtmenge des DOC | 18.04 | 9.02 | 6.69 | 33.20 | 33.80 |
| Wiederfindung | 109 % | 96 % | 60 % | 77 % | n. B. |
| Acetonitril/ Wasser Frakt.1¹⁶ | 15.8 % | 18.3 % | 13.8 % | 18.2 % | 18.4 % |
| Frakt.2¹⁶ | 31.8 % | 19.4 % | 17.8 % | 46.4 % | 51.4 % |
| Frakt.3¹⁶ | 8.8 % | 32.8 % | 25.9 % | 12.7 % | 8.5 % |
| Wasser Frakt.4¹⁶ | 43.6 % | 29.6 % | 42.5 % | 22.8 % | 21.6 % |

¹⁶ Elutionvolumina: F1: 0-90 ml, F2: 90-150 ml F3: 150-510 ml, F4: 510-535 ml.

Tabellen zu "Stickstoffhaltige Verbindungen" auf Seite 77

Tabelle 85. Verteilung des DON über die molare Masse (1): Bestimmung des DON in Molmassenfraktionen dreier kommunaler Kläranlagen

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | 1000 - 10000 | 10000 - < 0.45 μm |
|---------------------------|--------|--------------|------------------------------|
| Leopoldshafen | 34 | 23 | 43 |
| Neureut | 28 | 15 | 57 |
| KfK | 27 | 22 | 51 |

Tabelle 86. Verteilung des DOC über die molare Masse: Bestimmung des DOC in Molmassenfraktionen dreier kommunaler Kläranlagen

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | 1000 - 10000 | 10000 - < 0.45 μm |
|---------------------------|--------|--------------|------------------------------|
| Leopoldshafen | 41 | 28 | 31 |
| Neureut | 29 | 34 | 37 |
| KfK | 41 | 25 | 35 |

Tabelle 87. Verhältnis DOC/DON über die molare Masse: Bestimmung in den Molmassenfraktionen dreier kommunaler Kläranlagen

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | 1000 - 10000 | 10000 - < 0.45 μm |
|---------------------------|--------|--------------|------------------------------|
| Leopoldshafen | 8.1 | 8.2 | 4.9 |
| Neureut | 6.8 | 14.9 | 4.3 |
| KfK | 12.0 | 9.0 | 5.3 |

Tabelle 88. Einzeldaten zum Verhältnis DOC/DON über die molare Masse: Bestimmung in den Molmassenfraktionen dreier kommunaler Kläranlagen

| Molmassenbereich (Dalton) | < 1000 | | 1000 - 10000 | | 10000 - < 0.45 μm | |
|---------------------------|----------|----------|--------------|----------|------------------------------|----------|
| | mg/l DOC | mg/l DON | mg/l DOC | mg/l DON | mg/l DOC | mg/l DON |
| Leopoldshafen | 2.50 | 0.31 | 1.73 | 0.21 | 1.94 | 0.40 |
| Neureut | 1.98 | 0.29 | 2.38 | 0.16 | 2.55 | 0.60 |
| KfK | 3.59 | 0.30 | 2.17 | 0.24 | 3.05 | 0.57 |

Tabelle 89. Verteilung des DON über die molare Masse (2): Bestimmung des DON in Molmassenfraktionen einer kommunalen Kläranlage durch Keller [38]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 165 | 165 - 800 | 800 - 1800 | > 1800 |
|---------------------------|-------|-----------|------------|--------|
| DON in % | 7 | 27 | 32 | 34 |

Tabelle 90. Verteilung des DON über die molare Masse (3): Bestimmung des DON in Molmassenfraktionen einer kommunalen Kläranlage durch Parkin [63]

| Molmassenbereich (Dalton) | < 165 | 165 - 340 | 340 - 780 | 780 - 1800 | > 1800 |
|---------------------------|-------|-----------|-----------|------------|--------|
| DON in % | 9 | 32 | 27 | 17 | 11 |

Tabelle 91. Konzentration von DON und Aminogruppen in biologisch gereinigtem Abwasser: Untersuchungen im Massenbereich < 1000 D des Ablaufs der Kläranlage Leopoldshafen.

| | Mittel | Bereich |
|-------------------------|-------------|--------------------|
| DON | 0.25 mg/l N | 0.17 - 0.31 mg/l N |
| freie NH ₂ | 13 µg/l N | 9.4 - 16 µg/l N |
| gesamte NH ₂ | 25 µg/l N | 25 µg/l N |

Tabelle 92. Bildung von Ammonium aus DON unter hydrolytischen Bedingungen: Untersuchungen an der ETM1000

| | |
|-----------------------------------|--------------------|
| DON + NH ₄ -N | 0.48 % der ETM1000 |
| NH ₄ -N vor Hydrolyse | 0.105 % |
| NH ₄ -N nach Hydrolyse | 0.345 % |

