



GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER



Fachgruppe  
Wasserchemische Gesellschaft

# Wasser 2020

Kurzreferate zur Wasser 2020



<b>Torsten Schmidt</b>	Essen (Vorsitz)
<b>Lilian Busse</b>	Berlin
<b>Martin Elsner</b>	München
<b>Thilo Hofmann</b>	Wien
<b>Martin Jekel</b>	Berlin
<b>Thomas Knepper</b>	Idstein
<b>Reinhard Länge</b>	Berlin
<b>Thorsten Reemtsma</b>	Leipzig
<b>Marco Scheurer</b>	Karlsruhe
<b>Carsten Schmidt</b>	Köln
<b>Thomas Ternes</b>	Koblenz
<b>Friederike Vietoris</b>	Düsseldorf
<b>Markus Weber</b>	Leverkusen
<b>Rudi Winzenbacher</b>	Langenau
<b>Christian Zwiener</b>	Tübingen



Liebe Mitglieder der Wasserchemischen Gesellschaft,

liebe Interessierte unserer Jahrestagung,

der Vorstand der Wasserchemischen Gesellschaft hat es zutiefst bedauert, dass die „Wasser 2020“ abgesagt werden musste. Nach sorgfältiger Prüfung gab es aufgrund der Risiko- und Gefahrenlage in Zusammenhang mit dem Corona-Virus jedoch keine andere Entscheidungsmöglichkeit.

Es war für alle Beteiligten bitter, zum ersten Mal seit 1948 eine lange geplante Veranstaltung abzusagen, haben wir uns doch alle auf ein Treffen mit vielen spannenden Vorträge und wertvollen Gesprächen zwischen Teilnehmern, Vortragenden und Ausstellern gefreut. Die Verantwortung gegenüber allen Teilnehmern der Veranstaltung und den Betroffenen vor Ort stand für uns aber im Vordergrund.

Um die geplanten Inhalte der Veranstaltung trotzdem an alle Interessierte zu transferieren und auch damit die Mühen der Autoren nicht ganz umsonst waren, wurden die Abstracts der eingereichten Beiträge, sofern es seitens der Verfasser keine Einwände zur Veröffentlichung gab, in dem hier vorliegenden Kurzreferateband zusammengestellt. Wir wünschen Ihnen viel Spaß bei der Lektüre.

Zum aktuellen Zeitpunkt sind wir zuversichtlich, dass die „Wasser 2021“ stattfinden wird. Die anstehenden Planungen sehen vor, dass wir uns, wie bereits in diesem Jahr geplant, in Potsdam treffen werden. Wir freuen uns schon heute sehr darauf, wieder vertraute und auch neue Gesichter zu sehen und uns mit Ihnen in interessanten Gesprächen auszutauschen.

Bis dahin wünschen wir Ihnen alles Gute und bleiben Sie gesund!

Prof. Dr. Torsten C. Schmidt

*Vorstandsvorsitzender der Wasserchemischen Gesellschaft,*

*Universität Duisburg-Essen, Lehrstuhl für Instrumentelle Analytische Chemie*

Wir danken herzlich den Unterstützern der Wasserchemischen Gesellschaft, die teilweise oder komplett auf die Erstattung ihrer Standgebühren verzichtet haben und damit ihre Verbundenheit zum Ausdruck gebracht haben. So konnten die bereits entstandenen Veranstaltungskosten deutlich reduziert werden.



**Programm**

---

Vortragsübersicht	6
Posterübersicht	10

**ZUSAMMENFASSUNGEN**

**Vorträge**

---

Gewässer & Spurenstoffe	20
Abwasser	33
Mikroplastik	45
Spezialthema - Haveleinzugsgebiet: wasserarm und gewässerreich	83
Trinkwasser und Hygiene	86
Abwasser	107

**Poster**

---

Abwasser	122
Analytik	144
Aufbereitung	262
Gewässer & Spurenstoffe	327
Mikroplastik	423
Trinkwasser & Hygiene	466

**Impressum**

---

504

## Gewässer & Spurenstoffe

- V 05 **Antikoagulante Rodentizide in Fischen – Ursachenforschung und Risikominderungsmaßnahmen** 20  
J. Regnery, Koblenz/DE, R. S. Schulz, Koblenz/DE, P. Parrhysius, Koblenz/DE, J. Bachtin, Koblenz/DE, S. Schäfer, Koblenz/DE, G. Reifferscheid, Koblenz/DE, M. Brinke, Koblenz/DE
- V 06 **Using an artificial intelligence approach to predict the sorption of ionizable and polar organic pollutants to a wide range of carbonaceous materials** 24  
G. Sigmund, Wien/AT, M. Gharasoo, Waterloo/CA, T. Hüffer, Wien/AT, T. Hofmann, Wien/AT
- V 07 **Pestizidbelastung: Große Spitzen in kleinen Fließgewässern** 29  
K. Halbach, Leipzig/DE, M. Möder, Leipzig/DE, P. Vormeier, Leipzig/DE, O. Weisner, Leipzig/DE, L. Liebmann, Leipzig/DE, K. Foit, Leipzig/DE, S. Knillmann, Leipzig/DE, M. Liess, Leipzig/DE, T. Reemtsma, Leipzig/DE

## Abwasser

- V 08 **Einfluss der Flockung auf die Entfernung von Mikroschadstoffen im Pulveraktivkohle/Ultrafiltrations-Prozess zur weitergehenden Abwasserreinigung** 33  
G. Hoffmann, Duisburg/DE, S. Panglisch, Duisburg/DE
- V 09 **Zeitlich aufgelöste Trendanalyse zur Priorisierung relevanter Kontaminanten in Industrieabwässern mittels Non-Target Analytik** 39  
K. Purschke, Leverkusen/DE, M. Vosough, Tehran/IR, M. Weber, Leverkusen/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE

## Mikroplastik

- V 010 **Microplastic contamination in the aquatic environments: Validation and reproducibility of sample preparation methods** 45  
M. Al-Azzawi, Garching/DE, J. Weißer, Freising/DE, S. Kefer, Freising/DE, O. Knoop, Garching/DE, J. E. Drewes, Garching/DE
- V 011 **Mikroplastikanalytik mittels TED-GC-MS: H/D-Austausch an Zersetzungsprodukten von D-markiertem Polystyrol als internem Standard** 50  
P. Eisentraut, Berlin/DE, E. Dümichen, Berlin/DE, C. Goedecke, Berlin/DE, Y. Wiesner, Berlin/DE, M. Jekel, Berlin/DE, U. Braun, Berlin/DE

	Seite	
V 012	<p><b>Reifenabrieb in größenfraktionierten Proben aus dem Straßenraum</b></p> <p><u>P. Klöckner, Leipzig/DE, B. Seiwert, Leipzig/DE, T. Reemtsma, Leipzig/DE, S. Wagner, Leipzig/DE</u></p>	55
V 013	<p><b>Sub<math>\mu</math>-Plastik-Charakterisierung mittels einer Online-Kopplung von Raman-Mikrospektroskopie und Feldflussfraktionierung</b></p> <p><u>C. Schwaferts, München/DE, V. Sogne, Landsberg/DE, R. Welz, Landsberg/DE, F. Meier, Landsberg/DE, T. Klein, Landsberg/DE, R. Niessner, München/DE, M. Elsner, München/DE, N. P. Ivleva, München/DE</u></p>	61
V 014	<p><b>Enhanced removal of hydrophilic trace organic contaminants from urban stormwater in biochar-amended biofilters</b></p> <p><u>S. Spahr, Stanford/US, M. Teixido, Berkeley/US, D. L. Sedlak, Berkeley/US, R. G. Luthy, Stanford/US</u></p>	64
V 015	<p><b>Einflussfaktoren für die biologische Transformation organischer Spurenstoffe in Sandfiltern</b></p> <p><u>J. Filter, Berlin/DE, M. Kopp, Berlin/DE, Y. Wang, Berlin/DE, A. S. Ruhl, Berlin/DE, M. Jekel, Berlin/DE</u></p>	66
V 016	<p><b>Oxidative water treatment: Formation of transformation products, matrix effects and ecotoxicological relevance</b></p> <p><u>V. Wirzberger, Essen/DE, M. Klein, Essen/DE, V. I. Merkus, Essen/DE, M. Woermann, Essen/DE, L. Hohrenk, Essen/DE, H. V. Lutze, Essen/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE</u></p>	71
V 017	<p><b>Quantification of Oxidant-Reactive Carbonous Sites in Dissolved Organic Matter</b></p> <p><u>J. Houska, Dübendorf/CH, U. von Gunten, Dübendorf/CH</u></p>	77

**Spezialthema - Haveleinzugsgebiet:  
wasserarm und gewässerreich**

R3	<p><b>Sulfatorientierte Mengenbewirtschaftung, Prognosen für Sulfat und die Gefährdung durch Sulfat in der Spree</b></p> <p><u>M. Kaltoven, Berlin/DE</u></p>	83
----	---	----

**Trinkwasser & Hygiene**

V 018	<p><b>Beitrag einer Abwasserreinigungsanlage zur Konzentration an Antibiotikaresistenzgenen im Vorfluter unter verschiedenen hydraulischen Bedingungen</b></p> <p><u>C. U. Schwermer, Oslo/NO, W. Uhl, Oslo/NO</u></p>	86
-------	--	----

		Seite
V 019	<b>Chlorthalonil-Abbauprodukte: Herausforderung für die Trinkwasseraufbereitung?</b> K. Kiefer, Dübendorf/CH, T. Bader, Langenau/DE, N. Minas, Dübendorf/CH, E. Salhi, Dübendorf/CH, H. Singer, Dübendorf/CH, E. Janssen, Dübendorf/CH, U. von Gunten, Dübendorf/CH, J. Hollender, Dübendorf/CH	91
V 020	<b>Wirkungsbezogene Analytik in der Trinkwasseraufbereitung</b> L. Stütz, Langenau/DE, W. Schulz, Langenau/DE, R. Winzenbacher, Langenau/DE, O. Happel, Karlsruhe/DE, B. Schmutz, Karlsruhe/DE, M. Scheurer, Karlsruhe/DE	96
V 021	<b>Die Quaggamuschel im Bodensee</b> M. Petri, Stuttgart/DE, M. Faißt, Stuttgart/DE, R. Schick, Stuttgart/DE, C. Jeromin, Stuttgart/DE	102
<b>Abwasser</b>		
V 022	<b>X aus 1400 - Suspect Screening nach PM(T)-Stoffen in Oberflächenwässern</b> M. Muschket, Leipzig/DE, U. Berger, Leipzig/DE, B. Seiwert, Leipzig/DE, T. Meier, Leipzig/DE, I. J. Neuwald, Idstein/DE, D. Zahn, Idstein/DE, T. P. Knepper, Idstein/DE, T. Reemtsma, Leipzig/DE	107
V 024	<b>Praxiserfahrungen mit dem Online-Sensorsystem WATER-TRACE im Bereich der Trinkwasseraufbereitung und Abwasserbehandlung</b> O. Happel, Karlsruhe/DE, F. Junginger, Karlsruhe/DE, M. Scheurer, Karlsruhe/DE, O. Kasprzyk, Rastatt/DE, L. Rodriguez, Rastatt/DE, M. Koch, Rastatt/DE, G. Krieg, Karlsruhe/DE, M. Vollmer, Karlsruhe/DE, J. Hoinkis, Karlsruhe/DE, T. Atiye, Karlsruhe/DE, B. Schäfer, Baden-Baden/DE, U. Cakir, Mannheim/DE	110
V 025	<b>Mikroarrays zur schnellen Identifizierung von Antibiotikaresistenzgenen in unterschiedlichen Bakterienspezies mittels molekularer Fusion</b> K. Sollweck, München/DE, P. Streich, München/DE, L. Göpfert, München/DE, M. Elsner, München/DE, M. Seidel, München/DE	116

		Seite
<b>Abwasser</b>		
Ab 001	<b>Raman-basierte Verfahren zur Analyse von Mikroplastiken, Diclofenac und 1H-Benzotriazol in Wasser</b> H. Wackerbarth, Göttingen/DE, C. Lenth, Göttingen/DE, F. Wieduwilt, Göttingen/DE, B. Wedemeyer, Göttingen/DE, G. Ctistis, Göttingen/DE, U. Plachetka, Aachen/DE	122
Ab 002	<b>Untersuchungen zum Abbau verschiedener Modellsubstanzen mittels hydrodynamischer Kavitation im Technikumsmaßstab</b> A. Schmid, Hof/DE, M. Schübel, Hof/DE	128
Ab 003	<b>Entfernung von organischen Spurenstoffen aus Grauwasser durch eine Kombination aus biologischer Behandlung und AOP-Verfahren</b> L. Schuster, Dresden/DE, A. Chabilan, Dresden/DE, S. Beil, Dresden/DE, H. Börnick, Dresden/DE	132
Ab 004	<b>Metabolites of ethylene (EO) and propylene oxide (PO) containing compounds in wastewater and their biodegradation in MBBR reactors</b> S. Tisler, Roskilde/DK, C. Liang, Roskilde/DK, K. Bester, Roskilde/DK	137
Ab 005	<b>Spurenstoffelimination und Desinfektion: elektrochemische Synthese von Oxidationsmitteln mit Diamantelektroden und Gasdiffusionselektroden</b> S. Hild, Frankfurt (Main)/DE, H. Ajlani, Frankfurt (Main)/DE, C. M. Hamm, Tempe/US, R. G. Simon, Frankfurt (Main)/DE, M. Stöckl, Frankfurt (Main)/DE, K.-M. Mangold, Frankfurt (Main)/DE	141
<b>Analytik</b>		
An 001	<b>Isotopic effect of ozonation of specific reaction sites</b> J. Terhalle, Essen/DE, S. E. Nikutta, Essen/DE, D. Krzeczesa, Essen/DE, H. V. Lutze, Essen/DE, M. A. Jochmann, Essen/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE	144
An 002	<b>Polyethylenglycol and other water-soluble polymers in the aquatic environment – development and optimization of a quantitative trace-analytical method and first occurrence data</b> F. Pauelsen, Idstein/DE, D. Zahn, Idstein/DE, S. Huppertsberg, Idstein/DE, T. P. Knepper, Idstein/DE	147
An 003	<b>Matrix effects in the analysis of polar organic water contaminants with HILIC-ESI-MS</b> K. Müller, Idstein/DE, D. Zahn, Idstein/DE, T. Frömel, Idstein/DE, T. P. Knepper, Idstein/DE	150

	Seite
An 004 <b>Are ionic liquids persistent and mobile environmental contaminants or precursors thereof? Biotic and abiotic transformation and monitoring studies with selected ionic liquids</b> A. Lindemann, Idstein/DE, I. J. Neuwald, Idstein/DE, T. Frömel, Idstein/DE, D. Zahn, Idstein/DE, T. P. Knepper, Idstein/DE	154
An 005 <b>Are (fluorinated) ionic liquids relevant environmental contaminants? A high-resolution mass spectrometric screening approach for per- and polyfluoroalkyl substances in various matrices led to the detection of a novel fluorinated ionic liquid</b> I. J. Neuwald, Idstein/DE, D. Zahn, Idstein/DE, T. P. Knepper, Idstein/DE	157
An 006 <b>Ultrasensitive Bestimmung von Hormonen gemäß Anforderungen der EU-Wasserrahmenrichtlinie</b> F. Itzel, Duisburg/DE, J. Kerstein, Duisburg/DE, O. Gassner, Duisburg/DE, T. Teutenberg, Duisburg/DE, J. Türk, Duisburg/DE	161
An 007 <b>Analysis of Ultrashort-Chain and Alternative PFAS: LC-MS/MS Method Development and Application to Water Samples</b> S.-H. Liang, Bellefonte/US, J. Steimling, Bellefonte/US, M. Chang, Bellefonte/US, P. Connolly, Bellefonte/US	166
An 008 <b>Proven Consistency in PFAS Analytical Workflow with Extended Compound List</b> M. Chang, Bellefonte/US, S. Steinike, Bellefonte/US, H. Majer, Bellefonte/US, U. Beyer, Bad Homburg/DE	172
An 009 <b>Using Free, High-Performance Computer Modeling Software to Simulate Gas Chromatographic Separations</b> J. de Zeeuw, Bellefonte/US, C. Rattey, Bellefonte/US, C. Nelson, Bellefonte/US, S. Adams, Bellefonte/US, K. Sellers, Bellefonte/US	178
An 010 <b>Photo- und elektrochemischer Abbau von poly- und perfluorierten Alkylsubstanzen (PFAS) – LC-HRMS-Screening von Transformationsprodukten</b> B. Bugsel, Tübingen/DE, M. Schmitt, Tübingen/DE, O. Nied, Tübingen/DE, J. Zweigle, Tübingen/DE, C. Zwiener, Tübingen/DE	184
An 011 <b>Leitfaden zur Anwendung des Non-Target-Screenings mittels LC-ESI-HRMS in der Wasseranalytik</b> W. Schulz, Langenau/DE, T. Lucke, Langenau/DE	188
An 012 <b>Ionenstrahltransmission – ein wichtiger Parameter in der HRMS-Analytik</b> B. Schulze, Langenau/DE, T. Bader, Langenau/DE, W. Seitz, Langenau/DE, R. Winzenbacher, Langenau/DE	194

	Seite
An 013 <b>Judge- and assignment of high resolution mass spectrometry investigations of DOM - Examples for identification of biogeochemical processes in waters</b> <u>P. Herzsprung, Magdeburg/DE</u> , N. Kamjunke, Magdeburg/DE, W. von Tümpling, Magdeburg/DE, C. Wilske, Magdeburg/DE, T. Reemtsma, Leipzig/DE, O. J. Lechtenfeld, Leipzig/DE	200
An 014 <b>Diskriminierungsfreie Aufkonzentrierung von Wasserproben mittels der Mikrowellentechnik</b> <u>J. Funke, Mülheim (Ruhr)/DE</u> , V. Valkov, Mülheim (Ruhr)/DE, <u>P. Balsaa, Mülheim (Ruhr)/DE</u> , T. C. Schmidt, Mülheim (Ruhr)/DE	206
An 015 <b>Detection of discharge events in the sewer network by online solid-phase extraction – liquid chromatography – tandem mass spectrometry</b> <u>N. Köke, Idstein/DE</u> , T. Frömel, Idstein/DE, M. Pütz, Wiesbaden/DE, <u>F. Hauser, Wiesbaden/DE</u> , T. P. Knepper, Idstein/DE	209
An 016 <b>Abbauverhalten von „Quorum Sensing“-Substanzen bezüglich oxidativer Halogenierung</b> <u>N. Keltch, Koblenz/DE</u> , C. Dietrich, Koblenz/DE, A. Wick, Koblenz/DE, T. A. Ternes, Koblenz/DE	215
An 017 <b>Wie kritisch ist die Membranfiltration bei der Bestimmung von organischen Spurenstoffen in Wasser mittels LC/MS?</b> <u>V. Schmalz, Dresden/DE</u> , R. Fiskal, Dresden/DE, <u>L. Carstensen, Dresden/DE</u> , H. Börnick, Dresden/DE	220
An 018 <b>Identification of organic micropollutants in water samples from a drinking water treatment process by means of UPLC-IM-Q-TOF-MS</b> <u>V. Hinnenkamp, Mülheim (Ruhr)/DE</u> , P. Balsaa, Mülheim (Ruhr)/DE, <u>T. C. Schmidt, Essen/DE</u>	226
An 019 <b>Development of an universal measuring instrument for quality monitoring of ultrapure water</b> <u>S. Schäfer, Rheinbach/DE</u> , K. van Dyk, Rheinbach/DE, J. Warmer, Rheinbach/DE, D. Schulze, Rheinbach/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE, P. Kaul, Rheinbach/DE	232
An 020 <b>Selektive Extraktion von Pestiziden aus Oberflächenwasser mittels quervernetzten Cyclodextrin-Polymeren für die substanzspezifische Kohlenstoffisotopenanalytik</b> <u>D. Glöckler, München/DE</u> , R. Bakkour, München/DE, <u>C. Wabnitz, München/DE</u> , M. Elsner, München/DE	236

	Seite
An 021 <b>Identifizierung von Spurenstoffen aus der Non-Target Analytik mittels Feature Based Molecular Networking (FBMN): Uferfiltration an Ems und Ruhr</b> D. Oberleitner, Münster/DE, R. Schmid, Münster/DE, C. Achten, Münster/DE	241
An 022 <b>Entwicklungen in Richtung eines Screenings mittels CE-MS von ionischen Schadstoffen in Wasserproben</b> T. Rösch, Tübingen/DE, G. Weber, München/DE, C. Huhn, Tübingen/DE	246
An 023 <b>Determination of Volatile Organic Compounds in Water (ISO 17943) with SPME Arrow</b> J. S. Herrington, Bellefonte/US, C. Myers, Bellefonte/US, G. Stidsen, Bellefonte/US, S. Kozel, Bellefonte/US	250
An 024 <b>Raman microspectroscopy analysis of atrazine biodegraders under different physiological conditions</b> O. Morgaienko, München/DE, J. Weng, München/DE, M. Elsner, München/DE, N. P. Ivleva, München/DE	254
An 025 <b>Titandioxid-basierte Festphasenextraktion von Hydroxamathaltigen Molekülen aus Meerwasser und Bakterienkulturen</b> P. Egbers, Bremen/DE, J. Tebben, Bremerhaven/DE, T. Harder, Bremen/DE	257

### Aufbereitung

Au 001 <b>Reduktion von Nitrat im Grund- und Oberflächenwasser durch den Einsatz von integrierter Aquakultur in traditioneller Fischzucht</b> H. Harbach, Hof/DE, M. Wimmer, Hof/DE	262
Au 002 <b>Reaction pathways during ozonation of isoproturon</b> V. I. Merkus, Essen/DE, V. Wirzberger, Essen/DE, H. V. Lutze, Essen/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE	265
Au 003 <b>Wirkungsbezogene Analytik kombiniert mit der KOLa-Laboranlage: Ein Werkzeug für mehr Prozessverständnis in der Wasseraufbereitung</b> O. Happel, Karlsruhe/DE, M. Scheurer, Karlsruhe/DE, B. Schmutz, Karlsruhe/DE, L. Stütz, Langenau/DE, W. Schulz, Langenau/DE, R. Winzenbacher, Langenau/DE	271

	Seite
Au 004 <b>Removal and formation of PM substances during wastewater treatment with ozone or activated carbon</b> K. Kerth, Idstein/DE, I. J. Neuwald, Idstein/DE, D. Zahn, Idstein/DE, M. Muschket, Leipzig/DE, U. Berger, Leipzig/DE, T. Reemtsma, Leipzig/DE, T. P. Knepper, Idstein/DE	277
Au 005 <b>Einfluss der Porengrößenverteilung und des Cu-Gehalts auf Kinetik und Selektivität des Monochloramin-Abbaus an granulierter Aktivkohle</b> T. Dittmar, Dresden/DE, D. Haaken, Dresden/DE, V. Schmalz, Dresden/DE, S. Kutzner, Dresden/DE, B. Skibinski, München/DE, S. Stolte, Dresden/DE	280
Au 006 <b>Entwicklung einer Methode zur Messung des Zetapotentials in LbL-beschichteten Kapillarmembranen</b> S. Dillmann, Hamburg/DE, S. A. Kaushik, Hamburg/DE, M. Ernst, Hamburg/DE	286
Au 007 <b>Influence of background water matrix on fouling behavior of ultrafiltration hollow fiber membranes by marine diatom microalgae</b> H. Abuelgasim, Duisburg/DE, S. Laksono, Duisburg/DE, I. ElSherbiny, Duisburg/DE, S. Panglisch, Duisburg/DE	292
Au 008 <b>Degradation of a cyanobacterial toxin by advanced non-thermal plasmas</b> M. Schneider, Brno/CZ, R. Rataj, Greifswald/DE, J. F. Kolb, Greifswald/DE, L. Bláha, Brno/CZ	295
Au 009 <b>Untersuchungen zu biologischen, organischen und anorganischen Veränderungen granulierter Aktivkohlen während der Trinkwasseraufbereitung</b> D. Dittmann, Berlin/DE, T. Lucke, Langenau/DE, A. S. Ruhl, Berlin/DE, R. Winzenbacher, Langenau/DE, M. Jekel, Berlin/DE, U. Braun, Berlin/DE	299
Au 012 <b>Membranelektrosorption von negativ und positiv geladenen Farbstoffen mittels elektrisch leitfähiger Duplex-Au-Membran</b> T. Mantel, Hamburg/DE, E. Jacki, Hamburg/DE, M. Ernst, Hamburg/DE	305
Au 013 <b>Investigation of ClO<sub>2</sub> reactions with reactive moieties, formation of hypochlorous acid as secondary oxidant – challenges and solutions</b> M. S. Abdighahroudi, Essen/DE, M. Jütte, Essen/DE, R. Kalnins, Essen/DE, H. V. Lutze, Essen/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE	311

		Seite
Au 014	<b>Modifiziertes Granuliertes Eisenhydroxid (GEH-PYR) für die reduktive Entfernung von Cr(VI)</b> L. Rabe, Berlin/DE, L. Massa, Osnabrück/DE, C. Bahr, Osnabrück/DE, A. S. Ruhl, Berlin/DE, M. Jekel, Berlin/DE	317
Au 015	<b>Investigation of the influence of flocculation process conditions and flocculant chemistry on the fouling behavior of ultrafiltration polyethersulfone membranes</b> M. Koti, Mülheim (Ruhr)/DE, A. Laumeyer, Bochum/DE, I. ElSherbiny, Duisburg/DE, S. Panglisch, Duisburg/DE	323
<b>Gewässer &amp; Spurenstoffe</b>		
Ge/Sp 001	<b>Amidosulfonat in Papiererzeugnissen – Längsbeprobung der Murg und Stoffmengenbilanzierung einer Kläranlage</b> A. Sandholzer, Karlsruhe/DE, K. Nödler, Karlsruhe/DE, F. Freeling, Karlsruhe/DE, M. Scheurer, Karlsruhe/DE	327
Ge/Sp 002	<b>Statistischer Ansatz zur Ermittlung von Einflussfaktoren auf problematische Bakterienblüten in Trinkwasserressourcen</b> I. Slavik, Siegburg/DE, W. Uhl, Oslo/NO	333
Ge/Sp 003	<b>Chronoamperometrische Untersuchungen zum elektrochemischen Abbau von Perfluorooctansäure (PFOA) mit gepulsten bordotierten Diamantelektroden</b> K. Kerpen, Essen/DE, R. Marks, Essen/DE, D. Diesing, Essen/DE, U. Telgheder, Essen/DE	338
Ge/Sp 004	<b>Österreichs Mineral- und Heilwässer</b> G. Hobinger, Wien/AT, D. Elster, Wien/AT, L. Fischer, Wien/AT, S. Hann, Wien/AT, J. Goldbrunner, Graz/AT, G. Schubert, Wien/AT, R Berka, Wien/AT, P. Legerer, Wien/AT, R. Philippitsch, Wien/AT	343
Ge/Sp 005	<b>Identifizierung von organischen, kationischen Spurenstoffen unter Einsatz von Priorisierungsmethoden auf Basis von Deuteriumoxid und Ionenaustauschern</b> T. Köppe, Koblenz/DE, K. Jewell, Koblenz/DE, B. Ehlig, Koblenz/DE, A. Wick, Koblenz/DE, T. A. Ternes, Koblenz/DE	346
Ge/Sp 006	<b>Multi-residue determination of pharmaceuticals and their metabolites in fish from German rivers</b> L. Boulard, Koblenz/DE, P. Parrhysius, Koblenz/DE, G. Dierkes, Koblenz/DE, J. Koschorreck, Dessau/DE, A. Hein, Dessau/DE, A. Küster, Dessau/DE, A. Wick, Koblenz/DE, T. Ternes, Koblenz/DE	352

	Seite	
Ge/Sp 007	<p><b>Bestimmung des ökotoxikologischen Potenzials von Antibiotika und ihren photoinduzierten Abbauprodukten mittels MHKs, IC<sub>50</sub> und QSAR-Analyse</b>                      M. Voigt, Krefeld/DE, I. Bartels, Krefeld/DE,                      A. Nickisch-Hartfiel, Krefeld/DE, M. Jäger, Krefeld/DE</p>	358
Ge/Sp 008	<p><b>Experimentelle Bestimmung und Modellierung von passivem, membranbasiertem Sauerstoff- und Ozoneintrag in eine Grundwasserströmung zur in-situ Sanierung</b>                      E. Bein, München/DE, J. E. Drewes, München/DE,                      U. Hübner, München/DE</p>	364
Ge/Sp 009	<p><b>Mobilität natürlicher Toxine – das komplexe Zusammenspiel von Interaktionen in der Sorption multifunktionaler, ionisierbarer organischer Chemikalien</b>                      C. D. Schönsee, Zürich/CH, T. D. Bucheli, Zürich/CH</p>	370
Ge/Sp 010	<p><b>Natürliche Toxine in Trinkwasserressourcen – neue Erkenntnisse aus dem MSCA ITN NaToxAq</b>                      C. D. Schönsee, Zürich/CH, B. Kubíčková, Brno/CZ,                      M. Schneider, Brno/CZ, H. C. Bruun-Hansen, Kopenhagen/DK,                      T. D. Bucheli, Zürich/CH</p>	376
Ge/Sp 011	<p><b>Arzneimittel und Pestizide in der Münsterschen Aa-Abhängigkeit der Stoffeinträge von jahreszeitlichen Schwankungen</b>                      J. Buss, Münster/DE, C. Achten, Münster/DE</p>	380
Ge/Sp 012	<p><b>The role and relevance of “long-lived” photooxidants in aquatic organic photochemistry</b>                      S. Remke, Dübendorf/CH, U. von Gunten, Dübendorf/CH,                      S. Canonica, Dübendorf/CH</p>	386
Ge/Sp 013	<p><b>Mangankatalysierte Oxidation von Aminopolyphosphonaten – Einblick in die Reaktionswege mittels substanzspezifischer Kohlenstoffisotopenanalyse</b>                      P. R. Martin, Tübingen/DE, D. Buchner, Tübingen/DE,                      M. A. Jochmann, Essen/DE, S. B. Haderlein, Tübingen/DE</p>	389
Ge/Sp 014	<p><b>Spurenanalytische Untersuchungen von Zentratwasser einer kommunalen Kläranlage zur Identifizierung des Behandlungsbedarfs für eine nachfolgende landwirtschaftliche Wiederverwendung</b>                      P. Genz, Leipzig/DE, T. Reemtsma, Leipzig/DE</p>	394
Ge/Sp 015	<p><b>Weitergehende Grundwasserüberwachung einer Karstquelle mittels Nontarget-Analytik</b>                      G. Nürnberg, Karlsruhe/DE, K. Nödler, Karlsruhe/DE,                      M. Scheurer, Karlsruhe/DE</p>	397

	Seite	
Ge/Sp 016	<b>Degradation of nitrogen-containing micropollutants with chlorine dioxide in surface water</b> M. Jütte, Essen/DE, M. S. Abdighahroudi, Essen/DE, H. V. Lutze, Essen/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE	401
Ge/Sp 017	<b>Centrifugal Field-Flow Fractionation coupled with Multi Angle Light Scattering and Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry for size-resolved assessment of elements in suspended particulate matter from Lake Taihu</b> M. Dinkel, Landsberg/DE, R. Drexel, Landsberg/DE, V. Sogne, Landsberg/DE, A. Wilhelms, Karlsruhe/DE, V. Nischwitz, Jülich/DE, J. Yang, Suzhou/CN, F. Meier, Landsberg/DE	407
Ge/Sp 018	<b>Organische Spurenstoffe im Bodensee und seinen baden-württembergischen Zuflüssen</b> K. Härtl-Brandl, Langenargen/DE, A. Noffke, Langenargen/DE	411
Ge/Sp 019	<b>Mathematical-Numerical Assessment of Lighter Than Water [NAPL] Subsurface Migration as a Source of Groundwater Contamination</b> C. Onaa, Freiberg/DE, M. Amro, Freiberg/DE	414
Ge/Sp 020	<b>Entfernung persistenter und mobiler Spurenstoffe durch granulierten Aktivkohle</b> P. Schumann, Berlin/DE, M. Muschket, Leipzig/DE, T. Reemtsma, Leipzig/DE, M. Jekel, Berlin/DE, A. S. Ruhl, Berlin/DE	418

**Mikroplastik**

Mp 001	<b>Rückhalt von Mikro- und Sub<math>\mu</math>-Plastik in der biologischen Abwasserbehandlung – systematische Untersuchung in Laborkläranlagen –</b> M. Kunaschk, Wielenbach/DE, S. Renner, Wielenbach/DE, O. Knoop, Garching/DE, K. P. Freier, Wielenbach/DE	423
Mp 002	<b>Analyse von Mikroplastik in Mineral- und Leitungswasser mittels Mikro-Raman-Spektroskopie</b> J. Kerpen, Rüsselsheim/DE, A. Giese, Rüsselsheim/DE, R. Langer, Rüsselsheim/DE, J. Prediger, Rüsselsheim/DE, S. Wolff, Rüsselsheim/DE, F. Weber, Rüsselsheim/DE	427
Mp 003	<b>Vergleich zweier thermoanalytischer Methoden für die Mikroplastikanalytik Pyrolyse-GC-MS vs TED-GC-MS</b> M. Funck, Duisburg/DE, A. Yildirim, Duisburg/DE, C. Nickel, Duisburg/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE, J. Türk, Duisburg/DE	433

		Seite
Mp 004	<b>Mikroplastik in sächsischen Gewässersedimenten – Projekt VEMIWA</b> Y. Adomat, Dresden/DE, S. Frenzel, Dresden/DE, T. Grischek, Dresden/DE, K. Harre, Dresden/DE, R. Bauer, Dresden/DE, F. Simon, Dresden/DE	438
Mp 005	<b>Eine ‘infinite sink’ Methode zur Untersuchung der Freisetzung von Phthalaten aus Polyvinylchlorid in wässrigen Medien</b> C. Henkel, Wien/AT, T. Hüffer, Wien/AT, T. Hofmann, Wien/AT	442
Mp 006	<b>1,2,3... Alternative zum Auszählen - Die qNMR-Spektroskopie in der Mikroplastik-Welt</b> N. Peez, Koblenz/DE, W. Imhof, Koblenz/DE	447
Mp 007	<b>Prototyp eines Mikroplastik-Separators auf Basis hydrophober Wechselwirkungen von Mikroplastik und Luftblasen in wässrigen Medien zur Analyse von Sedimentproben</b> G. Renner, Essen/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE, J. Schram, Krefeld/DE	452
Mp 008	<b>Oxidation von Polystyrolpartikeln durch Ozon und Auswirkung auf die Ladungsdichte und Adsorption von natürlichen organischen Substanzen</b> L. Eitzen, Berlin/DE, A. S. Ruhl, Berlin/DE, M. Jekel, Berlin/DE	455
Mp 009	<b>„Wie viele Mikroplastik-Partikel haben wir in unserer Probe?“ Wie können wir diese Frage in einem akzeptablen Zeitrahmen beantworten?</b> E. von der Esch, München/DE, A. J. Kohles, München/DE, M. Elsner, München/DE, N. P. Ivleva, München/DE	460
Mp 010	<b>Heteroaggregation von Mikro-Polystyrol in Anwesenheit eines amorphen Eisenhydroxids (Ferrihydrit)</b> J. Schmidtmann, Bayreuth/DE, G. Papastavrou, Bayreuth/DE, N. Helfricht, Bayreuth/DE, S. Peiffer, Bayreuth/DE	464

### Trinkwasser & Hygiene

Tr/Hy 001	<b>Immunanalytische Bestimmung von <math>\beta</math>-Lactam-Antibiotika und deren Hydrolyseprodukten im Trinkwasser</b> A. Ecke, Berlin/DE, R. J. Schneider, Berlin/DE	466
Tr/Hy 002	<b>Risikobewertungsbasierte Anpassung der Probenahmeplanung (RAP) – Erfahrungen der Stadtwerke Düsseldorf bei der Umsetzung</b> N. Konradt, Düsseldorf/DE, H.-P. Rohns, Düsseldorf/DE, K. Kurzal, Mettmann/DE, U. Schürfeld, Düsseldorf/DE, B. Droste, Düsseldorf/DE, P. Kamkar, Düsseldorf/DE, C. Wagner, Düsseldorf/DE	471

		Seite
Tr/Hy 003	<b>Raw water UV disinfection: results of a pilot study</b> <u>N. Konradt, Düsseldorf/DE</u> , S. Kamphausen, Düsseldorf/DE, M. Rammner, Düsseldorf/DE, B. Schmitt, Düsseldorf/DE, H.-P. Rohns, Düsseldorf/DE, C. Wagner, Düsseldorf/DE, J. Eggers, Karlsruhe/DE	477
Tr/Hy 004	<b>Fate of antibiotic resistant bacteria and their resistance genes during ozone treatment</b> <u>S. Fajnorova, München/DE</u> , C. Wurzbacher, München/DE, J. Wanner, Prag/CZ, J. E. Drewes, München/DE, U. Hübner, München/DE	482
Tr/Hy 005	<b>Untersuchung eines mit CO<sub>2</sub> regenerierten Ionenaustauscher- mischbetts zur Sulfatentfernung bei der Trinkwasseraufberei- tung</b> <u>P. Benne, Berlin/DE</u> , M. Schulz, Berlin/DE, M. Ernst, Hamburg/DE, A. Sperlich, Berlin/DE	486
Tr/Hy 006	<b>Einflussparameter auf die Bromatbildung bei der Ozonung bromidhaltiger Grundwässer</b> <u>J. Kämmler, Hamburg/DE</u> , L. Preda, Hamburg/DE, J. Specker, Hamburg/DE, M. Ernst, Hamburg/DE	492
Tr/Hy 007	<b>Kulturunabhängige Detektion von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in Trinkwasser</b> <u>J. Klüpfel, München/DE</u> , L. Göpfert, München/DE, M. Elsner, München/DE, M. Seidel, München/DE	496
Tr/Hy 008	<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i> – immer wieder Störenfried für die Trinkwasserversorgung</b> <u>I. Hübner, Köln/DE</u> , M. Kramer, Köln/DE, C. Schmidt, Köln/DE	501

# VORTRÄGE



## **Antikoagulante Rodentizide in Fischen – Ursachenforschung und Risikominderungsmaßnahmen**

J. Regnery, Koblenz/D, R.S. Schulz, Koblenz/D, P. Parrhysius, Koblenz/D, J. Bachtin, Koblenz/D, S. Schäfer, Koblenz/D, G. Reifferscheid, Koblenz/D, M. Brinke, Koblenz/D

Dr. Julia Regnery, Bundesanstalt für Gewässerkunde, Am Mainzer Tor 1, 56068 Koblenz/D

### **Einleitung**

Rodentizide mit Antikoagulanzen (d.h. blutgerinnungshemmenden Wirkstoffen) werden vorwiegend als Fraßköder zur Bekämpfung von Schädigern eingesetzt. Derzeit sind in der Europäischen Union nach Biozidverordnung (EU) Nr. 528/2012 acht antikoagulante Wirkstoffe zugelassen: Warfarin, Chlorophacinon und Coumatetralyl zählen zur ersten Generation; Bromadiolon, Difenacoum, Brodifacoum, Difethialon und Flocoumafen zur zweiten Generation. Antikoagulante Rodentizide der zweiten Generation wurden bei der Umweltrisikobewertung als persistent, bioakkumulierend und toxisch eingestuft. Auf Grundlage der verfügbaren, kurzzeitigen ökotoxikologischen Studien mit Wasserorganismen und des berechneten geringen Eintrags wurden Risiken für die aquatische Umwelt bisher jedoch als akzeptabel angesehen [1]. Neue Studien zeigen aber, dass nicht nur terrestrische Wildtiere, sondern auch Fische Rückstände von antikoagulantem Rodentiziden in ihrer Leber aufweisen [2, 3].

Eine naheliegende Eintragsquelle von antikoagulantem Rodentiziden in die aquatische Umwelt stellt ihr Einsatz zur Bekämpfung von Wanderratten in der Kanalisation dar. Für die Rattenbekämpfung in der Kanalisation sind Rodentizide mit allen antikoagulantem Wirkstoffen, mit Ausnahme von Coumatetralyl und Difethialon in Deutschland zugelassen (Stand November 2019). Basierend auf Daten aus einer Umfrage von 2008 wurde der mengenmäßige Einsatz von Rodentiziden zur Rattenbekämpfung in der Kanalisation in Deutschland auf mehr als 630 t Ködermaterial pro Jahr geschätzt [4]. Unter Berücksichtigung der zulässigen Wirkstoffhöchstgehalte von Antikoagulanzen in den Köderformulierungen entspricht dies einer reinen Wirkstoffmenge von rund 46 kg. Obwohl Köder in der Kanalisation so angewendet werden müssen, dass sie nicht mit dem (Ab-)Wasser in Kontakt kommen, da die Wirkstoffe bei anhaltendem Kontakt des Ködermaterials mit Wasser freigesetzt werden [1], werden die rechtsverbindlichen Anwendungsbestimmungen oftmals nicht eingehalten. Antikoagulante Rodentizide wurden bereits vereinzelt in kommunalem Abwasser, Klärschlamm, sowie gereinigtem Abwasser nachgewiesen [5], allerdings wurde erst kürzlich ein erster Nachweis der Kausalität zwischen Kanalköderung und Rückständen von antikoagulantem Rodentiziden in der aquatischen Umwelt erbracht [3]. Berechnungen zur potentiellen Freisetzung von antikoagulantem Wirkstoffen bei Anwendung im Kanal deuten darauf hin, dass insbesondere Rodentizide der zweiten Generation im Abwasser wegen ihrer

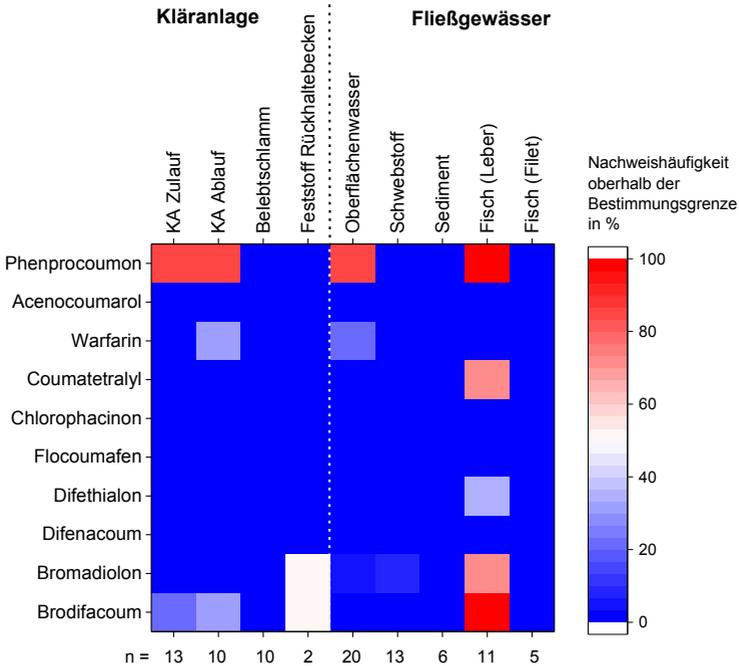
zu erwartenden sehr geringen Konzentrationen sowie starker zeitlicher Schwankungen nur schwer routinemäßig nachgewiesen werden können [5]. Zudem gibt es kaum Informationen zum Rückhalt und zum Abbauverhalten von Antikoagulantien – insbesondere von denen der zweiten Generation – bei der Abwasserreinigung.

Ob Antikoagulantien durch die Ausbringung im Kanal in Gewässer gelangen und sich unter realen Umweltbedingungen in aquatischen Organismen wie Fischen anreichern, wurde anhand eines Kläranlagen- und Fließgewässer-Monitorings während der Kanalbeköderung im Stadtgebiet einer rheinland-pfälzischen Mittelstadt untersucht. Im Rahmen der zweiwöchigen flächendeckenden Bekämpfungsmaßnahme durch professionelle Schädlingsbekämpfer im Mai 2018 wurden ca. 2000 Brodifacoum-haltige Köderblöcke (entspricht ca. 20 g Wirkstoff) im Mischkanalsystem des Stadtgebiets ausgebracht. Ebenfalls wurden ca. 60 Bromadiolon-haltige Blockköder in 60 Köderschutzboxen entlang von Wasserläufen ausgebracht. Zwischen März und Juli 2018 wurden insgesamt 10 Probenahmen durchgeführt, um jeweils Abwasser-, Belebtschlamm-, Oberflächenwasser-, Schwebstoff-, und Sedimentproben sowie Feststoffe aus vorgeschalteten Rückhaltestrukturen zu entnehmen und auf Rückstände der acht zugelassenen antikoagulanten Rodentizid-Wirkstoffe sowie von zwei antikoagulanten Arzneistoffen (Acenocoumarol, Phenprocoumon) zu untersuchen. Im Juli 2019 wurden Proben von Fischen aus dem Fließgewässer durch die Struktur- und Genehmigungsdirektion Süd bereitgestellt. Während die Extraktion und Anreicherung der wässrigen Proben für die Analyse der Antikoagulantien mittels Festphasenextraktion erfolgte, wurden Biota- und Feststoffproben gefriergetrocknet und mittels Ultraschallextraktion extrahiert sowie gegebenenfalls anhand einer dispersiven Festphasenextraktion aufgereinigt. Die quantitative Analyse der Probenextrakte erfolgte mittels Flüssigchromatographie gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie und substanz-spezifischer deutierter interner Standards. Für alle Analyten lagen die Bestimmungsgrenzen im unteren einstelligen ng/L bzw. µg/kg Bereich.

## Ergebnisse

Während bzw. nach der Bekämpfungsmaßnahme in der Mischkanalisation traten mehrere kurzzeitige lokale Starkregenereignisse im Stadtgebiet auf, was in der Folge zu Überschwemmungen in einzelnen Stadtteilen führte. Aufgrund des Rückstaus und sehr schnell ansteigender Wasserpegel in der Mischwasserkanalisation wurde der Großteil der sich zu diesem Zeitpunkt in den Kanalschächten befindlichen Köder umspült oder weggeschwemmt, was wiederum zur Freisetzung der Wirkstoffe führte. Dies verdeutlichen die Ergebnisse dieser Monitoring-Studie (Abbildung 1). In einer 24-Stunden-Mischprobe des Kläranlagen-Zulaufs sowie einer Schöpfprobe aus dem Schmutzwasserkanal eines Stadtteils konnte Brodifacoum mit einer Konzentration von 2 ng/L bzw. 2,5 ng/L nachgewiesen werden. In 24-Stunden-Mischproben des Kläranlagen-Ablaufs wurden Brodifacoum-Rückstände im Bereich 1,6 – 2,7 ng/L erfasst. In abgesetztem sandigen Material vom Boden eines Rückhaltebeckens, in dem Mischwasser während der Unwetter zurückgehalten und bei Überschreiten der

Kapazität abgeschlagen wurde, wurden ebenfalls Spuren von Brodifacoum und Bromadiolon nachgewiesen.



**Abbildung 1.** Prozentuale Häufigkeit der Nachweise von Rückständen der untersuchten Antikoagulanzen oberhalb ihrer substanz-spezifischen Bestimmungsgrenzen in unterschiedlichen Umweltmatrices am Standort des Monitorings.

Während Brodifacoum nicht in Oberflächenwasser-, Sediment- oder Schwebstoffproben oberhalb der Bestimmungsgrenze nachgewiesen wurde (Abbildung 1), wiesen alle 11 analysierten Fische deutliche Rückstände von Brodifacoum in der Leber auf. Die gemessenen Brodifacoum-Konzentrationen in den Fischlebern lagen im Bereich 5,2 – 29,9 µg/kg bezogen auf das Nassgewicht. Bromadiolon (max. 1,0 µg/kg bezogen auf Nassgewicht) wurde ebenfalls in allen Fischleber-Proben nachgewiesen, einige Befunde lagen jedoch unterhalb der Bestimmungsgrenze. Alle Individuen wurden zum selben Zeitpunkt ungefähr ein Jahr nach der Bekämpfungsmaßnahme gefangen und stammten aus demselben Flussabschnitt in unmittelbarer Nähe des kommunalen Einleiters. Der gereinigte Abwasser-Anteil im Fließgewässer beträgt dort bei mittlerem Abfluss ungefähr 7%. Der kontinuierliche Einfluss des gereinigten Abwassers in diesem Flussabschnitt zeigte sich durch geringe Konzentrationen des Arzneistoffs

Phenprocoumon (0,03 – 0,2 µg/kg) in den Fischleberproben, einem in Deutschland häufig verwendeten Blutgerinnungshemmer. Im Gegensatz zu den Antikoagulanzen der zweiten Generation reichern sich Phenprocoumon wie auch Warfarin aber nicht im Organismus an. Sie werden innerhalb kurzer Zeit metabolisiert und ausgeschieden [3, 5].

Die Ergebnisse des Monitorings zeigen sehr deutlich, dass es durch die Ausbringung von Rodentiziden in der Kanalisation über Kläranlagenabläufe oder Direkteinleitungen von abgeschlagenem Mischwasser bei Starkregen während einer Rattenbekämpfung zu Einträgen von Antikoagulanzen in Fließgewässer kommen kann. Sie zeigen ebenfalls, dass Antikoagulanzen in kommunalen Kläranlagen nicht vollständig eliminiert werden. Antikoagulante Wirkstoffe der zweiten Generation wie Brodifacoum reichern sich in der Leber von Fischen unter realen Umweltbedingungen an und erhöhen aufgrund ihrer Langlebigkeit die Gefahr der Exposition von fischfressenden Prädatoren. Zur Bewertung des Risikos und der Umweltrelevanz von Rodentizid-Rückständen in aquatischen Nicht-Zieltieren werden aber noch weitere umfangreichere experimentelle Daten benötigt.

## Literatur

- [1] Umweltbundesamt, Nagetierbekämpfung mit Antikoagulanzen – Antworten auf häufig gestellte Fragen, **2018**, aktualisierte 4. Auflage, <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/antworten-auf-haeufig-gestellte-fragen-zu>
- [2] M. Kotthoff, H. Rüdell, H. Jüring, K. Severin, S. Hennecke, A. Friesen, J. Koschorreck, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2019**, 26(8), 7315–7325, <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1385-8>
- [3] J. Regnery, P. Parrhysius, R.S. Schulz, C. Möhlenkamp, G. Buchmeier, G. Reifferscheid, M. Brinke, *Water Res.* **2019**, 167, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115090>
- [4] G. Krüger, H. Solas, *Korrespondenz Abwasser, Abfall* **2010**, 57(5), 430–435
- [5] J. Regnery, A. Friesen, A. Geduhn, B. Göckener, M. Kotthoff, P. Parrhysius, E. Petersohn, G. Reifferscheid, E. Schmolz, R.S. Schulz, J. Schwarzbauer, M. Brinke, *Environ. Chem. Lett.* **2019**, 17(1), 215–240, <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0788-6>

## **Using an artificial intelligence approach to predict the sorption of ionizable and polar organic pollutants to a wide range of carbonaceous materials**

G. Sigmund, Vienna/AT, M. Gharasoo, Waterloo/CA, T. Hüffer, T. Hofmann, Wien/AT

Dr. Gabriel Sigmund, Department of Environmental Geosciences,  
Centre for Microbiology and Environmental Systems Science, University of Vienna,  
Althanstrasse 14, 1090 Wien, Austria

University of Waterloo, Department of Earth and Environmental Sciences, Ecohydrology,  
200 University Avenue West, Waterloo, Ontario N2L 3G1, Canada

### **Introduction**

A state of the art approach to predict the sorption of neutral hydrophobic organic contaminants to a given material (sor bent) are poly-parameter linear free-energy relationships (ppL FER).<sup>1-3</sup> The ppL FER concept for neutral compounds is based on the Abraham parameters E (excess molar refraction), S (dipolarity/polarizability), A (H-bond acidity), B (H-bond basicity), V (McGowan molar volume, cm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>/100) and L (log of the hexadecane-air partition coefficient). In addition, the sorption of organic compounds to carbonaceous sorbents is concentration-dependent (non-linear), a factor that was recently introduced into ppL FER for predicting the sorption of neutral organic compounds to activated carbon<sup>4</sup> and to soot.<sup>2</sup>

However, there are major limitations to the use of conventional ppL FER for emerging contaminants. Specifically, the development of each ppL FER requires a substantial number of experiments with a wide range of compounds, such that every model is limited to a single sor bent the ppL FER must be developed for individually. Moreover, methods developed to predict the sorption of neutral compounds, such as the ppL FER, are not applicable to charged compounds because the occurrence of additional interactions, including electrostatic repulsion and attraction, charge assisted H-bonding, cation bridging, cation- $\pi$  bonding and anion- $\pi$  bonding, will depend on the speciation/dissociation of a given ionizable organic compound.<sup>5,6</sup>

Thus, compared to existing models, the ability to predict the sorption of polar and ionizable organic contaminant sorption as a function of the properties of the sor bent would be of great advantage, as it would facilitate selection of both the appropriate sor bent and its quantity for a given application in water treatment and/or remediation. Artificial intelligence (AI) and especially deep learning (DL), a machine learning technique based on artificial neural

networks, has enabled many practical applications of machine learning and by extension the overall field of AI. Here we show how sorption data can be predicted using a DL algorithm.

## Methods

We collected data from over 10 years of experimental research and found that the Freundlich isotherm fitting model was the most widely applied model (66% of 210 papers collected). The classical presentation of the Freundlich equation is:

$$q = K_F * c_{aq}^n \quad (1)$$

where  $q$  [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] describes sorbate loading onto the sorbent,  $c_{aq}$  [ $\mu\text{g}/\text{L}$ ] is the aqueous concentration of the sorbate,  $K_F$  [ $\frac{\mu\text{g}/\text{kg}}{(\mu\text{g}/\text{L})^n}$ ] is the Freundlich constant, and  $n$  [-] is the Freundlich exponent representing isotherm nonlinearity. The units of  $K_F$  change as a function of the units used with  $q$  and  $c_{aq}$ . Several researchers have reported  $K_F$  without units and/or “1/n” instead of “n”, such that care must be taken when comparing literature data. For this study, the Freundlich parameters  $K_F$  and  $n$  sourced from the literature were transformed to the form shown here and defined as the target parameters for prediction.

Six sorbent property parameters commonly reported in the literature and previously linked to sorption behavior were selected.<sup>5,7,8</sup> The sorbent content of carbon (C, %), hydrogen (H, %), and oxygen (O, %) as well as the specific surface area (SSA,  $\text{m}^2/\text{g}$ ) were sourced from the literature, and the molar ratios H/C and O/C were calculated as proxies for aromaticity and polarity, respectively. Among the 210 screened publications, 47 reported all of the above parameters. In addition, pH was also used as a seventh sorbent parameter.

Eight sorbate properties were selected to describe the molecular properties of ionizable and polar compounds: Five Abraham solute parameters (E, S, A, B, V) were obtained from the freely accessible UFZ-LSR database.<sup>9</sup> The sixth Abraham parameter, describing hexadecane-air distribution (L), was not used because a pH-independent hydrophobicity parameter is conceptually not applicable to ionizable organic compounds. Instead, the pH-dependent hydrophobicity parameter  $\log D_{ow}$  was calculated at the experimental pH, using the freely accessible ChemAxon online platform (chemicalize.com). In addition, we used the experimental pH and the dissociation constants to calculate the abundance of ionized species present under a given condition using the Henderson–Hasselbach equation.

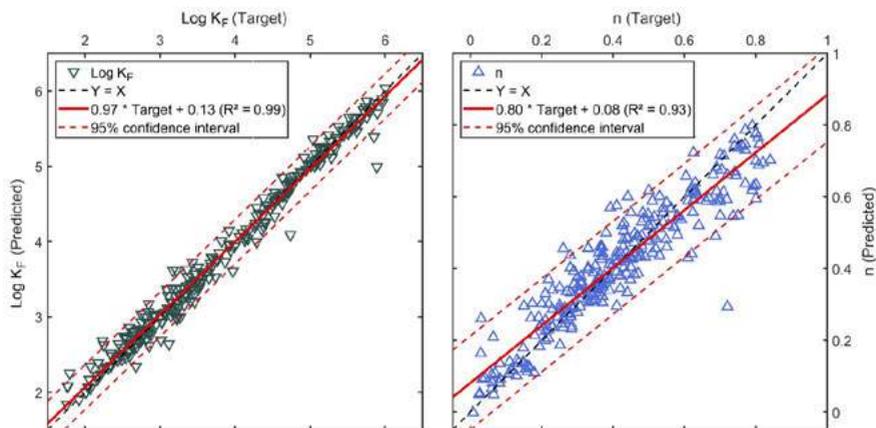
These data were used as input parameters in a feedforward DL neural network, which was trained using an automated Bayesian regularization technique<sup>10,11</sup> in which the weights and biases of the network are assumed to be random variables with specified distributions. To improve the model and exclude outliers, data lines containing  $n$  and  $\log K_F$  values smaller

than the 5<sup>th</sup> percentile and larger than the 95<sup>th</sup> percentile were excluded from the training set which at the final stage encompassed 328 sorbent-sorbate combinations for negatively charged compounds and 139 sorbent-sorbate combinations for cations and zwitterions.

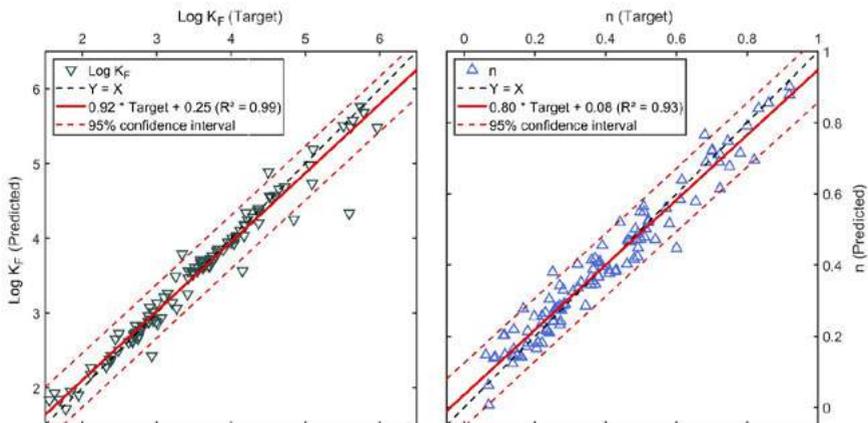
## Results

Several attempts to train the neural network for all types of compounds combined were not able to obtain meaningful results (data not shown), most likely because compounds containing a positive charge behave differently from polar and anionic compounds. For example, the hydrophobicity of acidic and polar compounds is generally positively linked to sorption. By contrast, when cationic ionizable organic compounds dissociate and their hydrophobicity decreases, their positive charge can be electrostatically attractive to negatively charged functional groups on the sorbent surface, thereby increasing sorption.

We therefore subdivided the dataset into (i) negatively charged and polar compounds and (ii) cations and zwitterions, with 0.001% of the zwitterion being positively charged set as the threshold to place the compound in the second group. Both models were constructed on the basis of a feedforward deep learning neural network with 20 hidden layers between the input and output layers.



**Figure 1:** Measured Freundlich parameters  $\log K_F$  and  $n$  (“target”) from the training set of polar and negatively charged compounds plotted against  $\log K_F$  and  $n$  as predicted by the neural network model. (A) shows the model for  $\log K_F$  ( $\nabla$ ) and the 95% confidence interval for the prediction (dashed lines). (B) shows the model for the exponent  $n$  ( $\Delta$ ) and the 95% confidence interval for the prediction (dashed lines).



**Figure 2:** Measured Freundlich fit parameters  $\log K_F$  and  $n$  ("target") from the training set of compounds containing a positive charge plotted against  $\log K_F$  and  $n$  predicted by the neural network model. (A) shows the model for  $\log K_F$  (▽) and the 95% confidence interval for the prediction (dashed lines). (B) shows the model for the exponent  $n$  (△) and the 95% confidence interval (dashed lines).

These hidden layers process the complex non-linear relationships between the input parameters (sorbent and sorbate descriptors) and the two output parameters ( $\log K_F$  and  $n$ ). The neural-network-based predictions of  $\log K_F$  and  $n$  yielded very accurate predictions of the data from the training set for both negatively charged and polar compounds (Figure 1) as well as cations and zwitterions (Figure 2).

## Conclusions

A prerequisite for the design of efficient water purification systems or remediation strategies are easily accessible tools able to predict the sorption of emerging contaminants, which might be ionizable and polar compounds. To address this need, we made use of the available literature to develop two neural network-based models. Both performed excellently in predicting the sorption of organic anions, cations and zwitterions as well as polar compounds to a wide range of carbonaceous materials. The provided models are able to cover a very wide range of sorption scenarios and will thus be useful for scientists and practitioners in the fields of water purification and remediation.

## References

1. Hüffer, T., Endo, S., Metzelder, F., Schroth, S. & Schmidt, T. C. Prediction of sorption of aromatic and aliphatic organic compounds by carbon nanotubes using polyparameter linear free-energy relationships. *Water Res.* **59**, 295–303 (2014).
2. Lu, Z., MacFarlane, J. K. & Gschwend, P. M. Adsorption of Organic Compounds to Diesel Soot: Frontal Analysis and Polyparameter Linear Free-Energy Relationship. *Environ. Sci. Technol.* **50**, 285–293 (2016).
3. Endo, S. & Goss, K. U. Applications of polyparameter linear free energy relationships in environmental chemistry. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 12477–12491 (2014).
4. Yang-Hsin, S. & Gschwend, P. M. Evaluating Activated Carbon - Water Sorption Coefficients of Organic Compounds Using a Linear Solvation Energy Relationship Approach and Sorbate Chemical Activities. *Environ. Sci. Technol.* **43**, 851-857 %U <http://search.ebscohost.com.proxy.greno> (2009).
5. Kah, M., Sigmund, G., Xiao, F. & Hofmann, T. Sorption of ionizable and ionic organic compounds to biochar, activated carbon and other carbonaceous materials. *Water Res.* **124**, 673–692 (2017).
6. Pignatello, J. J., Mitch, W. A. & Xu, W. Activity and Reactivity of Pyrogenic Carbonaceous Matter toward Organic Compounds. *Environ. Sci. Technol.* **51**, 8893–8908 (2017).
7. Hale, S. E., Arp, H. P. H., Kupryianchyk, D. & Cornelissen, G. A synthesis of parameters related to the binding of neutral organic compounds to charcoal. *Chemosphere* **144**, 65–74 (2016).
8. Sigmund, G., Sun, H., Hofmann, T. & Kah, M. Predicting the Sorption of Aromatic Acids to Noncarbonized and Carbonized Sorbents. *Environ. Sci. Technol.* **50**, 3641–3648 (2016).
9. Ulrich, N. *et al.* UFZ-LSER database v 3.2 [Internet]. (2017). Available at: <http://www.ufz.de/lserd>.
10. MacKay, D. J. C. Bayesian Interpolation. *Neural Comput.* **4**, 415–447 (1992).
11. Foresee, F. D. & Hagan, M. T. Gauss-Newton approximation to Bayesian regularization. *Proc. 1997 Int. Jt. Conf. Neural Networks 1930–1935* (1997). doi:10.1109/ICNN.1997.614194

## **Pestizidbelastung: Große Spitzen in kleinen Fließgewässern**

K. Halbach, Leipzig/D, M. Möder, Leipzig/D, P. Vormeier, Leipzig/D, O. Weisner, Leipzig/D, L. Liebmann, Leipzig/D, K. Foit, Leipzig/D, S. Knillmann, Leipzig/D, M. Liess, Leipzig/D, T. Reemtsma, Leipzig/D

Katharina Halbach, Helmholtz Zentrum für Umweltforschung – UFZ,  
Department Analytik, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig/D

### **Einleitung**

Die Belastung von Grundwässern mit Pestiziden und ihren Metaboliten ist seit Jahrzehnten ein wichtiges Thema für die Wasserversorgung. Mit neuen Untersuchungsansätzen werden dennoch immer wieder neue Grundwasserbelastungen entdeckt [1].

Hinsichtlich der Oberflächengewässer wird zumeist auf Einträge über Kläranlagen geblickt, wo Pestizide weniger bedeutend sind. Dennoch können Pestizideinträge aus der landwirtschaftlichen Anwendung bedeutsam für die Qualität des Oberflächenwassers sein. Dies gilt insbesondere für kleine Fließgewässer, die zumeist landwirtschaftlich geprägte Einzugsgebiete durchfließen. Zumal bei Niederschlagsereignissen kann es zu direkten Austrägen aus den Flächen in die Fließgewässer kommen, in denen dann aufgrund mangelnder Verdünnung nicht nur die Fracht, sondern auch die Konzentration an Pestiziden stark ansteigen kann [2 - 4].

In der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln wird unter anderem geprüft, ob bei der beantragten Anwendung eines Mittels die sogenannte „regulatorisch akzeptable Konzentration“ (RAK) in Fließgewässern für den in dem Mittel enthaltenen Wirkstoff eingehalten wird. Die Einhaltung des RAK-Wertes ist wichtig, da anderenfalls Auswirkungen auf Gewässerorganismen und damit auf die ökologische Qualität des Fließgewässers zu befürchten sind. Die Messstellen der behördlichen Gewässerüberwachung nach Wasserrahmenrichtlinie liegen zumeist an größeren Fließgewässern. Zu kleinen Fließgewässern ist die Datenlage daher gering. .

Wir haben in Zusammenarbeit mit dem Umweltbundesamt und den Bundesländern in einem aufwendigen, bundesweiten, ereignisbezogenen Monitoring in 2018 und 2019 untersucht, welche Konzentrationen an Pestiziden und Metaboliten in kleinen Fließgewässern bei Trockenwetter und bei Niederschlagsereignissen tatsächlich auftreten.

Die dabei erhaltenen Ergebnisse bieten Gelegenheit, die Sichtweise der Wasserregulation und der Pestizid-Regulation einander anzunähern.

## Methoden

In 2018 und 2019 wurden an je etwa 60 Standorten in überwiegend agrarisch geprägten Einzugsgebieten Wasserproben bei Trockenwetter und während Niederschlagsereignissen gewonnen. Analoge Beprobungen erfolgten auch an nicht agrarisch beeinflussten Referenzstandorten.

Aus der Wasserphase wurden die Konzentrationen von mehr als 110 Wirkstoffen und Metaboliten mittels Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS/MS im MRM mode) ermittelt. Die Analysen erfolgten mit Direktinjektion von bis zu 80 µL Probenvolumen [5]. In 2018 wurden jeweils zwei Analysen durchgeführt (ESI pos, neg; Qtrap 5500) in 2019 nur eine Analyse mit Polaritätswechsel (Qtrap 6500). In nahezu allen Fällen reichte die Sensitivität aus, um die Einhaltung der RAK-Werte (zum Teil < 1 ng/L) zu überprüfen.

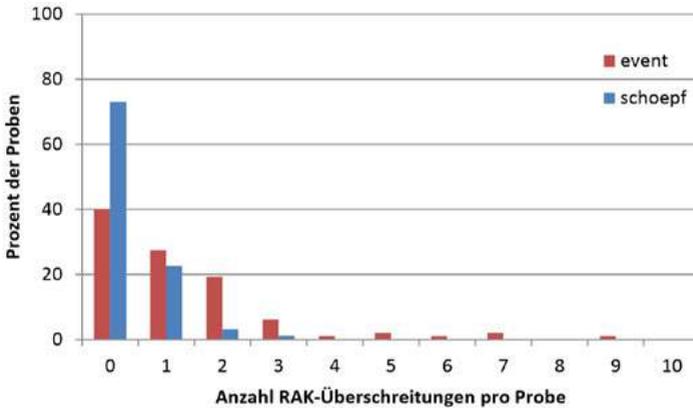
Der so entstandene Datensatz umfasst die Ergebnisse für gut 1000 Proben.

## Ergebnisse und Diskussion

Die Gesamtkonzentration der untersuchten Pestizid-Metabolite lag in den kleinen Fließgewässern im Mittel um einen Faktor von 6 – 20 höher als die der untersuchten Pestizide. Niederschlagsereignisse führen zu drastisch steigenden Konzentrationen, vor allem für die Pestizide: hier stieg der Median von 0,1 auf 0,7 µg/L. Die Spitzenkonzentrationen der Pestizide (z.B. 95 Perzentil) liegen nochmals mehr als eine Größenordnung höher.

**Vergleich mit RAK-Werten:** Die Daten aus 2018 zeigen, dass bei Niederschlagsereignissen die Überschreitung von RAK-Werten für die untersuchten Standorte die Regel und nicht die Ausnahme ist: es kam zu Überschreitungen bei etwa 60% der ereignisbezogenen Proben (80% der Standorte). Dabei wurde für bis zu 9 Stoffe der RAK-Wert innerhalb einer Probe überschritten. Bei Trockenwetter war die Häufigkeit von RAK-Überschreitungen mit etwa 30% der Proben zwar deutlich geringer, es waren aber immerhin noch 60% der Standorte betroffen.

Die (bisher nur vorläufige) Auswertung für 2019 mit überwiegend anderen Standorten bestätigt das Bild aus dem Vorjahr.



**Abbildung 1** Häufigkeiten von RAK-Überschreitungen pro Probe für die ereignis-bezogenen Proben („event“) und die konventionellen Proben („schöpf“) an den landwirtschaftlich geprägten Messstellen des Jahres 2018

**Stoffe:** Die 10 Pestizid-Wirkstoffe mit der höchsten Anzahl an RAK-Überschreitungen in den ereignisbezogenen Proben („event“) sind in Tabelle 1 aufgeführt. Dominiert werden die RAK-Überschreitungen in den ereignisbezogenen Proben vom Wirkstoff Thiacloprid, gefolgt von den Wirkstoffen Fipronil, Clothianidin und Methiocarb.

Thiacloprid, Clothianidin, Imidacloprid und Thiamethoxam zählen zu der Gruppe der Neonikotinoide; sie alle haben sehr niedrige RAK-Werte (0,00077 – 0,009 µg/L), die bei Niederschlagsereignissen offenbar nicht gut einzuhalten sind.

**Tabelle 1** Wirkstoffe mit der größten Häufigkeit der Überschreitung der RAK-Werte in 2018 für die ereignisbezogenen Proben („event“) und die vornehmlich bei Trockenwetter genommenen Proben („schöpf“).

PSM	RAK-Wert (µg/L)	„event“ (%)	„schöpf“ (%)
Thiacloprid	0,004	39	9
Fipronil	0,00077	14	10,5
Clothianidin	0,007	14	6,6
Methiocarb	0,01	13	0,4
Diflufenican	0,025	6,5	0
Imidacloprid	0,009	6,0	1,6
Thiamethoxam	0,043	5,0	0,4

## Ausblick

Angesichts der Vielzahl von RAK-Überschreitungen wird zu prüfen sein, ob die in der Risikobewertung für die Vorhersage der erwarteten Konzentrationen verwendeten Modelle und Annahmen verbessert werden müssen, oder die landwirtschaftliche Praxis. Neben derartigen zulassungsbezogenen Auswertungen erlaubt die ereignisbezogene Beprobung auch eine Betrachtung der zeitlichen Dynamik der Pestizidkonzentrationen an den mehr als 100 Standorten. Dies kann Hinweise geben, welche standort-spezifischen Eigenheiten zu erhöhten Pestizidkonzentrationen im Fließgewässer führen. Durch Vergleich von Pestizid-Konzentrationen bei Trockenwetter und bei Regen und die Einbeziehung der jeweiligen Metabolite kann für die einzelnen Stoffe das Eintragungsgeschehen besser verstanden werden. Beides wird helfen, Ursachen für unerwünschte Pestizideinträge in die Gewässer einzugrenzen und Handlungsoptionen abzuleiten.

## Danksagung

Wir danken für die finanzielle Förderung durch die langfristige strategische Forschungsförderung der Helmholtz-Gemeinschaft (POF III, MOSES) sowie durch den Ressortforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit (BMU) für das Vorhaben "Umsetzung des Nationalen Aktionsplans zur nachhaltigen Anwendung von Pflanzenschutzmitteln (NAP) – Pilotstudie zur Ermittlung der Belastung von Kleingewässern in der Agrarlandschaft mit Pflanzenschutzmittel-Rückständen" (FKZ 3717 63 403 0). Wir danken dem Umweltbundesamt, FG IV 1.3 für die fachliche Begleitung und Kooperation und den Bundesländern für ihre Unterstützung dieses Vorhabens.

## Literatur

- [1] Kiefer K., et al. (2019) New relevant pesticide transformation products in groundwater detected using target and suspect screening for agricultural and urban micropollutants with LC-HRMS. *Water Res.* **165**, 114972.
- [2] Brinke et al. (2017) Umsetzung des Nationalen Aktionsplans zur nachhaltigen Anwendung von Pestiziden - Bestandsaufnahme zur Erhebung von Daten zur Belastung von Kleingewässern der Agrarlandschaft. UBA Texte 89/2017.
- [3] Szöcs et al. (2017) Large scale risks from agricultural pesticides in small streams. *Environ Sci. Technol.* **51**, 7378-7385.
- [4] Liess M. et al. (1999) Determination of insecticide contamination in agricultural headwater streams. *Water Res.* **33**, 239-247.
- [5] Reemtsma T. et al. (2013) A multimethod for the determination of 150 pesticide metabolites in surface water and groundwater using direct injection liquid chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr. A* **1271**, 95-104.

## **Einfluss der Flockung auf die Entfernung von Mikroschadstoffen im Pulveraktivkohle/Ultrafiltrations-Prozess zur weitergehenden Abwasserreinigung**

M. Sc. Grit Hoffmann, Duisburg/D, Prof. Dr.-Ing. Stefan Panglisch, Duisburg/D

Grit Hoffmann, Universität Duisburg-Essen, Lotharstr. 1, 47057, Duisburg/D

### **Einleitung**

Druckgetriebene Membranverfahren sind aufgrund intrinsischer Vorteile im Vergleich zu konventionellen Verfahren und wegen ihrer Vielseitigkeit bspw. zur Wasseraufbereitung, -reinigung, und –wiederverwendung ein national und international anerkanntes wesentliches Element einer nachhaltigen Wasserwirtschaft. Die Ultrafiltration (UF) kommt zunehmend bei der Behandlung von kommunalem und industriellem Abwasser zum Einsatz, da sie in der Lage ist, ein Wasser von konstanter Qualität zu liefern. Die Leistung von Membranverfahren kann durch verschiedene Betriebsbedingungen sowie die Qualität des aufzubereitenden Wassers beeinflusst werden. Neben dem Filtrations-Flux und den Spülintervallen sind entsprechende Vorbehandlungsschritte von großer Bedeutung für die Prozessstabilität. Die Zugabe eines Flockungsmittels vor der Membranstufe ist gängige Praxis, da sie ein Fouling der Membran mindert und die Ablaufqualität in Bezug auf gelöste organische Wasserinhaltsstoffe verbessert. Weiterhin wird der Filtrationswiderstand verringert und die Effektivität der mechanischen Spülung verbessert.

In der vorliegenden Studie wurde die Auswirkung einer Flockung auf die Ablaufqualität eines hybriden Pulveraktivkohle (PAK)/UF-Prozesses untersucht. Die Studie war Teil des Projektes „Optimierter Einsatz von Pulveraktivkohle und Ultrafiltration als 4. Reinigungsstufe (UF/PAK 4.0)“. Ziel des Projektes war die Optimierung der Reinigungsleistung von Kläranlagen hinsichtlich der Entfernung von Mikroschadstoffen und weiterer relevanter Parameter durch die hybride Prozesskombination PAK/UF (gefördert vom Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen).

Der Begriff „Mikroschadstoffe“ rückte in den vergangenen Jahren immer mehr in den Fokus von Wissenschaft und Öffentlichkeit. Er beschreibt die Reste der zahlreichen komplexen Chemikalien, die nach ihrem Gebrauch entweder unverändert oder im Zuge der Biotransformation als Konjugate bzw. Metaboliten in die Gewässer gelangen. Dazu gehören beispielsweise pharmazeutische Wirkstoffe, Flammschutzmittel, Biozide sowie weitere Industriechemikalien. Für den menschlichen Körper wurden die nachgewiesenen Konzentrationen in den Gewässern bislang als ungefährlich eingestuft [1]. Dennoch konnte in den letzten Jahren die Ökotoxizität einer Vielzahl von Mikroschadstoffen in der Umwelt nachgewiesen werden [2].

Die Pilotversuche wurden unter realen Bedingungen mit gereinigtem kommunalem Abwasser durchgeführt (Versuchsstandort: Technikum der Emschergenossenschaft auf dem Klärwerk Emschermündung, Dinslaken), um eine möglichst hohe technische Vergleichbarkeit mit existierenden Anlagen zu gewährleisten.

## Material und Methoden

### *Betrieb Pilotanlage*

Die vollautomatische Pilotanlage der Firma Inge GmbH war mit einem dizzer® XL-Modul in Originalgröße (Membranfläche: 80 m<sup>2</sup>) ausgestattet, welches im IN/OUT-Modus betrieben wurde. Im Modul befanden sich Multibore®-Membranen (Material: Polyethersulfon, PESU) mit einer nominalen Porengröße von 0,02 µm und einem Innendurchmesser der Kapillaren von 0,9 mm. Der Anlagenbetrieb erfolgte bei einem Flux von 60 L·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup> und einer Filtrationszeit von 30 min. Mechanische Reinigungen erfolgten am Ende eines Filtrationszyklus bei einem Flux von 230 L·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>. Dabei wurde das Wasser zuerst nach unten aus dem Modul ausgespült (35 s) und anschließend nach oben (20 s).

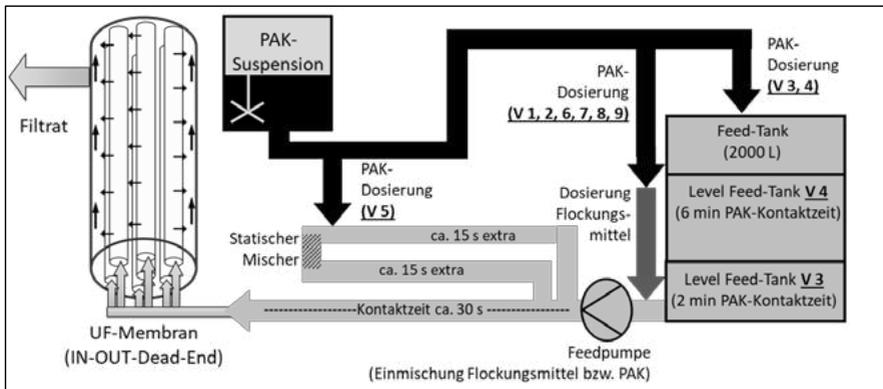
Die Dosierung des aluminiumbasierten Flockungsmittels Gilufloc® 40H erfolgte mit einer Konzentration von 4 mg Al/L in den Zulauf der Feedpumpe, um einen hohen Energieeintrag und damit eine hohe Scherrate für die Einmischung des Flockungsmittels zu erreichen. Die Verweilzeit vor der Membranstufe (Flockungsstrecke) lag bei ca. 30 s. Die eingesetzte PAK (Chemviron Pulsorb WP260 UF) ist eine vom Hersteller sehr fein vermahlene Kohle (d<sub>50</sub> der Volumenverteilung: 5 µm), die sich aufgrund ihrer schnellen Adsorptionskinetik gut für einen Einsatz in Prozessen eignet, bei denen systembedingt nur eine geringe Kontaktzeit zur Verfügung steht. Zudosiert wurde die PAK in den meisten Fällen ebenfalls in den Zulauf zur Feedpumpe. In zwei Versuchen erfolgte jedoch eine örtlich getrennte Flockungsmittel- und PAK-Dosierung. Im ersten Fall wurde durch Verwendung einer weiteren Rohrleitungsstrecke die PAK erst nach einer Flockungsstrecke von 15 s zudosiert wobei die Einmischung der PAK durch den zusätzlichen Einbau eines statischen Mischers gewährleistet wurde. Die dann folgende Flockungs- und Adsorptionsstrecke erhöhte sich anlagenbedingt auf 45 s. Im zweiten Fall wurde die PAK noch vor Dosierung des Flockungsmittels mit einer zusätzlichen Kontaktzeit von 2 bzw. 6 Minuten in den Feed-Tank dosiert (vergleichbar mit einem vorgeschalteten Kontaktreaktor).

### *Versuchsdurchführung*

In verschiedenen Versuchen wurde untersucht, inwiefern sich die Flockung auf den Adsorptionsprozess auswirkt. Bewertet wurde dabei die Entfernung ausgewählter Mikroschadstoffe, die nach Auswertung von Vorversuchen für eine bessere Übersichtlichkeit in die drei Gruppen der gering adsorbierbaren Stoffe (Amidotrizesäure, Iopamidol, Iopromid), der gut adsorbierbaren Stoffe (Diclofenac, Sulfamethoxazol, Clarithromycin, Naproxen) sowie der sehr gut adsorbierbaren Stoffe (Bezafibrat, Benzotriazol, Carbamazepin, Metoprolol) unterteilt wurden.

Sowohl das Flockungsmittel als auch die PAK wurden entweder kontinuierlich oder nur im Zeitraum der ersten 6 min eines Zyklus zudosiert. Bei der diskontinuierlichen Dosierung der PAK wurde die Dosierkonzentration um den Faktor 5 erhöht, um die gleiche Menge zu dosieren, die auch kontinuierlich dosiert wurde. Im Gegensatz dazu wurde bei der diskontinuierlichen Dosierung des Flockungsmittels die Dosierkonzentration nicht an die kürzere Dosierzeit angepasst. Diese Bildung einer schützenden Deckschicht aus Flocken („Flocken-Precoating“) resultiert in einer erheblichen Einsparung an Flockungsmittel, bei nur leicht erhöhtem Transmembrandruck [3]. Die Dosierung erfolgte entweder singulär (nur Flockungsmittel oder nur PAK), gleichzeitig oder aufeinanderfolgend. Zusammenfassend wurden die folgenden unterschiedlich verschalteten Prozesse betrachtet (Abbildung 1 veranschaulicht, an welcher Stelle im Prozess jeweils die PAK dosiert wurde).

- Versuch 1: Kont. PAK-Dosierung (ohne Flockung)
- Versuch 2: Kont. PAK-Dosierung und kont. Flockung
- Versuch 3: Kont. Flockung mit vorgeschalteter kont. PAK-Dosierung (2 min Kontaktzeit)
- Versuch 4: Kont. Flockung mit vorgeschalteter kont. PAK-Dosierung (6 min Kontaktzeit)
- Versuch 5: Kont. Flockung mit nachgeschalteter, kont. PAK-Dosierung
- Versuch 6: Einmaldosierung der PAK (ohne Flockung)
- Versuch 7: Flocken-Precoating zu Beginn des Filtrationszyklus bei gleichzeitiger Einmaldosierung der PAK
- Versuch 8: Flocken-Precoating zu Beginn des Filtrationszyklus mit anschließender Einmaldosierung der PAK
- Versuch 9: Einmaldosierung der PAK zu Beginn des Filtrationszyklus mit anschließendem Flocken-Precoating



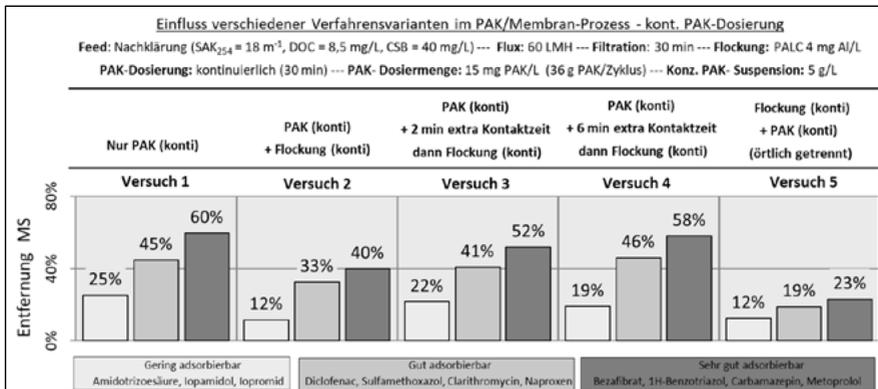
**Abbildung 1** Schema zur Veranschaulichung der untersuchten Prozessvarianten

## Ergebnisse

Der Vergleich von Versuch 1 und Versuch 2 zur kontinuierlichen PAK-Dosierung (Abbildung 2) zeigt, dass sich die Dosierung von Flockungsmittel im Prozess negativ auf die Adsorption von Mikroschadstoffen auswirken kann. Die Entfernung der einzelnen Substanzgruppen verringert sich deutlich. Bspw. wurden die Substanzen der Gruppe der sehr gut adsorbierenden Stoffe im Mittel um 20 Prozentpunkte weniger entfernt. Als Grund dafür kann zunächst ein Einschluss der PAK in die sich bildenden Flocken vermutet werden, was zu einem gehemmten Adsorptionsprozess in der PAK-Schicht an der Membran führen würde. Eine andere denkbare Erklärung ist der – nach Mitfällung bzw. Anhaftung der PAK – stattfindende Transport der vergleichsweise großen Flocken innerhalb der Kapillare an das tote Ende des Moduls. Ein solcher Effekt wurde durch Panglich und Lerch beschrieben [4, 5]. Durch die Ausbildung einer derart inhomogenen Deckschicht stünde die PAK während der anschließenden Filtration nicht vollständig für eine Adsorption zur Verfügung.

Der Prozess ohne Flockung zeigt zwar eine sehr effektive Mikroschadstoffentfernung, ist jedoch in der Praxis nicht anwendbar, da sich in kurzer Zeit ein starkes irreversibles Fouling verzeichnen würde [3]. Als mögliche Optimierung des Prozesses wurde eine

örtlich getrennte PAK- und Flockungsmitteldosierung untersucht. Dafür wurde die PAK-Dosierung zunächst der Flockung vorgeschaltet. Dies würde jedoch bei einer späteren großtechnischen Umsetzung einen vorgeschalteten Kontaktreaktor erfordern. Die Ergebnisse (Versuche 3 und 4 in Abbildung 2) zeigen für diesen Fall eine deutliche Verbesserung der Mikroschadstoffentfernung. Aufgrund der geringen Partikelgröße der PAK (verbunden mit einer sehr schnellen Adsorptionskinetik) reichen bereits 6 min Kontaktzeit aus, um ein Ergebnis zu erzielen, was etwa vergleichbar mit dem Prozess ohne Flockungsmitteldosierung ist.



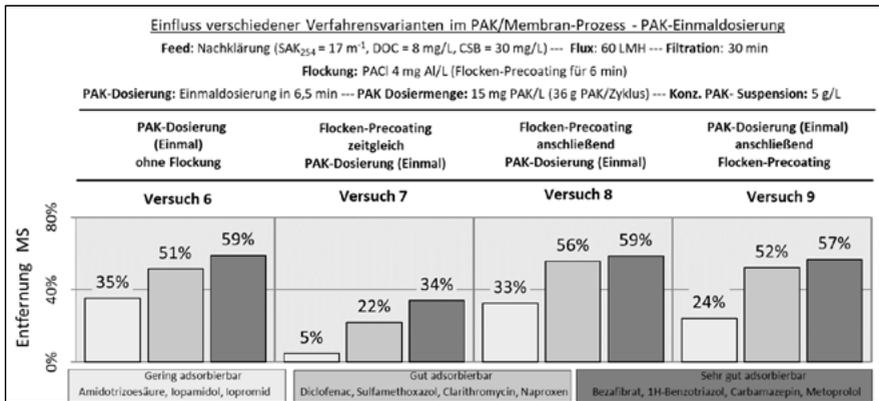
**Abbildung 2** Ergebnisse der Versuche 1 bis 5 bei kontinuierlicher Dosierung der PAK

Als zweite Prozessvariante wurde eine der Flockung nachgeschaltete PAK-Dosierung untersucht (Versuch 5). Jedoch wurde hier im Vergleich zu den anderen Versuchen das schlechteste Ergebnis erzielt. Die Substanzen der Gruppe der sehr gut adsorbierenden Stoffe bspw. wurden im Mittel nur zu 23 % entfernt. Dieses Ergebnis deutet an, dass die Hauptursache des negativen Einflusses einer Flockung auf den Adsorptionsprozess in einer nicht optimalen Verteilung der PAK auf der Membranoberfläche liegt. Die in Versuch 5 angewandte Verfahrensvariante trennte zwar PAK- und Flockungsmitteldosierung örtlich voneinander, hatte jedoch eine damit verbundene längere Flockungstrecke zur Folge. Diese wiederum ermöglicht die Ausbildung größerer Flocken und verstärkt ggf. den Transport von Flocken (mit anhaftender oder eingeschlossener PAK) an das tote Ende des Moduls.

Neben der örtlichen Trennung bietet die diskontinuierliche PAK- und Flockungsmitteldosierung die Möglichkeit der zeitlichen Trennung beider Prozesse. Dies wurde in den Versuchen 6 bis 9 untersucht. Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse der Mikroschadstoffentfernung der einzelnen Stoffgruppen. Versuch 6 zeigt als Referenz die für die Adsorption der Spurenstoffe optimale PAK-Dosierung ohne Flockung. Hier wurden mit bspw. 59 % Entfernung sehr gut adsorbierbarer Stoffe ähnliche Ergebnisse erzielt, wie schon im Prozess der kontinuierlichen PAK-Dosierung (Versuch 1). Allerdings ist ein Betrieb ohne Flockung mit einem starken Abfall der Permeabilität der Membran verbunden, der den Gesamtprozess unwirtschaftlich machen würde.

Wird die Flockung dazu geschaltet, zeigt sich eine signifikante Verringerung der Mikroschadstoffentfernung. Der negative Effekt ist bei der Einmaldosierung der PAK sogar noch deutlicher als bei der kontinuierlichen PAK-Dosierung. Ein möglicher Grund dafür kann in der Bildung von PAK-Agglomeraten in der Dosiersuspension liegen [6]. Diese würden aufgrund ihrer Größe ebenfalls ans Modulende transportiert, was den

Effekt der inhomogenen PAK-Deckschicht verstärken würde. Da die Bildung der Agglomerate konzentrationsabhängig ist, wird durch die Einmaldosierung der PAK, für die eine höher konzentrierte Dosiersuspension erforderlich ist, eine Mikroschadstoffentfernung stärker negativ beeinflusst. Die zeitliche Trennung von PAK- und Flockungsmitteldosierung (Versuche 8 und 9 in Abbildung 3) resultierte für die diskontinuierliche PAK-Dosierung in deutlich besseren Ergebnissen. So war die Entfernung der Mikroschadstoffe vergleichbar mit dem Referenzversuch ohne Flockung. Bei einem Flocken-Precoating gefolgt von der PAK-Einmal-Dosierung wurden 59 % der sehr gut adsorbierbaren Stoffe entfernt. Leicht niedriger lag das Ergebnis für eine PAK-Einmal-Dosierung, gefolgt von einem Flocken-Precoating. Somit wurde auch für die diskontinuierlichen Prozesse eine Möglichkeit gefunden, die Adsorptionskapazität der PAK im Prozess optimal auszunutzen.



**Abbildung 3** Ergebnisse der Versuche 6 bis 9 bei Einmaldosierung der PAK

### Schlussfolgerungen

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass für einen zukünftigen PAK/UF-Prozess, der ohne die Notwendigkeit einer kontinuierlichen Flockung stabil läuft, die Prozesskombination des Flocken-Precoatings zu Beginn des Filtrationszyklus mit anschließender Einmaldosierung der PAK zu empfehlen ist. Hierbei ist jedoch darauf zu achten, dass eine möglichst niedrig konzentrierte PAK-Dosiersuspension eingesetzt wird, um die Bildung von Agglomeraten zu vermeiden. Eine Alternative könnte auch die kontinuierliche Dosierung der PAK nach einem Flocken-Precoating sein. Ist eine kontinuierliche Flockung notwendig, so könnten die Installation eines zusätzlichen Kontaktreaktors vor der Membranstufe oder die kontinuierliche Flockung mit einer kurzen Unterbrechung zur Einmaldosierung der PAK sinnvoll sein. Zur Bewertung dieser Verfahrensvarianten besteht allerdings noch Untersuchungsbedarf.

### Literatur

[1] P. Bartnik, K. Metzner Bartnik, *Machbarkeitsstudie zur Elimination von Mikroschadstoffen auf der Kläranlage Grundsteinheim*, 2014, Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen

[2] C. Abegglen, H. Siegrist, *Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser. Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen*. **2012**, Bundesamt für Umwelt BAFU.

[3] G. Hoffmann, J. Koti, P. Buchta, P. Berg, S. Panglisch, *Einfluss einer diskontinuierlichen in-line-Flockung auf Prozessstabilität und Ablaufqualität im Pulveraktivkohle / Ultrafiltrations-Prozess zur weitergehenden Abwasserreinigung*, **2019**, 13. Aachener Tagung Wassertechnologie, 29./30.10.19, Aachen

[4] S. Panglisch, *Zur Bildung und Vermeidung schwer entfernbarer Partikelablagerungen in Kapillarmembranen bei der Dead-End Filtration*. **2001**, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, Fakultät für Ingenieurwissenschaften, Abteilung Maschinenbau

[5] A. Lerch, *Fouling layer formation by flocs in inside-out driven capillary ultrafiltration membranes*, **2008**, Dissertation, Universität Duisburg-Essen, Fakultät für Ingenieurwissenschaften, Abteilung Maschinenbau

[6] G. Hoffmann, A. Boekels, D. Antakyali, R. L. Lange, S. Panglisch, *PAC-UF treatment for micropollutant removal in municipal wastewater treatment*, **2019**, Water reuse 2019. 12th IWA International Conference on Water Reclamation and Reuse, 16.-20.06.2019, Berlin

## **Zeitlich aufgelöste Trendanalyse zur Priorisierung relevanter Kontaminanten in Industrieabwässern mittels Non-Target Analytik**

K. Purschke, Leverkusen/DE, M. Vosough, Tehran/ IRN, M. Weber, Leverkusen/DE,  
T.C. Schmidt, Essen/DE

Kirsten Purschke, Currenta GmbH & Co. OHG, Abt. Umweltanalytik, CHEMPARK,  
Geb. Q18, 51368 Leverkusen, Deutschland

### **Einleitung**

Ein ordnungsgemäßer Betrieb von Kläranlagen ist erforderlich, um den Eintrag von Arzneimittelrückständen, Bioziden, Pflanzenschutzmitteln und anderen Einsatzstoffen aus der Industrie – sogenannten Mikroschadstoffen – in Oberflächengewässer zu vermeiden. Um die Einhaltung von Sicherheitsstandards zu ermöglichen, ist zudem das Wissen über die Abwasserbeschaffenheit, die Produktionsänderungen sowie die strenge Überwachung von eingetragenen Stoffen Grundvoraussetzung. Routine Überwachungsprogramme zur Analyse industrieller Abwässer basieren auf Target-Analytik Ansätzen mittels Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Sie bieten eine hohe Selektivität und Sensitivität, sind jedoch auf die Messung vorausgewählter Verbindungen beschränkt [1]. Andere potenziell enthaltene Kontaminanten, die nicht in das Messverfahren einbezogen sind, werden daher auch dann nicht nachgewiesen, wenn sie in hohen Anteilen in der Probe vorkommen. Aus diesem Grund hat in den letzten Jahren der Trend zu hochauflösenden Massenspektrometern gekoppelt an die Flüssigchromatographie (LC-HRMS) zugenommen. In Kombination mit der Non-Target Analytik ermöglicht LC-HRMS das Screening von bisher unbekannt organischen Verbindungen in Abwässern [2,3]. In der Non-Target Analytik werden Abwasserproben im Full Scan Modus analysiert. Dadurch werden alle mit der angewendeten LC-Methode chromatographisch trennbaren und mittels Ionisationsmethode ionisierbaren Stoffe erfasst [2]. Durch Peak-Picking Algorithmen werden *Features* (Verschnitt von exakter Masse ( $m/z$ ), Retentionszeit und

Intensität [4]) extrahiert, welche nach Filterungen, Blindwertsubtraktionen und *Peakalignments* durch Komponentisierung (Gruppierung von Addukten und Isotopen von derselben Substanz) gruppiert werden können. Doch auch nach der Datenprozessierung stellt die Interpretation der dabei gewonnenen Messdaten eine wesentliche Herausforderung dar [5–7]. Priorisierungsmethoden können Abhilfe schaffen. Durch Reduzierung der Komplexität der Daten wird die Identifizierung der relevanten Mikroschadstoffe ermöglicht [7]. In dieser Arbeit wird deswegen ein Priorisierungsansatz zur Interpretation von industriellen Abwasserproben vorgestellt. Der Ansatz besteht aus einer Kombination von statistischen Verfahren zur Mustererkennung, wie der Hauptkomponentenanalyse (PCA) und der hierarchischen Clusteranalyse (HCA), sowie einer Trendanalyse mittels nicht-parametrischem Mann-Kendall-Test [8,9]. Mit Clusteranalysen werden homogene *Features* Gruppen zugeordnet, sodass bisher unerkannte Relationen sichtbar werden. Trendanalysen von LC-HRMS Langzeitdaten bieten die Möglichkeit, relevante Merkmale mit signifikanten Trendphänomenen zur weiteren Betrachtung zu priorisieren.

## **Methoden**

**Probenmaterial** Als Trainingsdatensatz, zur Etablierung der Trendanalyse, dienten 30 Milli-Q® Wasser Proben, welche mit 19 Zielsubstanzen versetzt waren. Das Wasser wurde so dotiert (Konzentration von  $0,2 - 200 \mu\text{g L}^{-1}$ ), dass relevante Produktionsänderungen und unrelevante Zeittrends simuliert wurden. Relevante Trends beschreiben Produktionsspitzen und über die Zeit monoton ansteigende und absinkende Produktionsverläufe. Zur Validierung wurde ein Datensatz von 70 authentischen Industrieabwasserproben, von November 2018 bis März 2019, eines Kläranlagenzulaufs von Industrieabwässern verwendet.

**LC-HRMS Messung** Alle Proben wurden vor der Messung mit Milli-Q® + 0,1 % Ameisensäure (Eluent A) um den Faktor 10 verdünnt. Eluent B bestand aus Methanol, ebenfalls mit 0,1 % Ameisensäure versetzt. Die chromatographische Trennung wurde mit einem Agilent 1290 Infinity HPLC-System (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) und einer polar modifizierter C18-Analysesäule Raptor™ Ultra Aqueous (100 mm × 2,1 mm; 3,0  $\mu\text{m}$  Partikelgröße) mit Trident Vorsäule (10 x 2,1 mm) und Filter

(2 mm, 0,5  $\mu\text{m}$ ) durchgeführt (Restek GmbH, Bad Homburg v.d. Höhe, Deutschland). Zum Nachweis wurden die Proben sowohl im positiven als auch im negativen Elektrospray-Ionisationsmodus (Turbo V<sup>TM</sup>, SCIEX GmbH, Darmstadt, Deutschland) mit hochauflösender Massenspektrometrie (x500R qTOF, SCIEX GmbH, Darmstadt, Deutschland) gemessen. Full Scan HRMS Daten wurden mit zehn datenabhängigen Fragmentierungsexperimenten ( $m/z$  30 – 700) für jede Probe in einem Masse-zu-Ladungs-Bereich ( $m/z$ ) von 70 – 950 aufgezeichnet.