17 Einzelsubstanzen bei Standards oder Proben ungenügend getrennt. Daher keine eindeutige Zuordnung möglich.

18 Keine Quantifizierung weil Peaküberlagerung oder Retentionszeit-Abweichung größer als ±1 Min.

Tabelle 93. Prozentualer Kohlenstoffgehalt und C/N-Verhältnisse: Daten einiger biochemisch relevanter Verbindungen, mit deren Anwesenheit in Belebungsbecken von Kläranlagen zu rechnen ist.

| Verbindung | C in % | C/N | Verbindung | C in % | C/N |
|----------------|--------|-----|--------------|--------|-----|
| Alanin | 40 | 2.5 | Phenylalanin | 65 | 7.7 |
| Arginin | 41 | 1.3 | Prolin | 52 | 4.3 |
| Asparaginsäure | 36 | 3.4 | Serin | 34 | 2.6 |
| Cystein | 30 | 3.0 | Threonin | 40 | 3.4 |
| Glutaminsäure | 41 | 4.3 | Thyrosin | 60 | 7.7 |
| Glycin | 32 | 1.7 | Tryptophan | 65 | 4.3 |
| Histidin | 46 | 1.7 | Valin | 51 | 4.1 |
| Isoleucin | 55 | 5.1 | Adenin | 44 | 0.8 |
| Leucin | 55 | 5.1 | Cytosin | 55 | 2.2 |
| Lysin | 41 | 2.5 | Guanin | 40 | 0.9 |
| Methionin | 40 | 4.3 | Thymin | 48 | 2.1 |
| Ornithin | 45 | 2.1 | Uracil | 43 | 1.7 |

Tabelle 94. Konzentrationen von Aminosäuren: Ergebnisse dreier Versuche. Bestimmung in hydrolysierten Aufarbeitungen (ETM1000, ETM1000a, ETM1000b). Werte sind bereits auf Konzentration im Kläranlagenablauf umgerechnet.

| Aminosäure | ETM1000 in nmol/l AS | ETM1000a in nmol/l AS | ETM1000b in nmol/l AS | Mittelwert in nmol/l AS |
|--|-------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Alanin | 52 | 2 | 620 | 235 |
| α -Amino- buttersäure | --18 | 35 | 25 | 30 |
| Asparagin | --18 | 8 | 245 | 127 |
| Asparaginsäure/ Glutamin (ber. als Asparaginsäure) ¹⁷ | --18 | 103 | 39 | 71 |
| Cystein | 4 | 102 | 90 | 65 |
| Glycin | 120 | 203 | 120 | 148 |
| Histidin | 14 | 57 | --18 | 36 |
| Leucin/i-leucin (ber. als i-Leucin) ¹⁷ | 2 | --18 | 59 | 31 |
| Lysin | 0.5 | 3 | 9 | 4 |
| Methionin | 17 | 2 | 23 | 14 |
| Norleucin/Phenyl- alanin/Tryptophan (ber. als Norleu.) ¹⁷ | --18 | 13 | --18 | 13 |
| Serin | 38 | 82 | 223 | 114 |
| Tyrosin | --18 | 34 | 28 | 31 |
| Valin | 2 | 48 | --18 | 25 |
| Gesamtzahl Peaks (und Fläche) | 28 (297 mV Min) | 31 (423 mV Min) | 34 (78 mV Min) | |
| Zugeordnete Peaks (und Fläche) | 9 (59 mV Min) | 13 (72 mV Min) | 11 (15 mV Min) | |

Tabellen zum Kapitel " 10. Untersuchung der Lichtabsorption" auf Seite 73

Tabelle 95. Verhältnis DOC/spektraler Absorptionskoeffizient bei 254 nm: Werte von drei kommunalen Kläranlagen in verschiedenen Massenbereichen

| | Leopoldshafen | | Neureut | | KfK | |
|--|--|----------------|--|----------------|--|----------------|
| | SAK ₂₅₄ in m ⁻¹ | DOC in mg/l | SAK ₂₅₄ in m ⁻¹ | DOC in mg/l | SAK ₂₅₄ in m ⁻¹ | DOC in mg/l |
| < 0.45 μm | 12.5 | 6.4 | 10.4 | 6.9 | 17.1 | 9.2 |
| < 1000 D | 1.0 | 2.5 | 1.8 | 2.0 | 5.0 | 3.6 |
| Anteil < 1000 D an Gesamtheit in % | 8.0 | 40.3 | 17.3 | 29.0 | 29.2 | 39.1 |