**Datenauswertung** MarkerView (MV; Version 1.3.1, SCIEX, Framingham, USA) wurde zur Peakdetektion, zum Peakalignment, zur Normalisierung der Retentionszeiten und zur Blindwertsabtraktion verwendet. Darüber hinaus wurden Nullstellen im Datensatz ersetzt. In den generierten Datenmatrizes waren *Features* in Zeilen und Proben in Spalten aufgeführt. Die detektierten Intensitäten der *Features* waren die Werte der Datenmatrix. Weitere Verarbeitungsschritte, wie Auto-Skalierung, PCA, HCA und Trendanalyse, wurden unter Verwendung eines internen MATLAB Skripts (Version R2017b, MathWorks, Inc., Natick, USA) durchgeführt. Die Trendanalyse wurde basierend auf dem MATLAB code von Simone Fatichi (03.10.2009) durchgeführt.

### **Ergebnisse und Diskussion**

Die Auswertung beider Datensätze zeigt, dass die entwickelte Datenbehandlung geeignet ist, *Features* mit relevanten Trends zu filtern. In Abbildung 1 ist exemplarisch die Gruppierung der *Features* nach ihrem zeitlichen Trendverlauf dargestellt. Aufgeführt ist das Ergebnis der PCA vom Trainingsdatensatz der im positiven Ionisationsmodus detektierten *Features*. Die PCA wurde angewendet, um *Features* in Gruppen zu ordnen. Die Gruppen können anschließend anhand ihrer Hauptkomponentenwerte (Scores) und ihrer Loadings (Einfluss eines Merkmals auf eine Hauptkomponente) unterschieden werden [10].

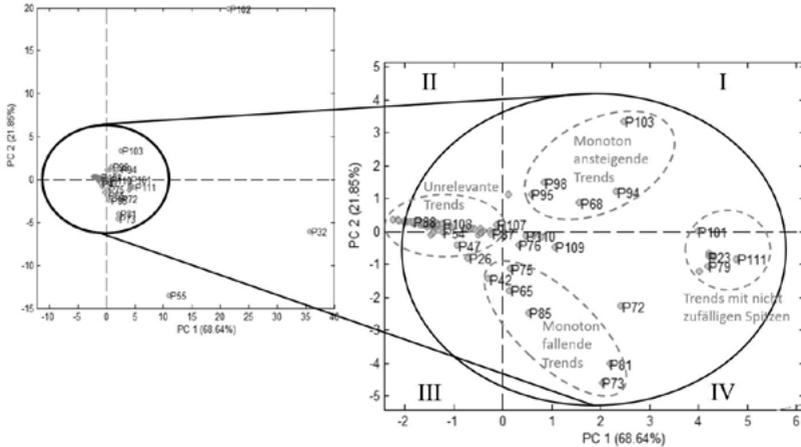


Abbildung 1 – Die Abbildung zeigt die durch die PCA erhaltenen Scores der im positiven Ionisationsmodus erfassten Features. Aufgetragen sind die ersten beiden Hauptkomponenten (PC, principal component) als nicht korrelierte lineare Funktionen der ursprünglichen Variablen. Die Merkmale des Trainingsdatensatzes (ESI\*) sind in vier zeitliche Verläufe gruppiert (gestrichelte Ellipsen): (1) monoton ansteigende Trends (in Quadrant I), (2) monoton fallende Trends (links in Quadrant IV), (3) Trends mit nicht zufälligen Spitzen (oben in Quadrant IV) und (4) unrelevante Trends (Quadrant II & III). Die Ellipse mit durchgezogener Linie demonstriert das 95 % Vertrauensintervall der Hotelling  $T^2$  Verteilung. Alle innerhalb des 95 % Perzentils liegende Features sind solche nahe des Mittels (Vergrößert in der rechten Abbildung dargestellt). Die Features P102, P55 und P32 sind hingegen Ausreißer und fallen aus der Konfidenzellipse.

Unter der Verwendung der PCA konnten auch die *Features* aus dem Validierungsdatensatzes hinsichtlich ihrer Trends getrennt werden. Auf Grundlage der beiden ersten Hauptkomponenten (PCs) wurden alle detektierten *Features* der 70 Industrieabwasserproben, im Score-Plot, den vier genannten Gruppen (1) monoton ansteigende Trends, (2) monoton fallende Trends, (3) Trends mit nicht zufälligen Spitzen und (4) unrelevante Trends zugeordnet. Im Loading-Plot können Proben miteinander verglichen werden. Da im Validierungsdatensatz ausschließlich Proben aus einem Kläranlagenzulauf von Industrieabwässern verwendet wurden, sind die Unterschiede im Loading-Plot nicht erheblich. Die Betrachtung von einem Zeitraum von sechs Monaten lässt jedoch erkennbare Änderungen der Belastung der Proben zu. Diese Änderungen können zusätzlich durch die Hotelling- $T^2$ -Verteilung hervorgehoben werden. Basierend auf dem Hotelling- $T^2$ -Koeffizienten werden die *Features* hinsichtlich ihrer

Konzentrationschwankungen klassifiziert (Ausschnitt in Abbildung 2 – oben). Abbildung 2 zeigt exemplarisch zu jeder Trendgruppe ein *Feature*, welches durch diese Klassifizierung als besonders intensiv hervorstach.

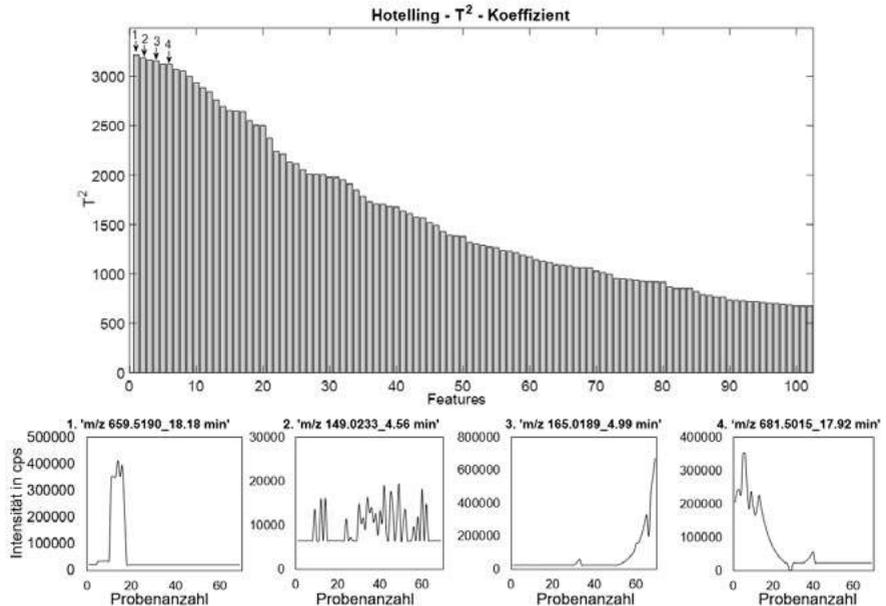


Abbildung 2 – Die Abbildung zeigt (oben) die 100 intensivsten Features ermittelt durch Hotelling -T<sup>2</sup>- Verteilung und (unten) repräsentativ die intensivsten Features der vier Trendgruppen (1) monoton steigende Trends, (2) monoton fallende Trends, (3) Trends mit nicht zufälligen Spitzen und (4) unrelevante Trends. Die Features sind mit ihrem Masse-zu-Ladung (m/z) Verhältnis und ihrer Retentionszeit ('m/z\_RT') angegeben.

Im Anschluss an die PCA können die nach ihren Trends gruppierten *Features* zur Interpretation der Einflüsse von Produktionsänderungen im Abwasser herangezogen werden, oder priorisiert der Identifizierung dienen. Je nach Fragestellung richtet sich das Identifizierungsbemühen anschließend auf die drei Gruppen der relevanten Trends (Trendverlauf 1 bis 3).

## Fazit und Ausblick

Erste Ergebnisse zeigen die Anwendbarkeit der Trenderkennung in Langzeitüberwachung von industriellen Abwässern außerhalb des üblichen Target-Analytik Bereichs. Dies ermöglicht es, eine große Datenmenge für die Interpretation von Non-Target Daten zu vereinfachen und somit, im besten Falle, eine Identifizierung von ausschließlich relevanten Kontaminanten zu begünstigen. Die Entwicklung von Priorisierungsmethoden ist wichtig, um neue unbekannte Verbindungen in Wasserproben priorisieren und identifizieren zu können. Dies kann zu einem besseren Verständnis und einer umfassenderen Überwachung der Wasserproben führen. Der aktuelle Stand der laufenden Arbeit sowie die Ergebnisse der Validierung realer Industrieabwässer über den Zeitraum von sechs Monaten werden präsentiert.

## Literatur

- [1] T.C. Schmidt, *Anal. Bioanal. Chem.* (2018) 1–9.
- [2] K.T. Peter, C. Wu, Z. Tian, E.P. Kolodziej, *Environ. Sci. Technol.* (2019).
- [3] J. Hollender, E.L. Schymanski, H.P. Singer, P.L. Ferguson, *Environ. Sci. Technol.* 51 (2017) 11505–11512.
- [4] T. Bader, W. Schulz, T. Lucke, in: *Assess. Transform. Prod. Chem. by Non-Target Suspect Screen. – Strateg. Work. Vol. 2*, ACS Symposium Series, Washington, DC., 2016, pp. 49–70.
- [5] J. Hollender, B. van Bavel, V. Dulio, E. Farmen, K. Furtmann, J. Koschorreck, U. Kunkel, M. Krauss, J. Munthe, M. Schlabach, J. Slobodnik, G. Stroomberg, T. Ternes, N.S. Thomaidis, A. Togola, V. Tornero, *Environ. Sci. Eur.* 31 (2019).
- [6] W. Brack, J. Hollender, M.L. De Alda, C. Müller, T. Schulze, E. Schymanski, J. Slobodnik, M. Krauss, *Environ. Sci. Eur.* 31 (2019) 1–6.
- [7] N.A. Alygizakis, P. Gago-Ferrero, J. Hollender, N.S. Thomaidis, *J. Hazard. Mater.* 361 (2019) 19–29.
- [8] H.B. Mann, *J. Econom. Soc.* (1945) 245–259.
- [9] M.G. Kendall, *Rank Correlation Methods*, Charles Griffin Book Series, London, 1975.
- [10] E. Reh, *Chemometrie - Grundlagen Der Statistik, Numerischen Mathematik Und Software-Anwendung in Der Chemie*, Walter de Gruyter GmbH, Berlin / Boston, 2017.

## **Microplastic contamination in the aquatic environments:**

### **Validation and reproducibility of sample preparation methods**

M. Al-Azzawi, Garching/D, J. Weißer, Freising/D, S. Kefer, Freising/D, O. Knoop,  
Garching/D, J.E. Drewes, Garching/D

M.Sc. Mohammed Al-Azzawi, Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft TU München,  
Am Coulombwall 3, 85748 Garching/D, Email: Mohammed.al-azzawi@tum.de

### **Introduction**

Definitions for microplastics are varied and conflicting in literature [1]. However a modern way to define them is particles smaller than 1 mm [2]. Quantifying and monitoring microplastic particles in the environment is an area of intensive research at the moment. This requires distinguishing microplastic particles from natural particles such as sand, plant and animal debris, etc. [3]. Yet, even with the employment of spectral identification methods like Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and Raman spectroscopy, the interference caused by natural particles can make it hard or impossible to detect and distinguish microplastic particles in an environmental matrix. Therefore, Inorganic matter is usually removed by salt-based density separation techniques, whereas organic matter having a similar density to microplastics would need to be removed via chemical digestion methods such as oxidation, alkali, and acids as well as enzymatic reactions [4]. However, these methods may inadvertently also affect the microplastics being investigated [5].

The aim of this study was to develop and validate a sample preparation methods which can effectively remove the natural organic constituents of an environmental matrix without affecting the characteristics of microplastics.

### **Materials and Methods**

The methods were chosen based upon the findings of a comprehensive literature review of the most commonly used methods (Table 1). Several studies already investigated

common preparation methods [4]–[9]. However, those studies had shortcomings in their methodology that were avoided in this current work, for example: (1) Some studies investigated only large microplastic particles ( $> 1$  mm). The smaller particles exhibit an increased surface area to volume ratio, which might increase their reactivity from what is reported for larger particles. Therefore, microplastic particles used for this study were between  $63 - 125 \mu\text{m}$  in size (Exception: Polypropylene (PP) was  $200 \mu\text{m}$ ), and they were all manufactured using the same mill unit (Ultra Centrifugal Mill ZM 200, Retsch GmbH, Germany) to ensure uniformity among the samples. (2) Usually, only a small number of particles were tested, which diminished the statistical significance of those studies. For this study, the number of particles analyzed for size distribution changes was between  $2 \times 10^4 - 3 \times 10^5$  particles. Additionally, for each sample ten particles were tested with Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR).

This study investigated seven of the common polymer types: Polypropylene (PP), Polyethylene (PE), Polystyrene (PS), Polyethylene terephthalate (PET), polyamide (PA), Polyvinyl chloride (PVC), as well as Polylactic acid (PLA). Size distribution tests were made in duplicates using a Mastersizer 2000 (Malvern Panalytical, UK). FTIR spectra were analyzed using a Cary 600 Series FTIR (Agilent technologies, USA). Tests were made in one repetition (10 particles per repetition) plus control and blanks.

Reduction in particle size distributions as well as changes to their corresponding FTIR spectra were used as indicators for damage and loss of the microplastics as a result of sample preparation methods. Optical microscopy was also used to observe any visual changes on the particles surface.

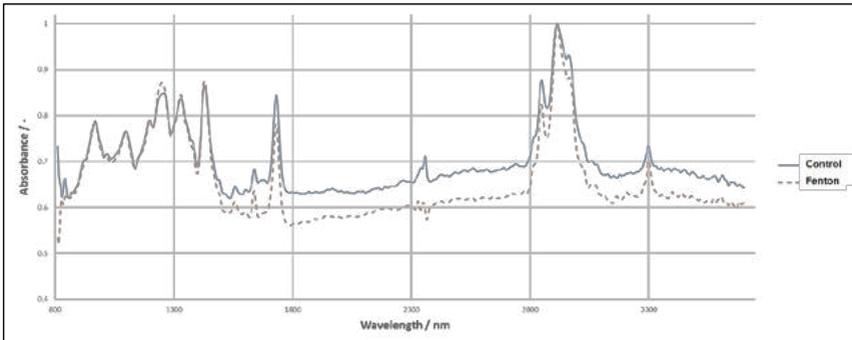
**Table 1** Protocols employed in this study

Protocols	Temperature	Time
Fenton (30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 20 g/L FeSO <sub>4</sub> )	Unregulated	10 Min + 10 min cooling
KOH (10%)	60 C°	24 Hr
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30%)	60 C°	24 Hr

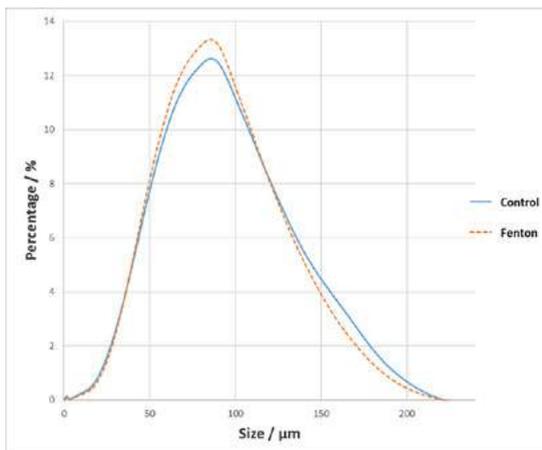
## Results

Results showed that the KOH protocol (Table 1) dissolved most of the PET and PLA particles, whereas the hydrogen peroxide and Fenton protocols did not reduce the size

distributions of any of the polymers. Furthermore, FTIR spectra were not affected and the unique polymer-“fingerprint” for each polymer was still clearly identifiable after the treatment. Moreover, even the FTIR spectra of the few remaining PET and PLA particles after KOH treatment showed no appreciable difference compared to the control. The same observation was found for the microscopic analysis; no appreciable differences could be seen before and after the treatment for the investigated particles. Figures 1 and 2 illustrate an example of the results for Polyvinyl chloride (PVC).



**Figure 1** FTIR-Spectra for PVC: control particle and particle after Fenton treatment



**Figure 2** Size distribution curves for PVC: control particle and particle after Fenton treatment

In Summary, both the hydrogen peroxide as well as the Fenton protocols seem to be good candidates for sample preparation methods. However, in order to unequivocally state which protocol is better, further experiments are being conducted at the moment.

## References

- [1] A. J. Underwood, M. G. Chapman, and M. A. Browne, "Some problems and practicalities in design and interpretation of samples of microplastic waste," *Analytical Methods*, vol. 9, no. 9. Royal Society of Chemistry, pp. 1332–1345, 07-Mar-2017.
- [2] U. Braun, M. Jekel, G. Gerdt, N. P. Ivleva, and R. Jens, "Microplastics Analytics Sampling, Preparation and Detection Methods," 2018.
- [3] N. P. Ivleva, A. C. Wiesheu, and R. Niessner, "Microplastic in Aquatic Ecosystems," *Angew. Chemie Int. Ed.*, vol. 56, no. 7, pp. 1720–1739, Feb. 2017.
- [4] A. S. Tagg, M. Sapp, J. P. Harrison, and J. J. Ojeda, "Identification and Quantification of Microplastics in Wastewater Using Focal Plane Array-Based Reflectance Micro-FT-IR Imaging," *Anal. Chem.*, vol. 87, no. 12, pp. 6032–6040, Jun. 2015.
- [5] R. R. Hurley, A. L. Lusher, M. Olsen, and L. Nizzetto, "Validation of a Method for Extracting Microplastics from Complex, Organic-Rich, Environmental Matrices," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 52, no. 13, pp. 7409–7417, Jul. 2018.
- [6] A. S. Tagg *et al.*, "Fenton's reagent for the rapid and efficient isolation of microplastics from wastewater," *Chem. Commun.*, vol. 53, no. 2, pp. 372–375, Dec. 2017.
- [7] S. Sujathan, A.-K. Kniggendorf, • Arun Kumar, • Bernhard Roth, K.-H. Rosenwinkel, and R. Nogueira, "Heat and Bleach: A Cost-Efficient Method for Extracting Microplastics from Return Activated Sludge," *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 73.
- [8] A. Karami, A. Golieskardi, C. K. Choo, N. Romano, Y. Bin Ho, and B. Salamatinia, "A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish," *Sci. Total*

*Environ.*, vol. 578, pp. 485–494, Feb. 2017.

- [9] A. Dehaut *et al.*, “Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization,” *Environ. Pollut.*, vol. 215, pp. 223–233, Aug. 2016.

## **Mikroplastikanalytik mittels TED-GC-MS: H/D-Austausch an Zersetzungsprodukten von D-markiertem Polystyrol als internem Standard**

P. Eisentraut, Berlin/D, E. Dümichen, Berlin/D, C. Goedecke, Berlin/D, Y. Wiesner, Berlin/D, M. Jekel, Berlin/D, U. Braun, Berlin/D

Paul Eisentraut, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung,  
Unter den Eichen 87, Berlin/D

### **Einleitung**

Stabilisotopenmarkierte Verbindungen sind in der Analytik von allerhöchstem Wert<sup>1</sup>. Aufgrund ihrer annähernd identischen chemischen und physikalischen Eigenschaften ist für sie über das gesamte analytische Verfahren die gleiche Signalausbeute wie für die nativen Analyten gegeben. Gleichzeitig sind der Analyt und das markierte Äquivalent (oder ihre Isotopenverhältnisse) mit Hilfe der Massenspektrometrie unterscheidbar, was eine Quantifizierung ohne weitere Kalibrierung o. ä. ermöglicht. Stabilisotopenmarkierte Verbindungen ermöglichen quantitative Bestimmungen mit höchster Präzision und Genauigkeit. Sogar eine Verbesserung der Bestimmungsgrenzen ist möglich, da Analytverluste innerhalb der Methode sich statistisch gleich auf den Analyten und die entsprechende stabilisotopenmarkierte Verbindung auswirken. Am weitesten verbreitet sind Deuterium (D)- und <sup>13</sup>C-markierte Verbindungen, wobei die Verwendung letzterer meist kostenintensiver ist.

Im noch recht neuen Feld der Mikroplastikanalytik mittels thermoanalytischer Verfahren werden momentan stabilisotopenmarkierte Verbindungen als interne Standards etabliert. Das Funktionsprinzip der zwei am weitesten verbreiteten Methoden Pyrolyse Gaschromatographie Massenspektrometrie (Py-GC-MS) sowie Thermische Extraktion- und Desorption Gaschromatographie Massenspektrometrie (TED-GC-MS) beruht auf der Erzeugung und Detektion polymerspezifischer thermischer Zersetzungsprodukte. Für diese Verfahren werden deuterierte Polymere als interne Standards verwendet<sup>2-4</sup>. Beispielsweise kommt deuteriertes Polystyrol (D5PS) zum Einsatz, bei dem alle phenylischen Wasserstoffatome durch Deuterium substituiert sind, die Wasserstoffatome des aliphatischen Polymerrückgrats hingegen nicht. Vorteilhaft ist, dass sich D5PS in einem vergleichbaren Temperaturbereich wie die Analyten zersetzt, somit den gesamten Detektionsprozess mit durchläuft und gleichzeitig gut dosierbar ist. Bei der Analytik von Mikroplastik werden unter sehr spezifischen Voraussetzungen Veränderungen der Zersetzungsprodukte von D5PS beobachtet. Die Untersuchung dieser Effekte mittels TED-GC-MS zeigt eine Reihe von interessanten Ergebnissen im Hinblick auf die Verwendung von deuterierten Standards in der GC-MS-Analytik.

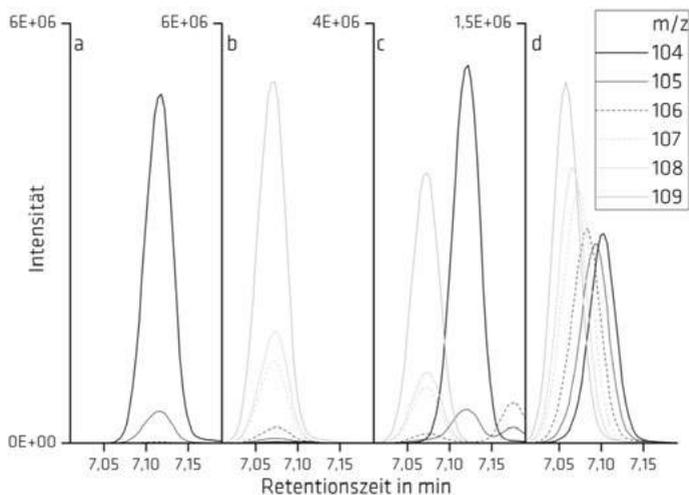
## Methode

Im Verfahren TED-GC-MS wird das Probenmaterial in einer thermogravimetrischen Analysenwaage unter Stickstoffatmosphäre bis 600 °C erhitzt. Die entstehenden Zersetzungsprodukte werden mit einem Stickstoffstrom abtransportiert und durch ein beheiztes Kopplungsmodul über einen Festphasen-Adsorber aus Polydimethylsiloxan geleitet. Nachdem die Festphase mit einem repräsentativen Auszug der Zersetzungsprodukte beladen ist, transportiert ein Autosampler die Festphase zu einem Gaschromatographen mit Massenspektrometer und thermischer Desorptionseinheit. Hier werden die Zersetzungsprodukte von der Festphase thermisch remobilisiert, in einem Kaltaufgabesystem kryofokussiert, auf der gaschromatographischen Säule voneinander getrennt und im Massenspektrometer detektiert<sup>3,5</sup>.

## Ergebnisse

Sand bildet keine eigenen Pyrolyseprodukte und ist daher eine vermeintlich einfache Matrix, die gern als Modell für Verfahrensoptimierungen gewählt wird, da von ihm keine Matrixeffekte zu erwarten sind.

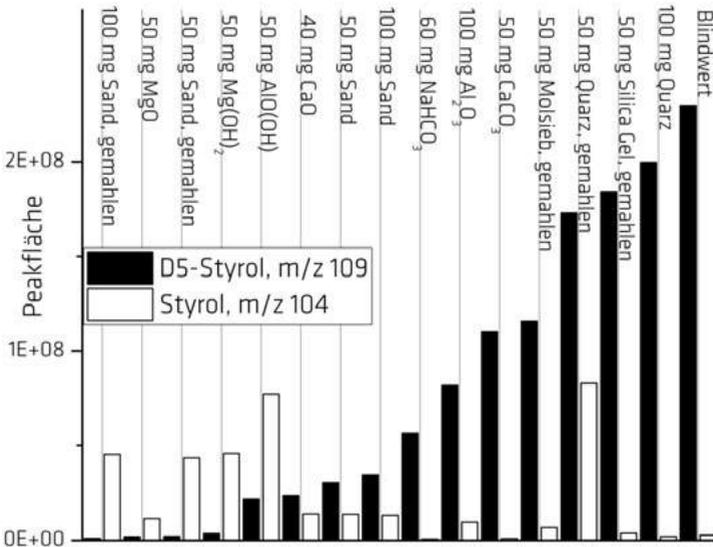
Zudem ist die C-H- bzw. C-D-Bindung am Aromaten des D5PS reaktionsträge, so dass auch hier keine Komplikationen vorhersehbar waren. Es ist jedoch zu beobachten, dass die Deuteriumatome am Zersetzungsprodukt D5-Styrol durch Wasserstoffatome ersetzt werden, wenn Sand, Glasfasern oder andere bestimmte Matrices verwendet werden. Abbildung 1 zeigt Ionenspurchromatogramme, die das Auftreten von Isotopologen des Styrols mit teilweise oder komplett substituierten Deuterium belegen. Die Ionenspur 104 wird durch Styrol gebildet; die Ionenspur 109 durch D5-Styrol.



**Abbildung 1:** Ionenspurchromatogramme von a) Styrol, b) D5-Styrol, c) Umweltprobe mit moderatem organischem Anteil: Styrol und D5-Styrol sind problemlos nebeneinander detektierbar, d) D5-Styrol nach H/D-Austausch an Glasfasern

Durch den Austausch ist die Eignung der markierten Substanz als interner Standard für diese Matrices nicht mehr gegeben. Zudem werden Styrolpeaks generiert, die zu Fehlinterpretationen der Messergebnisse führen können.

Sand und Glasfasern bestehen hauptsächlich aus Siliciumdioxid und anorganischen Metallverbindungen. Entgegen erster Annahmen sind aber nicht das Siliciumdioxid oder Silanolgruppen für den H/D-Austausch verantwortlich, wie Messungen an Quarz und Silicagel zeigten. Vielmehr scheinen Erdalkali- und Aluminiumverbindungen den Austausch effizient zu katalysieren. Zudem ist eine starke Abhängigkeit von der spezifischen Oberfläche der anorganischen Komponente erkennbar. So haben z.B. gemahlener Sand oder Quarz selbst bei geringeren Einwaagen einen größeren Effekt als die ungemahlene Materialien. Abbildung 2 zeigt den Effekt verschiedener anorganischer Verbindungen auf die Peakflächen von Styrol und D5-Styrol bei Pyrolyse von je 5 µg deuteriertem Polystyrol.



**Abbildung 2:** Peakflächen von Styrol (m/z 104) und D5-Styrol (m/z 109) bei Pyrolyse von je 5 µg deuteriertem Polystyrol in Gegenwart unterschiedlicher anorganischer Verbindungen, geordnet nach abnehmender Effektstärke

Durch Variation am Kaltaufgabesystem (KAS) des TED-GC-MS-Systems konnte die H/D-Austauschreaktion weiter untersucht werden. Dazu wurde das D5PS ohne weitere Matrix direkt im Tiegel eingewogen. Diese Experimente erlauben eine sehr detaillierte Untersuchung der relevanten Parameter der H/D-Austauschreaktion.

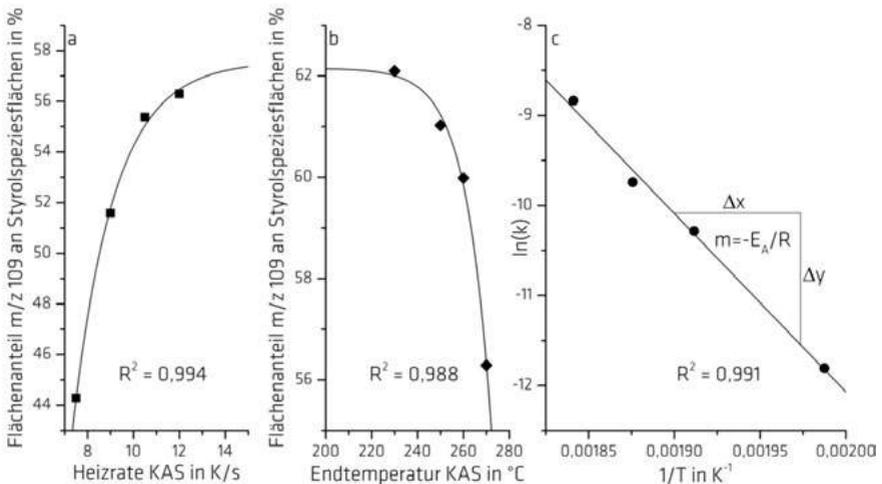
Die Ergebnisse dazu sind in Abbildung 3 zusammengefasst.

Die desorbierten Zersetzungsprodukte wurden zunächst bei  $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$  auf einem neuen Glasfaserliner gesammelt und anschließend zügig erhitzt und dadurch auf die chromatographische Säule transferiert. Die Anwendung niedriger Heizraten führt zu einem längeren Verbleib der Substanzen an der katalytisch aktiven Glasfaser und einem stärkeren H/D-Austausch. Die Interpolation der Daten lässt erwarten, dass der Austausch ab einer Heizrate von ca.  $15\text{ K/s}$  nicht mehr auftritt.

Die Verwendung höherer Endtemperaturen an der Glasfaser im Kaltaufgabesystem führt zu einem intensiveren H/D-Austausch. Die Reaktion startet bei ca.  $220\text{ }^{\circ}\text{C}$  und nimmt mit zunehmender Temperatur stark zu.

Im Kaltaufgabesystem finden zwei Prozesse parallel statt: die H/D-Austauschreaktion und die Desorption der Pyrolyseprodukte in die GC-Säule. Deshalb und aufgrund weiterer Annahmen (u.a. vollständige initiale Depolymerisation des D5PS in D5-Styrol) ist die Auftragung der Daten im Arrheniusplot und die daraus erhaltene Aktivierungsenergie nur als grobe Näherung möglich. Die Aktivierungsenergie für den H/D-Austausch an der Glasfaser als Katalysator beträgt ca.  $171\text{ kJ/mol}$ .

Der H/D-Austausch wird effektiv unterbunden, wenn die Probe einen Massenanteil an pyrolysierbarer Organik von ca.  $5\%$  enthält (ohne Abbildung). Der Mechanismus hierzu ist noch unklar.



**Abbildung 3:** Flächenanteile der Ionenspur 109 an allen Styrolmolekülonenspuren in Abhängigkeit a) der Heizrate und b) der Endtemperatur des KAS sowie c) Arrheniusplot für den Umsatz an D5-Styrol in Abhängigkeit der Endtemperatur des KAS

## Zusammenfassung

Bei der Analyse von Mikroplastik per TED-GC-MS in Sand- und Glasfasermatrixen wurde ein Isotopenaustausch bemerkt, der den internen Standard, bestehend aus deuteriertem Polystyrol, empfindlich stört. Dieser Isotopenaustausch konnte detaillierter untersucht werden. Er findet an fein verteilten erdalkali- und aluminiumhaltigen Oberflächen bei Temperaturen oberhalb von 220 °C statt, wenn der Gehalt an pyrolysierbarer Organik 5 % unterschreitet. Für die Mikroplastikanalyse kann der Prozess durch den Zusatz von geringen Mengen organischer Matrix bzw. der Vermeidung von Glasfaser(linern) erfolgreich unterbunden werden. Die Relevanz der Isotopenaustauschreaktion geht jedoch über die Mikroplastikdetektion hinaus. Der H/D-Austausch ist auch an anderen deuterierten Standardsubstanzen zu erwarten, insbesondere wenn schwächere C-D-Bindungen als phenylische vorliegen.

## Literatur

- [1] M. Rychlik, *Umweltwiss Schadst Forsch* **2009**, 21, 470-482.
- [2] K. Unice, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2012**, 9, 4033-4055.
- [3] P. Eisentraut, *Environmental science & technology letters* **2018**, 5, 608-613.
- [4] G. Dierkes, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2019**, 411(26), 6959-6968.
- [5] E. Dümichen, *J. of Chromatography A* **2019**, 1592, 133-142.

## Reifenabrieb in größenfraktionierten Proben aus dem Straßenraum

P. Klöckner, Leipzig/D, B. Seiwert, Leipzig/D, T. Reemtsma, Leipzig/D, S. Wagner, Leipzig/D

Philipp Klöckner, Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH, Department Analytik, Permoser Str. 15, 04318 Leipzig/D; [philipp.kloeckner@ufz.de](mailto:philipp.kloeckner@ufz.de)

### Einleitung

Neben Emissionen aus Verbrennungsprozessen entstehen im Straßenverkehr auch Emissionen aufgrund des Verschleißes von Fahrzeugteilen. Eine der größten Quellen dieser Emissionen stellen Reifenabriebpartikel dar, welche durch Haftreibung zwischen Autoreifen und Straßenoberfläche entstehen. Während des Abriebprozesses werden Heteroaggregate mit anderen Partikeln auf der Straße gebildet, welche als TRWP (engl.: tire and road wear particles) bezeichnet werden.

Die Partikelgrößenverteilung von TRWP ist eine entscheidende Eigenschaft für das Verhalten in der Umwelt; allerdings ist sie nicht gut bekannt [1]. Studien berichten von Partikelgrößen von wenigen Nanometern bis hin zu mehreren hundert Mikrometern [2]. Diese wurden entweder beim Abrieb von Reifen in Fahrbahnsimulatoren bestimmt [3–5] oder direkt während der Fahrt am Fahrzeug gemessen [6]. Studien mit Fokus auf luftgängige Partikel ( $< 10 \mu\text{m}$ ) zeigten eine bimodale Verteilung mit Peaks im Nanometer und Mikrometerbereich, wohingegen in Fahrbahnsimulatoren auch Partikel mit einer Größe von bis zu  $220 \mu\text{m}$  identifiziert wurden [2]. Nur wenige Studien haben bisher die Größenverteilung von „realen“ TRWP im Größenbereich  $> 10 \mu\text{m}$  untersucht [7].

Vor dem Hintergrund der wissenschaftlichen Debatte um Mikroplastik und den diskutierten Anteilen von ca. 50% Reifenabrieb an den Gesamtemissionen von sekundärem Mikroplastik [8] ist es von entscheidender Wichtigkeit für die Bewertung der Umweltrelevanz, ob ein Großteil der emittierten Menge als Nanopartikel, als luftgängige PM<sub>10</sub> Partikel oder als grobkörnige Partikel  $> 50 \mu\text{m}$  entstehen. Das Verhalten in der Umwelt, die toxischen Effekte und Entfernungsmöglichkeiten für Partikel dieser Größenklassen unterscheiden sich maßgeblich.

TRWP können unter anderem über die Verwendung von Markersubstanzen quantifiziert werden [2]. So kann zum Beispiel Zink (Zn) als spezifisches Markerelement verwendet werden um TRWP zu quantifizieren, sofern diese von der umgebenden Matrix angereichert werden [9]. Organische Substanzen, welche üblicherweise in Reifen enthalten sind, und sowohl in Reifenpartikeln als auch in Umweltproben nachgewiesen wurden, sind unter anderen Benzothiazol, Derivate von Benzothiazol,

Ozonschutzmittel und Vulkanisationsbeschleuniger aus der Gruppe der Guanidine [4,5].

In der vorliegenden Studie wurden Proben aus dem städtischen Straßenraum sowie aus Behandlungsanlagen für Autobahnabwasser hinsichtlich ihrer TRWP Gehalte und der Konzentrationen organischer Reifeneinhaltsstoffe untersucht. Zudem wurden die Gehalte in Korngrößenfraktionen einzelner Proben bestimmt, um eine Größenklasse mit der höchsten TRWP Konzentration zu identifizieren.

### Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden folgende Proben aus dem Straßenraum genommen: Straßenkehricht aus Straßenreinigungsfahrzeugen, welche im Stadtgebiet Leipzig eingesetzt wurden (SK\_North, SK\_West, SK\_South), Sedimente einer Behandlungsanlage für Autobahnabwässer in Berlin (18HAL, 19HAL) sowie Sedimente aus Sedimentationsteichen für Abwässer der Autobahn A38 bei Leipzig (S1In, S1Out, S2In, S2Out). Die Proben wurden getrocknet und auf eine Korngröße < 500 µm gesiebt. Vier Proben (18HAL, 19HAL, SK\_North, SK\_West) wurden nass gesiebt in folgende Größenfraktionen: 0 – 20 µm, 20 – 50 µm, 50 – 100 µm, 100 – 250 µm, 250 – 500 µm. Der Anteil an TRWP wurde über den Zinkgehalt nach Anreicherung bestimmt [9]. Die Dichteseperation wurde mit Natriumpolywolframat mit einer Dichte von 1.9 g/cm<sup>3</sup> durchgeführt. Die aufgeschwemmte Fraktion wurde mit Mikrowellensäureaufschluss unter Verwendung von Salpetersäure und Wasserstoffperoxid gelöst. Elementgehalte wurden in Lösung mittels Massenspektrometrie mit induktiv-gekoppeltem Plasma bestimmt.

Folgende organische Inhaltsstoffe wurden untersucht: Benzothiazol (BT), 2-Mercaptobenzothiazol (MBT), 2-Morpholinothiobenzothiazol (OBS), 2-Methylthiobenzothiazol (MTBT), 2-Hydroxybenzothiazol (OHBT), Aminobenzothiazol (ABT), N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-1,4-phenylenediamin (6PPD) und 1,3-Diphenylguanidin (DPG). Die Analyten wurden im Ultraschallbad mit Isopropanol extrahiert. Anschließend wurden die Extrakte unter Stickstoffstrom eingeengt, wieder aufgenommen mit 50% Methanol und filtriert. Die Messung erfolgte im Flugzeitmassenspektrometer nach chromatographischer Trennung (LC-HRMS), die Quantifizierung erfolgte mit Hilfe von externer Kalibrierung.

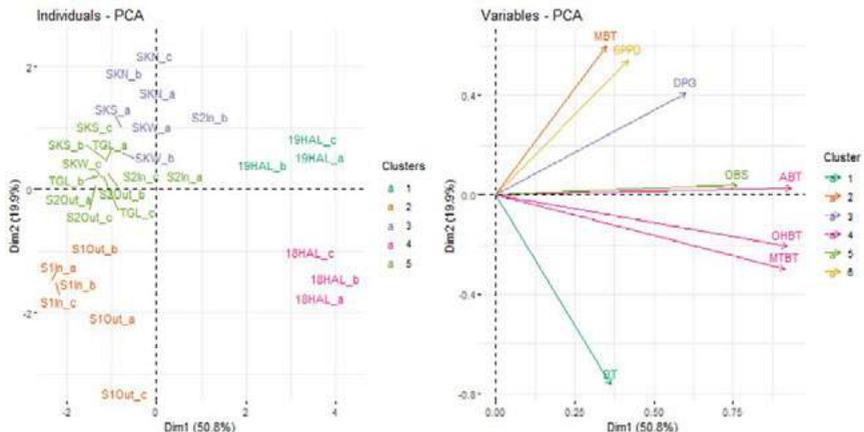
### Ergebnisse

Die Gehalte von TRWP in Proben aus dem Straßenraum lagen im Bereich zwischen 3.7 bis 480 mg/g (Tabelle 1). Proben aus der Behandlungsanlage in Berlin (18HAL, 19HAL) wiesen die mit Abstand höchsten Konzentration auf. Die Konzentrationen der Straßenkehrichtproben (SK\_North, SK\_South, SK\_West) zeigten nur geringe Abweichungen voneinander und lagen zwischen 6.7 – 9.5 mg/g. Proben aus der Behandlungsanlage der A38 zeigten geringere Konzentrationen am Einlass der Sedimentationsteiche (S1In, S2In) als am Auslass (S1Out, S2Out). Die TRWP Gehalte entsprechen den aus der Literatur erwarteten Konzentrationen [2].

**Tabelle 1** TRWP Gehalt in mg/g in Umweltproben. Gezeigte Werte stellen den Median (n=3) ± eine Standardabweichung dar

Probe	18HAL	19HAL	SK_North	SK_South	SK_West	S1In	S1Out	S2In	S2Out
Median	480±11	360±4.0	9.4±0.26	6.7±0.26	8.0±0.56	6.9±0.50	20±0.81	3.7±0.27	16±12
std.dev.									

Die Konzentrationen der organischen Analyten reichten vom unteren ng/g Bereich bis zu mehreren Hundert ng/g. Eine Hauptkomponentenanalyse wurde durchgeführt und zeigte eine Gruppierung der 18HAL und 19HAL Proben separat von den restlichen Proben (Abbildung 1a). Die Proben S1In und S1Out bildeten einen weiteren Cluster, wohingegen die SK Proben sowie S2In und S2Out nicht unterscheidbar waren. Dies deutet auf eine unterschiedliche Probenzusammensetzung einzelner Proben hin. Diese könnte in der Probenherkunft begründet sein, da sich die Abriebprozesse auf Schnellstraßen von denen auf städtischen Straßen unterscheiden [6,12]. Sie könnte auch ein Ergebnis von selektiven Transportprozessen sein, da nur ein Teil der auf den Straßen generierten Partikel mit dem Straßenabwasser transportiert werden [2]. Sie könnte aber auch in der Verweilzeit der Partikel in der Umwelt begründet sein: Partikel in den Straßenkehrrichtproben (SK) wurden direkt am Entstehungsort gesammelt und sind vermutlich deutlich jünger als Partikel in den Sedimentproben. Diese Ergebnisse zeigen, dass allgemein gültige Aussagen über TRWP schwer zu treffen sind und die Umgebungsbedingungen bei der Entstehung, die Partikelherkunft und das untersuchte Umweltkompartiment berücksichtigt werden müssen.

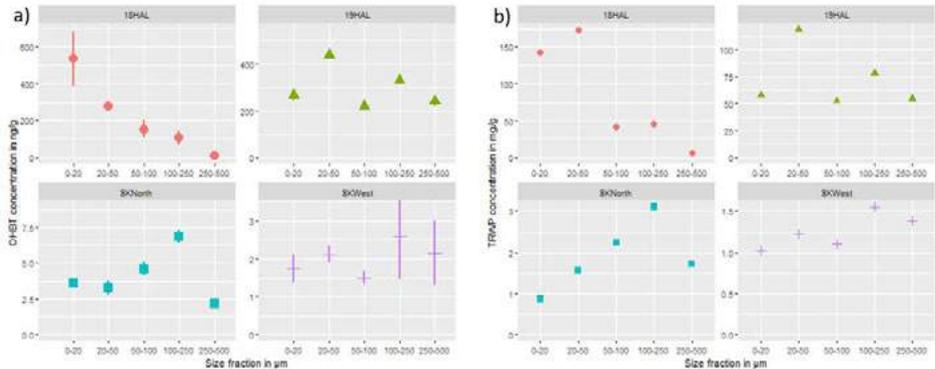


**Abbildung 1** Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse; in a) sind die Individuen (Proben) dargestellt, in (b) die Variablen (Substanzen).

Drei der Benzothiazole hatten den stärksten Einfluss auf die erste Hauptkomponente: ABT, OHBT und MTBT (Abbildung 1b). Starke und statistisch signifikante Pearson-Korrelationen zwischen TRWP-Gehalt und organischen Analyten bestanden für OHBT ( $r = 0.94$ ,  $p = 4.0 \times 10^{-5}$ ), ABT ( $r = 0.99$ ,  $p = 5.8 \times 10^{-6}$ ) und MTBT ( $r = 0.94$ ,  $p = 0.020$ ), wohingegen für die anderen Analyten keine oder nur sehr schwache Korrelationen festgestellt werden konnten. Die Eignung der organischen Analyten für eine Indikation von TRWP ist also substanzspezifisch.

Der TRWP Gehalt und die Konzentration organischer Analyten wurden zudem in Korngrößenfraktionen nass gesiebter Proben bestimmt (Abbildung 2; OHBT ist exemplarisch dargestellt). Zwischen den Proben sind deutliche Unterschiede erkennbar. In der Probe 18HAL sind die Konzentrationen von TRWP und OHBT in den kleinsten Größenfraktionen am höchsten. Für die Probe 19HAL konnte eine bimodale Verteilung festgestellt werden. In der Probe SK\_North nahm die Konzentration über die Größenklassen zu, während in der SK\_West Probe nur geringe Unterschiede zwischen den Fraktionen auszumachen waren. Grundsätzlich wurden in den Straßenkehrichproben die höchsten Konzentrationen in der Fraktion 100 – 250  $\mu\text{m}$  festgestellt, während in den Sedimenten die Konzentrationen in den Fraktionen 0 – 20  $\mu\text{m}$ , bzw. 20 – 50  $\mu\text{m}$  höher waren. Dies könnte ein Ergebnis der Entstehungsbedingungen sein: die Partikelgrößenverteilung kann zum Beispiel von der Fahrweise oder vom Straßenbelag abhängig sein [6]. Es könnte aber auch in einem selektiven Transport kleinerer Partikel in die Sedimentationsanlage begründet sein, bei welchem grobe Partikel schon früher sedimentierten oder mit dem Autobahnabwasser nicht transportiert wurden.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen folgende Schlussfolgerungen zu: Der größte Massenanteil an TRWP entsteht in der Größenklasse 100 – 250  $\mu\text{m}$ . Der in der Umwelt mobile, aber bezogen auf die Partikelmasse weniger relevante Anteil an TRWP hat eine Partikelgröße < 50  $\mu\text{m}$ . Weitere Studien sind notwendig, um diese Massenanteile zu beziffern und von den jährlichen TRWP Emissionen eine umweltrelevante Emissionsmenge abzuleiten. Auch Alterungsprozesse von TRWP in der Umwelt und ihre Folgen für die Partikelgrößen und Marker-Gehalte müssen besser untersucht werden.



**Abbildung 2** Verteilung von OHBT und TRWP über die Größenfraktionen. Organische Analyten wurden im Triplikate bestimmt, die Fehlerbalken zeigen eine Standardabweichung. Für die TRWP Bestimmung lagen Einzelmessungen vor.

## Danksagung

Die Autoren danken dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Finanzierung des Projekts MiWa („Mikroplastik im Wasserkreislauf - Probenahme, Probenbehandlung, Analytik, Vorkommen, Entfernung und Bewertung“; Förderkennzeichen 02WRS1378H) sowie den Berliner Wasserbetrieben, der Leipziger Autobahnmeisterei und der Straßenreinigung Leipzig für die Ermöglichung der Probenahme.

## Literatur

- [1] K.M. Unice, M.P. Weeber, M.M. Abramson, R.C.D. Reid, J.A.G. van Gils, A.A. Markus, A.D. Vethaak, J.M. Panko, Characterizing export of land-based microplastics to the estuary - Part I: Application of integrated geospatial microplastic transport models to assess tire and road wear particles in the Seine watershed, *Sci. Total Environ.* 646 (2019) 1639–1649.
- [2] S. Wagner, T. Hüffer, P. Klöckner, M. Wehrhahn, T. Hofmann, T. Reemtsma, Tire wear particles in the aquatic environment - A review on generation, analysis, occurrence, fate and effects, *Water Res.* 139 (2018) 83–1000.
- [3] T. Grigoratos, M. Gustafsson, O. Eriksson, G. Martini, Experimental investigation of tread wear and particle emission from tyres with different treadwear marking, *Atmos. Environ.* 182 (2018) 200–212.

- [4] M.L. Kreider, J.M. Panko, B.L. McAtee, L.I. Sweet, B.L. Finley, Physical and chemical characterization of tire-related particles: Comparison of particles generated using different methodologies, *Sci. Total Environ.* 408 (2010) 652–659.
- [5] I. Park, H. Kim, S. Lee, Characteristics of tire wear particles generated in a laboratory simulation of tire/road contact conditions, *J. Aerosol Sci.* 124 (2018) 30–40.
- [6] S. Lee, J. Kwak, H. Kim, J. Lee, Properties of roadway particles from interaction between the tire and road pavement, *Int. J. Automot. Technol.* 14 (2013) 163–173.
- [7] F. Sommer, V. Dietze, A. Baum, J. Sauer, S. Gilge, C. Maschowski, R. Gieré, Tire abrasion as a major source of microplastics in the environment, *Aerosol Air Qual. Res.* 18 (2018) 2014–2028.
- [8] C. Lassen, S.F. Hansen, K. Magnusson, N.B. Hartmann, P. Rehne Jensen, T.G. Nielsen, A. Brinch, F. Norén, N.B. Hartmann, P. Rehne Jensen, T.G. Nielsen, A. Brinch, *Microplastics - Occurrence, effects and sources of releases to the environment in Denmark*, The Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen, 2015.
- [9] P. Klöckner, T. Reemtsma, P. Eisentraut, U. Braun, A.S. Ruhl, S. Wagner, Tire and road wear particles in road environment – Quantification and assessment of particle dynamics by Zn determination after density separation, *Chemosphere.* 222 (2019) 714–721.
- [10] J. Zhang, X. Zhang, L. Wu, T. Wang, J. Zhao, Y. Zhang, Z. Men, H. Mao, Occurrence of benzothiazole and its derivatives in tire wear, road dust, and roadside soil, *Chemosphere.* 201 (2018) 310–317.
- [11] K.M. Unice, J.L. Bare, M.L. Kreider, J.M. Panko, Experimental methodology for assessing the environmental fate of organic chemicals in polymer matrices using column leaching studies and OECD 308 water/sediment systems: Application to tire and road wear particles, *Sci. Total Environ.* 533 (2015) 476–487.
- [12] M. Gustafsson, G. Blomqvist, A. Gudmundsson, A. Dahl, E. Swietlicki, M. Bohgard, J. Lindbom, A. Ljungman, Properties and toxicological effects of particles from the interaction between tyres, road pavement and winter traction material, *Sci. Total Environ.* 393 (2008) 226–240.

## Subµ-Plastik-Charakterisierung mittels einer Online-Kopplung von Raman-Mikrospektroskopie und Feldflussfraktionierung

C. Schwaferts, München/D, V. Sogne, Landsberg/D, R. Welz, Landsberg/D, F. Meier, Landsberg/D, T. Klein, Landsberg/D, R. Niessner, München/D, M. Elsner, München/D, N. P. Ivleva, München/D,

Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie,  
Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie,  
Technische Universität München, Marchioninistr. 17, 81377 München/D  
Christian Schwaferts, E-Mail: christian.schwaferts@tum.de

In der wissenschaftlich und öffentlich kontrovers diskutierten Mikroplastik-Thematik entsteht ein zunehmendes Interesse an Partikeln unter der Größengrenze von Mikroplastik (MP, 1 µm – 1 mm [1]), dem sog. Subµ- und Nanoplastik (SNP, 100 nm – 1 µm bzw. < 100 nm [1]). Wie MP wird SNP entweder direkt in die Umwelt eingetragen (primäres MP/SNP) oder entsteht durch Fragmentierung von größerem Plastik durch verschiedene Umwelteinflüsse [2,3] (sekundäres MP/SNP) und wurde in marinen Systemen bereits detektiert [4]. MP wird vorwiegend mit mikroskopisch-spektroskopischen (IR- oder Raman-Mikroskopie) oder thermoanalytisch-massenspektroskopischen Methoden (z.B. Pyrolyse-GC-MS) analysiert [2,5]. Diese Methoden stehen bei der Analyse von SNP allerdings vor Limitierungen im Hinblick auf Partikelgröße bzw. geringem Massengehalt. Weiterhin ist der Einsatz von Techniken aus der Nanopartikel-Analyse nur sehr eingeschränkt möglich, da viele dieser Methoden eine chemische Charakterisierung nur hinsichtlich der elementaren Zusammensetzung ermöglichen, was allerdings für eine chemische Charakterisierung von organischen (synthetischen) Polymeren nicht ausreicht [6].

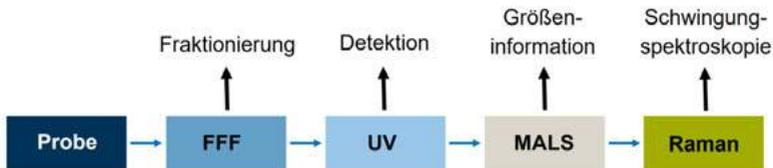


Abb. 1: Schema der Subµ- und Nanoplastik-Analyse mittels FFF-UV-MALS-Raman. Neben der Online-Kopplung von FFF und Raman-Mikrospektroskopie wurden aus den verschiedenen kommerziellen Detektoren zudem ein UV- und ein Multi-Angle-Light-Scattering (MALS) Detektor ausgewählt, um die Fraktionen zu detektieren und Größeninformationen zu erhalten. Diese physikalische Information wird mit chemischer Information durch Raman-Mikrospektroskopie ergänzt.

Für die Analyse von SNP ist es daher nötig mehrere Techniken zu kombinieren. Hierbei kann die Feldflussfraktionierung (FFF), eine Partikeltrenntechnik, die den ganzen Nanometerbereich abdeckt, durch ihre nachgeschalteten Detektoren eine physikalische Charakterisierung geben [7]. Die Raman-Mikrospektroskopie (RM) hingegen kann, durch ihre Eignung für wässrige Proben, eine chemische Identifizierung der suspendierten Partikel ermöglichen (s. Abb. 1). Allerdings ist die RM dadurch eingeschränkt, dass in den verdünnten Suspensionen des Eluenten die Signalintensität nicht ausreicht. Diese prominente Forschungslücke wurde in dieser Arbeit durch eine laser-optische Fokussierung der Partikel gelöst.

Hierfür wurde eine Flusszelle konstruiert, in der die Partikel des Eluentenflusses durch eine optische Falle gesammelt und für die Aufnahme von Raman-Spektren festgehalten werden. Dies wurde für Partikel im Größenbereich von 200 nm – 5 µm, mit minimalen Konzentrationen um ca. 1 mg/L ( $10^9$  Partikel/L) und verschiedenen Partikelmaterialien (PS, PMMA, SiO<sub>2</sub>) validiert. Um die Trenninformation der FFF nicht zu verlieren, wurden die Partikel nach erfolgter Detektion in periodischen Intervallen wieder frei gelassen.

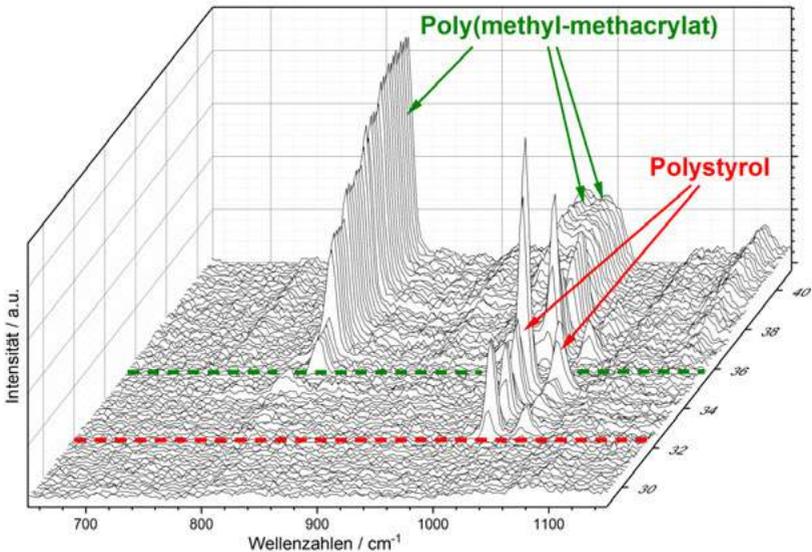


Abb. 2: AF4-Raman-Daten eines aufgetrennten Partikelgemischs aus 350 nm Polystyrol und 500 nm Poly(methyl-methacrylat). Der 3D-Plot zeigt die Serie von Raman-Spektren, anhand eines Ausschnitts mit charakteristischen Banden für die beiden Polymere: 1000 cm<sup>-1</sup> für Polystyrol und 812 cm<sup>-1</sup> für Poly(methyl-methacrylat). Die Raman-Signale erscheinen zeitlich versetzt bei  $t = 32$  min und  $t = 36$  min und identifizieren das Polymer eindeutig. (Schwaferts et al., submitted)

Die Online-Kopplung wurde für die Asymmetrische Fluss-Feldflussfraktionierung (AF4) und die Zentrifugale Feldflussfraktionierung (CF3) umgesetzt, zwei verschiedene Varianten von FFF, die nach unterschiedlichen Prinzipien trennen. Abb. 2 zeigt eine

solche Trennung eines Gemischs von 350 nm Polystyrol (PS) und 500 nm Poly(methylmethacrylat) (PMMA). Die zeitaufgelösten AF4-Raman Daten demonstrieren die erfolgreiche Trennung des Partikelgemisches anhand der verschiedenen Spektren der unterschiedlichen Polymere, welche durch charakteristische Schwingungsbanden (PS:  $1000\text{ cm}^{-1}$ , PMMA:  $812\text{ cm}^{-1}$ ) identifiziert werden.

Diese spektroskopische Information kann die chemische Identität SNP identifizieren und durch die physikalischen Daten des UV- und MALS-Detektors durch Größeninformationen komplementieren, wodurch eine schnelle und umfassende SNP Analyse möglich wird. Durch die Online-Kopplung mit verschiedenen Varianten von FFF mit unterschiedlichen Trennkräften können verschiedenartige Proben optimal untersucht werden. So ist beispielsweise die AF4 für den Größenbereich  $< 100\text{ nm}$  sehr gut geeignet und die CF3 kann unterschiedliche Polymere mit verschiedener Dichte besser separieren und zudem auch Partikel im unteren Mikrometerbereich ( $< 10\text{ }\mu\text{m}$ ) trennen.

Somit wird durch die implementierte Online-Kopplung von FFF-UV-MALS-Raman eine physikalische und chemische Charakterisierung von SNP ermöglicht. Dies stellt in Aussicht, dass mit verhältnismäßig geringem Zeitaufwand eine Analytik in diesem schwer zugänglichen Größenbereich möglich wird. Um dies zu realisieren fokussieren sich kommende Untersuchungen auf die Machbarkeit von unregelmäßigen Partikeln und Realproben.

#### Danksagung

Wir danken dem BMBF für die Bereitstellung der finanziellen Mittel für das Projekt *Sub $\mu$ Track* in der Fördermaßnahme *Plastik in der Umwelt*.

#### Literatur:

- [1] N. B. Hartmann *et al.*, *Environ. Sci. Technol.* **2019**, *53*, 1039–1047
- [2] N. Ivleva, A. Wiesheu, R. Niessner, *Angew. Chem.*, **2017**, *129*, 1744–1764
- [3] S. Lambert, M. Wagner, *Chemosphere* **2016**, *161*, 510–517
- [4] A. Ter Halle, L. Jeanneau, M. Martignac, E. Jardé, B. Pedrono, L. Brach, J. Gigault, *Environ. Sci. Technol.*, **2017**, *51*, 13689–13697
- [5] S. Huppertsberg, T. Knepper, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2018**, *410*(25), 6343–6352
- [6] C. Schwaferts, R. Niessner, M. Elsner, N. Ivleva, *Trends Analyt. Chem.*, **2019**, *112*, 52–65
- [7] C. Contado, *Anal. Bioanal. Chem.* **2017**, *409*, 2501–2518

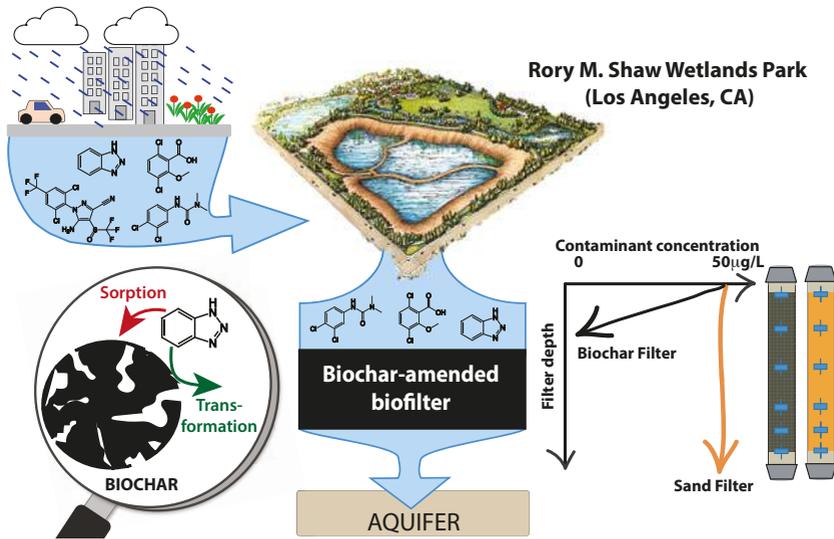
**Enhanced removal of hydrophilic trace organic contaminants  
from urban stormwater in biochar-amended biofilters**

S. Spahr, Stanford/USA, M. Teixidó, Berkeley/USA, D. L. Sedlak, Berkeley/USA,  
R. G. Luthy, Stanford/USA

Dr. Stephanie Spahr, University of Tübingen, Hölderlinstr.12, Tübingen/D

### **Introduction**

To reinvent their urban water supply systems, water-stressed cities such as Los Angeles (California, USA) are expanding the use of locally available water through actively capturing urban stormwater for aquifer recharge. Stormwater capture, treatment, and recharge projects such as the Rory M. Shaw Wetlands Park in Los Angeles are designed to augment groundwater supplies, prevent flooding and beach pollution, and improve water quality. As highlighted in our recent review article (Spahr et al. 2019), urban stormwater carries diverse mixtures of hydrophilic and often persistent trace organic contaminants such as urban-use pesticides, flame retardants, corrosion inhibitors, plasticizers, and lifestyle compounds. Many trace organic contaminants are not regulated to date, yet trace concentrations of these chemicals can pose a risk to ecosystem and human health especially when using urban stormwater for (non)potable purposes. Conventional green infrastructure such as constructed wetlands or biofilters (also known as bioretention cells or rain gardens) effectively remove particle-associated pollutants such as petroleum hydrocarbons but often fail to eliminate hydrophilic organic contaminants. We investigated biochar-amended biofilters for enhanced removal of polar and ionizable compounds from urban stormwater in Los Angeles. In a 1.5-year long column study, we demonstrate the beneficial effect of biochar amendments to conventional sand filters and reveal the impact of (i) biochar amount, (ii) compost-biochar combination, and (iii) infiltration rate on redox conditions and contaminant removal. The performance of nine different configurations of sand, biochar, and compost was assessed at two different hydraulic retention times of five hours and twenty hours. The filter materials were conditioned for four months with actual stormwater collected in Los Angeles. Subsequently, we introduced 19 hydrophilic organic compounds including herbicides, insecticides, corrosion inhibitors, organophosphate flame retardants, and wastewater indicator compounds to investigate sorption and biotransformation processes on the strongly matured filter materials.



**Figure 1** Stormwater capture, treatment, and recharge at the Rory M. Shaw Wetlands Park in Los Angeles, California (USA). Biochar-amended biofilters significantly enhanced the removal of polar trace organic contaminants from urban stormwater compared to sand-only systems.

## Results

While removal of the selected trace organic contaminants was negligible in sand-only systems, biochar amendments of 5 percent by weight effectively retained all of the target chemicals for more than 500 pore volumes. The presence of compost reduced sorption of organic contaminants onto biochar, but promoted biotransformation of highly water soluble and anionic species such as the herbicide dicamba, which was least retained by biochar. Concentration profiles over the depth of the filter columns allowed the prediction of breakthrough times and an assessment of the long-term performance of biochar-amended filters under different flow regimes.

## Literature

- [1] R. G. Luthy, S. Sharvelle, P. Dillon, *Environ. Sci. Technol.* **2019**, 53, 5534-5542
- [2] S. Spahr, M. Teixidó, D. L. Sedlak, R. G. Luthy, *Environ. Sci.: Water Res. Technol.* **2019**, DOI: 10.1039/C9EW00674E
- [3] N. Ashoori, M. Teixidó, S. Spahr, G. H. LeFevre, D. L. Sedlak, R. G. Luthy, *Water Res.* **2019**, 154, 1-11

## **Einflussfaktoren für die biologische Transformation organischer Spurenstoffe in Sandfiltern**

J. Filter\*, Berlin/D, M. Kopp, Berlin/D, Y. Wang, Berlin/D, A. S. Ruhl, Berlin/D,  
M. Jekel, Berlin/D

Technische Universität Berlin, FG Wasserreinhaltung, Sekr. KF4,  
Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin

\*josefine.filter@tu-berlin.de

### **1. Einleitung**

Viele der untersuchten Pharmazeutika werden unter oxischen Bedingungen transformiert [1, 2]. Diese Entfernung kann für einige der Stoffe durch eine Limitierung des biologisch abbaubaren DOC (BDOC) weiter verbessert werden [3, 4]. Trotzdem ist bisher unklar, warum spezifische Stoffe in einigen Biofiltern transformiert werden und in anderen vergleichbaren Systemen nicht.

Durch Unterschiede in den Versuchsbedingungen wie der hydraulischen Verweilzeit (HRT), der biologischen Aktivität oder dem Anteil an partikulärem organischen Material (POM) lassen sich Einflussfaktoren durch einen Vergleich der bisher veröffentlichten Studien nur schwer ermitteln. Daher wurden in den durchgeführten Versuchen systematisch Effekte der Sauerstoffkonzentration und des BDOCs in Labor-Sandsäulen untersucht und mittels der Halbwertszeit ausgewählter Zielstoffe ( $DT_{50}$ ) quantifiziert. Begleitend wurde die mikrobielle Aktivität durch die Reduktion des Redoxindikators Resazurin bestimmt.

### **2. Material und Methoden**

Mittels Säulenversuche sollten mögliche Einflussfaktoren auf die Transformation spezifischer Spurenstoffe gezielt untersucht werden. Hierfür wurden zwei Systeme mit acht und vier Sandsäulen aufgebaut. Als Ausgangsbedingung und während der Adaptationsphase wurden die Säulen mit belüftetem Berliner Trinkwasser mit einem geringem BDOC ( $< 0.5 \text{ mg/L}$ ) betrieben. Das Zulaufwasser wurde mit je  $2 \mu\text{g/L}$  Acesulfam, Benzotriazol, Carbamazepin, Diclofenac, Gabapentin, Primidon, Sulfamethoxazol, Venlafaxin und Valsartansäure aus einer Stammlösung ( $10 \text{ mg/L}$ ) angereichert. Durch die oxischen und BDOC-limitierten Bedingungen soll ein Spurenstoffabbau in den Sandsäulen begünstigt werden. Zudem wurden die Versuche bei Raumtemperatur durchgeführt, wodurch eine höhere mikrobielle Aktivität und somit auch eine mögliche Transformation der Spurenstoffe provoziert werden sollen.

Für die Füllung von parallelen Laborsäulen wurden zwei unterschiedliche Sande verwendet, welche einen möglichst geringen POM-Gehalt und einen unterschiedlichen mikrobiellen Hintergrund aufweisen sollten. Zum einen wurde Filtersand aus einem Becken für die Grundwasseranreicherung (GWA) in Berlin-Tegel verwendet. Der Sand

wurde hierbei aus 0,3 m Tiefe (unterhalb der Kolmationsschicht) entnommen, um den POM-Anteil möglichst gering zu halten [5]. Zum anderen wurde technischer Sand mit Kläranlagenablauf und Belebtschlamm für 72 h inkubiert, bevor er in die Säulen gefüllt wurde.

Das erste Säulensystem diente der Untersuchung des Einflusses niedriger Sauerstoffkonzentrationen. Es bestand aus acht Säulen (je 4 mit GWA-Sand und technischem Sand), wovon nach einer Adaptationszeit von 229 Tagen jeweils zwei GWA-Sandsäulen und zwei technische Sandsäulen mit 0,5 oder 2,0 mg/L O<sub>2</sub> im Aufstrom betrieben wurden. In dem zweiten Säulensystem wurde nach der Adaptationsphase von 207 Tagen der BDOC erhöht, indem das Trinkwasser im Verhältnis von 1:1 mit filtriertem Wasser aus dem Tegeler See gemischt wurde. Das Säulensystem bestand aus je zwei parallelen Säulen gefüllt mit GWA-Sand oder technischem Sand und wurde im Abstrom betrieben. Die mittlere hydraulische Verweilzeit betrug 25 bis 38 h.

Durch Vergleichen der Spurenstofftransformation in beiden Systemen unter oxischen und BDOC-limitierten Bedingungen können zudem mögliche Einflüsse des Versuchsaufbaus identifiziert werden.

Der gelöste Sauerstoff wurde mittels Optoden (PreSens, Deutschland), welche als Durchflusszellen im Zu- und Ablauf der Säulen installiert wurden, gemessen. Alle Proben wurden mit Zellulosenitrat-Filtern (0,45 µm, Sartorius, Deutschland) filtriert. Der DOC wurde mit einem TOC Cube Analyzer (Elementar, Deutschland) quantifiziert. Die Konzentration der Spurenstoffe erfolgte mittels Hochleistungsflüssigchromatographie gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie (HPLC-MS/MS) (Thermo-Fischer-Scientific, USA). Das durch die Reduktion von Resazurin gebildete Resorufin wurde in einem Fluoreszenzphotometer bei einer Wellenlänge von 607 nm und einer Anregung mit 570 nm ermittelt.

### 3. Ergebnisse

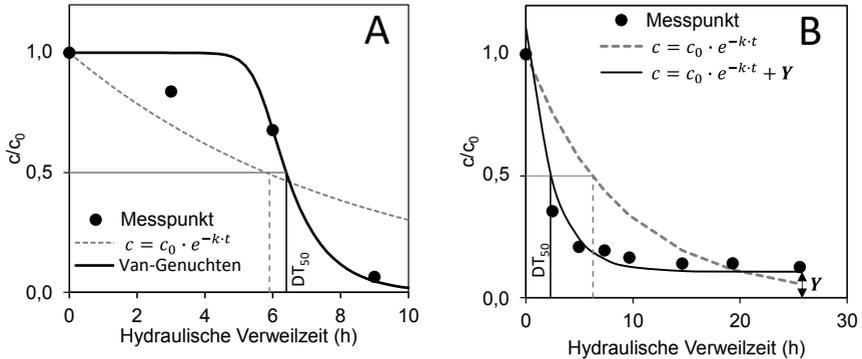
#### 3.1. Bestimmung der Halbwertszeit $DT_{50}$

In den Säulenversuchen wich die zeitliche Entfernung einiger Stoffe vom klassischen Verlauf einer pseudo-erster Ordnung ab. Zum einen konnte eine Verzögerung der Entfernung beobachtet werden. So eine „lag-Phase“ zeigte sich z.B. bei Gabapentin und war deutlich ausgeprägter in dem ersten Säulensystem, welches eine Verweilzeit von nur 7 h abbildete. Da hier der Ansatz einer Reaktion erster Ordnung die Datenpunkte nur unzureichend wiedergibt, wurde nach anderen Funktionen gesucht, welche so eine „lag-Phase“ abbilden können. Die Van-Genuchten-Gleichung (1) zeigte sich hierfür am geeignetsten und wurde für die Berechnung der  $DT_{50}$  verwendet, wenn sie eine bessere Anpassung an die Messdaten zeigte als der exponentielle Ansatz für Reaktionen erster Ordnung (Abb. 1A).

Adaptierte Van-Genuchten-Gleichung:

$$c = k_t(c_0 - c_{eff}) + c_{eff} \text{ mit } k_t = \left( \frac{1}{1 + (\alpha \cdot 10^4)^n} \right)^{1 - \frac{1}{n}} \quad (1)$$

Weiterhin erfolgte in dem zweiten Säulensystem nach der Erhöhung des BDOCs zunächst keine Transformation in den tieferen Säulenschichten für Acesulfam und Sulfamethoxazol. Um dennoch die  $DT_{50}$  bestmöglich abbilden zu können, wurde die e-Funktion für eine Reaktion erster Ordnung um einen Additionsterm  $Y$  erweitert, welcher die Restkonzentration widerspiegelt (Abb. 1B).



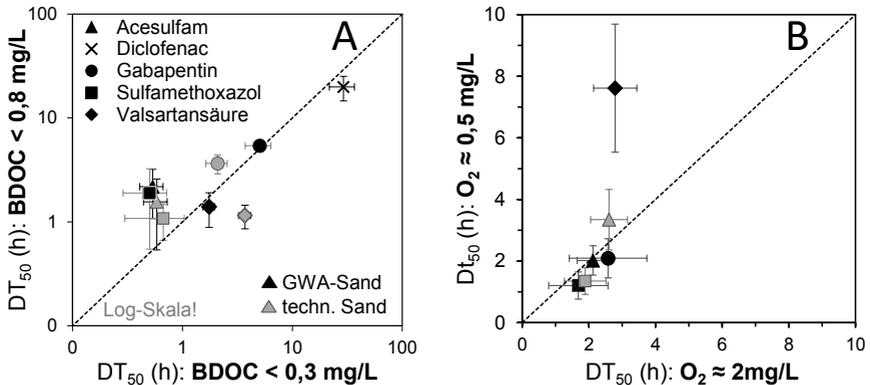
**Abb. 1: Bestimmung der  $DT_{50}$  für (A) die „lag-Phase“ für Gabapentin im ersten Säulensystem und (B) Restkonzentration von Acesulfam in tieferen Säulenschichten (als Vergleich ist die e-Funktion für eine Reaktion erster Ordnung eingezeichnet (grau-gestrichelte Linie))**

Für die Berechnung der im Folgenden dargestellten  $DT_{50}$ -Werte wurden Mittelwerte von mindestens drei unabhängigen Probenahmen verwendet, wobei die Beprobungen im Abstand von einer Woche durchgeführt wurden.

### 3.2. Einfluss von gelöstem Sauerstoff und BDOC

Unabhängig vom Versuchsaufbau wurden in beiden Säulensystemen ähnliche  $DT_{50}$ -Zeiten für Acesulfam, Gabapentin, Sulfamethoxazol und Valsartansäure von weniger als 10 h unter oligotrophen Bedingungen gefunden.

Die Transformation von Acesulfam, Gabapentin und Sulfamethoxazol in den GWA-Sandsäulen reagierte überraschend unempfindlich auf die niedrige Sauerstoffkonzentration von 0,5 mg/L. Nur Valsartansäure wurde in den GWA-Sandsäulen unter niedrigen Sauerstoffkonzentrationen deutlich langsamer transformiert, was sich in einer Verdopplung der  $DT_{50}$  zeigt. Der technische Sand zeigte eine geringere biologische Aktivität, und die Entfernung von Gabapentin und Valsartansäure reagierte in diesen Säulen besonders empfindlich auf eine Verringerung der Sauerstoffkonzentration auf 0,5 mg/L.



**Abb. 2: Einfluss der (A) BDOC- und (B) Sauerstoff-Konzentration im Zulaufwasser auf die DT<sub>50</sub> von Acesulfam, Diclofenac, Gabapentin, Sulfamethoxazol und Valsartansäure in GWA-Sand und technischem Sand**

Der Einfluss eines geringen BDOC zeigt sich besonders in einer schnelleren Transformation von Acesulfam, Sulfamethoxazol und auch leicht für Gabapentin. Valsartansäure und Diclofenac werden hingegen schneller bei höheren BDOC-Konzentrationen im Zulaufwasser transformiert, was sich bei Diclofenac auch deutlich in der Abhängigkeit von der Biomasseaktivität widerspiegelt.

Carbamazepin und Primidon verhielten sich in allen Säulen persistent. Weiterhin wurde keine eindeutige Entfernung von Benzotriazol und Venlafaxin beobachtet.

#### 4. Fazit

Unabhängig vom Versuchsaufbau wurden ähnliche DT<sub>50</sub> für die Transformation von Gabapentin, Acesulfam, Sulfamethoxazol und Valsartansäure von weniger als 10 h bestimmt. Damit bestätigt sich, dass für kinetische Aussagen zur Spurenstofftransformation unter oxischen Bedingungen eine hochaufgelöste Beprobung innerhalb der ersten Stunden der Infiltration sinnvoll ist. Da beide Sande vor Versuchsstart einer unterschiedlichen mikrobiellen Exposition unterlagen und dennoch eine Spurenstoffentfernung zeigten, wird davon ausgegangen, dass das ursprüngliche Vorhandensein spezifischer Mikroorganismen nicht Voraussetzung für die Transformation der untersuchten Spurenstoffe ist.

Entscheidend für die Spurenstofftransformation scheint vielmehr die Verfügbarkeit von Co-Substrat zu sein, welches in dem Versuch durch den BDOC variiert wurde.

Ein geringer BDOC kann limitierend für die Biomasse sein und somit die Spurenstofftransformation verlangsamen, wie im Fall von Diclofenac. Allerdings zeigte sich bei niedrigen BDOC-Werten auch eine schnellere Transformation von Acesulfam, Gabapentin und Sulfamethoxazol. Niedrige Sauerstoffkonzentrationen von 0,5 mg/L hatten dagegen kaum einen Einfluss auf die Transformationsgeschwindigkeit der drei Stoffe. Nur Valsartansäure wurde mit weniger Sauerstoff deutlich langsamer entfernt.

**Referenzen**

[1] Wiese, B., Massmann, G., Jekel, M., Heberer, T., Dünnbier, U., Orlikowski, D. u. Grützmacher, G.: Removal kinetics of organic compounds and sum parameters under field conditions for managed aquifer recharge. *Water research* 45 (2011) 16, S. 4939–4950. [2] Schaper, J. L., Seher, W., Nützmann, G., Putschew, A., Jekel, M. u. Lewandowski, J.: The fate of polar trace organic compounds in the hyporheic zone. *Water research* 140 (2018), S. 158–166. [3] Hellauer, K., Mergel, D., Ruhl, A., Filter, J., Hübner, U., Jekel, M. u. Drewes, J.: Advancing Sequential Managed Aquifer Recharge Technology (SMART) Using Different Intermediate Oxidation Processes. *Water* 9 (2017) 3, S. 221 [4] Rauch-Williams, T., Hoppe-Jones, C. u. Drewes, J. E.: The role of organic matter in the removal of emerging trace organic chemicals during managed aquifer recharge. *Water research* 44 (2010) 2, S. 449–460. [5] Filter, J., Jekel, M. u. Ruhl, A. S.: Impacts of Accumulated Particulate Organic Matter on Oxygen Consumption and Organic Micro-Pollutant Elimination in Bank Filtration and Soil Aquifer Treatment. *Water* 9 (2017) 5, S. 349

## **Oxidative water treatment: Formation of transformation products, matrix effects and ecotoxicological relevance**

V. Wirzberger, Essen/D, M. Klein Essen/D, V. I. Merkus, Essen/D, M. Woermann, Essen/D, L. L. Hohrenk, Essen/D, H. V. Lutze, Darmstadt/D, T. C. Schmidt, Essen/D  
Vanessa Wirzberger, Universität Duisburg – Essen, Instrumentelle Analytische Chemie, Universitätsstr. 5, 45141 Essen/D

### **Introduction**

Micropollutants can reach the environment through various routes such as wastewater treatment plants (WWTP) effluent or run-off from agriculture [1]. At least 30 % of these environmentally relevant substances contain nitrogen [2] including pharmaceuticals, such as metoprolol (METO) and diclofenac (DCF), as well as pesticides, such as isoproturon (ISO). Metoprolol and diclofenac are pharmaceuticals that are highly prescribed in Germany [3] and therefore frequently found in wastewater and surface water [4, 5]. Although isoproturon has been forbidden in the EU since 2016 it is still found in surface waters [6]. Ozonation, which is frequently used in water treatment, does not result in mineralisation of these micropollutants but leads to the formation of transformation products (TPs) [7]. The yield of these TPs is contingent on the composition of the present matrix but most studies regarding the degradation of substances by ozone have only been carried out in ultrapure water. For DCF TPs (among others 2,6-dichloroaniline and 5-hydroxy diclofenac) have been reported to be formed during ozonation in scavenged (*tert*-BuOH) and non-scavenged systems without pH adjustment [8, 9]. TP formation of ISO has only been reported in ultrapure water at pH 7 [10] and for METO TPs have been reported for experiments in non-scavenged and scavenged (*tert*-BuOH) systems at pH 8 and without pH adjustment as well as in wastewater [11-13]. In fact, the influence of the matrix on the yield of TPs is not regularly considered until now. One example for the strong influence on the yield of TPs is the ozonation of *N,N*-dimethylsulfamide (DMS) which is transformed to the cancerogenic *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) [7, 14, 15]. However, this reaction only happens if bromide is present in the water matrix reacting with ozone to hypobromous acid (HOBr) and leading to a brominated DMS. In an additional reaction the intermediate product reacts with ozone to NDMA. This underlines that matrix components can not only have a high impact on the yield of TPs but also lead to TPs with a higher (eco)toxicological relevance than the parent compound. The reaction of ozone with nitrogen-containing substances can lead to various reactive intermediates such as aminyl radicals ( $\cdot\text{NR}_2$ ), which can further react with matrix components e.g., natural organic matter (NOM), to unexpected TPs.

This study investigated the influence of different scavengers and matrix components (NOM, Br<sup>-</sup>) as well as real water matrices on the ozonation of DCF, METO and ISO. Furthermore, formed TPs were identified and the yield in different matrices determined. In addition to this, the ecotoxicological relevance of the formed TPs was measured.

## Materials & Methods

Ozonation of the three substances (ISO, METO and DCF) was carried out in ultrapure water with and without the addition of different scavengers (dimethyl sulfoxide (DMSO) and *tert*-BuOH) and in presence of HOBr as well as wastewater. Additionally, DCF was also ozonated in presence of different NOM (IHSS Suwannee River 2R101N) concentrations, drinking and surface water [16]. All real water samples were filtered via a 0.45  $\mu\text{m}$  mixed cellulose ester filter prior to use.

Calibrations were prepared according to DIN 38402-51. Stock solutions were prepared in ultrapure water except for the standard of the DCF TPs 2,6-dichloroaniline (DCA) and 5-hydroxydiclofenac (for ecotoxicological tests only) an addition of max. 5 % acetonitrile was needed. To prepare the ozone stock solution oxygen was enriched by ozone generators COM (Anseros) and Philaqua 802x (BMT Messtechnik) and bubbled into ice-cooled ultrapure water. The ozone concentration was determined via UV-spectrometer (Shimadzu, 258 nm,  $\epsilon_{\text{O}_3} = 2950 / \text{M cm}$ ) [7]. Starting concentration for all ozonation experiments were 0.05 mM for DCF as well as METO and 0.025 mM for ISO, respectively. Ozone was either added between 0 – 0.5 mM (DCF and METO) or 0 – 0.25 mM (ISO), respectively. In total 90 % of the  $\cdot\text{OH}$  were scavenged in case of METO as well as ISO and 95 % in case of DCF. The added *tert*-BuOH concentrations were 3.375 mM (ISO), 6.3 mM (METO) and 20 mM (DCF), respectively. For DMSO 0.54 mM (METO), 0.289 mM (ISO) and 20 mM (DCF) were added. Wastewater samples were spiked with the same starting concentrations of the substances and the same ozone concentrations were added. In the experiments regarding the influence of bromide during ozonation HOBr, which is formed in the reaction of Br with ozone, was added to investigate the direct influence. The added concentrations of HOBr were 0.1 mM for DCF, 0.125 for METO and 0.025 mM for ISO. Ozonation was processed after 24 h reaction time and as described before. All applied concentrations are higher than found in real scenarios because the aim was a mechanistic investigation. Therefore, higher concentrations were needed to determine and identify formed TPs.

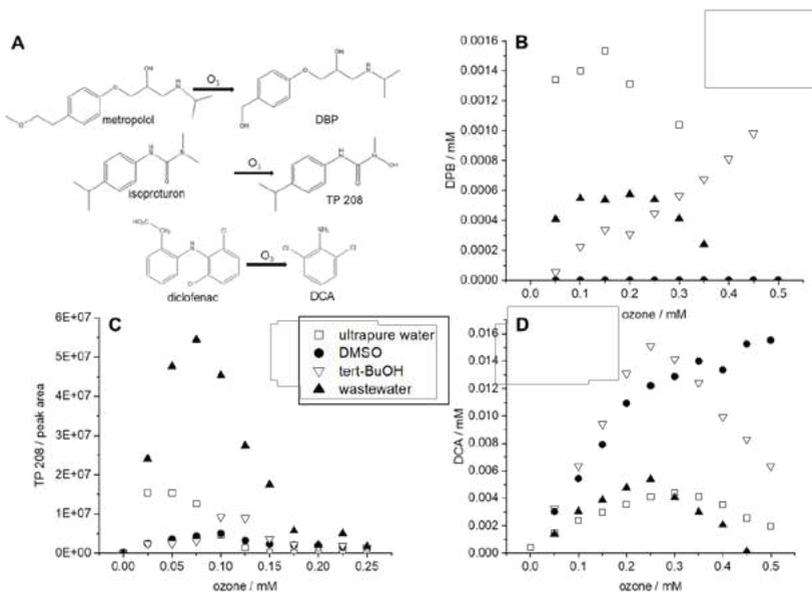
After ozone addition all samples were stored at 4° C until measurement via HPLC-DAD (Shimadzu) or HPLC-HRMS (Dionex Ultimate 3000 UHPLC<sup>+</sup> focused coupled with Q Exactive Orbitrap (Thermo Fisher)). A Kinetex 5  $\mu\text{m}$  EVO C18 Å 100 x 3.0 mm column (Phenomenex) was used for chromatographic separation.

To investigate the acute toxicity potential of the parent compounds as well as formed TPs in different water matrices experiments after the OECD guideline 202 “*Daphnia sp.*, Acute Immobilization Test” were performed [17]. To cultivate the daphnids (*D. magna*) and for experimental set up reconstituted freshwater medium was used. Klüttgen et al. (1994) developed the original composition of the “Aachener Daphnien Medium” (ADaM) which was modified to a decreased selenium dioxide concentration. In total, seven standards of commercially available TPs were tested. Ozonation tests were done as described before and 24 h after ozonation, the test solution was diluted with ADaM (15 mL sample, 65 mL ADaM). Five daphnids younger

than 24 h were exposed to five different concentrations and one negative control for each experiment. Every concentration included four replicates ( $n = 20$ ) and was stored in the dark for 48 h at  $18 - 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ . After 24 h as well as 48 h the mobility of the daphnids was checked. Daphnids not moving within 15 seconds after gentle agitation were considered immobile. For every test the boundary conditions were checked in the beginning and the end including oxygen ( $> 3\text{ mg / L}$ ), temperature ( $18 - 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) and pH ( $6 - 9$ ).

## Results & Discussion

This study focused on the influence of different matrix components on the reaction of nitrogen-containing compounds with ozone as well as the formation of TPs and their ecotoxicological relevance. In the following, the formation of one exemplary TP for each examined substance during ozonation as well as the influences of different scavengers and water matrices will be outlined (Figure 1). More details about the degradation of ISO and formed TPs can be also found in "Reaction pathways during ozonation of isoproturon" [18].



**Figure 1** Reaction of the three examined substances to one exemplary TP (A) and the formation of these TPs in different water matrices (B: des(isopropoxyethyl)bisoprolol (DBP) a TP of METO, C: TP 208 a TP of ISO and D: 2,6-dichloroaniline (DCA) a TP of DCF). Experiments for metoprolol and isoproturon were performed at pH 7. For DCF no pH adjustment was performed. All experiments were at least performed twice in separate workflows.

METO reacts with ozone to the TP des(isopropoxyethyl)bisoprolol (DPB), which was formed in all tested water matrices except for DMSO (Figure 1, B). At higher ozone dosages, a degradation of the TP was observed in ultrapure water, wastewater and in presence of DMSO but not in presence of *tert*-BuOH.

TP 208 is formed in the ozonation of ISO and was detected in all tested water matrices with the highest yield in wastewater (Figure 1, C). At higher ozone dosages (above 0.1 mM) TP 208 was degraded in all examined systems.

DCF reacts with ozone to the TP 2,6-dichloroanilic (DCA) which was also formed in all tested water matrices (Figure 1, D). DCA was also degraded in all tested water matrices at higher ozone dosages, but not in presence of DMSO.

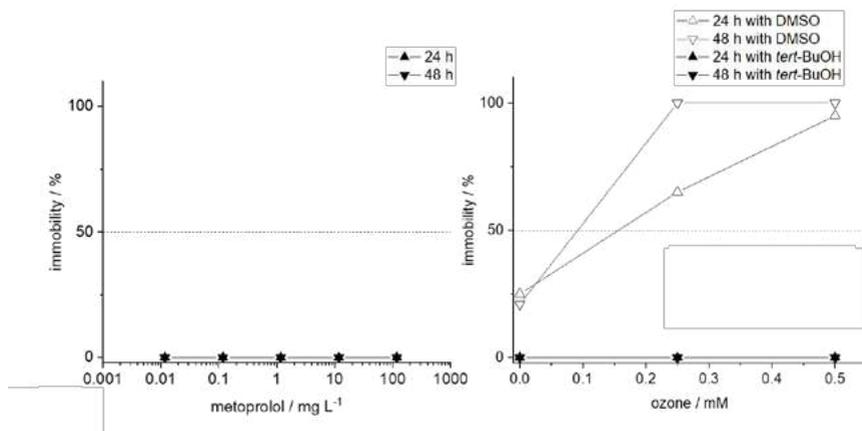
While the present water matrix influenced the formation of TPs, the degradation of all examined substances was similar in the tested water matrices and the parent compounds completely degraded at the highest ozone dosage. These results underline the complexity of TP formation. Even if there is no difference in the degradation of the parent compounds, the formation of TPs can differ strongly. Figure 1 shows that the use of different scavengers can have various influences on the formation of TPs. While in the ozonation of ISO similar results were observed for both scavengers, the formation of TPs during the ozonation of METO and DCF was highly influenced by the chosen scavenger. During the ozonation of METO, the use of *tert*-BuOH led to a continuous formation of DPB but during the ozonation of DCF the use of DMSO shows a continuous formation of DCA. In both cases, the addition of the two scavengers resulted in different outcomes. Similar to this study, also a previous study detected DBP mainly in non-scavenged systems and showed also a similar curve in presence of *tert*-BuOH [11]. Benner and Ternes (2009) suggested that DBP is stable against molecular ozone and therefore not degraded in presence of *tert*-BuOH. The results in this study confirm that the main reaction of METO to DBP is driven by hydroxyl radicals but that DBP is also formed by the reaction with molecular ozone. Due to the fact that the use of different scavengers can lead to differences in the TP formation more research is needed for further examination.

In terms of different NOM concentrations, no effect on the TP formation could be detected for DCF (not tested for METO and ISO). The experiments with addition of HOBr showed that this matrix constituent can influence the formation of TPs and also lead to the formation of new TPs.

In addition to instrumental analysis, all parent compounds, known TPs as well as ozonated samples were also tested in terms of their ecotoxicological relevance. The results of the ecotoxicological tests are presented exemplarily for METO and DCA in Figure 2.

No effects on *D. magna* could be detected for ISO, METO, known TPs of METO and 5-OH DCF. For DCF an EC<sub>50</sub> of 78.9 mg / L (24 h) and 52.8 mg / L (48 h), respectively, was detected in a previous study (Woermann, 2019, personal communication). The EC<sub>50</sub> detected for DCA was 2.9 mg / L (24 h) and 2.4 mg / L (48 h), respectively.

No effects for METO or ISO were observed after ozonation in non-scavenged systems as well as systems including DMSO.



**Figure 2** Toxicity effect of pure metoprolol (A) and ozonated DCF (B) in presence of DMSO and *tert*-BuOH, respectively, after 24 h and 48 h

After ozonation of DCF in presence of DMSO a high immobilisation of *D. magna* was observed. Already without the addition of ozone, only in presence of DMSO, 25% of *D. magna* were immobile, and this value raised up to 95% (24 h) and 100% (48 h) after the addition of 0.5 mM ozone (Figure 2, B). These results cannot be fully explained by the formation of DCA because in presence of *tert*-BuOH the yield of DCA was the same for a fivefold ozone concentration (Figure 1, D) but did not show a toxic effect (Figure 2, B). Furthermore, the DMSO concentration was 4 mM and it has been shown in previous studies with the same daphnids culture that 5 mM of DMSO is harmless towards *D. magna* [19]. Nevertheless, DMSO can lead to membrane thinning which can lead to a higher permeability of the membrane [20], leading to a possibly higher toxicity of formed TPs than in experiments without DMSO.

In first experiments, the reaction of HOBr with the parent substances prior to ozonation showed ecotoxicological effects (immobilisation of *D. magna*) but further investigations are needed to give a complete evaluation of the ecotoxicological relevance.

In this study it could be shown that matrix components, such as radical scavengers used in bench scale studies, can have a high influence on the formation of TPs and also influence the results of ecotoxicological tests (in case of DMSO). Further investigations are needed to be able to predict the role of matrix components better. Therefore, the influence of other matrix components such as HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> as well as more real water samples in terms of TPs formation need to be investigated. Nevertheless, in this study it was shown that especially radical scavengers, in detail *tert*-BuOH and DMSO, can have a high influence on the formation of TPs. However, most studies regarding the formation of TPs during ozonation only consider the influence of one scavenger (either DMSO or *tert*-BuOH). On that account it is important to investigate if the observations of this study can be corroborated for other (already well known) *N*-containing substances in a comparison of the two scavengers.

## References

1. Luo, Y., et al., *A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment*. Science of the total environment, 2014. **473**: p. 619-641.
2. Villanueva, C.M., et al., *Assessing exposure and health consequences of chemicals in drinking water: current state of knowledge and research needs*. Environmental health perspectives, 2014. **122**(3): p. 213.
3. Schwabe, U., et al., *Arzneiverdrnungs-Report 2018*. 2018: Berlin, Heidelberg.
4. Zhang, Y., S.-U. Geißen, and C. Gal, *Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies*. Chemosphere, 2008. **73**(8): p. 1151-1161.
5. Ternes, T.A., *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*. Water research, 1998. **32**(11): p. 3245-3260.
6. Cui, S., et al., *Effects of season and sediment-water exchange processes on the partitioning of pesticides in the catchment environment: Implications for pesticides monitoring*. Science of The Total Environment, 2020. **698**: p. 134228.
7. von Sonntag, C. and U. von Gunten, *Chemistry of ozone in water and wastewater treatment*. 2012: IWA publishing.
8. Sein, M.M., et al., *Oxidation of diclofenac with ozone in aqueous solution*. Environmental Science & Technology, 2008. **42**(17): p. 6656-6662.
9. Coelho, A.D., et al., *Effects of ozone pre-treatment on diclofenac: intermediates, biodegradability and toxicity assessment*. Science of the total environment, 2009. **407**(11): p. 3572-3578.
10. Mascolo, G., et al., *By-products formation during degradation of isoproturon in aqueous solution. I: ozonation*. Water research, 2001. **35**(7): p. 1695-1704.
11. Benner, J. and T.A. Ternes, *Ozonation of metoprolol: elucidation of oxidation pathways and major oxidation products*. Environmental science & technology, 2009. **43**(14): p. 5472-5480.
12. Faber, H., et al., *Liquid chromatography/mass spectrometry to study oxidative degradation of environmentally relevant pharmaceuticals by electrochemistry and ozonation*. Journal of chromatography A, 2014. **1343**: p. 152-159.
13. Tay, K.S., N.A. Rahman, and M.R.B. Abas, *Ozonation of metoprolol in aqueous solution: ozonation by-products and mechanisms of degradation*. Environmental Science and Pollution Research, 2013. **20**(5): p. 3115-3121.
14. Mestankova, H., et al., *Transformation of Contaminant Candidate List (CCL3) compounds during ozonation and advanced oxidation processes in drinking water: Assessment of biological effects*. Water research, 2016. **93**: p. 110-120.
15. Schmidt, C.K. and H.-J. Brauch, *N, N-dimethylsulfamide as precursor for N-nitrosodimethylamine (NDMA) formation upon ozonation and its fate during drinking water treatment*. Environmental Science & Technology, 2008. **42**(17): p. 6340-6346.
16. Wirzberger, V., et al., *Abbau von Diclofenac mit Ozon in unterschiedlichen Wässern*, in *Wasser 2019 - Jahrestagung der wasserchemischen Gesellschaft*. 2018: Erfurt
17. OECD, *Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test* OECD Guideline for Testing of Chemicals, 2004. **Section 2**.
18. Merkus, V., et al., *Reaction pathways during ozonation of isoproturon*, in *Wasser 2020 - Jahrestagung der wasserchemischen Gesellschaft (submitted)*. 2020: Potsdam.
19. Knoop, O., et al., *Ecotoxicological effects prior to and after the ozonation of tamoxifen*. J Hazard Mater, 2018. **358**: p. 286-293.
20. Gurtovenko, A.A. and J. Anwar, *Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimethyl sulfoxide*. J Phys Chem B, 2007. **111**(35): p. 10453-60.

## Quantification of Oxidant-Reactive Carbonous Sites in Dissolved Organic Matter

J. Houska, Dübendorf/8600, U. von Gunten, Dübendorf/8600

Joanna Houska, Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (Eawag),  
Überlandstrasse 133, 8600 Dübendorf

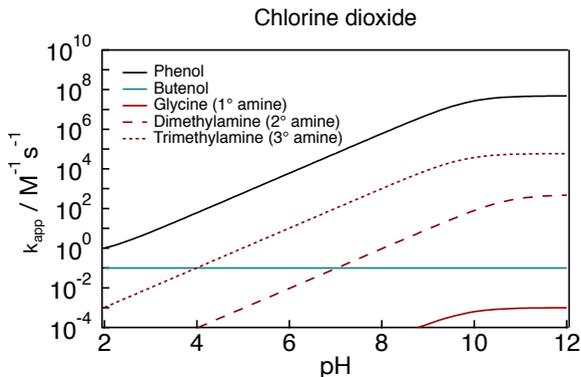
### Introduction

The application of ozone for disinfection or abatement of micropollutants during treatment of drinking water and wastewater is accompanied by ozone reactions with matrix components such as dissolved organic matter (DOM). Besides the influence of DOM on the efficiency of the process, its reaction with ozone leads to the formation of undesired oxidation by-products (OBPs) such as low molecular weight aldehydes, ketones or quinones [1]–[3]. Ozone applications to impaired waters as for enhanced wastewater treatment or water reuse may lead to an increase in OBPs [4]. The complexity and variability of DOM complicate the prediction of oxidation by-product formation. Moreover, knowledge on the formation of OBPs from ozone-reactive precursors prevalent in DOM, is still scarce. Consequently, there is a need for an elucidation of reactive functional moieties in DOM to better predict the efficiency of the oxidation process and the formation of ensuing products in the context of water treatment with ozone.