Tabellen zum Kapitel " 12. Kopplung von chromatographischen und spektroskopischen Methoden" auf Seite 93

Tabelle 96. Wellenzahlen einiger Absorptionsbanden von Abwasserinhaltsstoffen: Verbindungen mittels HPLC getrennt und on line IR spektroskopiert.

| Ret. Zeit | Frakt. | Wellenzahlen in cm^{-1} |
|-----------|--------------------------|--|
| 2.55 | H_2CCl_2 | 1771.3 |
| 2.63 | H_2CCl_2 | 1601.1 |
| 2.71 | H_2CCl_2 | 1712.8 1771.3 2313.8 2815.1 3138.3 |
| 2.85 | H_2CCl_2 | 1712.8 2313.8 2815.1 3417.0 3606.4 |
| 3.50 | H_2CCl_2 | 1672.3 2691.5 2797.8 |
| 2.85 | MeOH | 1510.6 1563.8 1617.0 1750.0 1957.4 2074.5 2202.1 2276.6 2329.8 2436.2 2542.6 2659.6 2707.4 2795.7 3191.5 3468.1 3654.3 3851.1 |
| 5.11 | MeOH | 3457.4 3633.0 |
| 2.80 | THF | 1510.6 1563.8 1617.0 1750.0 1957.4 2074.5 2202.1 2276.6 2329.8 2436.2 2542.6 2659.6 2707.4 2795.7 3191.5 3468.1 3654.3 3851.1 |

Verbindungsklassen die den oben beschriebenen Wellenzahlen entsprechen

- 2.55 α -Dicarboxyl-Verbindung
- 2.63 Stilben-Derivat
- 2.71 Imidazol-Derivat
- 2.85 Quart. Ammoniumverbindung
- 3.50 Stickstoffhaltige, chinoide Struktur
- 5.12 kurzkettiges Benzolsulfonsäure-Derivat

Tabelle 97. Mittels GC-MS identifizierte Verbindungen: In verschiedenen Extrakten der ETM1000 nachgewiesene Verbindungen. Chrom. Bed.: DB-5, 25 m, 5 min iso bei 50 °C, dann mit 3 °C/min auf 275 °C

| Verbindung | Petroether-Extrakt | Diethylether-Extrakt | Methanol-Extrakt |
|---------------------------------|--------------------|----------------------|------------------|
| 1-Hexadecanol | X | X | X |
| 2,6,10,18-Tetramethylheptadecan | | | X |
| 2-Methyldodecan | X | | |
| 5-Methylundecan | X | | |
| 5-Octadecan | X | X | X |
| 10-Methyleicosan | X | | |
| C ₁₈ H ₃₆ | X | | |
| C ₃₂ H ₆₆ | | | X |
| C ₃₂ H ₆₂ | | | X |
| C ₃₆ H ₇₂ | | | X |
| Cyclodecan | X | | |
| Di-tert.-butylhydroxitoluol | X | | X |
| Di-tert.-butylchinon | | | X |
| Heptadecan | X | | |
| Nonylphenol | | X | |
| Phthalsäure-di-isooctylester | | X | X |

Tabelle 98. Mittels GC-MS identifizierte Verbindungen nach Methylierung (1): Verbindungen mit einer Signalintensität über 5000 (TIC), einer Übereinstimmung mit dem Referenzspektrum von über 80 % und einer Peakreinheit von über 35 %. Probe: ETM1000 F4. Chrom. Bed.: DB-5, 25 m, 5 min iso bei 50 °C, dann mit 3 °C/min auf 275 °C

| Scan-Nr. | Basispeak (Masse) | Intensität (TIC) | Substanzname |
|----------|-------------------|------------------|---|
| 123 | 73 | 53568 | Allo-Inositol |
| 133 | 95 | 141065 | 1-H-Imidazole-4-Ethanolamine, -5-Methyl |
| 142 | 75 | 6304 | Ethanol -2,2-Diethoxy ¹⁹ |
| 147 | 58 | 41151 | Benzeneethanamine -N,Alpha Dimethyl(S)- |
| 201 | 110 | 27104 | Phosphoric Acid Trimethylester |
| 204 | 47 | 9872 | Acetic Acid -Diethoxy Ethylester |
| 223 | 83 | 12384 | 2-Butenal -3-Methyl ¹⁹ |
| 237 | 237 | 6368 | Benzoic Acid -4-Cyano, 4-Methylphenylester |
| 255 | 57 | 10512 | Octane -2,3,5 Trimethyl ²⁰ |
| 339 | 94 | 9264 | Phosphoramidic Acid Dimethylester ¹⁹ |
| 500 | 116 | 55104 | 4-Imidazolinone -2-Thioxo ¹⁹ |
| 518 | 108 | 10464 | 2-Pyridinamine -4-Methyl |
| 567 | 116 | 21408 | 4-Imidazolinone -2-Thioxo |
| 630 | 130 | 9408 | 1-H-Indole-3-Acetic Acid Ethylester |
| 653 | 77 | 57728 | Benzenesulfonic Acid Methylester |
| 743 | 57 | 10016 | Phenol (1,1 Diethyl) -4-Methoxy |
| 750 | 164 | 10544 | Chinazoline -2-Chloro |
| 766 | 91 | 24288 | 4-Methylbenzenesulfonic Acid Methylester |
| 831 | 91 | 9984 | 4-Methylbenzenesulfonic Acid Ethylester |
| 974 | 91 | 35904 | Benzenesulfonamide -N,N Dimethyl |

¹⁹ Übereinstimmung mit Referenzspektrum unter 80 % (70 - 80 %).

²⁰ Peakreinheit unter 35 % (25 - 35 %).

Tabelle 99. Mittels GC-MS identifizierte Verbindungen nach Methylierung (2): Verbindungen mit einer Signalintensität über 5000 (TIC), einer Übereinstimmung mit dem Referenzspektrum von über 80 % und einer Peakreinheit von über 35 %. Probe: ETM1000 F2. Chrom. Bed.: DB-5, 25 m, 5 min iso bei 50 °C, dann mit 3 °C/min auf 275 °C

| Scan-Nr. | Basispeak (Massenzahl) | Intensität (TIC) | Substanzname |
|----------|------------------------|------------------|---|
| 139 | 93 | 18432 | Pyridine -2-Methyl |
| 181 | 96 | 12432 | 2-Butenal -2-Methyl |
| 200 | 107 | 8016 | Pyridine -2,4 Dimethyl |
| 229 | 92 | 7056 | Pyridine -3-Ethyl |
| 293 | 113 | 11792 | Butenedioic Acid (E), Dimethylester |
| 307 | 125 | 7344 | 1-H-Imidazole -(2-(Diethoxymethyl)) |
| 378 | 105 | 57524 | Benzoic Acid Methylester |
| 381 | 85 | 17632 | 2-H-Azepin-2-one -Hexahydro |
| 409 | 94 | 7744 | 1-H-Pyrrole-2-Carboxylic Acid Ethylester |
| 415 | 103 | 5200 | Butenedioic Acid -Hydroxy Dimethylester |
| 427 | 88 | 8496 | 4-Pyridinecarboxylic Acid Methylester ²⁰ |
| 499 | 116 | 9936 | 1-H-Indole ¹⁹ |
| 508 | 55 | 9072 | 2,4 (1-H, 3-H) Pyrimidinedione -1,3 Dimethyl ¹⁹ |
| 528 | 139 | 9375 | 1-H-Pyrrole 2,5-Dione -3-Ethyl-4-Methyl |
| 558 | 139 | 10096 | 2-Pyridinecarboxylic Acid Methylester |
| 564 | 123 | 6688 | Benzeneamide -4-Methoxy |
| 583 | 133 | 7296 | Carbamic Acid -3-Methylphenyl Methylester |
| 589 | 117 | 9472 | Benzaldehyde -4-Methyl-Oxime (E) |
| 601 | 150 | 7312 | Phenol -3-(1,1 Dimethylethyl) ¹⁹ |
| 605 | 127 | 7384 | D,L Alditol -1,6-Dideoxy -3,4- Di-O-Methyl |
| 652 | 124 | 7840 | Benzenediole -5-Methyl |
| 672 | 153 | 5160 | Furanedicarboxylic Acid Dimethylester ²⁰ |
| 703 | 161 | 13376 | 1-H-Isoindole -1,3(2H)Dione -2-Methyl |
| 763 | 111 | 10928 | 2,4 Hexadienoic Acid Dimethylester (E,E) |
| 826 | 57 | 88960 | Tetradecane -2,5-Dimethyl |
| 873 | 149 | 7448 | 1,2 Benzenedicarboxylic Acid Dimethylester |
| 931 | 91 | 6168 | Benzenesulfonamide -N,N,4-Trimethyl |
| 952 | 100 | 20160 | Pyrrolidine -1-((2-Dimethylamino) -1,1-Dimethylethoxy)) -2,2-Dimethyl ¹⁹ |
| 980 | 91 | 41216 | Benzenesulfonamide -N,4-Dimethyl |
| 1073 | 63 | 5856 | Ethanol -2-Chloro Phosphate |

Anmerkung: Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite.