The purpose of this study is to quantify and characterize oxidant-reactive phenolic precursors in DOM, because phenolic moieties have been identified as major contributors to the consumption of oxidants by DOM [5]. Typical phenol concentrations in DOM are in the  $\mu\text{M}$  concentration range (1-2 mmol/g DOC) [5], which is much larger than micropollutant concentrations that are typically  $\ll 0.1 \mu\text{M}$  in natural waters and wastewater effluents [6],[7]. However, nowadays there are no methods which provide a quantitative measure of reactive moieties in DOM. Our proposed method to quantify reactive moieties is based on the assumption, that oxidants such as ozone, chlorine dioxide, chlorine and bromine are selective towards some of the electron-rich moieties in DOM, which is reflected in distinct kinetic behavior for different reactive moieties in DOM. A comparison of kinetic aspects for selective and non-selective oxidants has been established for the oxidative transformation of micropollutants [8], which leads to the conclusion that various functional moieties in DOM will have different reactivities, depending on the oxidant.

In this study we propose to quantify phenolic moieties with chlorine dioxide ( $\text{ClO}_2$ ) by oxidative titration and by applying a novel derivatization method for phenols. Based on the pH dependence (pH 2-12) of apparent second-order rate constants for the reactions of model compounds representing functional moieties in DOM with chlorine dioxide, it can be concluded that chlorine dioxide reacts considerably faster with phenolic compounds (black line, Figure 1) compared to amines (red line, Figure 1) or olefinic

compounds (green line, Figure 1), which are other electron-rich moieties in DOM prone to oxidation [9].

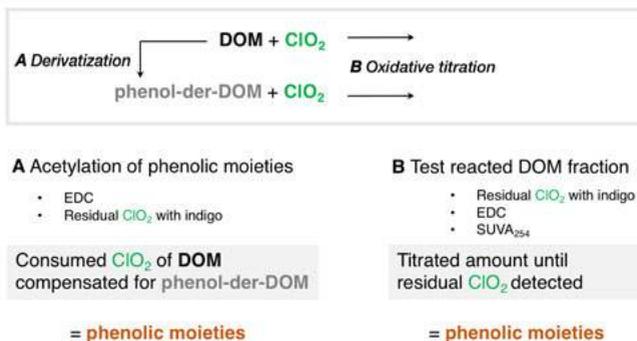


**Figure 1** Apparent second order rate constants ( $k_{app}$ ,  $M^{-1}s^{-1}$ ) as a function of pH for the reactions of chlorine dioxide with different functional moieties (phenolic (black), olefinic (green) and amines (red)).

Further efforts include to quantify other electron-rich carbonous sites in DOM such as olefins by making use of other oxidants.

## Methods

The conceptual approach used to quantify and characterize the phenolic moieties is illustrated in Figure 2.



**Figure 2** Conceptual approach to quantify and characterize phenolic moieties in DOM. Phenol-der-DOM: DOM, which was derivatized at phenolic moieties.

Moieties exhibiting a high reactivity with  $\text{ClO}_2$  are quantified in experiments with DOM and phenol-derivatized-DOM (phenol-der-DOM). To successfully perform these experiments, knocking out the phenolic groups in DOM is essential. The latter is achieved by derivatization (A, Figure 2). To quantify the phenolic moieties, the kinetics of the reacting groups with  $\text{ClO}_2$  is exploited by oxidative titration (B, Figure 2). Experiments with and without phenol-derivatized-DOM will be compared.

The chosen derivatization approach converts phenolic moieties to esters. The approach proceeded by addition of acetic anhydride and  $\text{NaHCO}_3$  to a phenolic compound dissolved in acetonitrile. The same approach was used to derivatize phenolic groups in Suwannee River Fulvic Acid (SRFA). Underivatized controls were prepared in the same fashion but omitting the derivatizing agent. Primary and secondary amines were also tested for their ability to be derivatized. The apparent derivatization efficiency for phenol was measured using HPLC-DAD. For all other compounds, the apparent derivatization efficiency was determined by means of the electron donating capacity (EDC), which is a measure for the phenolic content [5],[10]. To determine the identity of derivatized products, additional measurements by LC-MS were performed. In the case of SRFA, an underivatized sample underwent the same procedure and was compared to a standard SRFA solution without any treatment, to account for changes in DOM due to the procedure.

The quantification of the EDC of target substances and SRFA in the solutions relies on the chemical oxidation of ABTS and the photometric quantification of  $\text{ABTS}^+$  at 728 nm. The EDC is quantified by measuring the decrease of the  $\text{ABTS}^+$  concentration, which is quantified spectrophotometrically. This method is a modification of the published electrochemical [5],[11] chromatographic [12],[13] and flow-injection [14] methods, which was adapted to be completed directly in a cuvette.

Oxidative titration experiments were performed in solutions containing 10  $\mu\text{M}$  phenol, 5  $\mu\text{M}$  triethylamine and 100  $\mu\text{M}$  glycine at pH 6.0 in 10 mM phosphate buffer. An increasing oxidant dose from 0 to 40  $\mu\text{M}$   $\text{ClO}_2$  was added to batch reactors. The reaction was stopped at designated timepoints by purging  $\text{ClO}_2$  with  $\text{N}_2$  gas. The same experiments were performed with model DOM solutions (3  $\text{mg}_\text{C}/\text{L}$ ) and with derivatized phenol or DOM. The two compounds phenol and triethylamine were chosen because of their differing apparent second order rate constants for the reaction with  $\text{ClO}_2$  at pH 6.0 (Phenol,  $\sim 6 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , triethylamine  $\sim 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), which should allow to see the increasing chlorine dioxide residual in experiments. Deactivated benzenes such as derivatized phenols are expected to have a very low apparent second order rate constant with  $\text{ClO}_2$  (e.g., phenyl acetate  $< 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [15]).

Residual  $\text{ClO}_2$  was quantified using the indigo method [16]. The formation of free available chlorine (FAC) was quenched using glycine and analyzed by the ABTS method [17].  $\text{ClO}_2^-$  was measured using ion chromatography. Benzoquinone and phenol were determined using HPLC-DAD. Additionally, EDC and UV characteristics were analyzed in all samples.

## Results

The derivatization lead to a high yield of acetylated products for the tested compounds including phenol, hydroquinone, resorcinol, vanillin and gallic acid by means of loss of EDC. The identity of derivatized products could be qualitatively confirmed by LC-MS spectra or for some quantitatively using HPLC-DAD with authentic standards. A range of sterically hindered phenols including Trolox or 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol (BHT) varied in their derivatization efficiency and their EDCs were only partly reduced. LC-MS measurements of amine derivatization showed that primary and secondary amines could react as well with the derivatizing agent. Derivatized amine moieties in DOM will affect the findings to a negligible extent, because they are expected to be present in much smaller concentrations considering the typically low nitrogen content of real DOM samples.

For model DOM solutions, the EDC of a solution without treatment and a solution with treatment were within their standard error and thus no changes due to the procedure are expected. The derivatization of the model DOM SRFA led to a 2-3-fold decrease in EDC. Further investigations are currently being carried out (1) to adapt the derivatization procedure for sterically hindered phenols and (2) to advance the understanding about other moieties than phenols which can contribute to the EDC.

EDC measurements showed complete loss in transferred electrons with a wide range of derivatized phenols, which implies that there would also be less transferred electrons in derivatized DOM if such moieties are dominant. Consequently, the observation of EDC loss in derivatized SRFA indicates that the majority of phenolic groups is present as hydroquinones, catechols or higher substituted phenols such as gallic acid type structures. This observation is consistent with previous studies. Criquet et al. [19] found that the majority of bromine consumption in NOM extracts is due to electron transfer, where hydroquinone, catechol and gallic acid like structures could be responsible. Wenk et al. [18] observed pronounced decreases in EDC with relatively small losses in  $SUVA_{254}$  values for SRFA treated with  $ClO_2$ , which implicates the formation of benzoquinones from hydroquinones. Finally, the 2-3-fold loss in EDC for SRFA indicates, that the remaining EDC is attributed to (1) phenolic moieties which are still capable to transfer electrons but cannot be derivatized with the current approach or (2) other electron-rich moieties that can contribute to the EDC. Further experiments are currently undertaken to investigate this point.

Oxidative titration experiments of phenol and triethylamine with  $ClO_2$  showed an increase of  $ClO_2$  residual after a complete depletion of phenols. The titrated  $ClO_2$  content was consistent with the known reaction stoichiometry of phenol with  $ClO_2$  [17],[20]. Experiments with phenyl acetate (derivatized phenol) led to the expected instantaneous increase of  $ClO_2$ .

Reactions between phenolic moieties and chlorine dioxide include a one-electron transfer to form  $ClO_2^-$  and phenoxy radicals. The resulting phenoxy radicals can either undergo irreversible coupling reactions or react with another  $ClO_2$  to form ortho- or para-quinones [18]. Consequently, phenolic moieties in DOM are quantified using the titrated chlorine dioxide dose and an average of two transferred electrons. Measurements of benzoquinone, chlorite and free available chlorine (FAC) were included to close the

respective mass balances [17]. These verification measurements agree with the proposed mechanism.

Further, the ClO<sub>2</sub> residual was in line with expected values for experiments in presence of phenol and triethylamine. This confirms that triethylamine does not have an influence on the ClO<sub>2</sub> consumption. Consequently, the quantification of phenols in DOM should also be possible if the assumption holds, that no other fast reacting groups are represented in DOM besides phenols and tertiary amines. The same experiments conducted with the model DOM SRFA showed a similar pattern as with phenol solutions. The increase in oxidant residual was after 8 μM ClO<sub>2</sub> dosage, which corresponds roughly to the expected DOM-phenol concentration for the chosen experimental conditions. Preliminary cross-validation experiments by using phenol-derivatized DOM led to an earlier increase in ClO<sub>2</sub> residual, confirming that the reactive phenol moieties are partially derivatized. Further experiments will be conducted to quantify phenolic moieties in DOM reliably and extend it to other reactive moieties.

## Conclusions

A method was developed to acetylate phenolic moieties in DOM. Derivatization of phenolic moieties in DOM is a potentially useful tool to better understand the characteristics of DOM and aids in quantifying the phenolic moieties in DOM using oxidative titration. Furthermore, oxidative titrations provide a novel and promising tool to quantify oxidant-reactive moieties in complex mixtures such as DOM.

## Literature

- [1] Wert, E. C.; F. L. Rosario-Ortiz; D. D. Drury; S. A. Snyder. *Water Res.* 2007, 41 (7), 1481–1490.
- [2] Hammes, F.; E. Salhi; O. Köster; H.-P. Kaiser; T. Egli; U. von Gunten. *Water Res.* 2006, 40 (12), 2275–2286.
- [3] Tentscher, P. R.; M. Bourgin; U. von Gunten. *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52 (8), 4763–4773.
- [4] von Gunten, U. *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52 (9), 5062–5075.
- [5] Aeschbacher, M.; C. Graf; R. P. Schwarzenbach; M. Sander. *Environ. Sci. Technol.* 2012, 46 (9), 4916–4925.
- [6] Schwarzenbach, R. P.; B. I. Escher; K. Fenner; T. B. Hofstetter; C. A. Johnson; U. von Gunten; B. Wehrli. *Science (80- )*. 2006, 313 (5790), 1072–1077.
- [7] Bourgin, M.; B. Beck; M. Boehler; E. Borowska; J. Fleiner; E. Salhi; R. Teichler; U. von Gunten; H. Siegrist; C. S. McArdell. *Water Res.* 2018, 129, 486–498.
- [8] Lee, Y.; U. von Gunten. *Water Res.* 2010, 44 (2), 555–566.
- [9] Hoigné, J.; H. Bader. *Water Res.* 1994, 28 (1), 45–55.
- [10] Önnby, L.; E. Salhi; G. McKay; F. L. Rosario-Ortiz; U. von Gunten. *Water Res.* 2018, 144, 64–75.

- [11] Aeschbacher, M.; M. Sander; R. P. Schwarzenbach. *Environ. Sci. Technol.* 2010, 44 (1), 87–93.
- [12] Chon, K.; E. Salhi; U. von Gunten. *Water Res.* 2015, 81, 388–397.
- [13] Önnby, L.; N. Walpen; E. Salhi; M. Sander; U. von Gunten. *Water Res.* 2018, 144, 677–689.
- [14] Walpen, N.; M. H. Schroth; M. Sander. *Environ. Sci. Technol.* 2016, 50 (12), 6423–6432.
- [15] Lee, Y.; U. von Gunten. *Water Res.* 2012, 46 (19), 6177–6195.
- [16] Terhalle, J.; P. Kaiser; M. Jütte; J. Buss; S. Yasar; R. Marks; H. Uhlmann; T. C. Schmidt; H. V. Lutze. *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52 (17), 9964–9971.
- [17] Rougé, V.; S. Allard; J. P. Croué; U. Von Gunten. *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52 (22), 13421–13429.
- [18] Wenk, J.; M. Aeschbacher; E. Salhi; S. Canonica; U. von Gunten; M. Sander. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47 (19), 11147–11156.
- [19] Criquet, J.; E. M. Rodriguez; S. Allard; S. Wellauer; E. Salhi; C. A. Joll; U. von Gunten. *Water Res.* 2015, 85, 476–486.
- [20] Wajon, J. E.; J. C. Morris. *Inorg. Chem.* 1982, 21 (12), 4258–4263.

## Sulfatorientierte Mengenbewirtschaftung, Prognosen für Sulfat und die Gefährdung durch Sulfat in der Spree

Dr. Michael Kaltfofen, DHI WASY GmbH, Volmerstraße 8, 12489 Berlin

### Motivation

Die Berliner Wasserbetriebe betreiben am Müggelsee das WW Friedrichshagen, das zur Trinkwassergewinnung neben dem Grundwasser aus dem unmittelbaren Einzugsgebiet auch Uferfiltrat aus Spree und Dahme nutzt. Im Trinkwasser müssen die Berliner Wasserbetriebe für Sulfat einen Grenzwert von 250 mg/L einhalten [5]. Die Spree weist oft höhere Sulfatkonzentrationen auf, wie exemplarisch die folgende Abbildung 1 in Bezug auf den Querschnitt Beeskow/Spree, ca. 70 Flusskilometer oberhalb des Müggelsees gelegen, für Juni bis einschließlich September 2018 zeigt [4].

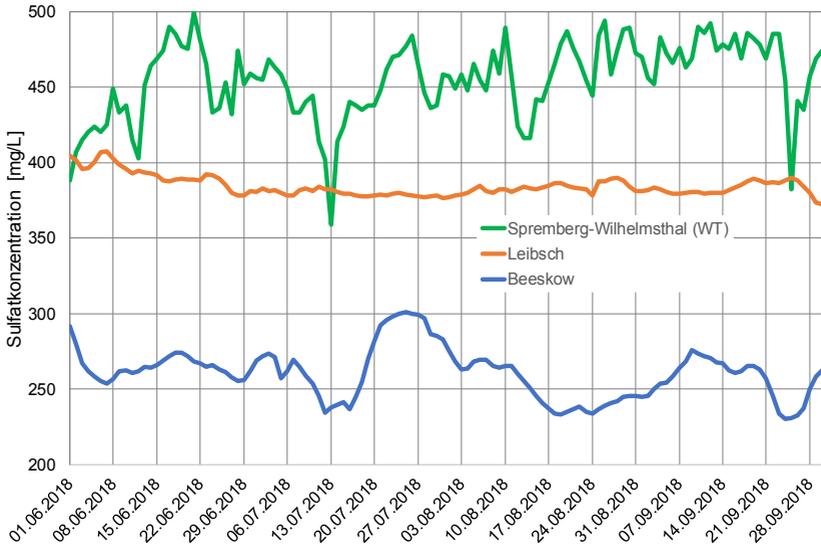


Abb. 1: Sulfatkonzentrationen an verschiedenen Querschnitten der Spree [mg/L], berechnet aus gemessenen Werten der Leitfähigkeit (Datenquelle: LMBV, LfU).

Die natürliche Konzentration in der Spree liegt bei ca. 70 mg/L. Die hohen Sulfatfrachten der Spree gehen zum größten Teil auf die Grubenwassereinleitungen aus dem aktiven Bergbau des Lausitzer Reviers zurück. Hinzu kommen diffuse Sulfatmissionen in die Vorflut und Ausleitungen aus Tagebaufolgeseen des ehemaligen Braunkohletagebaus.

Durch die Berliner Wasserbetriebe wurden Szenarioanalysen der Mischungsbilanz für den Anteil des Uferfiltrats und den Anteil des natürlich gebildeten Grundwassers durchgeführt [2]. Darin wird geschlussfolgert, dass „maximal 10 % der Messwerte ... einen Wert von 250 mg/L überschreiten“ dürfen. Bei einer Konzentration in der Müggelspree in Höhe von 300 mg/L im Jahresmittel kann der Trinkwassergrenzwert ohne Fördereinschränkungen nicht mehr eingehalten werden und es müssten Ausgleichskapazitäten an anderen Standorten geschaffen werden. Bei einer Sulfatkonzentration in der Müggelspree von 400 mg/L im Jahresmittel wäre die Fortsetzung der Trinkwasserversorgung nur mit einer zusätzlichen Verfahrensstufe zur Sulfatabtrennung im Wasserwerk Friedrichshagen möglich. Genaue Angaben zur Realisierbarkeit und zu den Kosten wären erst nach einer detaillierten Planung unter Berücksichtigung aller lokalen Randbedingungen möglich.

### Ergebnisse

Prognostische Berechnungen mit dem länderübergreifend maßgebenden Planungs- und Entscheidungsinstrument der Bewirtschaftung der Flussgebiete Spree, Schwarze Elster und Neiße (WBalMo-Ländermodell) zeigten, dass oberhalb Spremberg-Wilhelmsthal jährlich ca. 100 Mio. m<sup>3</sup> Wasser mit einer Sulfatkonzentration von 70 mg/L (entspricht natürlicher Hintergrundkonzentration) zusätzlich zu den bestehenden Betriebsräumen vorgehalten werden müssten, um in Neubrück den Immissionsrichtwert von 280 mg/L als 90 %-Perzentil einzuhalten. Aus den sächsischen Talsperren stehen im Vergleich lediglich 20 Mio. m<sup>3</sup> für die Sulfatverdünnung bereit.

Die Modellrechnungen ergaben für die bestehenden Immissionsrichtwerte, dass in der Müggelspree 268 mg/L als 90 %-Perzentil eingehalten werden können. Bei einem Immissionsrichtwert von 450 mg/L Sulfat für Spremberg-Wilhelmsthal wird demnach der von den Berliner Wasserbetrieben angestrebte Wert von 250 mg/L zwar überschritten, liegt aber deutlich unter 300 mg/L für den Jahresmittelwert, für den Kosten für die Schaffung und den Betrieb von Ausgleichskapazitäten an anderen Standorten entstehen würden.

Die Ergebnisse legen außerdem nahe, dass die Effizienz der Steuerung auf den Querschnitt Spremberg-Wilhelmsthal – mit den als vorhanden angenommenen zukünftigen Steuerungsmöglichkeiten – gering ist. Das begrenzte wasserwirtschaftliche Steuerungspotenzial wird auch durch die Messungen z. B. des Jahres 2018 gestützt (Abbildung 1): Der Verlauf der Sulfatkonzentration am Querschnitt Leibsch UP und Beeskow weist kaum relevante Beziehungen zu den Schwankungen der Sulfatkonzentration am Querschnitt Spremberg-Wilhelmsthal auf. Dies führt zu der Empfehlung, vor allem zusätzliche dargebotsausgleichende Maßnahmen und Steueroptionen im aktiven Bergbau und außerdem wasserwirtschaftliche Maßnahmen unterhalb Spremberg-Wilhelmsthal zu prüfen.

Die dargestellten Untersuchungen wurden durch das Landesamt für Umwelt Brandenburg, die Senatsverwaltung für Umwelt, Verkehr und Klimaschutz Berlin, das Ministerium für Wirtschaft, Arbeit und Energie des Landes Brandenburg sowie das Landesamt für Bergbau, Geologie und Rohstoffe des Landes Brandenburg finanziert.

## Literatur

- [1] AG FGB, 2019: Grundsätze für die Länder übergreifende Bewirtschaftung der Flussgebiete Spree, Schwarze Elster und Lausitzer Neiße. Arbeitsgruppe Flussgebietsbewirtschaftung Spree-Schwarze Elster, Nov. 2019.
- [2] BWB, 2019. Sulfatbelastung der Spree. Szenarioanalyse für das Wasserwerk Friedrichshagen. 10.01.2019. Berliner Wasserbetriebe.
- [3] DHI WASY, 2017. Erstellung des Sulfatprognosemodells Spree. Abschlussbericht, Juli 2017, DHI WASY GmbH. Im Auftrag des Landesamtes für Bergbau, Geologie und Rohstoffe des Landes Brandenburg, kofinanziert durch die Senatsverwaltung für Stadtentwicklung und Umwelt des Landes Berlin und dem Landesamt für Umwelt des Landes Brandenburg, veröffentlicht:  
<https://lbgr.brandenburg.de/cms/detail.php/bb1.c.543589.de>
- [4] DHI WASY, 2019. Ermittlung von Zielwerten für die Spree für den Parameter Sulfat als Grundlage für einen Bewirtschaftungserlass zum Umgang mit bergbaubedingten stofflichen Oberflächengewässerbelastungen. Gesamtbericht. Oktober 2019, DHI WASY GmbH. Im Auftrag des Landesamtes für Umwelt Brandenburg, kofinanziert durch die Senatsverwaltung für Umwelt, Verkehr und Klimaschutz Berlin sowie das Ministerium für Wirtschaft und Energie des Landes Brandenburg, veröffentlicht:  
<https://mluk.brandenburg.de/sixcms/media.php/9/Endbericht-Sulfatprognosemodell-Spree.pdf>
- [5] TrinkwV, 2001. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung - TrinkwV).

## **Beitrag einer Abwasserreinigungsanlage zur Konzentration an Antibiotikaresistenzgenen im Vorfluter unter verschiedenen hydraulischen Bedingungen**

C. U. Schwermer, Oslo/NO, W. Uhl, Oslo/NO

Carsten Ulrich Schwermer, Norwegian Institute for Water Research (NIVA),  
Gaustadalléen 21, NO-0349 Oslo, Norwegen

### **Einleitung**

Die Bildung und Verbreitung von Antibiotikaresistenz stellt eine ernste Gefahr für die Gesundheit von Menschen und Tieren dar. Maßnahmen gegen die weitere Verbreitung von Antibiotikaresistenz bedürfen ganzheitlicher Konzepte unter der Berücksichtigung der Gesundheit von Menschen, Tieren und einer intakten Umwelt im Sinne des „One-Health-Ansatzes“. Erst seit kurzem wird einer gesunden Umwelt ein deutlich höherer Stellenwert in den nationalen Strategien im Kampf gegen die Verbreitung von Antibiotikaresistenz eingeräumt. Hauptursache hierfür ist der derzeitige Mangel an Wissen über die Entstehung und Verbreitung von Antibiotikaresistenz in der Umwelt, vor allem an Orten welche durch Menschen verursachten Emissionen beeinflusst werden.

Abwasserreinigungsanlagen (ARA) werden in der internationalen Literatur zunehmend als eine der wichtigsten Gefahrenherde („hot spots“) für die Verbreitung von Antibiotikaresistenz beschrieben. Sie bieten Lebensraum für viele Bakterien, welche prinzipiell zur Abwasserreinigung beitragen und dafür essenziell notwendig sind. Unter den speziellen Bedingungen und ökologischen Nischen in ARA sind jedoch auch antibiotikaresistente Bakterien (ARB) in der Lage, sich zu vermehren und ihre genetische Erbinformation an andere, bis dahin harmlose, Umweltbakterien weiterzugeben. Wenn die Gene solcher ARB ihren Weg zurück in klinische Stämme finden, besteht eine akute Gefahr für die menschliche Gesundheit, besonders wenn pathogene Keime Multiresistenzen erwerben. Obschon konventionelle ARA zu einer Reduzierung der Bakterienfrachten im ungereinigten Abwasser beitragen, liegen z. Z. kontroverse Aussagen bezüglich der Wirksamkeit von ARA in der Entfernung von ARB vor. Daneben gibt es nur sehr wenige wissenschaftliche Untersuchungen über den Wirkungsgrad von ARA in Bezug auf die Entfernung oder Zerstörung von Antibiotikaresistenzgenen (ARG), welche unabhängig von Bakterien vorkommen können und welche gleichzeitig deutlich höhere Anforderungen an technische Maßnahmen zur deren Aufreinigung erfordern. Welchen Beitrag ARA zur Verbreitung von ARB, und insbesondere ARG im nachfolgenden Gewässer (Rezipient) darstellen, ist zurzeit unbekannt.

Für Entscheidungen ob und in welchem Umfang bestehende ARA technisch ausgebessert und inwieweit neue Anlagen errichtet werden müssen, um die Verbreitung von Antibiotikaresistenz in die Rezipienten zu minimieren oder zu verhindern, benötigen die verantwortlichen Behörden, Gemeinden und ARA Betreiber dringend forschungsbasierte Informationen. Solche Informationen sind grundlegend wichtig zur Abschätzung des Risikopotenzials ausgeht vom Einleiten der ARG in gereinigten Abwässern aus den ARA in den Rezipienten.

Wie in anderen skandinavischen Ländern ist die Anzahl von Patienten mit Antibiotikaresistenz in Norwegen viel geringer als in anderen Ländern der Erde. Da die Anzahl in Norwegen in den letzten Jahren jedoch steigt, sind die Behörden besorgt und umfassende Maßnahmen, meist präventiver Art (z.B. durch bessere Kontrolle und eingeschränkte Verschreibung), und die Untersuchung über die Verbreitung in Krankenhäusern und Umwelt, wurden in Gang gebracht. Eine noch geringe Prävalenz von Antibiotikaresistenz eröffnet gleichzeitig die Möglichkeiten in Norwegen Forschung über die ursprünglichen Verbreitungsmechanismen und -wege von Resistenzen zu betreiben, im Vergleich zu anderen Ländern in denen Resistenzen bereits viel stärker verbreitet sind.

**Ziel.** Das Ziel der vorliegenden Studie war es, neue Daten über das Vorkommen von Marker-Genen welche indikativ für das Vorkommen von ARG sind, in gereinigtem Abwasser aus ARA sowie im nachgeschalteten Vorfluter zu erheben. Dazu wurden neun ausgesuchte ARG, 16S rRNA und Klasse 1 integron (intl1) in Abwasserproben von drei großen norwegischen ARA in der Nähe von Oslo quantifiziert mittels qPCR. Um den Beitrag der ARA im einem Rezipienten mittels einer Massenbilanz zu bestimmen, wurden zusätzlich Proben aus dem angeschlossenen Fluss oberhalb (-150 m) und unterhalb (+500 m) der Einleitungsstelle (0 m) exemplarisch an einer der drei ARA entnommen.

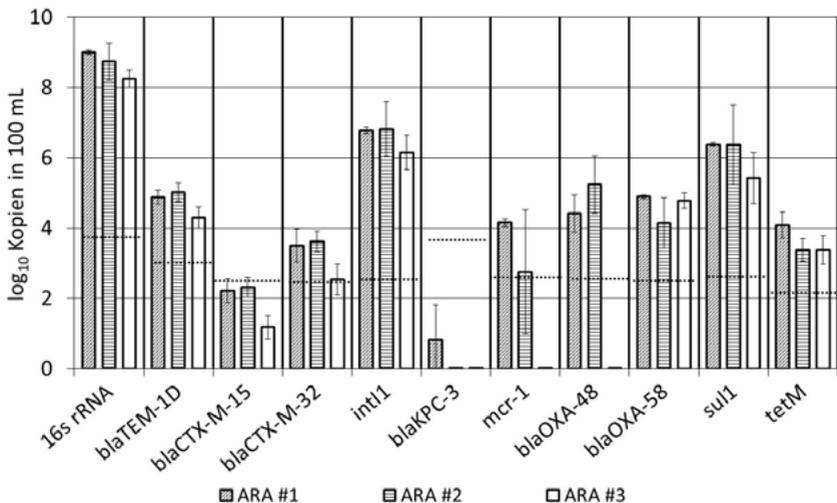
**Neuheitsgrad und Einordnung der Studie.** Eine vergleichbare Untersuchung ist in Norwegen bisher noch nicht durchgeführt worden. Zurzeit liegen keine Daten über das Vorkommen von Antibiotikaresistenz in und aus ARA vor, und die Verbreitung in aquatischen Systemen ist unbeschrieben. Unsere Daten tragen einerseits zu internationalen Messkampagnen bezüglich des Vorkommens von Antibiotikaresistenz an ARA und im Rezipienten bei. Darüber hinaus werden mehrere Aspekte der praktischen Gegenmaßnahmen an ARA, welche für die Betreiber und den Gesetzgeber wichtig sind, aufgegriffen.

Es wird ein neuer einfacher Ansatz vorgestellt, welcher als Basis einer Nutzen-Kosten-Analyse verbesserter bzw. alternativer technischer Methoden bei der Optimierung bestehender oder bei der Planung neuer ARAs zwecks wirksamerer Entfernung von Antibiotikaresistenz in behandelten Abwässern, dienen kann.

## Ergebnisse

**Emission von ARG aus ARA.** An allen drei untersuchten ARA wurden die meisten der gemessenen Gene im gereinigten Abwasser nachgewiesen, d.h. diese verlassen die Anlage ungehindert. Die quantitativ dominierenden Gene im gereinigten Abwasser waren 16S rRNA > Klasse 1 integron integrase *int1* > *sul1* (in abnehmender Reihenfolge der Abundanz). An allen Anlagen waren die Konzentrationen der meisten Gene vergleichbar hoch (Abbildung 1). Da jedoch nur zwei der drei ARA Abwasser von Krankenhäusern erhalten und aufreinigen, deutet dieser Befund darauf hin dass Abwässer aus Haushalten und anderen diffusen Quellen die wichtigsten Quellen der gemessenen ARG sind. Dagegen tragen Krankenhäuser nur zur Gesamtbelastung, jedoch nicht dominierend hierzu bei.

Die untersuchten Abwasserproben beinhalteten Gene, welche zur Resistenz gegen die in Norwegen meist verabreichten Antibiotika kodieren, wie Penicilline, Tetracyclin, Sulfonamide,  $\beta$ -Laktam Antibiotika, Trimethoprim und Aminoglykoside. Es konnten jedoch auch Gene quantitativ nachgewiesen werden, welche für die Resistenz gegen jene Antibiotika kodieren, welche unter die kritisch wichtigen Antibiotika und „Mittel der letzten Wahl“ fallen, wie Carbapenem, Colistin und Cephalosporin. Dies war unabhängig davon, dass diese Mittel in Norwegen nur in absoluten Ausnahmefällen verschrieben werden und infolge dessen der entsprechende Konsum in Norwegen sehr gering ist (im Gegensatz zu Deutschland, wo z.B. Colistin in der Umwelt vorkommt aufgrund des starken Einsatzes in der Viehzucht). Übereinstimmend mit Studien in anderen Ländern deutet dieser Befund darauf hin, dass diese Gene mehr in der Umwelt in Norwegen verbreitet sind als bisher angenommen wurde. Dies ist überraschend für Länder wie Norwegen, wo schon seit vielen Jahren präventive Maßnahmen angewandt werden, und wo man bisher davon ausgeht Antibiotikaresistenz unter Kontrolle zu haben.



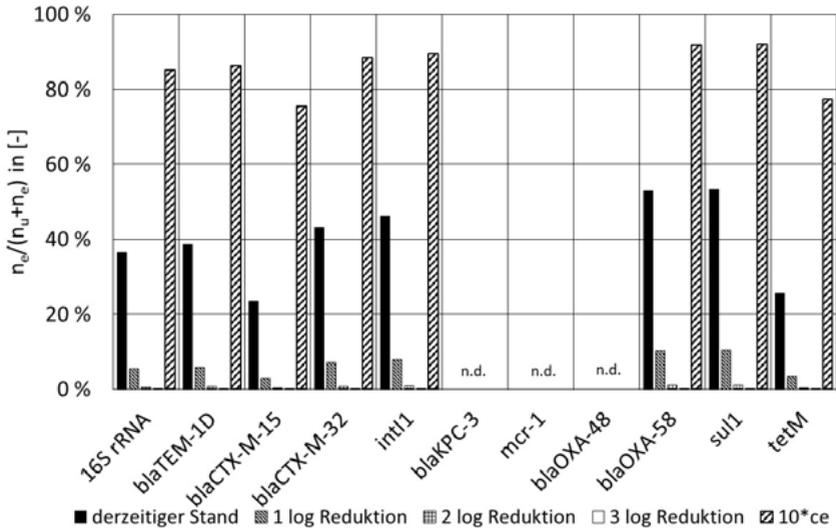
**Abbildung 1** Konzentration (normalisiert auf 100 mL) der gemessenen molekularen Marker im gereinigten Abwasser der drei untersuchten Anlagen. Fehlerangabe entspricht 67% CI basierend auf n=3 Messungen an drei aufeinanderfolgenden Tagen. Gepunktete Linien entspricht dem LOQ.

**Volumenmäßiger Anteil der ARA zum Totalablauf.** Eine Berechnung des volumenmäßigen Anteils Abwasser aus der ARA im Totalablauf des Flusses zeigte einen prozentualen Beitrag der Anlage von 12% beim jahresdurchschnittlichen Normalvolumenstrom des Flusses, 4% bei Flut und 45% bei Niedrigwasser. Damit ist bei Niedrigwasser mit einer hohen volumenmäßigen Belastung der ARA zum Fluss zu rechnen. Dieses ist insbesondere kritisch bei Flüssen in wärmeren Ländern, wo der Beitrag von ARAs langwierig hoch sein kann.

**Vorkommen von ARG im Fluss.** In Proben aus dem Fluss, welcher einer der untersuchten ARA nachgeschaltet ist, wurden für die meisten der gemessenen Gene gleich hohe Konzentrationen nachgewiesen wie sie im Ablauf der ARA vorkamen. Außerdem wurden vergleichbare Konzentrationen für die meisten Gene in Flussproben gemessen, unabhängig davon ob diese oberhalb oder unterhalb der Anlage genommen wurden. Dieses Ergebnis war unerwartet und ist vermutlich mit einer besonderen Situation im Bereich der Probenahmestelle zu erklären: In diesem Abschnitt ist der Fluss geprägt durch eine generell hohe Verunreinigung mit verschiedenen Stoffen (Partikel, eutrophierende Stoffe) aus diffusen Quellen wie Landwirtschaft und Industrie, Fäkalverunreinigungen aus anderen angrenzenden Flusszuläufen, Oberflächenabläufe nach starken Regenschauern vor der Probenahme, und dem Vermischen des Flusses als Folge der Regulierung des Wasserstandes im angrenzenden Mündungsgebiet.

**Mengenmäßiger Beitrag der ARG aus der ARA.** Die Massenbilanz zur Berechnung des mengenmäßigen Betrags von ARG aus der ARA zur Totalbelastung im Fluss für den Fall der existierenden/unveränderten Anlage ergab einen relativen Beitrag für die meisten Gene ausgehend von der Anlage von <12% bei Normalwasserführung, <6% bei Flut und zwischen 23% (bla<sub>CTX-M15</sub>) bis 53% (bla<sub>OXA-58</sub> und sul1) bei Niedrigwasser.

**Effekt der Änderung der Reinigungsleistung.** Eine angenommene Verbesserung der Reinigungsleistung mit 1 und 2 log, durch z.B. Optimierung der Desinfektion, würde laut Berechnungen zu einer Reduzierung des Anteils der Gene stammend aus der ARA im Totalablauf des Flusses beitragen, wie es exemplarisch für den Fall der Niedrigwasserführung (dem „worst-case“ Szenario) in Abbildung 2 dargestellt ist.



**Abbildung 2** Verhältnis der Anzahl Gene im ARA Abwasser ( $n_e$ ) und im Totalablauf im Fluss ( $n_u+n_e$ ) bei im Falle der Niedrigwasserführung im Fluss. Auswirkung gezeigt für den derzeitigen Stand, erhöhter Reinigungsleistung (1, 2, und 3 log Stufen) und 10 mal höhere ARG Belastung im ungeklärten Rohwasser. n.d.= unterhalb Detektionsgrenze

Die Modellierung des Verhältnisses zwischen dem Quotienten der Marker-Gen Konzentration im Fluss unter- und oberhalb des Einleitungsstelle ( $C_d/C_u$ ) sowie dem Volumenstrom im Fluss ( $Q_u$ ) zeigt, dass der Beitrag der drei dominierenden Gene 16S rRNA, *int11*, *sul1* und *blaOXA-58* aus der existierenden/ unveränderten ARA zum Fluss beim Normalvolumenstrom des Flusses (ca. 17000 m<sup>3</sup>/h) relativ unbedeutend ist. Mit zunehmenden Volumenstrom im Fluss sinkt der Beitrag aller dieser Gene aus der Anlage aufgrund einer zunehmenden Verdünnung im Fluss. Umgekehrt, bei abnehmendem Volumenstrom im Fluss steigt der Beitrag von *sul1* und *blaOXA-58* aus der Anlage deutlich an. Eine angenommene Erhöhung der Reinigungsleistung von einem log würde zu einer deutlichen Reduzierung des Beitrages aller fünf Markergene führen, und der stärkste Effekt wurde bei Niedrigwasser erzielt.

Letzteres macht sowohl den Effekt als auch die Wichtigkeit der verbesserten Aufreinigung von ARG durch eine Optimierung der Anlage insbesondere bei Niedrigwasser deutlich.

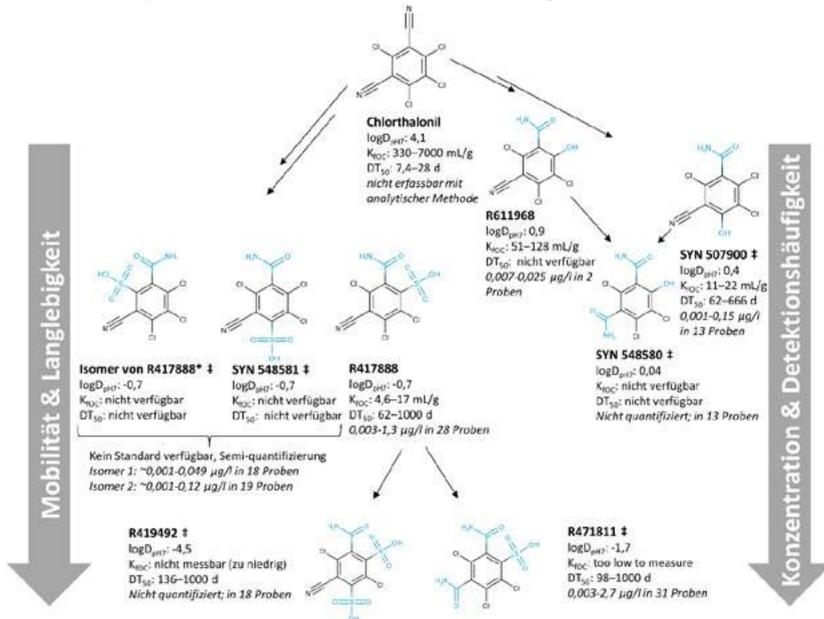
## Chlorthalonil-Abbauprodukte: Herausforderung für die Trinkwasseraufbereitung?

K. Kiefer, Dübendorf/CH, T. Bader, Langenau/D, N. Minas, Dübendorf/CH, E. Salhi, Dübendorf/CH, H. Singer, Dübendorf/CH, E. Janssen, Dübendorf/CH, U. von Gunten, Dübendorf/CH, J. Hollender, Dübendorf/CH

Karin Kiefer, Eawag, Überlandstr. 133, Dübendorf/CH

### Einleitung

Chlorthalonil ist ein Breitbandfungizid, das bereits seit Jahrzehnten weltweit eingesetzt, nun aber in der Europäischen Union verboten wurde. Gründe für das Verbot liegen in den karzinogenen Eigenschaften, den Risiken für Fische und Amphibien sowie einer möglichen Belastung des Grundwassers mit Chlorthalonil-Abbauprodukten [1]. In einem breit angelegten Grundwasser-Screening wiesen wir kürzlich acht verschiedene Chlorthalonil-Abbauprodukte nach (sechs mit Referenzstandard eindeutig bestätigte Abbauprodukte, Abbildung 1) [2]. In 20 der 31 untersuchten Proben war mindestens eines der Abbauprodukte in Konzentrationen über  $100 \text{ ngL}^{-1}$  vorhanden.



**Abbildung 1:** Abbauprodukte von Chlorthalonil, welche im Rahmen eines Screenings von 31 Schweizer Grundwasserproben nachgewiesen wurden. ‡ Detektion im Grundwasser zum ersten Mal in der internationalen Literatur publiziert. Verändert nach Kiefer et al. [2].

Aufgrund der Karzinogenität von Chlorthalonil und der nicht abschließend geklärten Toxizität der Abbauprodukte hat die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) die Abbauprodukte vorsorglich als relevant eingestuft [3]. Für relevante Pestizidabbauprodukte gilt ein Trinkwassergrenzwert von  $100 \text{ ngL}^{-1}$ . Nun kann jedes Mitgliedsland eine Relevanzbeurteilung durchführen. In Deutschland wurden die Chlorthalonil-Abbauprodukte bisher nicht neu bewertet (Stand November 2019), so dass sie nach wie vor als nicht relevant klassifiziert sind. Für einen Teil der Abbauprodukte gilt ein Gesundheitlicher Orientierungswert von  $3 \mu\text{gL}^{-1}$  [4]. Die Schweiz hingegen folgte im Dezember 2019 der Empfehlung der Europäischen Kommission und stufte Chlorthalonil als wahrscheinlich krebserregend (Kategorie 1B) ein, sodass in Anlehnung an den Leitfaden Sanco/221/2000 –rev.10- final [5] alle Abbauprodukte als relevant gelten, ungeachtet ihrer Toxizität. Insbesondere die hohen Konzentrationen von R471811 stellen viele Schweizer Wasserversorger derzeit vor eine große Herausforderung. Das Schweizerische Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV) gewährt den betroffenen Wasserversorgern zwei Jahre Zeit, um den Trinkwasserhöchstwert von  $100 \text{ ngL}^{-1}$  für relevante Chlorthalonil-Abbauprodukte einzuhalten [6]. Bisher waren jedoch keine geeigneten Aufbereitungsverfahren bekannt.

Daher wurden im Rahmen dieser Studie [7] verschiedene Aufbereitungstechniken in realen Wasserwerken sowie im Pilot- oder Labormaßstab getestet. Die Wasserwerke waren mit Ozonung, Aktivkohle sowie UVC-Desinfektion ausgestattet, während Umkehrosmose in einer Pilotanlage getestet wurde. Die Laborversuche erlaubten es, das Verständnis zu vertiefen sowie die Abbaubarkeit mit OH-Radikalen (Erweiterte Oxidationsverfahren) zu untersuchen.

### Methoden

Wasserwerk A nutzt Rheinwasser zur Grundwasseranreicherung. Das angereicherte Grundwasser wird anschließend über drei Kornaktivkohlefilter (spezifischer Durchsatz zum Zeitpunkt der Probenahme: 25, 55 und  $305 \text{ m}^3\text{kg}^{-1}$ ) geführt und mittels UVC-Bestrahlung desinfiziert. Wasserwerk B behandelt Grundwasser mittels Ozonung ( $0.8 \text{ g O}_3 \text{ g}^{-1} \text{ DOC}$ ) und Kornaktivkohlefiltern (spezifischer Durchsatz zum Zeitpunkt der Probenahme: 23 und  $215 \text{ m}^3\text{kg}^{-1}$ ). Proben wurden vor und nach den einzelnen Aufbereitungsschritten genommen. Zusätzlich wurden drei Grundwasserpumpwerke, welche eine UVC-Desinfektion aufwiesen, beprobt.

Die Wasserproben wurden durch Wasserverdampfung angereichert und mittels Umkehrphasenflüssigkeitschromatographie gekoppelt an ein hochauflösendes Orbitrap-Massenspektrometer analysiert. Eine vergleichbare Methode ist in Kiefer et al. [2] beschrieben. Um die Verbreitung der Chlorthalonil-Abbauprodukte im Grundwasser genauer abzuklären, wurden 60 Grundwasserproben, welche zuvor mit einer vergleichbaren Methode analysiert wurden, retrospektiv quantifiziert.

Das Verhalten der Chlorthalonil-Abbauprodukte bei verschiedenen Wasseraufbereitungsverfahren wurde exemplarisch anhand zweier Sulfonsäuren (R417888, R471811) und zweier Phenole (SYN507900, R611968) untersucht. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit können die Ergebnisse voraussichtlich auf die anderen bekannten Abbauprodukte übertragen werden. Die Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung für die Reaktionen von Ozon mit den beiden Phenolen wurde mittels Kompetitorkinetik mit dem Kompetitor Salicylsäure bestimmt. Da die Sulfonsäuren nur sehr langsam mit Ozon reagieren, wurde deren Reaktivität mit Ozon im Überschuss (Faktor 1000) getestet. Um die Abbaubarkeit mit OH-Radikalen zu erfassen, wurden die Phenole mit dem UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Verfahren untersucht. Hier agierte Benzoesäure als Kompetitor. Die Geschwindigkeitskonstante 2. Ordnung wurde bezüglich des direkten Photoabbaus durch UVA korrigiert. Da die Sulfonsäuren unter diesen Bedingungen stabil waren, wurden höhere Konzentrationen von OH-Radikalen getestet, die durch Ozonung bei pH 10 erzeugt wurden. Hierbei diente Amidotrizoesäure als Kompetitor. Weiterhin wurde der Abbau durch UVC (254 nm) untersucht, wobei der Photonenfluss mittels chemischer Aktinometrie bestimmt wurde. Die Entfernbarkeit mittels Aktivkohle wurde basierend auf Adsorptionsisothermen evaluiert. Hierzu wurde ein Grundwasser mit den Abbauprodukten sowie zwei Vergleichssubstanzen (Atrazin, Amidotrizoesäure) auf 500 ngL<sup>-1</sup> dotiert und mit unterschiedlichen Mengen Pulveraktivkohle versetzt. Die Umkehrosmose-Pilotanlage wurde über 14 Wochen mit belastetem Grundwasser (~2000 ngL<sup>-1</sup> Chlorthalonil-Abbauprodukte) betrieben und fünfmal beprobt.

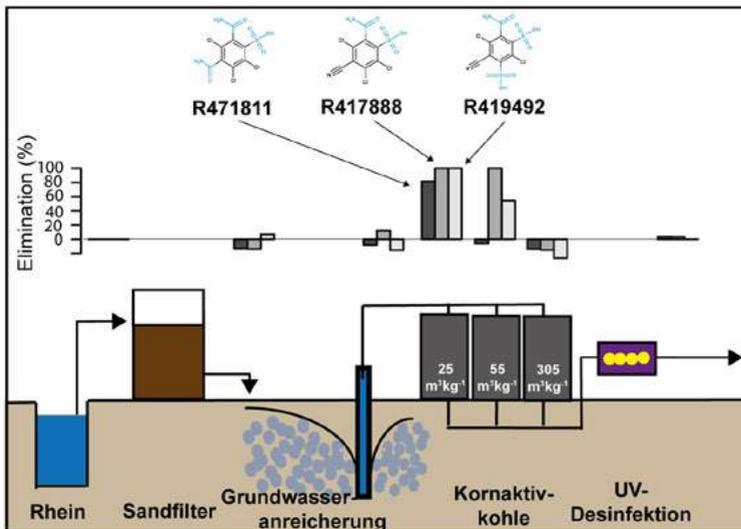
## Ergebnisse

Zusätzlich zu den Abbauprodukten R471811, R417888, R419492, SYN507900, SYN548580 und R611968 (Abbildung 1), welche in Kiefer et al. [2] beschrieben wurden, wurden die Abbauprodukte R611965 und R81503 mit Referenzstandard abgeklärt. Keine der beiden Substanzen konnte in den Grundwasserproben nachgewiesen werden. Das bisher nur vorläufig identifizierte Abbauprodukt SYN548581 hingegen wurde mit Referenzstandard bestätigt. Gemäß der Nachquantifizierung in den 60 Grundwasserproben tritt das Abbauprodukt R471811 am häufigsten (in allen Proben vorhanden) und gleichzeitig mit den höchsten Konzentrationen auf, gefolgt von den beiden Sulfonsäuren R417888 und R419492. Die Phenole wurden in weniger als 25% der Proben nachgewiesen und nur in zwei der 60 Proben über 100 ngL<sup>-1</sup>.

In der Ozonung des Wasserwerks B verhielten sich alle Sulfonsäuren persistent. Selbst unter deutlich höheren Ozondosen im Laborversuch konnte kein Abbau beobachtet werden. Die Phenole hingegen sind mit Ozon gut abbaubar. Die Reaktivität liegt etwa Faktor zehn unter der Reaktivität von Carbamazepin. Jedoch konnte dies nur im Labormaßstab gezeigt werden, da die Konzentrationen im Wasserwerk zu gering waren. Ähnliches gilt für die Abbaubarkeit mit OH-Radikalen. Während die Phenole verhältnismäßig gut mit OH-Radikalen reagierten, verhielten sich die Sulfonsäuren im Laborversuch sogar persistenter als das Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure, welches mit einer Reaktionsrate von  $5.4 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [8] vergleichsweise stabil gegenüber OH-Radikalen ist. In der UVC-Desinfektion verhielten sich die Sulfonsäuren persistent

(Abbildung 2), während in zwei UVC-Desinfektionsanlagen ein Abbau der Phenole beobachtet wurde. Der höhere Photoabbau der Phenole wurde auch hier experimentell mit Laborversuchen bestätigt.