| Fortsetzung von Tabelle 99 | | | |
|----------------------------|-----|--------|---|
| 1179 | 194 | 36096 | 1-H-Purine -2,6-Dione -3,7-Dihydro -1,3,7-Trimethyl |
| 1292 | 149 | 94464 | 1,2-Benzenedicarboxylic Acid -Butyl- -2-Methylpropylester |
| 1300 | 185 | 30272 | 1-H-Indole-3-Ethanamine -N,1-Dimethyl -2-(Tetrahydro-2-Furanyl) |
| 1518 | 174 | 31158 | 1-(2-H)-Naphthalenone -3,4-Dihydro -5,8-Dimethyl |
| 1921 | 149 | 118912 | 1,2-Benzenedicarboxylic Acid Diisooctylester |
| 2144 | 59 | 94848 | Heptanamide -4-Ethyl -5-Methyl ²⁰ |
| 2162 | 185 | 24800 | Decanedioic Acid -bis(-2-Ethylhexyl)ester |

Tabelle 100. Beziehung zwischen TIC und Substanzmenge der getrennten Peaks

| Scan-Nummer | Substanzname | Inj. Menge in ng | TIC in counts |
|-------------|----------------------|------------------|---------------|
| 542 | Nitrophenol | 105 | 18886 |
| 569 | Dimethylphenol | 130 | 32932 |
| 603 | Dichlorphenol | 95 | 24287 |
| 819 | Chlor-Methylphenol | 110 | 27372 |
| 927 | Trichlorphenol | 100 | 26635 |
| 1171 | Dinitrophenol | 115 | 13711 |
| 1215 | Dinitro-Methylphenol | 90 | 15021 |

Tabelle 101. Strukturvorschläge für einzelne Peaks bei HPLC-MS-Kopplung: Verbindungen nach Vergleich mit Datenbankspektren und deren Übereinstimmung mit den Spektren der Probenpeaks.

| Ret. Zeit in Min. | Verbindungsvorschlag | Wahrscheinlichkeit in % |
|-------------------|---|-------------------------|
| 42.7 | Octahydropentalen | 41 |
| 47.3 | Cyclopentanoxim | 20 |
| 49.2 | Bicyclo-(2,2,2)-octa-2,5-dien, -1,4,7,7,8,8-hexafluoro, -2-methyl | 20 |
| 54.2 | 3,5-Dimethoxybenzylamin | 28 |
| 58.9 | Trifluoressigsäure | 76 |
| 60.2 | 3,6-Dimethylheptadien (1,5) | 26 |
| 72.5 | Thiazolo-(5,4-f)-2,9-Dimethylchinolin | 25 |
| 75.3 | 2,3,6-Trimethylheptadien | 35 |

Literaturliste

- [1] Ahel M./Giger W.: "Determination of Alkylphenols and Alkylphenol Mono- and Diethoxylates in environmental Samples by High-Performance Liquid Chromatography" *Anal. Chem.* 57, 1577 (1985)
- [2] Aly S. A./Jekel M.: Untersuchungen zur Aufsalzung von Wässern bei ihrer Verwendung. Abschlußbericht zum Forschungsvorhaben WT007 des BMFT
- [3] American Public Health Organisation: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 16. Ed. American Public Health Organisation, Washington D. C., 1985
- [4] Amy G. L./Bryant C. W./Belyani M.: "Molecular Weight Distributions of soluble organic Matter in various secondary and tertiary Effluents" *Water Sci. Technol.* 19, 529 (1987)
- [5] Arbeitsgemeinschaft Wasserwerke Bodensee-Rhein: 7. Bericht der AGWBR Tabellenanhang S. 153 ff.
- [6] Baham J./Sposito G.: "Chemistry of Water soluble, Metal-complexing organic Ligands extracted from an anaerobically digested Sewage Sludge" *J. Environ. Qual.* 12, 96 (1983)
- [7] Benckiser G.: "Umwandlung und Verwertbarkeit relativ-persistenter organischer Verbindungen im Zuge anaerober Atmung (Denitrifikation) am Beispiel von Polyethylensorbitanmonooleat, Phthalsäure-di-n-butylester, Hexachlorbenzol und Abwasserkonzentrat" Hochschulsammlung Naturwiss. Biologie Bd. 7 Hochschulverlag, Freiburg, 1980
- [8] 28. Bericht der Arbeitsgemeinschaft Rheinwasserwerke e. V. (1971) ARW, Düsseldorf, 1971
- [9] Bernauer D./Goubeau-Romeyke A.: "Konzentrierung, Isolierung und Fraktionierung der organischen Inhaltsstoffe des Kläranlagenablaufs" *Stuttgarter Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft* Bd. 57 Oldenbourg Verlag, München, 1976
- [10] Berth P./Kriings P.: "Einfluß der Phosphat-Höchstmengeverordnung auf Waschmittel" *Henkel Referate* 24, 89 (1988)
- [11] Brown D. et al.: "Removal of Nonionics in Sewage Treatment Plants" *Tenside Surfactants Detergents* 24, 14 (1987)
- [12] Chian E. S. K. et al.: "Removal of Organics in Sewage and secondary Effluents by reverse Osmosis" *Prog. Wat. Tech.* 9, 761 (1977)
- [13] Chudoba J.: "Purification Limits of the activated Sludge Process" *Acta hydrochim. hydrobiol.* 15, 446 (1987)
- [14] Chudoba J.: Quantitative Estimation in COD-Units of refractory organic Compounds produced by activated Sludge Microorganisms"