Das Chlorthalonil-Abbauprodukt mit den höchsten Konzentrationen (R471811) konnte nur von sehr frischer Aktivkohle ausreichend zurückgehalten werden (spezifischer Durchsatz 23/25  $\text{m}^3\text{kg}^{-1}$ , 80% Rückhalt). Bereits bei einer Aktivkohle mit einem spezifischen Durchsatz von 55  $\text{m}^3\text{kg}^{-1}$  brach R471811 vollständig durch (Abbildung 2). Ein ähnliches Durchbruchverhalten zeigte Amidotrizoesäure. Das weniger polare Abbauprodukt R417888 hingegen wurde selbst von Aktivkohle mit einem spezifischen Durchsatz von 215  $\text{m}^3\text{kg}^{-1}$  noch zu 60% entfernt, bei Aktivkohle mit einem spezifischen Durchsatz von 305  $\text{m}^3\text{kg}^{-1}$  brach R417888 vollständig durch (Abbildung 2). Erste Ergebnisse der Adsorptionstests mit Pulveraktivkohle bestätigen das Bild. Demnach nimmt die Adsorbierbarkeit verschiedener Substanzen im Mehrstoffsystem in der folgenden Reihenfolge zu: R471811 ~ Amidotrizoesäure < SYN507900 ~ R417888 < R611968 < Atrazin. Mittels Umkehrosiose wurden  $\geq 98\%$  der Chlorthalonil-Abbauprodukte entfernt.



**Abbildung 2:** Verhalten von drei Chlorthalonil-Abbauprodukten im Wasserwerk A. Konzentration im Rohwasser: R471811 53  $\text{ngL}^{-1}$ , R417888 8  $\text{ngL}^{-1}$ , R419492 14  $\text{ngL}^{-1}$ .

## Fazit

Im Gegensatz zu den Sulfonsäuren sind die phenolischen Chlorthalonil-Abbauprodukte für Wasserversorger eher unproblematisch aufgrund der geringen Konzentrationen und vergleichsweise guten Entfernbarkeit in der Trinkwasseraufbereitung. Die höher konzentrierten Sulfonsäuren verhalten sich hingegen auch bei aufwändigen Aufbereitungsverfahren persistent. Das Abbauprodukt mit den höchsten Konzentrationen, R471811, konnte nur mittels frischer Aktivkohle oder Umkehrosmose entfernt werden. Die Aufbereitung von mit Chlorthalonil-Abbauprodukten belastetem Wasser erfordert folglich einen hohen Aufwand.

## Literatur

- [1] European Commission (2019): SANTE/10186/2018 Rev 1: Final Renewal report for the active substance chlorothalonil finalised in the Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed at its meeting on 22 March 2019 in view of the non-renewal of the approval of chlorothalonil as active substance in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009. Abgerufen am: 05/08/2019; <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.ViewReview&id=1720>.
- [2] Kiefer, K.; Müller, A.; Singer, H.; Hollender, J. (2019): New Relevant Pesticide Transformation Products in Groundwater Detected Using Target and Suspect Screening for Agricultural and Urban Micropollutants with LC-HRMS. Water Research, 165.
- [3] EFSA (2018): Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance chlorothalonil. EFSA Journal, 16(1): 1-40.
- [4] Umweltbundesamt (2019): Gesundheitliche Orientierungswerte (GOW) für nicht relevante Metaboliten (nrM) von Wirkstoffen aus Pflanzenschutzmitteln (PSM). Fortschreibungsstand März 2019. Abgerufen am: 25/11/2019; [https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/374/dokumente/gowpflanzen\\_schutzmetabolite\\_0.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/374/dokumente/gowpflanzen_schutzmetabolite_0.pdf).
- [5] European Commission (2003): Guidance document on the assessment of the relevance of metabolites in groundwater of substances regulated under council directive 91/414/EEC. Sanco/221/2000 –rev.10- final.
- [6] Bundesamt für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen BLV (2019): Weisung 2019/1: Umgang mit dem Risiko durch Chlorothalonil-Rückstände im Trinkwasser. Abgerufen am: 23/09/2019; <https://www.blv.admin.ch/dam/blv/de/dokumente/lebensmittel-und-ernaehrung/rechts-und-vollzugsgrundlagen/hilfsmittel-vollzugsgrundlagen/weisungen/weisung-2019-1.pdf.download.pdf/weisung-2019-1-chlorothalonil.pdf>.
- [7] Kiefer, K.; Bader, T.; Minas, N.; Salhi, E.; Wiget, R.; Janssen, E.M.-L.; von Gunten, U.; Hollender, J. (submitted): Chlorothalonil Transformation Products in Drinking Water Resources: Wide-Spread and Challenging to Abate. Water research.
- [8] Real, F.J.; Benitez, F.J.; Acero, J.L.; Sagasti, J.J.P.; Casas, F. (2009): Kinetics of the Chemical Oxidation of the Pharmaceuticals Primidone, Ketoprofen, and Diatrizoate in Ultrapure and Natural Waters. Industrial & Engineering Chemistry Research, 48(7): 3380-3388.

## Wirkungsbezogene Analytik in der Trinkwasseraufbereitung

L. Stütz, Langenau/D, W. Schulz, Langenau/D, R. Winzenbacher, Langenau/D,  
O. Hoppel, Karlsruhe/D, B. Schmutz, Karlsruhe/D, M. Scheurer, Karlsruhe/D

Lena Stütz, Zweckverband Landeswasserversorgung,  
Am Spitzigen Berg 1, Langenau/D

### Einleitung

Die Analytik ist heute in der Lage, eine Vielzahl organischer Spurenstoffe in einer Wasserprobe zu detektieren. Eine sichere Identifizierung aller detektierten Stoffe und darüber hinaus eine Beurteilung deren toxikologischer Relevanz ist derzeit allerdings nicht möglich. <sup>[1]</sup> Da für Wasserversorger – neben der hygienischen Sicherheit – die toxikologische Unbedenklichkeit des abgegebenen Wassers höchste Priorität hat, werden Analysenverfahren zur Ermittlung der Wirkungen der im Wasser vorliegenden Spurenstoffe benötigt. Hierfür kann die Wirkungsbezogene Analytik (WBA) angewandt werden. <sup>[2]</sup>

Ein Vorteil der WBA besteht darin, dass aufgrund der Fraktionierung der Proben nicht die Summenwirkung aller Substanzen erfasst wird, sondern einzelne Fraktionen auf ihre Wirkung hin untersucht werden. Der Einsatz der Hochleistungsdünnschichtchromatographie (HPTLC) als Fraktionierungsmethode erlaubt es, den Bioassay direkt auf der HPTLC-Platte durchzuführen. <sup>[3,4]</sup> Die Zuordnung der Wirkung zu einer Fraktion der Probe kann dabei den Aufwand für die Suche nach der wirkenden Substanz reduzieren.

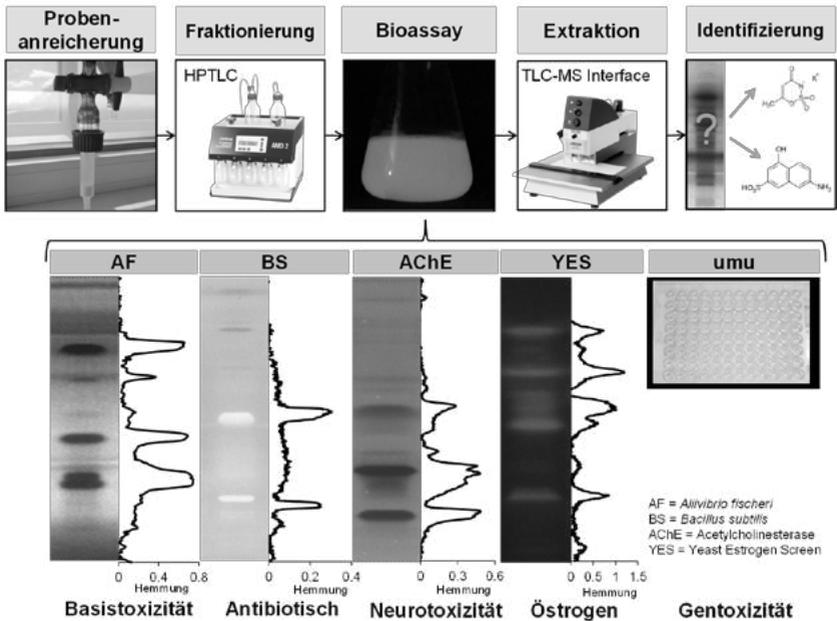
Der Vergleich des Verlaufs von Wirkungen entlang der Trennstrecke (Hemmchromatogramm, Wirkmuster) ermöglicht es zudem, die Prozesse der Trinkwasseraufbereitung weitergehend zu bewerten. Die WBA kann Spurenstoffe und deren Transformationsprodukte nach ihrer Wirkung anstatt ihrer Konzentration in Wasserproben beurteilen. Um dies sowie generell Möglichkeiten und Grenzen der WBA im Kontext der Trinkwasseraufbereitung aufzuzeigen, wurde das DVGW-Forschungsprojekt »WBA-BeReit« durchgeführt. Im Arbeitspaket 7 des Projekts wurden Realproben verschiedener Wasserversorgungsunternehmen untersucht. Dies wird nachfolgend näher beschrieben. <sup>[5]</sup>

### Methodik der WBA

Die Methodik der WBA mit HPTLC gliedert sich in mehrere Teilschritte (Abbildung 1). Zuerst wird eine Probenanreicherung, meist in Form einer Festphasenextraktion durchgeführt, an die sich die Auftragung und Trennung der Probenextrakte mittels HPTLC anschließt. Nach der Trennung der Proben wird der Bioassay angewandt, wobei fünf Endpunkte zum Einsatz kamen:

- Umu-Assay, Gentoxizität (in der Mikrotiterplatte)
- Yeast Estrogen Screen (YES), östrogene Effekte
- Acetylcholinesterase-Hemmtest (AChE), Neurotoxizität
- *Bacillus subtilis*-Hemmtest (BS), Antibiotische Effekte
- *Allivibrio fischeri*-Hemmtest (AF), Basistoxizität

Nach der Wirkungsdetektion können wirkende Zonen mit einem TLC-MS-Interface von der HPTLC-Platte extrahiert und mittels Flüssigkeitschromatographie mit hochauflösender Massenspektrometrie (LC-HRMS) analysiert werden, mit dem Ziel, die wirkungsauslösende(n) Substanz(en) zu identifizieren. Alle Bioassays mit Ausnahme des umu-Assays wurden direkt auf der HPTLC-Platte durchgeführt. Die Durchführung des umu-Assays erfolgte für die angereicherte Gesamtprobe und gegebenenfalls für einzelne HPTLC-Fractionen nach DIN 38415-T3 in der Mikrotiterplatte.



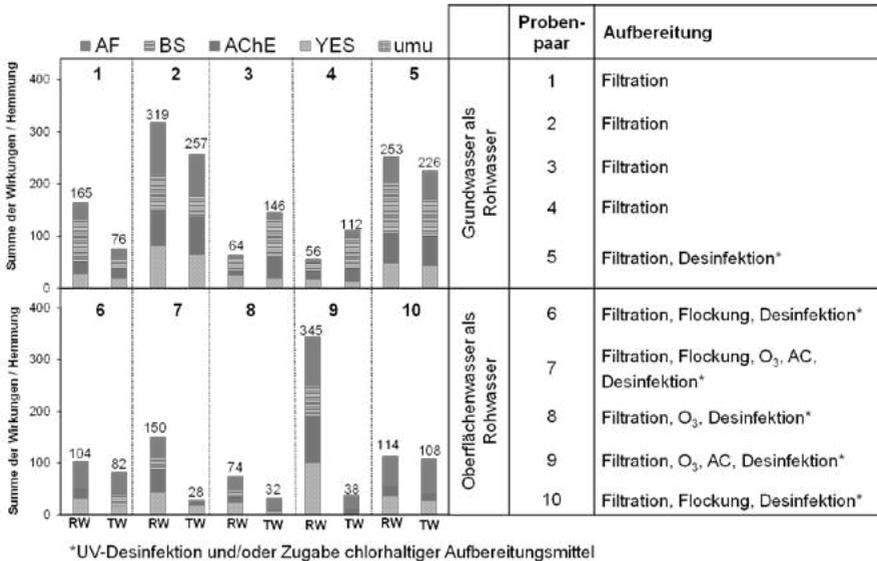
**Abbildung 1** Überblick über die Methodik der WBA mit HPTLC

### **Ausgewählte Ergebnisse (AP7)**

Es wurden 10 Roh- und Trinkwasserproben von 8 Wasserversorgern in Deutschland mit der WBA untersucht. In keinem der untersuchten SPE-Extrakte trat ein genotoxischer Effekt beim umu-Assay auf. Mit dem YES wurden östrogene Wirkungen in den Rohwässern, jedoch teilweise schwach auch in den Trinkwässern detektiert. Die Oberflächenwässer wiesen tendenziell stärkere östrogene Effekte auf als die Grundwässer. Dies konnte durch eine separate quantitative Analyse (HPLC-MS/MS) von fünf Östrogenen bestätigt werden. Es zeigte sich, dass durch eine Aufbereitung mit mehreren Aufbereitungsstufen, wie beispielsweise Ozonung, Schnellfiltration, Aktivkohlefiltration und Desinfektion östrogene Effekte eher reduziert werden als bei ausschließlichem Einsatz der Schnellfiltration. Beim AChE-Hemmtest zeigten die Proben ähnliche Wirkungsmuster aber mit unterschiedlichen Intensitäten, wobei wiederum mehr Wirkungen bei Aufbereitungen mit mehreren Stufen entfernt werden konnten. Schwache antibiotische Effekte traten in nahezu allen untersuchten Probenextrakten auf. Vor allem in den Oberflächenwässern traten deutliche Hemmbanden auf, wobei sich das Muster über unterschiedliche Oberflächengewässer hinweg wiederholte. Nach der Extraktion wurden die wirkenden Zonen mittels Non-Target Screening (NTS) analysiert, wobei mehrere Substanzen identifiziert werden konnten. Zwei der identifizierten Substanzen (Clindamycin-sulfoxid, Candesartan) wiesen auch eine antibakterielle Wirkung beim BS-Hemmtest auf. Mit der vorliegenden Konzentration der beiden Substanzen konnte die Wirkung allerdings nicht erklärt werden, sodass weitere, bislang unbekannte Substanzen in der wirkenden Bande vorliegen müssen. Beim AF-Hemmtest ergaben sich vor allem im mittleren Retardationsbereich unterschiedliche Hemmmuster der Proben.

### Wirkungsbezogene Prozessbeschreibung und Vergleich mit Non-Target-Screening

Zur übersichtlichen Beschreibung der Trinkwasseraufbereitung wurden die Wirkungen der Fraktionen getrennt für jeden der fünf Bioassays aufsummiert und über alle Proben normiert. So konnte die Wirkung einer Probe durch fünf Zahlenwerte beschrieben werden (Abbildung 2). Es zeigte sich, dass Trinkwässer aus Oberflächenwässern insgesamt weniger Wirkungen aufwiesen, als Trinkwässer, die aus Grundwasser gewonnen wurden. Dies könnte durch die Aufbereitung mit mehreren Aufbereitungsstufen bei den Oberflächenwässern erklärt werden.



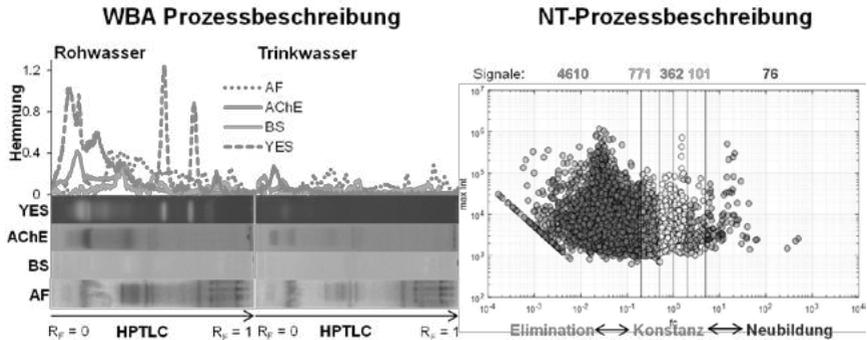
**Abbildung 2** Überblick über die genormten Summenwirkungen der untersuchten Roh- und korrespondierenden Trinkwässer sowie die angewandten Aufbereitungstechniken (RW: Rohwasser, TW: Trinkwasser, O<sub>3</sub>: Ozonung, AC: Aktivkohlefiltration)

Zusätzlich zur wirkungsbezogenen Untersuchung wurden die Proben mit der HPLC mit hochauflösender Massenspektrometrie (HRMS) analysiert und mittels Non-Target-Screening (NTS) des Roh- und Trinkwassers eine Prozessbeschreibung der Gesamtaufbereitung durchgeführt. Bei der Non-Target-Prozessbeschreibung werden die Signale nach dem Verhältnis ihrer Signalintensität (*fold change*,  $f_c$ ) vor und nach dem Behandlungsprozess (hier Rohwasser zu Trinkwasser) in fünf Kategorien eingeteilt: [6]

$$f_c = \frac{\text{Signalintensität}_{TW}}{\text{Signalintensität}_{RW}}$$

- Elimination:  $f_c < 0,2$
- Teilelimination:  $0,2 \leq f_c < 0,5$
- Konstanz:  $0,5 \leq f_c \leq 2,0$
- Zunahme:  $2,0 < f_c \leq 5,0$
- Neubildung:  $f_c > 5,0$

Die untersuchten Roh- und Trinkwasser zeigten ein ähnliches Verhalten in den Ergebnissen der beiden Analyseverfahren. Nahmen die Wirkungen, wie in Probenpaar 7 (Abbildung 3) über die Aufbereitung deutlich ab, so spiegelte sich dies auch bei der Non-Target-Prozessbeschreibung mit einer großen Anzahl von Signalen in der Kategorie „Elimination bzw. Teilelimination“ wider (Abbildung 3). Bei Probenpaaren mit nur wenig Wirkungsreduktion von Roh- zu Trinkwasser, konnten auch eine große Anzahl der Signale im Bereich „Konstanz“ detektiert werden.



**Abbildung 3** Vergleich der Prozessbeschreibung von Roh- zu Trinkwasser (Probenpaar 7) mittels WBA und NTS

Das Verhältnis der Summenwirkung von Trink- zu Rohwasser stellt eine Maßzahl zur Beschreibung der Effektivität der Aufbereitung hinsichtlich Wirkungsentfernung dar. Genauso kann im NTS das Verhältnis der Anzahl detektierbarer Signale in Trink- und Rohwasser die Effektivität der Aufbereitung hinsichtlich der Entfernung von Substanzen beschreiben. Bei der Gegenüberstellung dieser beiden Maßzahlen zeigte sich, dass Aufbereitungen mit Ozonung und/oder Aktivkohlefiltration im Rohwasser gemessene Wirkungen und gleichermaßen auch NTS-Signale tendenziell am besten vermindern.

### Schlussfolgerung und Ausblick

Es konnte gezeigt werden, dass die WBA ein mögliches Instrument zum routinemäßigen Monitoring und zur vorläufigen Risikobewertung von Roh- und Trinkwasser ist. Die jeweils unterschiedlichen Wirkungen („Wirkspektren“) von Spurenstoffen konnten damit charakterisiert werden. Die Ergebnisse zeigten deutliche Unterschiede der Wirkungen in Abhängigkeit vom Rohwasser und den angewandten Aufbereitungsverfahren. Dieser Informationsgewinn durch die Prozessbeschreibung mit der WBA eröffnet neue Möglichkeiten in der Qualitätssicherung des Trinkwassers. Zudem konnten die Ergebnisse der WBA mit den Ergebnissen der Substanzanalytik (Non-Target-Screening) bei den bisher untersuchten Proben sehr gut korreliert werden.

Um die Grundlage der vorliegenden Ergebnisse zu festigen, soll zukünftig eine systematische Untersuchung von Aufbereitungsprozessen mit der WBA erfolgen. Dies soll Gegenstand eines Folgeprojekts sein. Schon jetzt ist klar, dass die WBA als effektives Werkzeug für eine Prozessbeschreibung hinsichtlich des Verhaltens von Wirkungen bei Aufbereitungsprozessen bereit ist und einen wertvollen Beitrag zum Risikomanagement bei der Trinkwassergewinnung leisten kann.

### Danksagung

Diese Arbeit wurde durch den Deutschen Verein des Gas- und Wasserfaches e.V. (DVGW), Projekt „WBA-BeReit“ W201518, finanziell gefördert. Wir danken Tamara Grummt und Jochen Kuckelkorn vom Umweltbundesamt für unterstützende Arbeiten innerhalb des Projekts. Der Abschlussbericht des Projekts ist auf der DVGW-Homepage unter <https://www.dvgw.de/themen/forschung-und-innovation/forschungsprojekte/dvgw-forschungsprojekt-wba-bereit> (Zugriff 20.11.2019) erhältlich.

### Literatur

- [1] J. Hollender, E.L. Schymanski, H.P. Singer, *et al.*, *Environ. Sci. Technol.* **2017**, *51*, 11505-11512.
- [2] W. Brack, S. Aït-Aïssa, R.M. Burgess, *et al.*, *Sci. Total Environ.* **2016**, *544*, 1073-1118.
- [3] I. Choma, W. Jesionek, in: *Instrumental Thin-Layer Chromatography, "Effects-directed biological detection: Bioautography"* Elsevier, Amsterdam, **2015**, 279-312.
- [4] S.C. Weiss, N. Egetenmeyer, W. Schulz, in: *In vitro Environmental Toxicology - Concepts, Application and Assessment, "Coupling of In Vitro Bioassays with Planar Chromatography in Effect-Directed Analysis"* Springer, Berlin, Heidelberg, **2016**, 187-224.
- [5] W. Schulz, O. Happel, L. Stütz, *et al.*, "Wirkungsbezogene Analytik als neuer Ansatz zur orientierenden Bewertung organischer Spurenstoffe in Rohwasserressourcen zur Trinkwassergewinnung und bei Aufbereitungsprozessen (WBA-BeReit)", *DVGW - Deutscher Verein des Gas- und Wasserfachs*, **2019**, 1-144.
- [6] T. Bader, W. Schulz, K. Kümmerer, *et al.*, *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 13219-13226.

## Die Quaggamuschel im Bodensee

M. Petri, Stuttgart/D, M. Faißt, Stuttgart/D., R. Schick, Stuttgart/D,  
C. Jeromin, Stuttgart/D

Dr. Michael Petri, ZV Bodensee-Wasserversorgung, Hauptstr. 163, 79563 Stuttgart/D

### Einleitung

Durch die vielfältigen Schutzmaßnahmen und den international koordinierten Anstrengungen hat sich die Wasserbeschaffenheit des Bodensees seit den 1990er erheblich verbessert. Um die ökologische Stabilität des Sees weiterhin zu gewährleisten und um den zukünftigen Anforderungen der Trinkwasserversorgung weiterhin gerecht zu werden, sind alle Beteiligten aufgerufen, sich aktiv mit den künftigen Entwicklungen auseinanderzusetzen. Neben dem Eintrag von anthropogenen Spurenstoffen und den klimabedingten Auswirkungen auf das Wasserdargebot und die Wasserqualität, stellt die Einwanderung und deren unerwartet massive Ausbreitung der Quaggamuschel (*Dreissena rostriformis*, siehe Abbildung 1) eine Belastung für das Ökosystem des Bodensees und eine Herausforderung für die Gewinnung und Aufbereitung von Trinkwasser aus dem Bodensee dar [1].

Die Quaggamuschel stammt ursprünglich aus dem Schwarzmeergebiet und hat sich über Schiffe, Wanderboote und Wasservögel mittlerweile auch im Bodensee stark ausgebreitet. Die Quaggamuschel kann sich bei Wassertemperaturen ab 5 - 6°C ganzjährig reproduzieren und sie kann sich auf hartem und weichem Substrat aber auch in großen Tiefen ansiedeln [2]. Durch die hohe Fortpflanzungsrate und ihr aggressives Raumnutzungsverhalten hat die Quaggamuschel innerhalb sehr kurzer Zeit andere Muscharten nahezu verdrängt - im Bodensee kann ihr Vorkommen mittlerweile als „flächendeckend“ bezeichnet werden. Das verstärkte Aufkommen der Quaggamuschel im Bodensee lassen auch eine unerwünschte Besiedlung der technischen Anlagen zur Trinkwasseraufbereitung und -verteilung erwarten.

### Methodik

Um den Eintrag der Muschel Larven in die Aufbereitungsanlagen der Bodensee-Wasserversorgung und das Verhalten bei der oxidativen Trinkwasseraufbereitung



**Abbildung 2:** Quaggamuscheln (Bodensee-Wasserversorgung Seepumpwerk Schwallkammer vor den Rohwasserpumpen)

genauer beobachten zu können, wurde eine Methode zum Nachweis von Quaggamuschellarven aufgebaut. Mit der Methode ist es auch möglich den physiologischen Zustand zu charakterisieren, d.h. zwischen „vital“ und „nicht vital“ zu unterscheiden [1].

Die Wasserprobe wird über einen Netzbecher (Maschenweite 41  $\mu\text{m}$ ) filtriert und die Muschellarven im Netz gesammelt. Mit einem vorgeschalteten Wasserzähler wird das filtrierte Volumen bestimmt. Der Inhalt des Netzbechers wird in eine Schraubglasflasche überführt. Die Probe wird homogenisiert und in Planktonkammern überführt. Nach einer Standzeit von vier Stunden wird die Probe am Mikroskop ausgezählt. Mit 200-facher Vergrößerung wird bei doppelpolarisiertem Licht die Anzahl der Muschellarven gezählt und unter Berücksichtigung der jeweils verwendeten Probenvolumina (filtriertes Wasservolumen, überführtes Volumen in Schraubglasflasche und Volumen Planktonkammer) quantitativ ausgewertet. Im Hellfeld mit Polfilter kann zwischen leeren (nicht-vital) und gefüllten (vital) Muschellarven unterschieden werden (siehe Abbildung 2).

## Ergebnisse und Diskussion

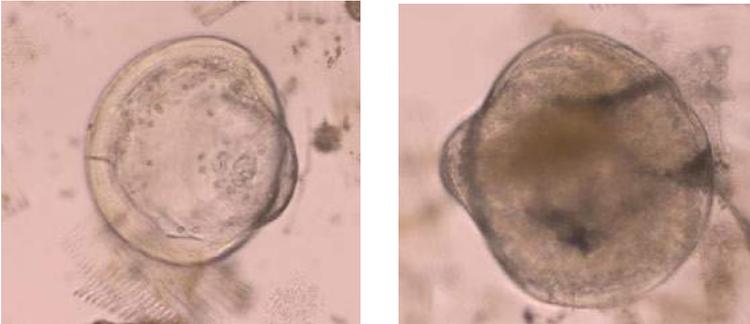
Das Rohwasser der Bodensee-Wasserversorgung wird aus einer Tiefe von 60m aus dem Überlinger See gefördert. Die Anzahl der Muschellarven ist seit 2014 kontinuierlich gestiegen (siehe Abbildung 3). 2014 bis 2016 wurden lediglich in den Sommermonaten Werte von ca. 100 Larven/m<sup>3</sup> gemessen. Ab 2018 waren die Muschellarven ganzjährig nachweisbar. 2018 betrug der Maimalwert ca. 2500 Larven/m<sup>3</sup> und 2019 fast 5000 Larven/m<sup>3</sup>. 2018 wurden in nur 3 Proben Werte über 1000 Larven/m<sup>3</sup> gezählt, 2019 waren in 16 Rohwasserproben über 1000 Larven/m<sup>3</sup> nachweisbar. Ca. 80% der gezählten Muschellarven im Rohwasser sind gefüllt bzw. vital.

In der Aufbereitungsanlage „Siplinger Berg“ wird das Rohwasser mittels Mikrosiebung (Maschenweite 15µm), Ozonung (Ozonzugabe 1,2-1,3 mg/L) und eisenunterstützter Sandschnellfiltration (Eisenzugabe 0,1 mg Fe/L) zu Trinkwasser aufbereitet. Durch die Mikrosiebung wird die Anzahl der Muschellarven um ca. 95-99% gesenkt. Im Zulauf zur Sandschnellfiltration, d.h. nach der Ozonung, sind bisher keine vitalen Muschellarven nachgewiesen worden. Die Anzahl der leeren (nicht vitalen) Muschellarven liegt bei unter 10 Larven/m<sup>3</sup>. Im Trinkwasser nach Abschluss der Aufbereitung und Transportchlorung, sind bisher keine Muschellarven nachgewiesen worden.

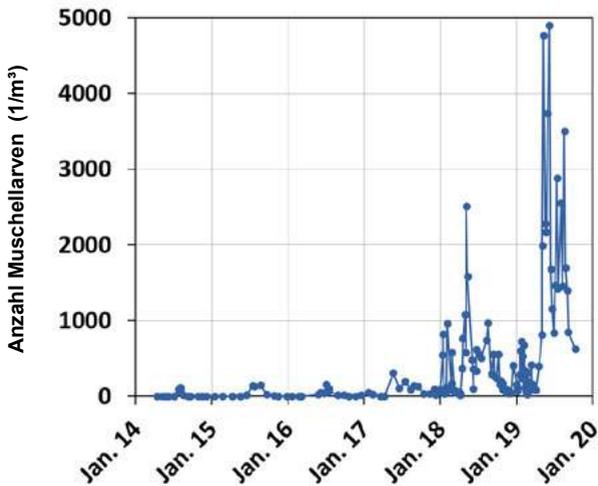
2018 wurden von der Bodensee-Wasserversorgung 138,2 Mio. m<sup>3</sup> Trinkwasser aufbereitet und verteilt. Damit wurden auch mehrere Milliarden Muschellarven in die technischen Anlagen der Bodensee-Wasserversorgung eingetragen, die sich potentiell an wasserführenden Wandungen ansiedeln können: z.B. Entnahmekörbe und -leitungen, Rohwasserpumpen, Rohrbruchsicherungen, Quellbecken, Mikrosiebe und Verbindungsleitungen zwischen den Aufbereitungsstufen.

Regelmäßige Druckmessungen, die im Bereich Rohwasserentnahme und -förderung durchgeführt werden, zeigen bisher keine hydraulischen Auffälligkeiten oder Beeinträchtigungen. In den Schwallkammern vor den Rohwasserpumpen, in denen die Turbulenzen und Fließgeschwindigkeit deutlich geringer sind, siedeln sich die Muscheln an den Wandungen an (Abbildung 1), so dass sie regelmäßig, d.h. alle drei Monate gereinigt werden müssen. Mit weiterführenden Maßnahmen wie dem vierteljährlichen Reinigen des Quellbeckens und der Mikrosiebbeckens, dem Abdichten der Mikrosiebtrommeln, dem sofortiger Ersatz beschädigter Mikrosiebgewebe und

einer regelmäßigen Reinigung der Ozonezwischenbehälter wird versucht, den Eintrag der Quaggamuschellarven in die Sandschnellfilter möglichst zu reduzieren.



**Abbildung 2:** Mikroskopische Aufnahmen von Muschellarven im Bodenseewasser links: leere (nicht vitale) Muschellarve, rechts: gefüllte (vitale) Muschellarve



**Abbildung 3:** Anzahl der Muschellarven im Rohwasser der Bodensee-Wasserversorgung aus einer Tiefe von 60m [1].

Die oxidative Wirkung des Ozons auf die, in der freien Wasserphase befindlichen Muschellarven und die effiziente Wirksamkeit der eisenunterstützten Sandschnellfiltration ist es auch zu verdanken, dass im Reinwasserbehälter und im Trinkwasser nach Abschluss der Aufbereitung bislang keine Muschellarven oder anhaftende Muscheln nachgewiesen werden konnten [1].

### **Fazit und Ausblick**

Seit den ersten Nachweisen hat sich die Quaggamuschel im Bodensee massiv ausgebreitet. Die Auswirkung der Quaggamuschel auf das Ökosystem des Bodensees (Phyto- und Zooplankton, Fischbestände usw.) sind noch vollkommen unklar.

Mit der massiven Ausbreitung der Quaggamuschel wurde auch bewusst, dass richtungsweisende Entscheidungen getroffen werden müssen, um den Herausforderungen für die Gewinnung und Aufbereitung von Trinkwasser aus dem Bodensee entgegen zu können. Um den Eintrag von Muschellarven in die Aufbereitungsanlage und in das Verteilsystem der Bodensee-Wasserversorgung weiter zu reduzieren oder gar zu verhindern, wird für den Uferbereich eine zusätzliche Rohwasseraufbereitung geplant. 2018 wurden Pilotierungsversuche im halbtechnischen Maßstab durchgeführt, um die Wirksamkeit, Zuverlässigkeit und Grenzen von verschiedenen Verfahren zur Entfernung von Muschellarven untersucht: Ultrafiltration, Sandschnellfiltration, Spaltsieb, UV-Bestrahlung und CO<sub>2</sub>-Zugabe. Relativ schnell stellte sich heraus, dass die Ultrafiltration das wirksamste und zuverlässigste Verfahren ist, um den Eintrag von Muschellarven in die Aufbereitung wirkungsvoll zu verhindern. Zusammen mit dem DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW) der Arbeitsgemeinschaft Bodensee-Rhein (AWBR) sowie verschiedenen Herstellerfirmen sollen in weiteren Untersuchungen die optimalen Betriebs- und Prozessparameter für die Ultrafiltration ermittelt werden.

### **Literatur**

[1] R. Schick, C. Grüner, L. Reiter, R. Horn, M. Faißt, C. Jeromin, *AWBR-Bericht* 2018, 71-93.

[2] ANEBO, HYDRA Konstanz, „Aquatische Neozoen im Bodensee“, zu finden unter [www.neozoen-bodensee.de/neozoen/dreissena-rostriformis](http://www.neozoen-bodensee.de/neozoen/dreissena-rostriformis), 2019, zugegriffen am 31.11.2019

## **X aus 1400 - Suspect Screening nach PM(T)-Stoffen in Oberflächenwässern**

<sup>1</sup>Matthias Muschket, Leipzig/D, <sup>1</sup>U. Berger, Leipzig/D, <sup>1</sup>B. Seiwert, Leipzig/D, <sup>1</sup>T. Meier, Leipzig/D, <sup>2</sup>I. J. Neuwald, Idstein/D, <sup>2</sup>D. Zahn, Idstein/D, <sup>2</sup>T. P. Knepper, Idstein/D, <sup>1</sup>T. Reemtsma, Leipzig/D

1 Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstraße 15,  
04318 Leipzig

2 Hochschule Fresenius gem. GmbH, Limburger Str. 2, 65510 Idstein

Corresponding author: M. Muschket, [matthias.muschket@ufz.de](mailto:matthias.muschket@ufz.de)

### **Einleitung**

Persistente und in Wasser mobile Chemikalien (PM-Stoffe) sind in teilweise geschlossenen Wasserkreisläufen besonders schwierig zu entfernen [1]. Aufgrund ihrer Eigenschaften werden sie von Kläranlagen nur unzureichend entfernt und gelangen so ins Oberflächenwasser. In der Folge passieren sie auch die Untergrundpassage während der Uferfiltration bzw. Infiltration und erreichen das Rohwasser, welches der Trinkwasserherstellung dient. Auch in den hier eingesetzten Verfahren wie der Ozonung oder der Sorption an Aktivkohle werden PM-Stoffe mutmaßlich unzureichend entfernt, wodurch sie schließlich sogar ins Trinkwasser gelangen. Dies ist besonders bedenklich, wenn PM-Stoffe anwesend sind, die auch toxisch sind (PMT-Stoffe).

PM(T)-Stoffe werden aufgrund ihrer teilweise extrem hohen Polarität durch die routinemäßig eingesetzte Umkehrphasen-Flüssigchromatographie (RPLC) nur unzureichend retardiert, wodurch die etablierten Screening-Methoden unter Verwendung der RPLC-hochauflösenden Massenspektrometrie-Kopplung (RPLC-HRMS) eine beträchtliche analytische Lücke aufweisen und nur eingeschränkte Kenntnisse über das Auftreten von PM(T)-Stoffen in der Umwelt liefern können [1]. Das analytische Fenster kann durch die Verwendung der hydrophilen Interaktionsflüssigchromatographie (HILIC) [2] und der superkritischen Fluidchromatographie (SFC) [3] auf hochpolare Stoffe ausgedehnt werden. So wurde in einer aktuellen Monitoring-Studie mit Hilfe dieser Techniken nach rund 60 PM-Stoffen in der Umwelt gefahndet und drei Viertel davon auch detektiert [3].

Um die bestehende Monitoring Lücke deutlich zu verkleinern, wurde in der vorliegenden Studie ein umfangreiches Suspect Screening nach 1444 potentiellen PM(T)-Stoffen in deutschen Oberflächenwässern durchgeführt. Hierbei kamen die HILIC- und SFC-HRMS zum Einsatz. Die Liste an PM(T)-Verdachtstoffen wurde aus früheren Priorisierungs- und Identifizierungsstudien [4 - 6] zusammengestellt. Hierbei lag der Fokus auf REACH-Chemikalien. Zudem wurden Stoffe vor allem aus den Bereichen Pharmaka, Pflanzenschutzmittel, Süßstoffe und Ionic Liquids berücksichtigt.

## Methoden

Für das Screening wurden 12 Schöpfproben entnommen. Sechs Proben stammen aus dem Rhein/Main- und weitere sechs aus dem Mulde/Saale-Gebiet.

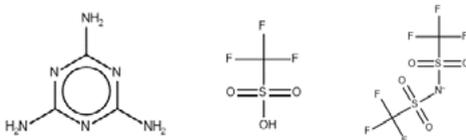
Vor der chromatographischen Trennung mittels HILIC wurden die Proben unter Verwendung der Mehrschichtigen-Festphasenextraktion (mSPE) (Konzentrationsfaktor (KF) 200) oder der Verdampfung von Wasser (KF 20) angereichert [7]. Für die mSPE kamen graphitized carbon black, ein schwacher Kationen- (Oasis WCX) und ein schwacher Anionenaustauscher (Oasis WAX) zum Einsatz. Als hochauflösender Massendetektor wurde eine Orbitrap Velos Pro (Thermo) verwendet.

Vor der Analyse per SFC-HRMS wurden die Oberflächenwasserproben mittels azeotroper Verdampfung angereichert. Hierfür wurde eine azeotrope Mischung bestehend aus 4 mL Wasserprobe und 21 mL Acetonitril per Stickstoffstrom bis zur Trockne eingedampft und in 200 µL 10% Wasser in Acetonitril wieder aufgenommen (KF 20). Die Analyte wurden mittels eines hochauflösenden, Quadrupol-Flugzeitmassenspektrometers (Synapt G2-S, Waters) detektiert.

Im Rahmen des Suspect Screenings unter Verwendung von Elektrospray Ionisierung im positiven und negativen Modus wurden für den vorläufigen Nachweis der Analyten eine Massenabweichung zwischen dem gemessenen und dem theoretischen Masse-zu-Ladungsverhältnis von  $\leq 5$  ppm erlaubt. Alle vorläufig nachgewiesenen PM(T)-Stoffe wurden entsprechend ihrer Signalfächen und der Detektionshäufigkeit ( $\leq 12$ ) angeordnet. Die Anwesenheit plausibler Fragmente, die Intensität des  $^{13}\text{C}$ -Isotopensignals, das Isotopenmuster anderer Elemente und die Anzahl der in Chemspider gelisteten isobaren Chemikalien wurden zusätzlich für die Priorisierung der vorläufig nachgewiesenen PM-Stoffe genutzt. Schließlich wurden käuflich erwerbbar Standards zur Identifizierung genutzt.

## Ergebnisse

In den Oberflächenwasserproben wurde eine erhebliche Anzahl von PM(T)-Stoffen detektiert. Vorläufig identifiziert konnten durch den Einsatz der HILIC-HRMS und der SFC-HRMS 52 bzw. 11 PM(T)-Stoffe im negativen und 44 bzw. 112 PM(T)-Stoffe im positiven Ionisierungsmodus. Viele Analyte wurden ausschließlich mit einer Methode, also per HILIC-HRMS oder SFC-HRMS, erfasst. Dies unterstreicht die Komplementarität der beiden eingesetzten Verfahren. Während die Bestätigung der vorläufigen Identifizierungen mit Hilfe von authentischen Referenzstandards noch nicht abgeschlossen ist, wurde die Identität einiger Analyte bereits abgesichert (Stand: Dez. 2019). Drei bestätigte Identifizierungen sind beispielhaft in Abbildung 1 angegeben.



**Abbildung 1** Auswahl an nachgewiesenen PM(T)-Stoffen von links nach rechts: Melamin, Trifluormethansulfonsäure, Bis(trifluor-methansulfonyl)amid.

Durch Verwendung der SFC konnte beispielsweise Melamin effizient chromatographisch retardiert werden. Der toxische Analyt eluiert in einem scharfen Peak nach 6.51 min, wodurch eine erheblich niedrigere Nachweisgrenze als bei der Verwendung von RPLC-MS erzielt wurde. Bei Verwendung der RPLC eluiert Melamin im Totvolumen und ist folglich starken Matrixeffekten während der massenspektrometrischen Detektion ausgesetzt.

Ein großer Anteil der detektierten PM(T)-Stoffe wurde in mehr als der Hälfte der untersuchten Oberflächenwasserproben gefunden. Dies belegt die Bedeutung von PM(T)-Stoffen für die Qualität von Oberflächenwasser. Da PM(T)-Stoffe potentiell auch von weiteren Barrieren des Wasserkreislaufs unzureichend zurückgehalten werden, ist auch von einer Belastung für die Qualität von Uferfiltrat, Grundwasser und ggf. Trinkwasser auszugehen. Deshalb wird im Projekt PROTECT für abgesicherte und später auch quantifizierte PM-Stoffe die Toxizität geprüft und auf dieser Basis eine Priorisierung der Befunde hinsichtlich des Handlungsbedarfs vorgenommen.

Sowohl die SFC, als auch die HILIC sind wertvolle Ergänzungen zu den etablierten RPLC-basierten Screeningansätzen, welche erweitert werden müssen, um das Auftreten und Verhalten von PM(T)-Stoffen in der Umwelt besser untersuchen zu können und ihre Quantifizierung zu ermöglichen. Damit leisten beide Techniken einen wesentlichen Beitrag zur Verkleinerung der bestehenden analytischen Lücke in Monitoring-Studien. Dadurch wird zukünftig eine umfangreichere Priorisierung von Chemikalien, welche eine besondere Bedrohung für die aquatische Umwelt darstellen, ermöglicht. Zudem werden Aktivitäten unterstützt, die auf eine Verringerung der Einleitung von PM(T)-Stoffen oder auf die Entwicklung neuer Methoden zu deren Entfernung aus dem Wasserkreislauf abzielen.

### Danksagung

Die Autoren danken dem BMBF für die Finanzierung des Projekts PROTECT (Persistente mobile Organische Chemikalien in der aquatischen Umwelt: Quellen, Vorkommen und Technische Möglichkeiten zu deren Entfernung in der Trinkwasseraufbereitung; FKZ: 02WRS1495 A/B).

### Literatur

- [1] Reemtsma, T., et al.; *Environmental Science & Technology* **2016**, 50, 10308-10315.
- [2] Zahn, D., et al. *Water Research* **2019**, 150, 86-96.
- [3] Schulze, S., et al.; *Water Research* **2019**, 153, 80-90.
- [4] Schulze, S., et al.; *Science of the Total Environment* **2018**, 625, 1122-1128.
- [5] Zahn, D., et al.; *Water Research* **2016**, 101, 292-299.
- [6] Nödler, K., et al.; Selektion von für die Wasserversorgung relevanten prioritären Stoffen und Erarbeitung einer Stoffliste – Abschlussbericht DVGW, **2018**.
- [7] Köke, N., et al., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2018**, 410(9), 2403-2411.

## **Praxiserfahrungen mit dem Online-Sensorsystem WATERTRACE im Bereich der Trinkwasseraufbereitung und Abwasserbehandlung**

O. Happel, Karlsruhe/D, F. Junginger, Karlsruhe/D, M. Scheurer, Karlsruhe/D,  
O. Kasprzyk, Rastatt/D, L. Rodriguez, Rastatt/D, M. Koch, Rastatt/D;  
G. Krieg, Karlsruhe/D, M. Vollmer, Karlsruhe/D, J. Hoinkis, Karlsruhe/D,  
T. Atiye, Karlsruhe/D, B. Schäfer, Baden-Baden/D, U. Cakir, Mannheim/D

Dr. Oliver Happel, TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser,  
Karlsruher Str. 84, 76139 Karlsruhe/D

### **Einleitung**

Der Qualitätskontrolle von Wasser kommt in vielen Bereichen eine Schlüsselfunktion zu. Von Wasserversorgern wird z. B. erwartet, dass jederzeit einwandfreies Wasser an alle Endverbraucher abgegeben wird. Zur regelmäßigen und z. T. kontinuierlichen Überwachung werden unterschiedliche analytische Verfahren eingesetzt, die sich in einer groben Vereinfachung in zwei Kategorien einteilen lassen: Es sind kontinuierliche Systeme für fundamentale Wasserparameter (z. B. pH, Leitfähigkeit, Trübung, SAK254) und ausgereifte Labormethoden zur Quantifizierung anorganischer und organischer Verbindungen bis in den Spurenbereich zu nennen.

Da der methodische Aufwand für organische Laboranalysen aus finanzieller und logistischer Sicht enorm ist, werden i. d. R. nur periodische Untersuchungen durchgeführt. Tritt über einen Unfall oder über eine kriminelle Tat plötzlich eine kritische Kontamination auf, kann diese unentdeckt bleiben. Diesem Risiko vorbeugend werden daher online-fähige Sensorsysteme für organische Verbindungen benötigt, die ohne großen Wartungsaufwand und finanziell vertretbar für kontinuierliche Kontrollen sorgen können.

Auf der Suche nach einer messtechnischen Lösung zur wartungsfreien Analyse organischer Komponenten aus Trinkwassermatrix wurde in 2009 bis 2011 das vom BMWi geförderte ZIM-Kooperationsprojekt „*Analysensystem für die Qualitätssicherung von Trinkwasser*“ durchgeführt. Ergebnisse aus diesem Projekt wurden auf der WASSER 2012 vorgestellt und im Nachgang u. a. in *Vom Wasser* publiziert [1,2]. Es konnte ein Laboraufbau entwickelt werden, über den sich organische Verbindungen aus mehreren Wassermatrizes bis in den unteren µg/L-Bereich bestimmen ließen. In den nachfolgenden Jahren wurden weitere Verbesserungen am Sensorsystem durchgeführt und ein praxistauglicher Aufbau in einem Schaltschrankgehäuse entwickelt. Das aktuelle Sensorsystem wird unter dem Namen WATERTRACE geführt.

Inhalt dieses Beitrags ist die Vorstellung von Ergebnissen zweier aktueller F&E-Projekte, in denen Praxiserfahrungen mit dem System WATERTRACE im Trink- und Abwasserbereich gesammelt wurden und werden:

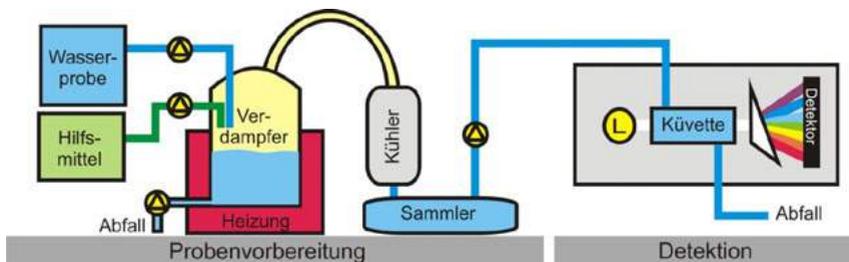
**SenSOS:** Das Projekt »*Konzeption eines Sensor-Systems zur Online-Erfassung von organischen Spurenstoffen im Bereich der Trinkwasseraufbereitung und Abwasserbehandlung« zu Messungen aus Trinkwassermatrix läuft in Kooperation mit den*

Stadtwerken Rastatt. Dort ist das System im Wasserwerk Raental installiert und misst sowohl eine Vorfeldmessstelle, das Rohwasser aus dem Brunnen, wie auch Abläufe von Aktivkohlefiltern, die dort für die Trinkwasseraufbereitung zur Entfernung von perfluorierten Alkylsubstanzen (PFAS) installiert sind. Das System soll hier als „Polizei-Sensor“ für das Brunnen- und Vorfeldmessstellenwasser und zum Monitoring des Organik-Durchbruchs in den Aktivkohlefiltern eingesetzt werden. Ebenfalls werden in SenSOS im Klärwerk Baden-Baden/Sinzheim Messungen im Bereich der künftigen vierten Reinigungsstufe durchgeführt.

**OnSpur:** Umfassende Messungen in gereinigter Abwassermatrix vor und nach der vierten Reinigungsstufe mittels Pulveraktivkohle finden in Kooperation mit dem Klärwerk Mannheim im Projekt »*Online-Erfassung von Spurenstoffen im Ablauf von Klärwerken zur Regelung entsprechender Schadstoff-Eliminierungsprozesse für die vierte Reinigungsstufe*« statt. Das Sensorsystem liefert über die Differenz seines Gesamt-Signals aus Zu- und Ablauf der vierten Stufe Aussagen zum Eliminationsgrad. Weiterhin können aus diesen Messreihen kurzfristige (unerlaubte) Einleitungen aufgedeckt werden, die sich ggf. negativ auf die biologische Reinigungsstufe auswirken. Ein weiteres Ziel ist die Online-Einzelstoff-Detektion von 1H-Benzotriazol und Diclofenac, die als Indikatorsubstanzen für die Elimination im Adsorptionsprozess genutzt werden können.