- Water Res. 19, 97 (1985)
- [15] Chudoba J./Tucek F./Lischke P.: "Isolierung und Identifizierung organischer Reststoffe aus der Produktion von Belebtschlamm-Mikroorganismen"
Z. Wasser- Abwasser-Forsch. 8, 99 (1975)
- [16] Coleman W. E. et al.: "Identification of organic Compounds in a mutagenic Extract of a Surface Drinking Water by computerized Gas Chromatography/Mass Spectrometry System (GC/MS/COM)"
Environ. Sci. Technol. 14, 576 (1980)
- [17] Collins M. R./Amy G. L./Steelink C.: "Molecular Weight Distribution, Carboxylic Acidity and Humic Substances Content of aquatic Organic Matter: Implications for Removal during Water Treatment"
Environ. Sci. Technol. 20, 1028 (1986)
- [18] Deutsche Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung
VCH, Weinheim, Loseblattsammlung, aktuelle Ausgabe
- [19] Dressler M.: "Extraction of Trace Amounts of organic Compounds from Water with porous organic Polymers"
J. Chromatogr. 165, 167 (1979)
- [20] Eberle S. H. "A Correctness Test for the Computation of chemical Speciation for the main Constituents of natural Waters"
Water Res. im Druck
- [21] Ellis D. D. et al.: "Organic Constituents of mutagenic secondary Effluents from Wastewater Treatment Plants"
Arch. Environm. Contam. Toxicol. 11, 373 (1982)
- [22] Frimmel F./Hopp W.: "Stability Spectra for the Description of Copper-Humic Complexes. A Fluorescence Quench Study"
Fresenius' Z. anal. Chem. 325, 68 (1986)
- [23] Fuchs F.: "Gelchromatographische Trennung von organischen Wasserinhaltsstoffen Teil 1"
Vom Wasser 64, 129 (1985)
- [24] Fuchs F.: "Gelchromatographische Trennung von organischen Wasserinhaltsstoffen Teil 3"
Vom Wasser 66, 127 (1986)
- [25] Gaudy/Blachly: "A Study of the Biodegradability of residual COD"
J. WPCF 57, 332 (1985)
- [26] Giger W./Ahel M./Koch M.: "Das Verhalten von Alkylphenolpolyethoxylat-Tensiden in der mechanisch biologischen Abwasserreinigung"
Vom Wasser 67, 69 (1986)
- [27] Giger W. et al.: "Behaviour of Alkylphenolpolyethoxylate Surfactants and Nitriilotriacetate in Sewage Treatment"
Water Sci. Technol. 19, 449 (1987)
- [28] Grady C. P. L. et al.: "Molecular Weight Distribution in activated Sludge Effluents"
Water Res. 18, 239 (1984)
- [29] Haltrich W. G./Pagga U./Wellens H.: "Die Prüfung der biologischen Ab-

- baubarkeit von wasserlöslichen Stoffen"
Vom Wasser 54, 51 (1980)
- [30] Haltrich W. G./Sontheimer H.: "Charakterisierung von biologisch gereinigten Abwässern"
Vom Wasser 61, 305 (1983)
- [31] Hejzlar J./Chudoba J.: "Microbial Polymers in the aquatic Environment"
Water Res. 20, 1209 (1986)
- [32] Hellegeth J. W./Taylor L. T.: "FTIR Detection of liquid chromatographically separated Species"
J. Chromatogr. Sci. 24, 519 (1986)
- [33] Helfgott T./Hunter J. V./ Rickert D.: "Analytic and Process Classification of Effluents"
J. Sanitary engineering division 96, 7 (1970)
- [34] Hellmann H.: Analytik von Oberflächengewässern
G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1986
- [35] Hellmann H.: "Kieselgelschichten als Ionenaustauscher bei der Tensidanalytik"
Fresenius Z. Anal. Chem. 315, 612 (1983)
- [36] Hörrmann H./Siddiqui I. A.: "Farbreaktionen von Kohlenhydraten Teil 4: Produkte der Farbreaktionen von Fructose und Glucose mit Anthron/Schwefelsäure"
Liebigs Ann. Chem. 717, 174 (1968)
- [37] Jolley R. L.: "Concentrating Organics in Water for biological Testing"
Environ. Sci. and Technol. 15, 874 (1984)
- [38] Keller J. V./Leckie J. O./McCarty P. L.: "Investigation of soluble organic Nitrogen Compounds in municipal secondary Effluent"
J. WCPF 50, 2522 (1978)
- [39] Kepner R. E./Van Straten S./ Weurman "Freeze Concentration of volatile Compounds in dilute aqueous Solutions"
J. Agr. Food. Chem. 17, 1123 (1969)
- [40] Knobel K. P.: "Untersuchungen über das Extraktions- und Diafiltrationsverhalten von organischen Säuren des Wassers"
Diss. Univ. Karlsruhe 1982
- [41] Koppe P./Stozek A.: Kommunales Abwasser
Vulkan Verlag, Essen, 1986
- [42] Lahl U./Burbaum H.: "Einzelstoffanalysen im Zu- und Ablauf einer kommunalen Kläranlage"
Korrespondenz Abwasser 35, 360 (1988)
- [43] Leenheer J. A.: "Comprehensive Approach to preparative Isolation and Fractionation of dissolved organic Carbon from natural Waters and Wastewaters"
Environ. Sci. Technol. 15, 578 (1981)
- [44] Legube B./Doré M.: "Changes in the chemical Nature of a biologically treated Wastewater during Disinfection by Ozone"
Ozone Science and Engineering 9, 66 (1987)
- [45] Lehninger A.: Biochemie 2.Auflage
VCH, Weinheim, 1979

- [46] Leidner H./Fleischmann T./Hamer G.: "Molecular Weight Fractionation for the Study of complex Biodegradation Processes"
Anal. Chim. Acta 163, 35 (1984)
- [47] Link J./Gilbert E./Eberle S. H.: "Untersuchungen über Art und Menge der Reststoffe in den Abläufen biologischer Kläranlagen"
Vom Wasser 72, 349 (1989)
- [48] Link J., priv. Mitteilung
Inst. f. Radiochemie/WTL am KfK
- [49] Lönneberg H./Kappi R.: "Competition between Hydrolysis and Deamination of Cytidin and its 5-Derivatives"
Nucleic Acids Res. 13, 245 (1985)
- [50] Manka J. et al.: "Characterisation of Organics in secondary Effluents"
Environ. Sci. Technol. 8, 1017 (1974)
- [51] Manka J./Rebhun M.: "Organic Groups and molecular Weight Distribution in tertiary Effluents and renovated Waters"
Water Res. 16, 399 (1982)
- [52] Matthijs E./de Henau H.: "Analysis of Monoalkylquarternaries and Assessment of their Fate in domestic Wastewater, River Water and Sludge"
Posterbeitrag, Fachgruppe Wasserchemie d. GdCh, Bad Harzburg 1987
- [53] Merz W./Neu H.-J.: "Anwendung der fest-flüssig Extraktion zur Anreicherung von organischen Spurenstoffen aus Wasser"
Vom Wasser 65, 189 (1985)
- [54] Metzger H.-J.: "Untersuchungen über die Elimination von gelösten organischen Wasserinhaltsstoffen durch Fällung/Flockung"
KfK-Bericht Nr.3960 (1985)
- [55] Minear R. A./Keith L. H.: Water Analysis Vol. 3 (organic Species)
Acad. Press, Orlando, 1984
- [56] Near J. H. zit. bei Helfgott T./Hunter J. V.: "Analytic and Process Classification of Effluents"
J. Sanitary engineering division 96, 779 (1970)
- [57] Neubecker T. A.: "Determination of Alkylethoxylated Sulfates in Wastewater and Surface Waters"
Environ. Sci. Technol. 19, 1232 (1985)
- [58] Opgenorth H.-J.: "Umweltverträglichkeit von Polycarboxylaten"
Tenside Surfactants Detergents 24, 366 (1987)
- [59] Otson R./Williams D.T.: "Evaluation of a liquid-liquid Extraction Technique for Water Pollutants"
J. Chromatogr. 212,187 (1981)
- [60] Page A. L. (ed.): Methods of Soil Analysis 2, 2. Aufl. S.263 ff.
American Society of Agronomy Inc., Madison, 1982
- [61] Painter H. A./Viney M./Bywaters A.: "Composition of Sewage and Sewage Effluents"
Inst. of Sewage Purif. (London) J. and Proc. 60, 302 (1961)
- [62] Painter H. A.: "Organic Compounds in Solution in Sewage Effluents"
Chem. Ind. 17, 818 (1973)