### Materialien & Methoden

Ein Schema des Sensorsystems, wie es während des ZIM-Projekts entwickelt wurde, ist in Abbildung 1 zu sehen. Zur Durchführung einer Messung wird zunächst die Wasserprobe in den Verdampfer gebracht. Optional kann noch ein Hilfsmittel zugesetzt werden. Im Anschluss daran erfolgt die Verdampfung eines bestimmten Probesteils. Der Dampf wird in einem Kühler kondensiert, das Kondensat gesammelt, in eine Langweg-Messküvette gebracht, das Absorptionsspektrum aufgenommen und ausgewertet. Der Prozess, an dem mehrere Ventile, Pumpen und Sensoren beteiligt sind, wird automatisiert durchgeführt. Der Messrechner dient der Auswertung und speichert die Daten. Über eine Remote-Verbindung kann das System ausgelesen und ferngesteuert programmiert werden. In der derzeitigen Dimensionierung des Sensors sind etwa zwei Messungen pro Stunde möglich.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung des kombinierten Aufbaus aus Probenvorbereitung und Detektion im Online-Sensorsystem WATERTRACE

Eine wesentliche Aufgabe der Destillation als Probenvorbereitungsschritt ist es, spektral störende Matrixbestandteile (z. B. Nitrat, Huminstoffe, Trübstoffe) quantitativ abzutrennen. Erst hierdurch wird es möglich, das Destillat in einer Langweg-Messzelle bis in den tiefen UV-Bereich messen und UV-Vis-Absorptionsspektren bis in den unteren  $\mu\text{g/L}$ -Bereich sicher aufnehmen zu können. Das Messprinzip und das Verfahren konnten europaweit patentrechtlich geschützt werden [3].

Im Rahmen der beiden Projekte *SenSOS* und *OnSpur* wurden die Systeme so aufgebaut, dass sie für den Vor-Ort-Einsatz im Wasserwerk oder im Außenbereich des Klärwerks geeignet sind. In Abbildung 2 sind Fotos der Sensorsysteme an den Standorten Rastatt und Mannheim zu sehen. Während im Wasserwerk im Jahresverlauf nur moderate Temperaturunterschiede auftreten und eine Temperierung des Sensorgehäuses ausreichend ist, wurde, um starke Temperaturschwankungen im Container auf dem Freigelände des Klärwerks zu vermeiden, zusätzlich eine Klimatisierung des Innenraums installiert.

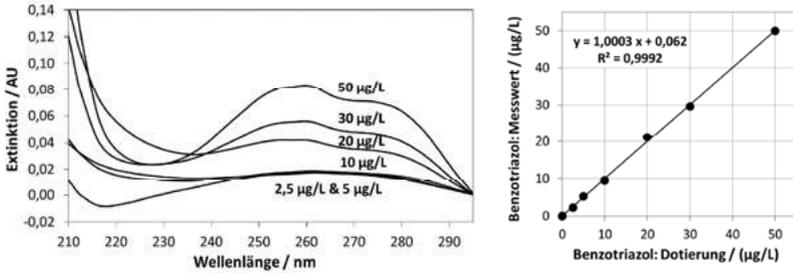


**Abbildung 2:** Sensorsysteme im WW Rauental (links) und in einem Container im Außenbereich im Klärwerk Mannheim (mittig & rechts)

### Ergebnisse aus dem Bereich der Trinkwasseraufbereitung

Ein wesentliches Anwendungsgebiet des Sensors im Trinkwasserbereich ist die zeitlich hoch-aufgelöste Kontrolle der verschiedenen Wässer vom Roh- bis zum Trinkwasser auf organische Komponenten. Eine Grundvoraussetzung für die Messbarkeit von Verbindungen mit dem Sensorsystem sind eine ausreichende Flüchtigkeit im Probenvorbereitungsprozess, sowie eine ausreichende UV-Absorption für die spektrale Messung. Im Rahmen des *SenSOS*-Projekts wurden mehrere Verbindungen auf Messbarkeit aus Trinkwassermatrix unter den Vor-Ort-Bedingungen untersucht (z.B. 1H-Benzotriazol aus Abbildung 3).

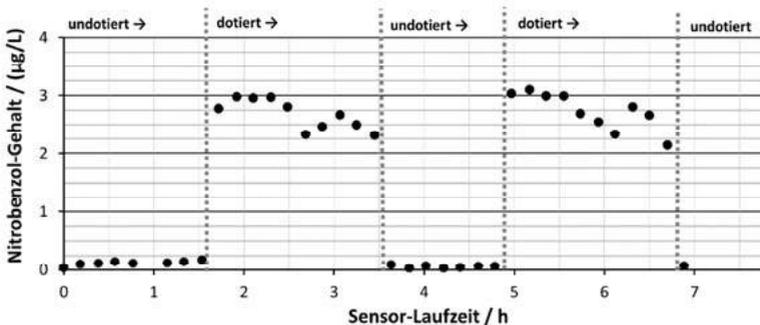
Liegen eine gute Flüchtigkeit und spektrale Absorption vor, lassen sich oft Gehalte um  $1 \mu\text{g/L}$  aus Trinkwassermatrix bestimmen (z. B. Nitrobenzol, Toluol). Für Verbindungen wie Metolachlor oder 1H-Benzotriazol werden Nachweise im mittleren einstelligen  $\mu\text{g/L}$ -Bereich erzielt.



**Abbildung 3:** UV-Absorptionsspektren und Kalibrierung von 1H-Benzotriazol aus Trinkwassermatrix

Das Verfahren bedingt, dass nicht alle organischen Verbindungen messbar sind. Dieses Schicksal teilt sich diese Methode in gleicher Weise mit etablierten Labor-Analysesystemen (GC, LC), bei denen auch nicht mit jedem System jede Substanz messbar ist. In Versuchen mit typischen anthropogenen Verbindungen (Pflanzenschutzmittel, Industriechemikalien, ...) konnte aber gezeigt werden, dass sich viele organische Substanzen über das System erfassen lassen (ca. 30 %). Nicht-flüchtige Verbindungen (z. B. ionische Komplexbildner) oder Verbindungen ohne UV-Absorption (z. B. Pentan) können über das Messprinzip nicht erfasst werden.

In Summe lässt sich festhalten, dass sich über das Sensor-System viele Verbindungen bis in den unteren µg/L-Bereich im online-Verfahren aus Trinkwassermatrix bestimmen lassen. Dies sind Gehalte, die noch weit von akut gesundheitlich bedenklichen Werten entfernt sind. Auch wenn eine erfassbare Verbindung nicht im System kalibriert ist und keine Zuordnung des Signals aus der Datenbank erfolgt, kann über das erhöhte Absorptionsspektrum aber dennoch eine Warnmeldung abgegeben werden.



**Abbildung 4:** Nitrobenzol-Sensorsignal über sieben Stunden im Vor-Ort-Test von dotierter und nicht-dotierter Rohwassermatrix mit Nitrobenzol (Soll = 3 µg/L)

Der automatisierte und wartungsarme Betrieb des Sensors ist eine wichtige Voraussetzung für einen breiten Praxiseinsatz. In einer Messreihe über 7 Stunden wurden

nicht-dotiertes und mit 3 µg/L Nitrobenzol dotiertes Rohwasser alternierend untersucht (Abbildung 4). Das System hat über seine Kalibrierung durchschnittlich einen Wert von 2,7 µg/L ± 0,3 µg/L gefunden, woraus ein Eindruck zur Genauigkeit des Sensors gewonnen werden kann.

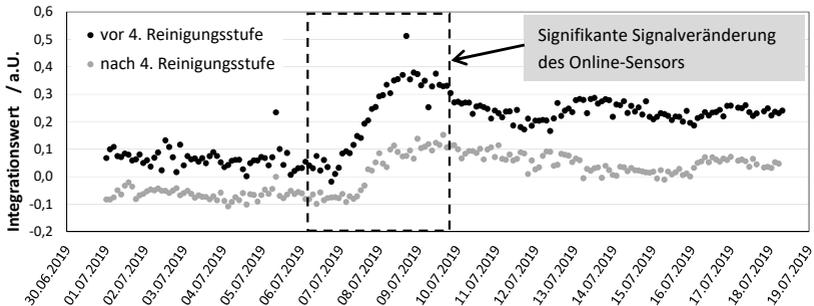
Im *SensOS*-Projekt werden auch langfristige Änderungen in der Wassercharakteristik bei Aktivkohlefiltration verfolgt. Hierzu werden Zu- und Abläufe sowie mehrere Schichten der Aktivkohlefilter untersucht. Die Sensor-Daten werden mit SAK254-, TOC-, LC-OCD- und PFAS-Analysedaten verglichen. Ziel dieses Vergleichs soll das Auffinden von Korrelationen zum Durchbruchverhalten allgemeiner Organik und von PFAS-Verbindungen sein.

### **Ergebnisse aus dem Bereich der Abwasserbehandlung**

Während sich das Sensor-Signal bei Messungen aus sauberer Trinkwassermatrix kaum zum Signal des Referenzwassers unterscheidet, werden bei Messungen von gereinigtem Abwasser (Zu- oder Ablauf der vierten Reinigungsstufe) deutliche Grundabsorptionen gefunden. Diese Absorption setzt sich aus dominanten Einzelverbindungen (z. B. 1*H*-Benzotriazol, Diclofenac), aber auch aus vielen weiteren Verbindungen mit nur geringen Gehalten zusammen. Werden die Spektren zwischen Zu- und Ablauf miteinander verglichen, kann daraus direkt die Reinigungsleistung über die Pulveraktivkohle abgelesen werden. Im Gegensatz zum etablierten SAK254 repräsentiert das Sensor-Signal eher die Fraktion der flüchtigen Verbindungen.

Ein Alleinstellungsmerkmal des Sensors zeigte sich in Beispielen, bei denen im Sensor-Signal Auffälligkeiten nachweisbar waren, diese sich aber nicht im Online-SAK254-Wert wiedergefunden haben. Es ist zu vermuten, dass es sich um einen Eintrag einer organischen Substanz handelte, die in der Gesamtmatrix durch Überlagerung bei 254 nm nicht messbar war. Zu diesem Fall standen leider keine Proben für weitergehende Laboranalysen zur Verfügung. In einem zweiten Fall wurden Rückstellproben im Labor per Non-Target-Analytik (RP-ESI-TOF) untersucht. Es wurden mehrere atypische Signale gefunden, bei denen derzeit ein Industrieunternehmen als Verursacher vermutet wird. Über eine Reinsubstanz konnte die Identität des mit Abstand höchsten Signals in der UV-Absorption und im Massenspektrometer als eine aromatische Sulfonsäure bestätigt werden. An diesen Beispielen werden die neuen messtechnischen Möglichkeiten deutlich, über die sich z. B. Störungen in der biologischen Reinigung nun besser nachvollziehen lassen (das Klärwerk beobachtete über die Zeitspanne dieser Störung eine signifikante Erhöhung im Ammoniumwert im Ablaufwasser, der auf eine Störung im Nitrifikationsprozess zurückzuführen war). Bei wiederholten Ereignissen lässt sich in der Diskussion mit dem vermuteten Verursacher gut die Datenbankfunktion des Sensors nutzen.

Im Projekt wird auch an der Einzelstoff-Quantifizierung von 1*H*-Benzotriazol und Diclofenac aus Abwassermatrix gearbeitet. Die Versuche zum Auffinden der optimalen Methodik sind hierzu noch nicht abgeschlossen.



**Abbildung 5:** Ganglinien vor und nach der vierten Reinigungsstufe im Juli 2019

### Zusammenfassung & Ausblick

In beiden Projekten ist das Sensor-System schon mehrere Monate im Praxiseinsatz, was das Konzept eines wartungsarmen und automatisierten Messgeräts bestätigt. Es konnte anhand mehrerer dotierter Einzelstoffe in Trinkwassermatrix gezeigt werden, dass eine Detektion bis in den unteren  $\mu\text{g/L}$ -Bereich möglich ist. Hierdurch werden neue Möglichkeiten bei der Überwachung der Wasserqualität verfügbar, die auch in Bezug auf die gewollte Digitalisierung der Wasserbranche von Interesse sind. Im Bereich der Abwasserbehandlung liegen ebenfalls mehrmonatige Messreihen in gereinigtem Abwasser vor. Durch die Überwachung des Zu- und Ablaufs zur vierten Reinigungsstufe können die Eliminationsleistungen aufgenommen werden. Weiterhin können bei atypischen Messkurven nachfolgende Laboranalysen ausgelöst werden. Es wird im Projekt noch daran gearbeitet, auch die Hauptkomponenten als Einzelstoffe quantifizieren zu können.

### Danksagung

Die Autoren danken im Rahmen des Förderprogramms *BWPlus* des Landes Baden-Württemberg und den Stadtwerken Rastatt für die finanzielle Förderung des *SenSOS*-Projekts. Für die Förderung des Projekts *OnSpur* bedanken sich die Autoren bei der Deutschen Bundesstiftung Umwelt für die finanzielle Förderung.

### Literatur

- [1] O. Happel, S. Mertineit, H.-J. Brauch, Online-Sensor zur Überwachung der Wasserbeschaffenheit auf organische Verbindungen, *Vom Wasser*, **2012**, 110(3), 80-83.
- [2] O. Happel, S. Mertineit, H.-J. Brauch, G. Krieg, D. Fey, D. Coric, M. Walter, Online-Sensorsystem zur Überwachung der Wasserbeschaffenheit auf organische Verbindungen, *Mitt Umweltchem Ökotox*, **2012**, 18(3), 66-69.
- [3] G. Krieg, D. Fey, O. Happel, S. Mertineit, Verfahren und Vorrichtung zur Detektion von Fremdstoffen in Wasser, Europäische Patentschrift EP 2786126 B1, (Patenterteilung vom 11.10.2017).

## Mikroarrays zur schnellen Identifizierung von Antibiotikaresistenzgenen in unterschiedlichen Bakterienspezies mittels molekularer Fusion

Sollweck, K. München/D, Streich, P. München/D, Göpfert, L., München/D, Elsner, M., München/D, Seidel, M., München/D

M.Sc. Katharina Sollweck, Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie,  
Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie,  
Technische Universität München, Marchioninstraße 17, D-81377 München

### Einleitung

Resistenzen gegen Antibiotika sind weltweit auf dem Vormarsch und erschweren die Behandlung zahlreicher Infektionen zunehmend. Sie beschränken sich jedoch nicht nur auf Krankenhäuser, sondern auch in der Umwelt werden sehr häufig verschiedene, auch fakultativ humanpathogene Bakterien mit unterschiedlichen Resistenzen gefunden. Da Antibiotikaresistenzgene (ARGs) oftmals auf Plasmiden codiert sind, können diese mittels horizontalem Gentransfer zwischen Bakterien weitergegeben werden. Die Entstehung bzw. die Reduktion von Antibiotikaresistenzen im Abwasser in Abhängigkeit zur Prozessführung ist von großer Bedeutung, möchte man das Wasser zukünftig als Bewässerungswasser oder Trinkwasser wiederverwenden. Zudem spielt die Identifizierung pathogener Bakterien im Wasser eine immer größer werdende Rolle. Somit ist es von großem Interesse, nicht nur die Anwesenheit der ARGs zu charakterisieren, sondern auch die Bakterien, in denen die Gene vorkommen. Bakterien, die zunehmend mit Resistenzgenen in der Umwelt vorkommen, sind unter anderem *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*. Diese können ARGs in sich tragen, die für unterschiedliche Resistenzmechanismen verantwortlich sind. Dazu zählen Veränderungen in der Aufnahmefähigkeit der Bakterien für Antibiotika, ein beschleunigter Ausschleusungsprozess aus der Zelle, der Abbau von Antibiotika oder eine Veränderung im Stoffwechselprozess der Zelle, welche den Angriffspunkt der Antibiotika eliminiert.

Zu den Antibiotika-abbauenden Enzymklassen zählen unter anderem die sogenannten Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamasen (ESBL). Diese hydrolysieren den  $\beta$ -Lactam-Ring von  $\beta$ -Lactam-Antibiotika wie Cephalosporinen und Penicillinen und sind somit für Multiresistenz (Resistenz gegen mehrere Antibiotikaklassen) verantwortlich. Eine Vielzahl an unterschiedlichen Genen, wie beispielsweise *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> und *bla*<sub>CTX-M</sub>, können für ESBL-Enzyme kodieren. Die Cefotaximase (CTX-M Enzym) ist weltweit am weitesten verbreitet. Genetisch lässt sich diese Genklasse in verschiedene Gencluster wie CTX-M-1 und CTX-M-9 unterteilen, welche wiederum, basierend auf der

Gensequenz, in einzelne Enzyme wie CTX-M-15 und CTX-M-1 unterteilt werden. CTX-M Enzyme und damit auch die kodierenden Gensequenzen wurden bisher nur in gramnegativen Bakterien, vor allem in der Gruppe der Enterobakterien wie *E. coli*, *K. pneumoniae* und *Enterobacter spp.* nachgewiesen [1]. Zur Überwachung von Verbreitungswegen oder dem Auftreten von horizontalem Gentransfer ist es wichtig, eine koloniegenaue Zuordnung von ARG und Bakterienspezies zu bekommen.

Um die Existenz von ARGs und deren Trägerbakterien nachzuweisen, wird eine DNA-Amplifikations- und Analyseverfahren benötigt. Als Goldstandard ist die (quantitative) Polymerasekettenreaktion anzusehen, die mittels thermischer Zyklen DNA amplifiziert. Bei dieser Methode werden allerdings die einzelnen Gene nur getrennt voneinander amplifiziert. Die Information aus einer Reaktion sagt entweder ein Resistenzgen oder ein Speziesgen aus. Für diese Methode ist ein teures Gerät nötig, welches die bestimmte Reihenfolge und Temperaturabfolge gewährleistet. Dazu kommt, dass es zur Auswertung der Ergebnisse geschultes Personal braucht. In den letzten Jahren wurden isothermale DNA-Amplifikationsmethoden entwickelt, die bei einer definierten Temperatur arbeiten und somit auch für Feldmessungen oder einfachere Labore geeignet sind. Eine dieser Methoden ist die Rekombinase Polymerase Amplifikation (RPA), welche bei 39 °C amplifiziert. In unserer Arbeitsgruppe wurde damit die sogenannte heterogene asymmetrische RPA (haRPA) entwickelt, bei welcher eine ortsaufgelöste Detektion der amplifizierten DNA-Sequenzen mittels einem Chemilumineszenzsignal möglich ist [2]. In diesem Projekt stellen wir eine 2-Stufen-Fusions-haRPA vor. Dabei wird im ersten Schritt ein Fusionsprodukt aus einem Resistenzgen und einem spezifischen Gen einer Bakterienspezies erzeugt und im zweiten Schritt dieses Amplikon mittels haRPA detektiert. Das langfristige Ziel dieses Projektes ist es, einzelne Kolonien aus Wasserproben auf deren Identität und ARG-Gene in einem Schritt zu untersuchen. Das hier vorgestellte Projekt zeigt die Detektion von *bla*<sub>CTX-M</sub> Genen aus den Bakterienspezies *K. pneumoniae* und *E. coli*.

## Material und Methoden

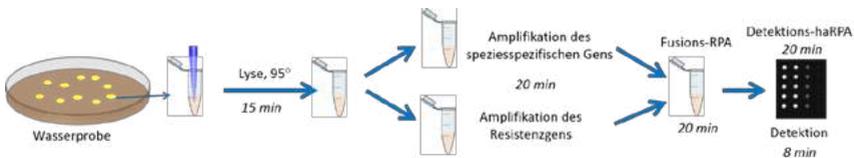
Als Plattform für die haRPA werden Glaschips verwendet, auf deren mit C<sub>12</sub>-NH<sub>2</sub> modifizierten Oberfläche spezifische *reverse* Primer (Oligonukleotide) immobilisiert werden. Durch eine ortsaufgelöste Mikrodispension und Immobilisierung verschiedener Primer ist es möglich, verschiedene Genregionen auf dem Chip zu amplifizieren und damit zu detektieren. Für die Detektion wird ein MCR 3 verwendet, eine automatisierte Mikroarray-Analyseplattform, welche mithilfe einer CCD Kamera die Chemilumineszenzsignale der Chips aufnimmt. Somit ist eine exakte und quantitative Aussage über das Vorkommen der Ziel-Gensequenz in der Probe möglich.

Nach Picken einer Kolonie einer Übernacht-Kultur und deren Lyse wird eine homogene RPA mit Hilfe des kommerziell erhältlichen RPA-Kits TwistAmp® basic von TwistDx in einem Reaktionsgefäß vorbereitet. Die RPA wird mit der zu untersuchenden DNA und den spezifischen Primern angesetzt. Im ersten Schritt wird die Probe zweigeteilt, wobei jeweils das Resistenzgen oder das Speziesgen getrennt voneinander amplifiziert

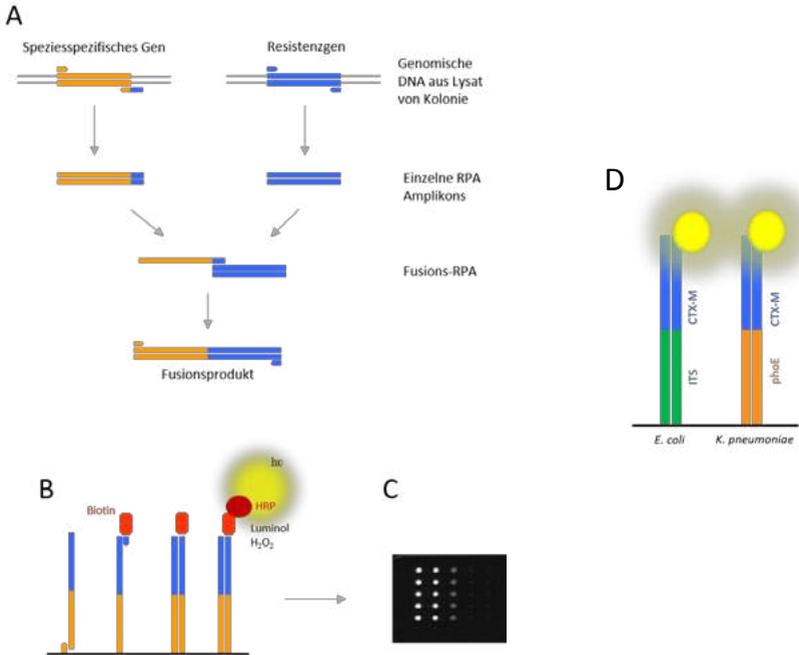
werden. Nach 20 Minuten werden diese zwei Ansätze gemischt. In dieser Reaktion wird ein weiterer, sogenannter *bridge*-Primer zugegeben, was bedeutet, dass nur dann ein Fusionsprodukt entsteht, wenn sowohl eines der Speziesgene als auch ein Resistenzgen vorhanden sind. Nach weiteren 20 Minuten werden im Detektionsschritt die Amplifikationsprodukte mit der haRPA auf der Chipoberfläche detektiert. Dafür wird eine neue Reaktionsmischung, die auch einen Detektionsprimer enthält, in den Mikroarray-Chip injiziert und weitere 20 Minuten inkubiert. Der biotinylierte Detektionsprimer bindet hier spezifisch an das Fusionsprodukt. Anschließend erfolgt die Detektion der amplifizierten DNA-Stücke mithilfe des MCR 3, welche pro Messung 8 Minuten benötigt. Dabei wird der Detektionsprimer durch eine Meerrettichperoxidase (mit Streptavidin-Markierung) erkannt und gebunden. Das Enzym katalysiert die Chemilumineszenz-Reaktion von Luminol mit Wasserstoffperoxid direkt am markierten Primer, welche durch die CCD-Kamera als leuchtender Punkt detektiert wird. Je nachdem, wo das Signal auftritt, kann bestimmt werden, welche Spezies eine Resistenz trägt.

## Methodik und erste Ergebnisse

In diesem Projekt arbeiten wir an einer Schnelldetektions-Methode für resistente *K.pneumophila* und *E. coli* als Prinzipstudie. Die zu detektierenden Resistenzgene sind *bla*<sub>CTX-M</sub> Gene. Zur Identifizierung der Spezies wird bei *E. coli* eine ITS-Sequenz und bei *K. pneumoniae* eine Region des *phoE* Gens amplifiziert. Für die Amplifikation der Resistenzgene wurden Primer gewählt, die eine Region der *bla*<sub>CTX-M</sub> Gene erkennen. Die Spezies- und Resistenzamplikons werden anschließend zu einem Fusionsprodukt verbunden und auf einem Mikroarray-Chip detektiert. Auf der Oberfläche des Mikroarray-Chips sind die speziesspezifischen Primer immobilisiert, an denen das Fusionsprodukt oder die entsprechenden Spezies-Amplikons binden können. Eine Detektion ist allerdings nur möglich, wenn es sich um Fusionsprodukte handelt, da der Detektionsprimer spezifisch für *bla*<sub>CTX-M</sub> Gene ist. Durch die orts aufgelöste Immobilisierung der Primer je nach Bakterienspezies ist es je nach Ort des Chemilumineszenz Signals möglich zu erkennen, ob und welche der beiden Arten eine Resistenz trägt. In einem nächsten Schritt werden wir an einer simultanen Detektion von mehreren Kolonien auf einem Chip arbeiten. Die Identifizierung einzelner Kolonien ist besonders wichtig, da das Ausplattieren von Wasserproben eine verbreitete Methode zur Bestimmung der Pathogenbelastung im Wasser ist.



**Abbildung 1: Arbeitsablauf der Methode.** Von einer Bakterienplatte einer Wasserprobe werden einzelne Kolonien gepickt und lysiert. Anschließend wird der Überstand als Ausgangslösung für die RPAs genutzt. Insgesamt beträgt die Assayzeit ca. 90 Minuten.



**Abbildung 2: Detailaufnahme der Methode.** Angepasst von [3]. Im ersten Schritt werden beide Gene einer Kolonie getrennt voneinander amplifiziert, im zweiten Schritt werden diese zu einem Fusionsprodukt verbunden (A). Dieses Fusionsprodukt wird dann auf dem Chip mittels haRPA detektiert (B) was zu den auf dem Chip sichtbaren Chemilumineszenz-Signalen führt (C). An den einzelnen Reihen der Signale sind unterschiedliche reverse Primer immobilisiert. (C) ist ein exemplarisches Bild. Am Ende der Reaktion sind die verschiedenen Fusionsprodukte nebeneinander durch haRPA Amplifikation immobilisiert und können so gleichzeitig detektiert werden (D).

Erstmals konnte gezeigt werden, dass mittels RPA die Herstellung von Fusionsprodukten aus unterschiedlichen Genen möglich ist. Wie in Abbildung 2D zu sehen, bestehen diese Produkte hierbei für *K. pneumoniae* aus konservierten Fragmenten des *phoE* Gens und des CTX-M Gens. Für *E. coli* bestehen diese aus einem konservierten Fragment des ITS Gens und des CTX-M Gens. Sequenzierungsergebnisse zeigten, dass wir in der Lage sind Fusionsprodukte sowohl

von genomischer DNA als auch direkt aus Kolonien von *K. pneumoniae* und *E. coli* zu generieren. Beim Picken der Kolonien wurde jeweils eine ganze Kolonie von Übernachtskulturen (12h) verwendet, was in etwa einer Zellzahl von  $10^7$ - $10^8$  Bakterien entspricht [4]. Wir haben bisher sowohl das Reaktionsvolumen der einzelnen RPAs von 50  $\mu$ l auf 25  $\mu$ l verkleinert als auch unsere Reaktionszeit von 180 Minuten auf 90 Minuten halbieren können, was Kosten für Reagenzien und Analysezeit spart.

### Ausblick

Im Moment arbeiten wir an der Detektion der Fusionsprodukte mittels haRPA auf der Chipoberfläche. Ziel hierbei ist es, Fusionsprodukte von *K. pneumoniae* und *E. coli* gleichzeitig zu detektieren. Diese Detektion werden wir anhand von Umweltproben überprüfen. In zukünftigen Anwendungen sollen Fusionsprodukte von mehreren Kolonien gleichzeitig auf der Chipoberfläche detektiert werden können, wodurch sich der Durchsatz der Methode erhöht. Beispielsweise könnten hiermit Fusionsprodukte für alle Kolonien einer Platte einer Wasserprobe generiert werden und diese daraufhin alle auf einem Chip analysiert werden. Binnen 90 Minuten nach Picken der Kolonie liegt ein Testergebnis vor. Vor Allem für das Monitoring von Wassersystemen auf Antibiotikaresistente Keime ist diese Methode vielversprechend. Hierbei ist es besonders wichtig, dynamische Prozesse verfolgen zu können. Mit dieser Methode können über längere Zeiten hinweg mit wenig Aufwand immer wieder Proben genommen und analysiert werden, womit sich die Bakterienpopulation und deren Resistenzen beobachten lässt. Die langfristige Vision dieses Projektes ist es, einen Chip für mehrere verschiedene Bakterienarten zu entwickeln und damit beispielsweise alle potentiellen Pathogene für eine bestimmte Klasse von ARGs beobachten zu können.

### Literatur

- [1] Zhao, W.-H., Hu, Z.-Q., Epidemiology and genetics of CTX-M extended spectrum  $\beta$ -lactamases in Gram-negative bacteria, *Crit Rev Microbiol* **2013**, 39 (1), pp. 79 – 101.
- [2] Kunze, A., Dilcher, M., Abd El Wahed, A., Hufert, F., Niessner, R., Seidel, M., On-chip isothermal nucleic acid amplification on flow-based chemiluminescence microarray analysis platform for the detection of viruses and bacteria, *Analy Chem* **2015**, 88 (1), pp. 898 – 905.
- [3] Spencer S., Tamminen M., Preheim S., Guo M., Briggs A., Brito I., Weitz D., Pitkänen L., Vigneault F., Juhani M., Virta M., Alm E., Massively parallel sequencing of single cells by epicPCR links functional genes with phylogenetic markers, *The ISME Journal* **2016**, volume 10, pp. 427–436
- [4] Lodish H., Berk A., Zipursky S. L., Matsudaira P., Baltimore D., *Molecular Cell Biology*. 4th edition W. H. Freeman; **2000**.

# POSTER



## Raman-basierte Verfahren zur Analyse von Mikroplastiken, Diclofenac und 1H-Benzotriazol in Wasser

Dr. Hainer Wackerbarth, Dr. Christoph Lenth, Florian Wieduwilt, Björn Wedemeyer und Dr. Georgios Ctistis, Laser-Laboratorium Göttingen e.V., Hans-Adolf-Krebs Weg 1, 37077 Göttingen,

Dr. Ulrich Plachetka, AMO GmbH, Otto-Blumenthal-Straße 25, 52074 Aachen

Raman-Spektroskopie bietet eine interessante Methode, um Stoffe zerstörungsfrei und in-situ zu analysieren und identifizieren. Sie hat sich dabei beispielsweise in der Forensik und der Sicherheitstechnik für die Reinstoffanalytik und in der pharmazeutischen Qualitätskontrolle als Analyseverfahren durchgesetzt. Inzwischen sind kostengünstige und tragbare Raman-Geräte auch kommerziell erhältlich. Ein entscheidender Vorteil der Methodik ist, dass Wassermoleküle so gut wie keine Signale im Raman-Spektrum erzeugen, so dass die Raman-Spektroskopie für die Analyse von wässrigen Proben prädestiniert ist. Die großen Forschungsaufgaben im Bereich der Raman-Spektroskopie sind: (1) Die Nachweisgrenzen deutlich zu steigern und (2) relevante Informationen mit praxistauglichen Verfahren aus komplexen Stoffmatrices oder Gemischen zu extrahieren. Seitens der Industrie wird an neuen optischen Verfahren gearbeitet, den Lichtdurchsatz und damit die Nachweisgrenzen zu verbessern. Jedoch werden diese Maßnahmen nicht dazu führen, sehr geringe Mengen bis Spuren von Analyten nachzuweisen, die aber im Fokus der Analytik stehen. Wissenschaftlich wird an sogenannten erweiterten Raman-Techniken geforscht, um die inhärent schwache Quanteneffizienz zu kompensieren. Eine dieser Techniken basiert auf dem oberflächenverstärkten Raman-Effekt, der 1974 von Fleischmann et al. [1] entdeckt wurde.

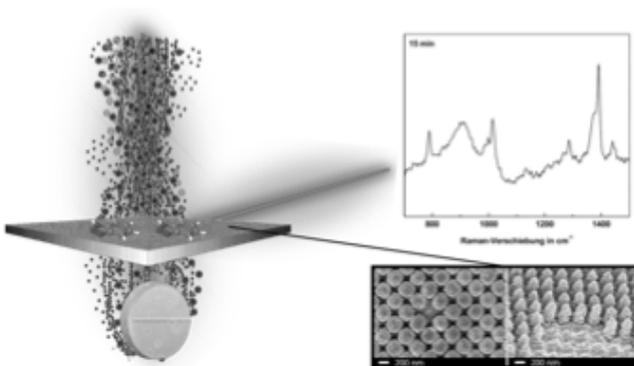


Abbildung 1: Schema einer mit Analyt bedeckten nanostrukturierten Oberfläche mit deren Hilfe ein Raman-Spektrum generiert wird, sowie Rasterelektronenmikroskopie-Aufnahmen der nanostrukturierten Goldoberfläche.

1998 gelang Nie und Emory [2] mit Hilfe der oberflächenverstärkten Raman-Spektroskopie (SERS) der Nachweis einzelner Moleküle. Damit war ein Grundstein

gelegt SERS für die Spurenanalytik einzusetzen. Das Feld der SERS-basierten Spurenanalytik für die Lebenswissenschaften ist eng an die Fortschritte im Bereich der Nanotechnologie gekoppelt. Dabei geht es um die Erzeugung von nanoskopischen, plasmonischen Strukturen, wobei man zwischen Nanopartikeln und Substraten, beide sind inzwischen kommerziell erhältlich, unterscheidet. Eine große Zahl der Veröffentlichungen befasst sich mit dem Einsatz von plasmonischen Nanopartikeln für analytische Fragestellungen [3]. Es werden aber auch zahlreiche Ansätze mit plasmonischen Substraten beschrieben, die im Durchfluss betrieben werden können [4] oder bei denen die Lösung mit Analyt auf ein Substrat aufgetropft wird. In den angegebenen Veröffentlichungen werden die aktuellen Herausforderungen dahingehend beschrieben, dass die Analyten an die plasmonischen Oberflächen gebracht werden müssen. Dafür werden unterschiedliche Funktionalisierungen eingesetzt, wobei der Abstand zur Oberfläche durch die Funktionalisierung nicht zu groß werden darf, damit der SERS-Effekt erhalten bleibt (Abnahme der Verstärkung mit dem Abstand von der Oberfläche zur zwölften Potenz). Moleküle wie beispielsweise Thiole oder Amine, die eine hohe Affinität zu Gold- oder Silberoberflächen haben, adsorbieren direkt an der Oberfläche und erfahren damit eine hohe elektromagnetische Verstärkung. Bei den übrigen Stoffen verschlechtert sich die Verstärkung, weil die Moleküle nicht an Stellen von Feldüberhöhungen adsorbieren. Für die extremen Feldüberhöhungen, wie bei Einzelmolekülnachweisen, werden sogenannte „Hot Spots“ benötigt, die in der Lücke zwischen zwei dicht aneinander liegenden Nanopartikeln entstehen. Bei großflächigen Substraten verteilen sich die Feldüberhöhungen nicht homogen über die gesamte Oberfläche. Vielmehr finden sich die größten Verstärkungen an besonderen Bereichen wie Spitzen und Kanten. So zeigt Thiophenol gute Verstärkungen, da es chemisorbiert und damit eine Monolage über die gesamte Oberfläche bildet, wohingegen beispielsweise Trinitrotoluol (TNT) deutlich schlechtere Verstärkungen aufweist. In Untersuchungen von Wackerbarth et al. an Sprengstoffen [5,6] konnte mit Hilfe der Auftropfmethode 44 pg einer TNT-ähnlichen Verbindung auf einem plasmonischen Substrat nachgewiesen werden [7]. Auf der Homepage des Substratherstellers Ocean Optics findet man einen Faktor 1000 zwischen den Detektionsgrenzen von Thiol, 4-Mercaptobenzoessäure und TNT [8]. In dem vorliegenden Beitrag werden die Herausforderungen der Analyse von Mikroplastiken mittels der Raman-Spektroskopie vorgestellt sowie die von SERS-basierten Techniken, um Diclofenac und 1*H*-Benzotriazol jeweils in Abwasser nachzuweisen.

### **Analyse von Mikroplastiken mittels Raman-Spektroskopie**

Mikroplastiken sind in Kosmetika enthalten und können durch Faserabrieb beim Waschen von Kleidung entstehen. Durch den Waschvorgang werden diese abgelöst und gelangen über das Abwasser in die Kläranlagen. Diese lassen die Mikropartikel in nicht unerheblichen Maße passieren wodurch sich diese in den Meeren ansammeln. 35 Prozent des Mikroplastiks im Meer stammt vom Faserabrieb bei der Textilwäsche. So erklären sich die Vorkommen von Polyamid (PA), auch bekannt als Nylon und Polyethylenterephthalat (PET). Folglich sind auch diese Kunststoffe als Mikroplastik im Klarwasser zu erwarten. Weiterhin wurden Acrylat Copolymer (AC), Polyethylen (PE) und Polystyrol (PS) als häufige Bestandteile von Mikroplastiken identifiziert. Die Raman-Spektren dieser Stoffe sind in Abbildung 2 dargestellt.

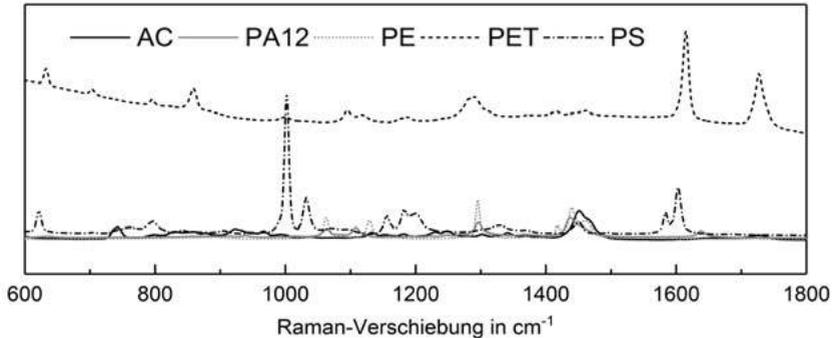


Abbildung 2: Raman-Spektren unterschiedlicher Mikroplastiken im sog. Fingerprint-Bereich.

Um die Mikroplastikproben zu analysieren wurden zunächst geeignete Filtermaterialien identifiziert. Dann wurden die Filter mit den Proben Raman-spektroskopisch abgerastert. Die aufgenommenen Daten wurden mit Hilfe von statistischen Verfahren ausgewertet. Für Mikroplastikproben, die aus den genannten Reinstoffen bestanden, konnte eine gute Quantifizierung im angestrebten Konzentrationsbereich erzielt werden, mit Ausnahme von PET, da hierbei Fluoreszenzsignale zu Abweichungen bei der Bestimmung der Massen führten.

Bei der Auswertung von Musterproben denen Huminstoffe zugesetzt wurden, wurden die Spektren ebenfalls von einer starken Fluoreszenz überlagert. Huminstoffe sind in vielen Oberflächengewässern und in allen Abwasserproben zu finden. Lösungsansätze um dennoch eine Quantifizierung zu erreichen, werden vorgestellt.

### Herstellung von plasmonischen Substraten

Für die Erzeugung von plasmonischen Nanostrukturen gibt es inzwischen zahlreiche Verfahren, die auf Lithographie, Elektrochemie, Ablation etc. beruhen. Grundsätzlich kann man zwischen deterministischen und nicht deterministischen Strukturen unterscheiden. Letztere erhält man durch den UV-Laserbeschuss von ultradünnen Gold- oder Silberschichten auf Quarz. Resultat ist eine Oberfläche, die aus nanoskaligen Partikeln besteht [9]. Andererseits werden durch lithographische Verfahren [10] periodische Strukturen wie in Abbildung 1 visualisiert hergestellt

### SERS-Untersuchungen an Diclofenac

Diclofenac, nach IUPAC 2-{2-[(2,6-Dichlorphenyl)amino]phenyl}essigsäure, ist eines der am meisten verbreiteten nichtopioiden Schmerzmittel. Das Molekül ist chemisch sehr beständig, so dass bei Einnahme durch den Menschen 70% der zugeführten Menge nicht verstoffwechselt wird. Seine Beständigkeit sorgt auch dafür, dass es in Kläranlagen nur mäßig abgebaut wird und somit in die Oberflächengewässer gelangt, wo es zum omnipräsenten Problem wird. 2-{2-[(2,6-Dichlorphenyl)amino]phenyl}essigsäure ist für viele Tiere, insbesondere Vögel, giftig und hat bereits in Asien ein Massensterben von Greifvögeln herbeigeführt [11]. Die Analytik erfolgt aufwändig über

chromatographische Kopplungsverfahren mit der Massenspektrometrie. Abbildung 3 zeigt durch eine Konzentrationsreihe von Diclofenac-Proben, in welchen Größenordnungen sich dieses durch SERS mit den ausgewählten plasmonischen Substraten in wässriger Matrix nachweisen lässt.

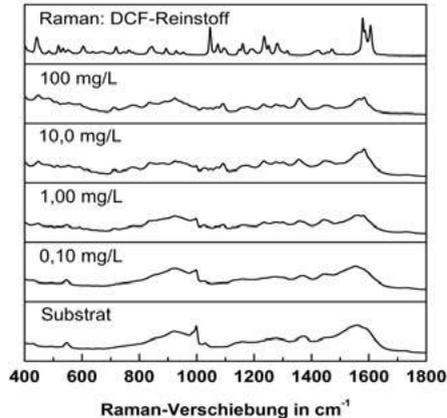


Abbildung 3: Konzentrationsreihe mit Diclofenac-Lösungen.

Ein Nachweis direkt aus der Probenmatrix ist somit aussichtslos, weil andere Moleküle in Abwasser wie z. B. 1H-Benzotriazol den Analyten von der Oberfläche verdrängen. Daher muss eine selektives Extraktionsverfahren zur Probenaufbereitung angewendet werden, dass gleichzeitig zur Aufkonzentration dient. Hierfür bieten sich beispielsweise Verfahren auf Basis von mit Antikörpern belegten magnetischen Partikeln an, den sogenannten „Magnetic Beads“ (siehe Abbildung 4). In dem Beitrag wird ein solches Verfahren vorgestellt und seine Leistungsfähigkeit begutachtet.

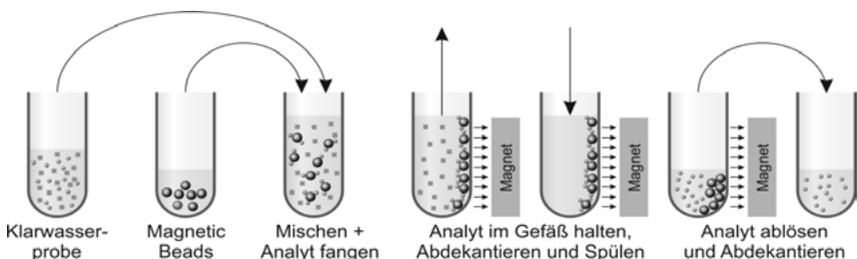


Abbildung 4: Anreicherung durch „Magnetic Beads“: 1) Adsorbieren, 2) Abtrennen der Probenmatrix, 3) Ablösen des Analyten von den Magnetpartikeln.

## SERS-Untersuchungen an 1H-Benzotriazol

1H-Benzotriazol (BTA) wird seit Jahrzehnten als Korrosions- und Frostschutzmittel verwendet und im Haushalt in Geschirrspülmitteln eingesetzt. Es ist sehr stabil und wasserlöslich und kann von Kläranlagen nur teilweise aus Abwässern entfernt werden.

Laut Umweltbundesamt werden in Europa sehr große Mengen von über 1000 Tonnen pro Jahr verwendet [12] daher lässt es sich in Gewässern und sogar im Trinkwasser nachweisen [13]. BTA gilt als schädlich für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung woraus eine nicht unerhebliche Umweltrelevanz resultiert. Eine Methode zur schnellen und einfachen Bestimmung von BTA-Spuren ist somit hoch willkommen. Hier wird eine solche Methode zum Nachweis vorgestellt, mit der sich BTA auf Basis der oberflächenverstärkten Raman-Spektroskopie im Spurenbereich nachweisen lässt. BTA besitzt eine sehr hohe Affinität zu Edelmetalloberflächen, so dass sich SERS-Substrate auch zur selektiven Anreicherung eignen. Zum Nachweis aus einer Probe aus einer Abwasseraufbereitungsanlage wurde lediglich eine Aufkonzentration um den Faktor 2 als Probenvorbereitung benötigt.

Weiterführend wurden sowohl kommerziell erhältliche SERS-Substrate untersucht als auch selbst hergestellte SERS-aktive Oberflächen. Bemerkenswert ist, dass die Ergebnisse nicht nur mit leistungsstarken Raman-Geräten erzielt wurden, sondern auch mit robusten Vor-Ort-Geräten. Auszüge dieser Ergebnisse sind in Abbildung 5 dargestellt.

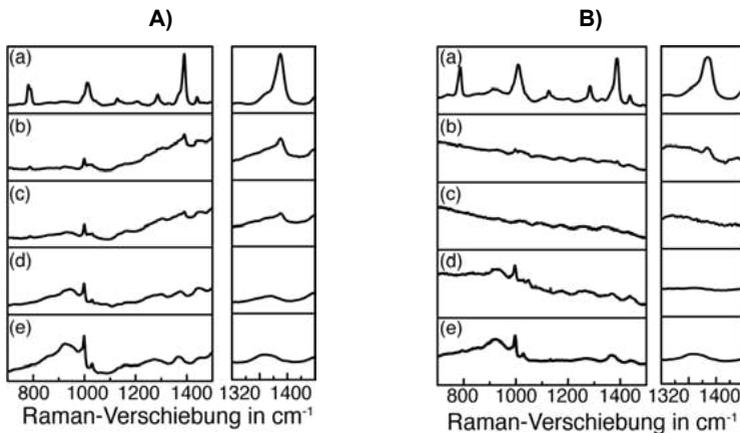


Abbildung 5: Vergleich der SERS-Spektren einer BTA-Realprobe gemessen auf C7-Substraten an A) Raman Labor-Aufbau, B) portables Raman-Spektrometer.

a) Raman-Spektrum BTA Reinstoff, b)  $c(\text{BTA})$ : 35,2  $\mu\text{g/L}$ , c)  $c(\text{BTA})$ : 17,6  $\mu\text{g/L}$ , d)  $c(\text{BTA})$ : 8,8  $\mu\text{g/L}$ , e) Substrat-Hintergrundspektrum.

Dadurch hat dieser Ansatz das Potential Eingang in die Routineanalytik zu finden [14].

## Referenzen

- [1] M. Fleischmann, P. Hendra, A. McQuillan, Chem. Phys. Lett. **1974**, **26** (2), **163–166**.
- [2] S. Nie, S. R. Emory, Science **1997**, **275**, **1102–1106**.
- [3] S. Schlücker, Angew. Chem. **2014**, **125**, **4852–4894**.

- [4] W. Hüttner, K. Christou, A. Göhmann et al., *Microfluid. Nanofluid.* **2012**, **12** (1-4), **521-527**.
- [5] H. Wackerbarth, L. Gundrum, C. Salb et al., *Appl. Optics* **2010**, **49** (23), **4367-4371**.
- [6] H. Wackerbarth, C. Salb, L. Gundrum et al, *Appl. Optics*, **2010**, **49** (23), **4362-4366**.
- [7] H. Wackerbarth, C. Lenth, S. Funke et al., *Proc. SPIE* **2013**, **8896**, art. no. **889609**.
- [8] <http://stage.oceanoptics.us/faq/what-chemicals-can-be-detected-with-ocean-opticssers-substrates-and-at-what-concentrations/>, 2019, Zugegriffen: 23.11.2019
- [9] K. Christou, I. Knorr, J. Ihlemann et al., *Langmuir* **2010**, **26** (23), **18564–18569**.
- [10] J. Barnett, U. Plachetka, C. Nowak et al., *Microelectronic Eng.* **2017**, **172**, **45-48**.
- [11] M. Meißner, *Dtsch. Arztebl.* **2008**, **105** (24), S. A-**1324**.
- [12] <https://www.umweltbundesamt.de/1h-benzotriazol>, 2019, Zugegriffen: 28.11.2019
- [13] W. Giger, C. Schaffner, H. –P. E. Kohler, *Environ. Sci. Technol.* **2006**, **40**, **7186-7192**.
- [14] F. Wieduwilt, C. Lenth, G. Ctistis et al., *Environ. Sci. Pollut. R.*, eingereicht.

## Untersuchungen zum Abbau verschiedener Modellsubstanzen mittels hydrodynamischer Kavitation im Technikumsmaßstab

A. Schmid, Hof/D, M. Schübel, Hof/D

Prof. Dr.-Ing. Andreas Schmid, Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hof, Institut für Wasser- und Energiemanagement, Alfons-Goppel-Platz 1, 95028 Hof/D

### Einleitung

Die Belastung natürlicher Gewässer mit anthropogenen Spurenstoffen stellt ein zunehmendes Umweltproblem dar. Ein bedeutender Eintragspfad von Schadstoffen in die aquatische Umwelt ist die Einleitung des Kläranlagenablaufs in die Vorfluter [1]. Anthropogene Spurenstoffe wie beispielsweise Arzneimittel, Kosmetika oder Haushalts- und Industriechemikalien zeichnen sich oft durch ihre geringe biologische Abbaubarkeit aus und werden durch konventionelle Methoden der Abwasserreinigung nur unzureichend entfernt [2,3]. Um zukünftige Qualitätsnormen für Spurenstoffe einzuhalten, wird eine erweiterte Behandlung des Abwassers notwendig sein. Um diese wirtschaftlich betreiben zu können, sind energie- und ressourceneffiziente Verfahren gefragt.