- [63] Parkin G. F./McCarty P. L.: "A Comparison of the Characteristics of soluble organic Nitrogen in untreated and activated Sludge treated Wastewaters"
Water Res. 15, 139 (1981)
- [64] Parris N./Gallelli D.: "Dansylation of Amino Acids and Byproduct Formation"
J. Liqu. Chrom. 7, 917 (1984)
- [65] Petts K. W./Parkes D.: "Determination of anionic Surfactants within a Concentration Range 0 - 1.0 mg/l in Sewage Effluents and Waters by Autoanalysis"
Water Res. Center Stevenage, Tech. Rep.75 (1978)
- [66] Pitt W. W./Jolley R. L./Katz S.: "An automated Analysis of individual refractory Organics in polluted Water"
NTIS Rep. PB 239 774 (1974)
- [67] Rebhun M./Manka J.: "Classification of Organics in secondary Effluents"
Environ. Sci. Technol. 5, 606 (1971)
- [68] Reinhard M. et al.: "Removing Trace Organics by Reverse Osmosis using Cellulose Acetate and Polyamide Membranes"
J. AWWA 78, 163 (1986)
- [69] Rümcker B.: SI-Einheiten/Gesetzliche Einheiten und ihre Anwendungspflicht 3. Aufl. S.204
WEKA-Verlag, Kissing, 1978
- [70] Sachdev D. R./Ferris J. J./Clesceri N. L.: "Apparent molecular Weights of Organics in secondary Effluents"
J. WPCF 48, 570 (1976)
- [71] Schildknecht H./Rauch G./Schlegelmilch F.: "Das 'normale Erstarren' als Methode zur Anreicherung von kleinsten Stoffmengen aus Flüssigkeiten"
Chemiker-Ztg. Chem. Apparatebau 83, 549 (1959)
- [72] Schildknecht H./Schlegelmilch F.: "Normales Erstarren, zur Anreicherung und Reinigung organischer und anorganischer Verbindungen"
Chem.-Ing.-Techn. 35, 637 (1963)
- [73] Schnitzler M. / Levay G. / Kühn W. / Sontheimer H.: Determination of organic Halogen and Sulfur Compounds in Water by Group Parameters
Vom Wasser 61, 263 (1983)
- [74] Scully F. E. et al.: "Small molecular Weight organic Amino Nitrogen Compounds in treated municipal Wastewater"
Environ. Sci. Technol. 22, 1186 (1988)
- [75] Stadnik A. S./Dedkov Y. M.: "Freezing out as a Method of concentrating Impurities in Water"
Khimiya i Tekhnologiya vody 3, 227 (1981)
- [76] Stahl E.: Dünnschicht-Chromatographie 2. Auflage
Springer Verlag, Berlin, 1967
- [77] Stephanou E./Giger W.: "Persistent organic Chemicals in Sewage Effluents
Part 2: Quantitative Determination of Nonylphenols and Nonylphenol Ethoxylates by Glas Capillary Gaschromatography
Environ. Sci. Technol. 16, 800 (1982)

- [78] Switzer-Howse K. D./Dutka B. J.: "Fecal Sterol Studies: Sample processing and Microbiological Degradation" Inland Waters Directorate, Water Resources Branch Bd.89 Burlington, Ont., 1978
- [79] Tabak H./Bloomhuff N./Bunch R. L.: "Steroid Hormones as Water Pollutants" Developments in indust. Chemistry 22, 497 (1981)
- [80] Tambo N./Kamei T.: "Water Quality Conversion Matrix for aerobic biological Processes" J. WPCF 52, 1091 (1980)
- [81] Teramachi K./Takakuwa T.: "Biochemically stable organic Matter in activated Sludge Process Effluent" Bulletin of the Faculty of Engineering Hokkaido University No. 113 (1983) S.1
- [82] Topping W./Waters J.: "Monitoring cationic Surfactants in Sewage Treatment Plants" Tenside Detergents 19, 164 (1982)
- [83] Turner A. H.: "The Biodegradability of two primary Alkholethoxylate nonionic Surfactants under practical Conditions and the Toxicity of the Biodegradation Products on the Rainbow Trout" Water Res. 19, 45 (1985)
- [84] Urano K./Katagiri K./Kawamoto K.: "Characteristics of Gel Chromatography using Sephadex Gel for Fractionation of soluble organic Pollutants" Water Res. 11, 741 (1980)
- [85] Waggott A./Britcher H. V.: "Analysis of the organic Carbon Content of Sewage Effluent. General and Specific Group Analysis." Water Res. Center Stevenage, Tech. Rep. 29 (1976)
- [86] Zakaria M./Brown P. R.: "High Performance liquid Column Chromatography of Nucleotides, Nucleosides and Bases" J. Chromatogr. 226, 267 (1981)