Zu den möglichen Entfernungsmethoden zählen unter anderem erweiterte Oxidationsverfahren (advanced oxidation processes – AOP), die auf der Reaktion mit hochreaktiven Hydroxylradikalen beruhen [4]. Eine vielversprechende Methode zur Spurenstoffelimination in Abwasser ist daher die Nutzung hydrodynamischer Kavitation. Besonders die Kombination mit anderen Verfahren, wie beispielsweise der chemischen Oxidation, stellt ein großes Potential dar [5-8].

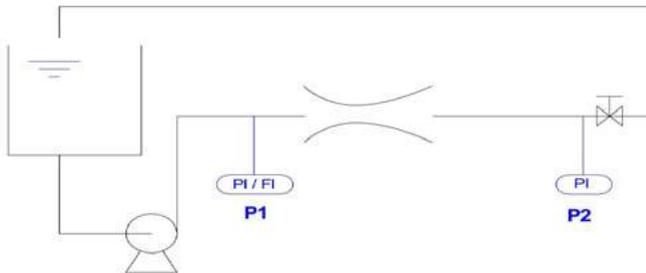
Unter dem physikalischen Effekt der Kavitation versteht man die Bildung, das Wachstum und die Implosion von Dampfblasen, die durch eine isotherme Druckabsenkung der Flüssigkeit hervorgerufen wird. Die Kavitationserzeugung kann über Schallwellen (akustische Kavitation), oder durch die Fließverhältnisse in einem Strömungsfeld (hydrodynamische Kavitation) erfolgen. Bei der Implosion der Kavitationsblasen kommt es lokal zu extrem hohen Druck- und Temperaturverhältnissen von bis zu tausend bar und mehreren tausend °C, die eine Vielzahl an Reaktionen, wie beispielsweise die Generierung von hochreaktiven Hydroxylradikalen, induzieren [7].

Das Potential zum Abbau von Schadstoffen liegt neben den erzeugten Radikalen auch in den pyrolyseähnlichen und superkritischen Bedingungen in den Hot Spots. Ein großer Vorteil der hydrodynamischen Kavitation als AOP-Verfahren ist der geringe apparative Aufwand. Im Gegensatz zur akustischen Kavitation ist zudem eine großskalige Anwendung, die mit höherer Energieeffizienz und niedrigeren Betriebskosten betrieben werden kann, möglich [8].

# Ab 002

## Material und Methoden

Der Versuchsaufbau besteht aus einem Wassertank mit einem Gesamtvolumen von ca. 800 Litern, einer konventionellen Kreiselpumpe ( $P_{\max} = 5,5 \text{ kW}$ , 2900 rpm, Vordruck ca. 4 bar) sowie einer Venturi-Düse mit anschließender Kavitationsstrecke über eine Länge von ca. 2 m (Abbildung 1).



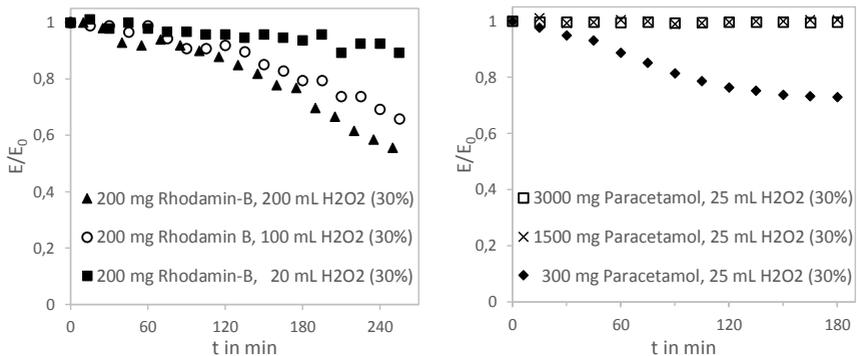
**Abbildung 1** Versuchsaufbau zur Erzeugung hydrodynamischer Kavitation im Technikumsmaßstab

Das Modellwasser wird durch die Kavitationsanlage zirkuliert. Bei gleichbleibendem Massenfluss erhöht sich an der Querschnitts-Engstelle der Venturi-Düse die Fließgeschwindigkeit des Wassers. Fällt der statische Druck auf den Dampfdruck des Wassers, so entstehen Kavitationsblasen. Bei geringen Umgebungsdrücken werden analog einer Kettenreaktion bei der Implosion der Blasen neue Kavitäten erzeugt [9]. Die Kavitation wird je nach Energieeintrag über die gesamte Strecke von ca. 2 m aufrechterhalten. Hinter der Kavitationsstrecke befindet sich ein Schieber, mit dem der Gegendruck stromabwärts der Düse geregelt werden kann. Die Intensität der Kavitation wird sowohl durch den Energieeintrag der Pumpe (Steigerung der Pumpendrehzahl), als auch durch den Gegendruck beeinflusst.

Der Rohrdurchmesser der Anlagenstrecke beträgt 65 mm, der Durchmesser an der Kavitationsstrecke 40 mm. Als Modellwasser wurde Leitungswasser mit der entsprechenden Modellschubstanz verwendet. Die Reaktionen wurden photometrisch verfolgt.

## Ergebnisse und Ausblick

Durch die Messung der Extinktion am Absorptionsmaximum der Modellsubstanzen können Änderungen am Chromophor nachgewiesen werden. Für den Farbstoff Rhodamin-B wurde nach vier Stunden Zirkulation in der Kavitationsanlage unter Zugabe von 200 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %) eine Reduktion des E/E<sub>0</sub>-Verhältnisses um 50 % verzeichnet. Eine um Faktor zehn geringere Wasserstoffperoxid-Dosierung führte zu keiner nennenswerten Entfärbung der Versuchslösung im Versuchszeitraum (Abbildung 2 links). In Kontrollversuchen mit Wasserstoffperoxid ohne Kavitationseinwirkung kam es bei Raumtemperatur ebenfalls zu keiner signifikanten Reduktion der Extinktion der Versuchslösungen.



**Abbildung 2**

**links:** β (Rhodamin-B) = 0,5 mg/L; V (H<sub>2</sub>O) = 400 L; V (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(30%)) = 20, 100, 200 mL; f = 2800 rpm

**rechts:** β (Paracetamol) = 1, 5, 10 mg/L; V (H<sub>2</sub>O) = 300 L; V (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(30%)) = 25 mL; f = 2600 rpm

Eine Veränderung am E/E<sub>0</sub>-Verhältnis bei 242 nm für unterschiedliche Eingangsmengen an Paracetamol unter Zugabe von je 25 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konnte nur bei dem größten H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Paracetamol-Verhältnis festgestellt werden (Abbildung 2 rechts). Bei der gemessenen Wellenlänge werden C=C und C=O-Bindungen erfasst. Eine Abnahme der Extinktion kann damit einer Veränderung am chromophoren Teil des Paracetamols, beispielsweise einer Oxidation des aromatischen Rings, zugeschrieben werden. Ob es zu einer Mineralisierung des Arzneimittels kommt, muss mit weiteren analytischen Verfahren bestimmt werden. Für Rhodamin-B und Paracetamol konnte mit Kavitationseinwirkung ohne weiteren Oxidationsmitteleintrag bisher keine Veränderung der Extinktion festgestellt werden. Die allein durch Kavitation entstehende Konzentration an reaktiven Spezies reicht bei den vorliegenden Versuchsbedingungen für eine Reaktion an der C=C-Bindung der Modellsubstanzen nicht aus, zudem ein Teil der Oxidationsspezies durch sonstige Bestandteile des Leitungswassers konsumiert wird. Dass eine Oxidation ohne weitere Oxidationsmittel bei optimalen Versuchsbedingungen möglich ist, konnte bereits bei Versuchen mit den Antiklopfmitteln Methyl-tert-butylether (MTBE) und Ethyl-tert-butylether (ETBE) nachgewiesen werden [9].

In Zukunft soll die hydrodynamische Kavitation in Kombination mit weiteren Verfahren untersucht werden. Ziel ist es, durch eine Vorbehandlung in der Kavitationsanlage die biologische Abbaubarkeit von Schadstoffen zu erhöhen und in einer nachfolgenden biologischen Reinigungsstufe diese vollständig zu mineralisieren. Eine weitere Verfahrenskombination, bei der synergistische Effekte zu erwarten sind, ist die Kopplung mit UV-Verfahren.

### Literatur

- [1] Umweltbundesamt (2015): Organische Mikroverunreinigungen in Gewässern. Vierte Reinigungsstufe für weniger Einträge. Positionspapier.
- [2] Tobajas, Montserrat; Verdugo, Verónica; Polo, Alicia M.; Rodriguez, Juan J.; Mohedano, Angel F. (2016): Assessment of toxicity and biodegradability on activated sludge of priority and emerging pollutants. In: *Environmental technology* 37 (6), S. 713–721.
- [3] Petrović, Mira; Gonzalez, Susana; Barceló, Damià (2003): Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22 (10), S. 685–696.
- [4] Ribeiro, Ana R.; Nunes, Olga C.; Pereira, Manuel F. R.; Silva, Adrian M. T. (2015): An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. In: *Environment international* 75, S. 33–51.
- [5] Raut-Jadhav, Sunita; Saharan, Virendra Kumar; Pinjari, Dipak; Sonawane, Shirish; Saini, Daulat; Pandit, Aniruddha (2013): Synergetic effect of combination of AOP's (hydrodynamic cavitation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) on the degradation of neonicotinoid class of insecticide. In: *Journal of hazardous materials* 261, S. 139–147.
- [6] Zupanc, Mojca; Kosjek, Tina; Petkovšek, Martin; Dular, Matevž; Kompare, Boris; Širok, Brane et al. (2013): Removal of pharmaceuticals from wastewater by biological processes, hydrodynamic cavitation and UV treatment. In: *Ultrasonics sonochemistry* 20 (4), S. 1104–1112.
- [7] Gągol, Michał; Przyjazny, Andrzej; Boczkaj, Grzegorz (2018): Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes based on cavitation-a review. In: *Chemical Engineering Journal* 338, S. 599–627.
- [8] Thanekar, Pooja; Gogate, Parag R. (2019): Combined hydrodynamic cavitation based processes as an efficient treatment option for real industrial effluent. In: *Ultrasonics sonochemistry* 53, S. 202–213.
- [9] Schmid, Andreas (2015): Influence of hydrodynamic induced cavitation on water pollutants. In: *WIT Transactions on Ecology and the Environment* 200, S. 287–293.

## Entfernung von organischen Spurenstoffen aus Grauwasser durch eine Kombination aus biologischer Behandlung und AOP-Verfahren

L. Schuster, Dresden/D, A. Chabilan, Dresden/D, S. Beil, Dresden/D, H. Börnick, Dresden/D, Institut für Wasserchemie, Technische Universität Dresden, 01069 Dresden

### Einleitung

Die zunehmend unzureichende Verfügbarkeit von nicht verunreinigtem Wasser stellt, vor allem im Hinblick auf die stetig wachsende Weltbevölkerung und den Klimawandel, eine globale Herausforderung dar<sup>[1]</sup>. Schon jetzt sind 66 % der Weltbevölkerung jährlich mindestens in einem Monat von Wasserknappheit betroffen<sup>[2]</sup>. Mittlerweile betrifft dies auch Regionen mit feuchtem Klima, wie beispielsweise Vietnam, da zeitlich (Monsun, Taifune) und lokal (Ballungsräume) erhebliche Unterschiede zwischen Dargebot und Bedarf bestehen<sup>[3, 4]</sup>. Die übermäßige Entnahme von Grundwasser hat in Hanoi bereits zu Grundwassermangel und Grundwasserabsenkung geführt<sup>[5, 6]</sup>. Gleichzeitig wird das Oberflächenwasser durch die nur oft unzureichend ausgebaute Kanalisation bzw. fehlende Abwasserbehandlung zunehmend belastet.

Aufgrund dieser Problematik wird die Entwicklung effizienter Technologien zur Abwasserbehandlung mit dem Ziel einer Wasserrückverwendung forciert. Mögliche Einsatzbereiche für das behandelte Wasser sind Toilettenspülung oder Bewässerung<sup>[4]</sup>. Für diese Zwecke muss das behandelte Wasser keine Trinkwasserstandards erfüllen. Als Grauwasser werden Teilströme des häuslichen Abwassers, ausgenommen der Teilströme aus Toiletten und Urinalen (Schwarzwasser), bezeichnet. Grauwasser ist im Vergleich zu Abwasser im Allgemeinen weniger mit Keimen bzw. Krankheitserregern belastet und nährstoffärmer, da es keine Fäkalien enthält. Die Aufbereitung von Grauwasser ist daher einfacher umzusetzen, erfordert jedoch ein separates Leitungsnetz in den Haushalten. In Vietnam sind Klärgruben auch in Großstädten die vorherrschenden sanitären Einrichtungen<sup>[7]</sup>, sodass teilweise bereits ein separates Grauwassersystem existiert. Das Grauwasser, welches einen Anteil von 68 – 90 % am gesamten Abwasser<sup>[8]</sup> ausmacht, wird allerdings nicht aufbereitet, sondern direkt in die Umwelt eingeleitet<sup>[9]</sup>, was bereits zu erheblichen Beeinträchtigungen der Grundwasserqualität (z. B. hohen Ammoniumgehalten bis zu 80 mg/L in der Trockenzeit<sup>[10]</sup>) führte.

Eine biologische Behandlung könnte hier zu einer erheblichen Verminderung des Umwelteintrages beitragen. Ein Bioreaktor ist eine kostengünstige, robuste Methode zur Reduzierung von Nährstoffen<sup>[11]</sup>. Allerdings zeigen Untersuchungen, dass bei diesem Verfahren anthropogene Spurenstoffe, wie Parabene aus Körperpflegeprodukten, Arzneimittel zum Auftragen auf die Haut, Insektenschutzmittel, UV-Filter, Korrosionsschutzmittel und Pestizide nur unzureichend entfernt werden<sup>[12, 13, 14]</sup>. Die Eliminierung dieser Substanzen könnte durch zusätzliche effiziente AOP, wie UV/Peroxid(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)-Verfahren, erreicht werden.

Im Rahmen des internationalen AiF-Projekts „Dezentrales Grauwassermanagement (DeGrey)“ soll eine Kombination aus einem Membranbioreaktor (MBR) und *Advanced Oxidation Processes* (AOP) zur Behandlung von Grauwasser in Vietnam getestet

werden. Zum Betrieb des *Sequencing-Batch-Reactor* (SBR) wurde synthetisches Grauwasser verwendet, welches reproduzierbar herstellbar ist und sich an der Beschaffenheit vietnamesischer Grauwässer orientiert. In einem weiteren Schritt wird das synthetische Grauwasser mit relevanten organischen Spurenstoffen, darunter 1H-Benzotriazol (BTA), Bisphenol-A (BPA), Chlorpyrifos (CPS), Diclofenac (DCF), Diethyltoluamid (DEET), Benzylparaben (BPB), Methylparaben (MPB), Octinoxat (OTX), Terbutryn (TB), Triclosan (TCS) und Triclocarban (TCC), dotiert. Durch die Kombination der beiden Verfahren sollen die Entfernung von organischen Spurenstoffen sowie weitere Parameter (Keimzahl, Färbung) verbessert werden. Der modulare Aufbau der Grauwasserbehandlungsanlage ermöglicht es, die Reihenfolge der Behandlungsverfahren zu variieren und eine möglichst effiziente Variante für die Eliminierung der Spurenstoffe zu ermitteln.

## Material und Methoden

Für die biologische Behandlung des synthetischen Grauwassers wurde ein Bioreaktor (22 L, Schlammalter: 30 Tage) als *Sequencing-Batch-Reactor* (SBR) betrieben und wöchentlich die Hälfte des Volumens durch synthetisches Grauwasser ersetzt. Zur Überwachung und Charakterisierung der biologischen Behandlungsstufe wurden vom zugesetzten Grauwasser und vom SBR-Ablauf verschiedene Parameter wie Temperatur, Trübung, pH-Wert, Leitfähigkeit, gelöster Sauerstoff, Färbung (Pt-Co-Farbzahl und SAK), TOC, DOC, CSB, BSB<sub>5</sub> und Nährstoffe (P- und N-haltige Anionen sowie Gesamt-Phosphor und -Stickstoff TP bzw. TN) bestimmt. Zur Analyse der Gesamt-Coliformen (TC) und *E. coli* wurde Colilert-18® in Kombination mit Quanti-Tray/2000 von IDEXX verwendet.

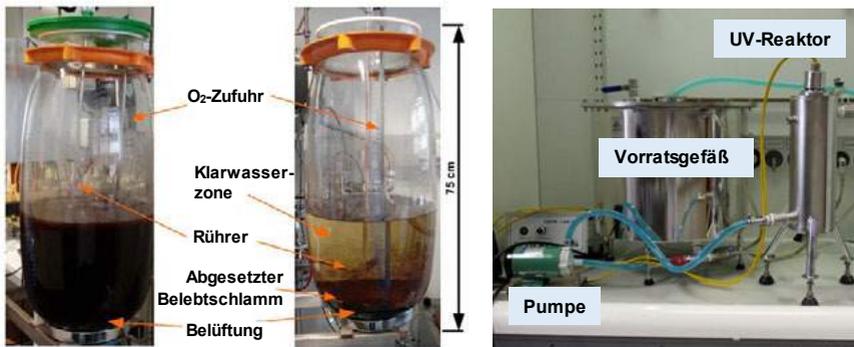


Abb. 1: Links: Bioreaktor als *Sequencing-Batch-Reactor* (SBR) zur Behandlung von synthetischen Grauwasser, Mitte: SBR während der Sedimentationsphase zur Trennung von Belebtschlamm und aufbereitetem synthetischen Grauwasser  
Rechts: Kreislauf-Anlage mit 400 W UV-Mitteldruck-Strahler

Die Quantifizierung der Spurenstoffe erfolgte mittels LC-MS/MS (Sciex, 6500+ QTRAP®). Eine Mischung dieser Spurenstoffe (Stammlösung: 44 mg/L) wurde über den Zeitraum von einer Woche dem synthetischen Grauwasser zugesetzt, sodass die Ausgangskonzentration im SBR 20 µg/L betrug. Spurenstoffkonzentrationen dieser Größenordnung wurden bereits in realen Grauwasserproben nachgewiesen<sup>[15]</sup>. Zur Verfolgung des Konzentrationsverlaufs wurden direkt nach der Zugabe des frischen Grauwassers, sowie nach 2 h und 24 h Proben aus dem Bioreaktor entnommen. Zusätzlich wurde die Sorption am Schlamm untersucht. Dazu wurden Belebtschlamm-Proben mittels Flüssig-Flüssig-Extraktionsmethode extrahiert und analysiert.

Für die nachfolgende AOP-Untersuchungen wurden 8 L des spurenstoffhaltigen SBR-Ablaufs mit 13 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (35 %ig) versetzt und in der in Abb. 1 (rechts) dargestellten Kreislauf-Anlage unter Einsatz eines 400 W Mitteldruck-UV-Strahlers behandelt.

## Ergebnisse und Diskussion

Die Vorschrift zur Herstellung des synthetischen Grauwassers basiert auf einer intensiven Literaturrecherche. Um eine reproduzierbare Zusammensetzung des Grauwassers zu gewährleisten, wurden zur Herstellung Grundchemikalien, anstelle von kommerziell erhältlichen Produkten wie Shampoo, Seife, Waschpulver usw., verwendet. Die Ergebnisse der Charakterisierung des synthetischen Grauwassers und des Ablaufs vom SBR (Tab. 1) zeigen, dass die Gehalte an TOC, DOC, TN und TP deutlich abnehmen. Insbesondere NH<sub>4</sub><sup>+</sup> wird effizient zu NO<sub>3</sub><sup>-</sup> umgesetzt.

Tab. 1: Zu- und Ablaufwerte (Auswahl) für den SBR. Die Zulaufwerte entsprechen den Charakteristika des eingesetzten synthetischen Grauwassers.

Parameter	Zulauf SBR	Ablauf SBR
<i>Physikalische Parameter</i>		
SAK (254 nm) / (1/m)	29,4 - 32,8	1,0 - 6,5
Färbung (436 cm <sup>-1</sup> ) / (1/m)	3,8 - 5	1,4 - 1,8
Färbung (525 cm <sup>-1</sup> ) / (1/m)	1,5 - 2,2	0,3 - 0,4
Pt-Co-FZ (340 nm)	43 - 53	22 - 26
<i>Chemische Parameter</i>		
BSB <sub>5</sub> / (mg/L)	135 - 167	14,6 - 16,3
CSB gesamt / (mg/L)	542 - 661	69 - 74
TOC / (mg/L)	76,0 ± 3,0	5,4 - 6,2
DOC / (mg/l)	52,8 ± 0,6	4,4 - 5,1
TN / (mg/L)	12,3 ± 1,2	0,3 - 0,5
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N / (mg/L)	2,0 - 2,4	< 0,08
NO <sub>2</sub> -N / (µg/L)	< 20	< 20
TP / (mg/L)	9,4 - 9,6	3,5 - 3,8

Bei den Versuchen zur Spurenstoffeliminierung mittels SBR zeigten sich drei grundsätzliche Konzentrationsverläufe in der wässrigen Phase. Substanzen, wie DCF, DEET und TB, die biologisch nur sehr schlecht abbaubar sind, reicherten sich während der Woche im Reaktor an (vgl. Abb. 2). In der darauf folgenden Woche nahm deren Konzentration infolge der täglichen Verdünnung mit frischem, spurenstofffreiem Grauwasser, ab.

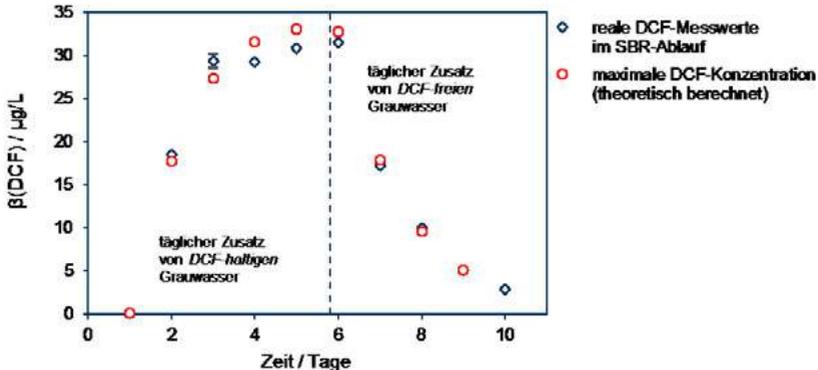


Abb. 2: Verlauf der DCF-Konzentration im SBR bei der täglichen Zugabe von DCF-haltigem Grauwasser (Tag 1-5) und in der darauffolgenden Woche bei Zusatz von DCF-freiem Grauwasser, Gegenüberstellung der realen Messwerte und theoretisch berechneten Maximalkonzentrationen.

Demgegenüber nahmen die Konzentrationen von TCS, TCC und CPS langsam innerhalb von 24 h in der wässrigen Phase des SBR ab. Der zugrundeliegende Mechanismus (Transformation oder Sorption) konnte bislang noch nicht abschließend geklärt werden. Die Start-Konzentration im Bioreaktor nach Dotierung nahm jedoch über die Woche zu. Dies könnte ein Hinweis auf eine Sorption dieser Substanzen an den Schlammpartikeln des SBR sein. Folgerichtig konnten diese Substanzen teilweise auch in den Belebtschlamm-Extrakten nachgewiesen werden. Die Konzentration der weiteren Substanzen (Parabene, BTA, BPA) nahm innerhalb von 24 h zum Teil sehr schnell ab. Auch nach mehreren Versuchstagen war keine Zunahme der Anfangskonzentration nach Dotierung zu verzeichnen. In den Belebtschlamm-Extrakten konnten diese Verbindungen auch nicht nachgewiesen werden, was für eine Transformation spricht. Da keine Transformationsprodukte untersucht wurden, kann jedoch nicht geklärt werden, inwieweit tatsächlich ein Abbau dieser Spurenstoffe erfolgte. Methylierung oder Demethylierung der Parabene wären möglicherweise auch denkbar.

Das getestete AOP-Verfahren (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) erwies sich als sehr wirkungsvoll zur Umsetzung der ausgewählten organischen Spurenstoffe. Im Ablauf des Bioreaktors konnte die Konzentration aller verbliebenen Substanzen innerhalb von 30 min um mehr als 90 % reduziert werden. Das Verfahren eignet sich somit als Ergänzung zur biologischen Reinigungsstufe.

## Ausblick

Die Untersuchungen können auf weitere relevante Spurenstoffe ausgeweitet werden. Neben dem bisher betrachteten AOP-Verfahren (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sind auch Untersuchungen zur photokatalytischen Umsetzung geplant. Zudem werden in Vietnam Versuchsreihen mit einer Pilotanlage durchgeführt.

## Danksagung

Die Untersuchungen wurden im Rahmen des internationalen AiF/ZIM-Vorhabens „DeGrey – Dezentrales Grauwassermanagement - Decentralized Grey Water Management: Energieeffiziente Behandlung von Grauwasser durch die Kombination von MBR- und AOP-Technologien unter Einsatz von immobilisierten Nanopartikeln“ (ZF4200803RH7) durchgeführt. Die Autoren danken der AiF für die finanzielle Unterstützung. Das LC-MS/MS (Sciex, 6500+ QTRAP®) wurde mit Mitteln des Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (EFRE) und mit Mitteln des Freistaates Sachsen finanziert.

## Literatur

- 1 Famiglietti, J. S. (2014). The global groundwater crisis, *Nature climate change*, 4, 945-948.
- 2 M. M. Mekonnen, M. M. & Hoekstra, A. Y. (2016). Four billion people facing severe water scarcity, *Science Advances*, 2, ISSN: 2375–2548.
- 3 Jimenez, B. & Asano, T. (2008). *Water Reuse: An International Survey of Current Practice, Issues and Needs*, London: IWA Publishing.
- 4 T. Asano, T., Burton, F., Leverenz, H. (2007). *Water Reuse: Issues, Technologies, and Applications*, Wakefield, MA: Metcalf & Eddy.
- 5 Giao, P. H. & Ovaskainen, E. (2000). Preliminary assessment of Hanoi land subsidence with reference to groundwater development, *Lowland Technology International*, 2, 17–29.
- 6 Wright-Contreras, L. March, H. & Schramm, S. (2017). Fragmented landscapes of water supply in suburban Hanoi, *Habitat International*, 61, 64–74.
- 7 Schramm, S. (2016). Hanoi's septic tanks – technology of a city in flow in the late nineteenth century and today, *17th IPHS Conference, Delft 2017 HISTORY–URBANISM–RESILIENCE*, 04, 345-355.
- 8 Brüsser, S., Pham, T. N., Antoine, M. & Nguyen, V. A. (2007). Characteristics and quantities of domestic wastewater in urban and peri-urban households in Hanoi. Annual Report of FY 2006, The Core University Program between Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) and Vietnamese Academy of Science and Technology (VAST), 395-397.
- 9 Montangero, A., Cau, L. N., Anh, N. V., Tuan., V. D., Nga, P. T. & Belevi, H. (2007). Optimising water and phosphorus management in the urban environmental sanitation system of Hanoi, Vietnam, *Science of the total Environment*, 384, 55–66.
- 10 T. Nguyen, T., Kawamura, A., Tong, T., Nakagawa, N. & Amaguchi, G. R. (2014). Hydrogeochemical characteristics of groundwater from the two main aquifers in the Red River Delta, Vietnam, *Journal of Asian Earth Sciences*, 93, 180–192.
- 11 Krishnan, V. & Ahmad, D. & Jeru, J. B. (2008) Influence of COD:N:P ratio on dark greywater treatment using a sequencing batch, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 83, 756-762.
- 12 Hoi, P. V., Mol, A. P. J., Oosterveer, P., van der brink, P. J. & Huong, P. T.M. (2016). Pesticide use in Vietnamese vegetable production: a 10-year study, *International Journal of Agriculture Sustainability*, 14, 325–338.
- 13 Normile, D. (2013). Vietnam turns back a "Tsunami of Pesticides", *Science*, 341, 737–738.
- 14 Lamers, M., Anyusheva, M., La, N., Ngyuen, V. V. & Streck, T. (2011). Pesticide pollution in surface- and groundwater by paddy rice cultivation: A case study from northern Vietnam, *Water*, 39, 356-361.
- 15 Etchepare, R. & von der Hoek, J. P. (2015). Health risk assessment of organic micropollutants in greywater for portable reuse, *Water Research*, 72, 186–198.

## Metabolites of ethylene (EO) and propylene oxide (PO) containing compounds in wastewater and their biodegradation in MBBR reactors

S. Tisler, C. Liang, K. Bester/ Aarhus/DK

Dr. Selina Tisler, Aarhus University, Department of Environmental Science - Environmental Chemistry & Toxicology, Frederiksborgvej 399, 4000 Roskilde, Denmark

E-Mail: seti@envs.au.dk

### Abstract

The present study investigates polyalkylene glycols (PAGs) and their metabolites in wastewater and biodegradation processes. PAGs with ethylene oxide (EO) and polypropylene oxide (PO) groups were analysed in effluent samples of two different wastewater treatment plants in Denmark. The homologous series of pure EO and PO polymers, as well as copolymers of one to two EO and three to twelve PO groups were detected. Carboxylated metabolites of these compounds were measured as the homologous series with the highest intensity. In biodegradation experiments with moving bed biofilm reactor (MBBR), the subsequent degradation of all compounds was validated. In general, the degradation kinetic of copolymers with higher masses was faster. The more carboxylated the compound was, the slower was the degradation. Furthermore, the pure PPG precursors and metabolites were degraded slower than the related copolymers, containing one or two EO groups.

### 1. Introduction

Non-ionic surfactants as well as synthetic oil typically use an ethylene oxide (EO) chain as their hydrophilic portion attached to a variety of different hydrophobic structures such as polypropylene oxide (PO). Polyethylene glycols (PEGs) themselves, but also alcohol polyethoxylates (AEOs) which are biodegraded in PEGs are the main non-ionic surfactants produced in Europe (Traverso-Soto et al. 2013). For low foaming properties, the surfactants can also consist of PO groups (Polypropylene glycols (PPGs) or general polyalkylene glycols (PAG)). PAGs are also used as synthetic oil due to their good low temperature properties and high viscosity indices. Data about the PAG residues in the aquatic environment are limited. For PEGs, studies about the occurrence in wastewater and surface water are limited and mostly described in studies 20 years ago (Traverso-Soto et al. 2013). Analysis of PPGs in wastewater is completely missing, but a recent study investigated PPGs of hydraulic fracturing fluids (Rogers et al. 2019).

The aim of the present study was to identify precursors and metabolites of PEGs and PPGs in the wastewater effluents and to investigate their degradation potential with a moving bed biofilm reactor (MBBR) as advanced treatment technology.

## 1. Materials and Methods

LC-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS; SCIEX TripleTOF 6600) was used to analyse the water samples. Data processing for the identification of surfactants was performed with MarkerView (SCIEX Version 1.2.1) and the homologous series detection tool of Eawag Dübendorf ([www.envihomolog.eawag.ch](http://www.envihomolog.eawag.ch)). Identification of the compounds was based on accurate mass measurements, fragmentation data, predicted retention times of homologous series and literature research.

Aerobic biofilm degradation experiments were conducted in 1-L continuous flow reactors with 150 Anoxkaldnes™ Z-400 MBBR carriers and a hydraulic retention time of 6 h. The reactors were processed with repeating periods of 96 h of raw wastewater and 192 h effluent wastewater. After an adaption period of two month, five carriers (2 g/L biomass in the reactor) were used per batch degradation experiments of 50 mL effluent wastewater for a duration of 7 days.

Wastewater sample for the MBBR experiments and for direct injection were collected at two different wastewater treatment plants (WWTPs) in Sjælland, Denmark.

## 2. Results and Discussion

The screening of effluent samples of two WWTPs (200.000 and 50.000 population equivalent (PE)) in Denmark showed the occurrence of homologous series of carboxylated and dicarboxylated metabolites of PEGs, but not the PEGs themselves. Furthermore, methylated PEGs occurred as parent compounds, carboxylated and dicarboxylated homologous series in the wastewater effluents. The (methylated) PEG precursors, but not the carboxylated metabolites, were also detected in the raw wastewater. The effluent screening also revealed the occurrence of homologous series of PPGs and copolymers of PO and EO groups (Fig.1), which to the best of our knowledge has never been described in wastewater effluent samples before. Rogers et al. (2019) investigated PPGs of hydraulic fracturing fluids, but no data about the occurrence of our identified PO/EO copolymers in the environment are available.

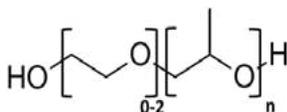


Fig. 1: proposed structure of the identified non-ionic surfactants with the copolymer structure of EO (0-2) and PO (n) groups

The carboxylated metabolites (EO<sub>0-2</sub>PO<sub>n</sub>-COOH) of the copolymers revealed the highest response of all three detected polymers (EO varied between 0 and 2, Fig. 2

shows EO 1 exemplary). In addition, three homologous series related to the carboxylated copolymers were detected. The first eluting polymers are proposed as the ketone product ( $\text{EO}_{0-2}\text{PO}_n\text{-COOH-ketone}$ ) of the carboxylated compounds (reaction mechanism has been reported before for PPGs (Zgola-Grzeskowiak et al. 2007)). The second eluting polymers are the precursor substances ( $\text{EO}_{0-2}\text{PO}_n$ ) and the last eluting series are the dicarboxylated compounds ( $\text{EO}_{0-2}\text{PO}_n\text{-diCOOH}$ ), which are well described as metabolites of PEGs (Rogers et al. 2019) but never identified before as metabolites of EO and PO containing compounds.

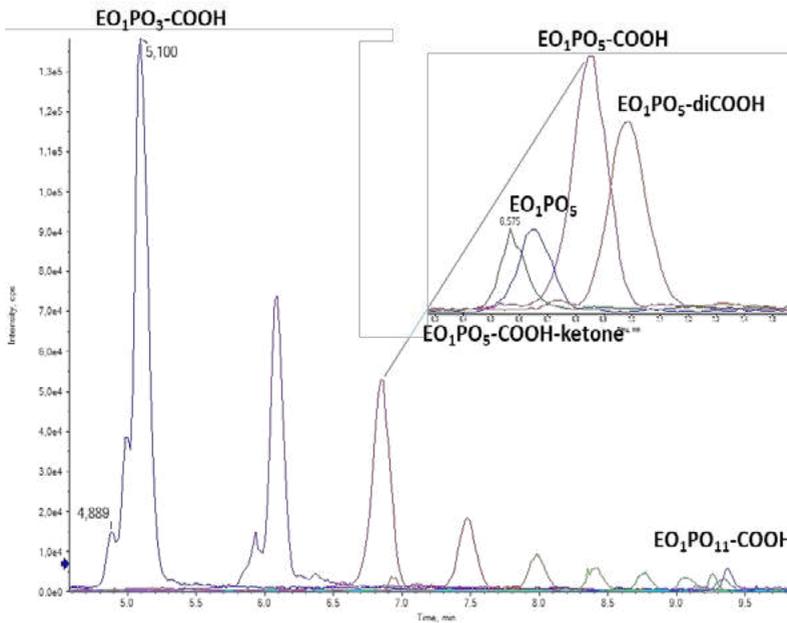


Figure 1: Extracted ion chromatogram of one out of three homologous series of the carboxylated EO/PO copolymer metabolites as  $\text{EO}_1\text{PO}_3\text{-COOH}$ . Each peak has three related compounds with a constant retention time shift, the ketone product ( $\text{EO}_1\text{PO}_5\text{-COOH-ketone}$ ), the precursor ( $\text{EO}_1\text{PO}_5$ ) and the dicarboxylated polymer ( $\text{EO}_1\text{PO}_5\text{-diCOOH}$ ).

In a continuous flowing through lab MBBR reactor, the degradation of the compounds in a wastewater effluent polishing step was tested. All compounds were degraded to more than 80 % after 6 h HRT, except of the dicarboxylated polymers which were less degraded (>55 %). Investigations of the degradation kinetic in MBBR batch reactors showed in general faster degradation of the copolymers with higher masses. The more

carboxylated the compound was, the slower was the degradation. The ketone group showed slightly faster degradation kinetic than the COOH-metabolite. Furthermore, the pure PPG precursors and metabolites were degraded slower than the related copolymers (containing one or two EO groups). The analysis of fragmentation pattern of different chain length is still ongoing to link the data to concrete industrial products.

The study highlights the importance of considering the PAGs and their metabolites in the aquatic environment. Furthermore, the high amount of peaks per homologous series shows the importance of considering the surfactants in non-target screening approaches.

### Literature

Rogers, Jessica D.; Thurman, E. Michael; Ferrer, Imma; Rosenblum, James S.; Evans, Morgan V.; Mouser, Paula J.; Ryan, Joseph N. (2019): Degradation of polyethylene glycols and polypropylene glycols in microcosms simulating a spill of produced water in shallow groundwater. In *Environ. Sci.: Processes Impacts* 21 (2), pp. 256–268. DOI: 10.1039/C8EM00291F.

Traverso-Soto, Juan Manuel; Lara-Martín, Pablo Antonio; León, Víctor Manuel; González-Mazo, Eduardo (2013): Analysis of alcohol polyethoxylates and polyethylene glycols in marine sediments. In *Talanta* 110, pp. 171–179. DOI: 10.1016/j.talanta.2013.02.027.

Zgola-Grzeskowiak, Agnieszka; Grzeskowiak, Tomasz; Zembrzuska, Joanna; Franska, Magdalena; Franski, Rafał; Kozik, Tomasz; Lukaszewski, Zenon (2007): Biodegradation of poly(propylene glycol)s under the conditions of the OECD screening test. In *Chemosphere* 67 (5), pp. 928–933. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.11.003.

### Acknowledgement

The funding of the INTERREG project “CW Pharma” and the BONUS CLEANWATER project is gratefully acknowledged. BONUS CLEANWATER has received funding from BONUS (Art 185), funded jointly by the EU and Innovation Fund Denmark, Sweden's innovation agency VINNOVA and the German Ministry for Education and Science (BMBF). The authors thank all people involved during this study.

## **Spurenstoffelimination und Desinfektion: elektrochemische Synthese von Oxidationsmitteln mit Diamantelektroden und Gasdiffusionselektroden**

S. Hild, Frankfurt am Main/D, H. Ajlani, Frankfurt am Main/D, C. M. Hamm, Tempe/US,  
R. G. Simon, Frankfurt am Main/D, M. Stöckl, Frankfurt am Main/D, K.-M. Mangold,  
Frankfurt am Main/D

Stefanie Hild, DECHEMA-Forschungsinstitut, Frankfurt am Main/D,  
stefanie.hild@dechema.de

### **Hintergrund**

Die Reinhaltung sowie ein ressourcenschonender Umgang mit natürlichen Gewässern sind die Grundpfeiler einer nachhaltigen Wasserwirtschaft. Schwer abbaubare Organik in aufbereitetem Abwasser stellt eine große Herausforderung für ein umweltfreundliches Wassermanagement dar. Die Wiederverwendung von Prozesswasser in industriellen Wasserkreisläufen erfordert eine Entfernung störender Rückstände. Ebenso wichtig, wie die Entfernung von organischen Verunreinigungen ist auch die Desinfektion des aufbereiteten Wassers.

### **Elektrochemische Synthese von Oxidationsmitteln**

Sowohl für die Entfernung von persistenten organischen Verbindungen, als auch für die Desinfektion eignen sich Radikale, insbesondere Hydroxyl-Radikale (OH-Radikale). Diese können unter anderem durch elektrochemische Verfahren mittels eines angelegten Stroms oder einer angelegten Spannung erzeugt werden. Dabei haben elektrochemische Verfahren gegenüber klassischen Verfahren folgende Vorteile:

- Milde Reaktionsbedingungen
- Keine Zusätze von Chemikalien
- Weniger Zwischenprodukte
- Nutzung regenerativer Energien

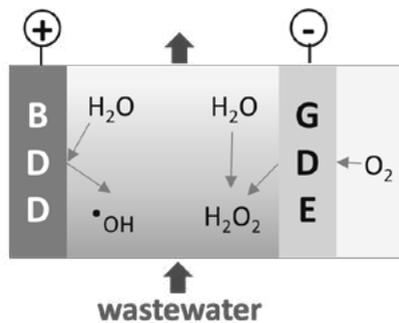
In der Regel werden Radikale elektrochemisch an der Anode erzeugt, an der Kathode findet dabei meistens keine Wertschöpfung statt. Zur Steigerung von Ausbeute und Effizienz bei der Abwasserbehandlung ist es daher sinnvoll Wertstoffe, z.B. Oxidationsmittel, sowohl anodisch als auch kathodisch zu produzieren.

In den vorgestellten Arbeiten wird eine neuartige Elektrodenkombination aus Bor-dotierter Diamantelektrode (BDD) und Gasdiffusionselektrode (GDE) zur Erzeugung von Oxidationsmitteln untersucht.

An BDD-Elektroden werden OH-Radikale in situ durch Elektrolyse des Abwassers, bzw. allgemein der wässrigen Elektrolytlösung, synthetisiert (Simon et al. 2018). Im Gegensatz zu anderen Elektrodenmaterialien wie z.B. Graphit oder Platin, weist die BDD eine hohe Überspannung für die Wasserelektrolyse auf. Dies ermöglicht es Potentiale zu erreichen, bei denen OH-Radikale gebildet werden.

Die BDD-Elektrode als Anode wird mit einer GDE als Kathode kombiniert. Werden GDEs mit speziellen Katalysatoren hergestellt, ist es möglich Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) aus Sauerstoff herzustellen. Dieses zusätzlich synthetisierte Oxidationsmittel unterstützt die Oxidation, gleichzeitig wird die Wasserstoffentwicklung unterdrückt.

An beiden Elektroden werden hoch oxidative Spezies erzeugt, die persistente Abwasserinhaltsstoffe abbauen oder zur Desinfektion des Abwassers genutzt werden können. Die Kombination aus BDD und GDE ist schematisch in Abbildung 1 dargestellt.



**Abbildung 1** Schematische Darstellung der neuartigen Elektrodenkombination, bestehend aus Bor-dotierter Diamantelektrode (BDD) und Gasdiffusionselektrode (GDE).

## Ergebnisse

Um die beschriebene Elektrodenkombination zu realisieren, wurden Elektrolysezellen gebaut, in denen die Synthese von Oxidations- und Desinfektionsmitteln sowie der Abbau von organischen Verunreinigungen untersucht wurden.

Die Untersuchungen zum Abbau eines persistenten Medikaments mit dieser Elektrodenkombination konnten zeigen, dass für diese stabilen Verbindungen eine nahezu vollständige Mineralisierung möglich ist. Weiterhin wurde untersucht, welchen Einfluss z.B. die verwendete Stromdichte auf die Abbaukinetik des Medikaments hat. Durch die Verwendung von synthetischen Abwässern wird der Einfluss der beigefügten Wasserinhaltsstoffe, z.B. weiterer organischer Stoffe auf den Abbau der verwendeten Medikamente untersucht. Zudem wurde in Untersuchungen mit der neuen

## Ab 005

Elektrodenkombination festgestellt, dass durch den Einsatz der GDE die Zellspannung verringert wurde, was den Energiebedarf des Gesamtprozesses senkt.

Auch konnte gezeigt werden, dass mit dieser Elektrodenkombination hohe Ausbeuten an Wasserstoffperoxid als Desinfektionsmittel erzielt werden können. Hierbei spielen die Art der GDE und die Versuchsparameter eine entscheidende Rolle.

Eine elektrochemische vor-Ort-Technologie wird erarbeitet, die es ermöglicht benötigte Desinfektionsmittel (auch Gefahrstoffe) vor Ort bedarfsgerecht und sicher aus unkritischen Ausgangsstoffen wirtschaftlich zu erzeugen. Als Beispiel dient die Synthese von Peressigsäure.

### Literatur

[1] R. G. Simon et. al., *Chem. Ing. Tech.* **2018**, *90*, 1832-1854

## Isotopic effect of ozonation of specific reaction sites

J. Terhalle, Essen/Germany; S. E. Nikutta, Essen/Germany; D. Krzecziesia  
Essen/Germany; H. V. Lutze, Essen Germany; M. A. Jochmann, Essen/Germany;  
T. C. Schmidt, Essen/Germany

Jens Terhalle, University Duisburg-Essen, Instrumental Analytical Chemistry,  
Universitaetsstrasse 5, D-45141 Essen, Germany

E-Mail: jens.terhalle@uni-due.de

### Introduction

The number of detected micropollutants in the water cycle has increased over the past years[1]. One option to remove those compounds is ozonation. In ozonation, numerous classes of micropollutants can be degraded. However transformation products are formed, which may have an undesired effect [1]. For studying these transformation reactions, it is important to identify the point of attack of ozone in a molecule. One option is the application of stable isotope analysis. In most cases, the lighter isotope (e.g.  $^{12}\text{C}$ ) reacts faster with ozone than the heavier isotope (e.g.  $^{13}\text{C}$ ). Hence, heavier isotopes are enriched in the remaining parent compound and this can be measured by compound specific stable isotope analysis (CSIA) [2]. Important reaction sites for ozone are e.g. C-C double bonds, C-C triple bonds and aromatic rings [3].

The aim of this work is to determine the isotope fractionation of specific reaction sites using small model compounds to assess the extent of the isotopic fractionation in ozone reactions. Therefore, small model compounds were investigated i.e. 3-buten-2-ol (double bond), 3-butyl-2-ol (triple bond) and phenol (aromatic ring).

### Material and methods

#### Chemicals:

3-buten-2-ol (97%) Alfa Aesar, 3-butyn-2-ol (98%) Alfa Aesar, Phenol (99%) Sigma-Aldrich, *tert*-butanol (99.5%) Merck, dipotassium phosphate (99%) AppliChem GmbH, Monosodium phosphate (99%) AppliChem GmbH, *ortho*-phosphoric acid (85%) AppliChem GmbH, sodium chloride (99%) Bernd Kraft GmbH.

#### Methods:

During the reaction between ozone and 3-buten-2-ol and 3-butyn-2-ol,  $\text{H}_2\text{O}_2$  can be formed. The reaction of ozone with  $\text{H}_2\text{O}_2$  results in formation of OH radicals. OH radicals react also with 3-buten-2-ol and 3-butyn-2-ol. To suppress the influence of OH radicals, the experiments with 3-buten-2-ol and 3-butyn-2-ol were performed at pH 2. At this pH, the reaction of  $\text{O}_3$  with  $\text{H}_2\text{O}_2$  is slow ( $k_{\text{obs}} = 1.09 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) and so the formation of OH radicals is suppressed [4]. Different concentrations of ozone (0.1 - 1.2 mM ozone) were added to the reaction solution which was composed of 1 mM model compound and 10 mM phosphate buffer.

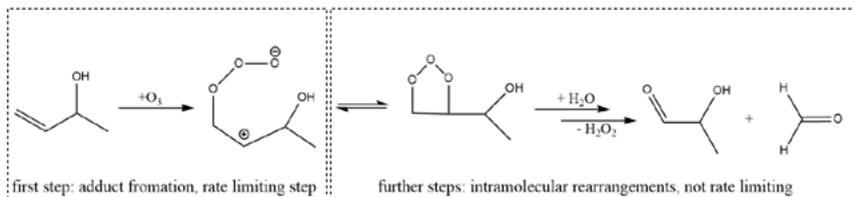
Phenol was investigated at pH 2, 7 and 11 and in presence of *tert*-butanol (*tert*-BuOH) for scavenging of OH radicals, which could be formed as secondary oxidants in ozone reaction [5]. These pH values were chosen because of the speciation of phenol ( $\text{p}K_{\text{a}}$  (phenol) = 9.9). Here again different concentration of ozone (0.05 –

0.4 mM) were added to the reaction solution which was composed of 0.15 mM Phenol, 10 mM phosphate buffer and 125 mM *tert*-BuOH.

For the analysis, a HTX PAL autosampler (CTC analytics AG, Berlin, Germany) coupled with a gas chromatography (Trace GC ultra, Thermo Fisher Scientific, Oberhausen, Germany) and an isotopic ratio mass spectrometer (MAT 253, Thermo Fisher Scientific, Oberhausen, Germany) were used. To increase the concentration of the model compounds in the headspace 2.5 g/10 mL NaCl were added. The extraction in the headspace were done by a polyacrylate solid phase micro extraction arrow fiber (CTC analytics AG, Berlin, Germany) for 10 min at 50 °C.

## Results and discussion

The results show no difference in the enrichment factor between double bonds ( $\epsilon = 5.1 \pm 0.6\text{‰}$ ), triple bonds ( $\epsilon = -5.9 \pm 0.5\text{‰}$ ) and the aromatic system (phenol) at pH 2 ( $\epsilon = -5.5 \pm 0.2\text{‰}$ ) (Table 1). One explanation is the similar primary attack of ozone at these model compounds. This can be explained by formation of an ozone adduct as the rate limiting step, resulting in C-C-bond cleavage. The primary attack is followed by intramolecular rearrangements which do not control the reaction kinetics, resulting in e.g. Criegee products in case of double bonds (Figure 1) [6]. At pH 7 and 11 no significant enrichment factor was observed (Table 1). This suggests that phenolate, which react mainly with ozone at a pH higher 3.9, react in another way with ozone than phenol (e.g. electron transfer and/or oxygen transfer).



**Figure 1: Reaction pathway of 3-buten-2-ol with ozone.**

A second possible explanation is the very fast reaction of ozone with phenolate which is too fast for the detection of an isotopic fractionation. Phenolate reacts several orders of magnitude faster with ozone than phenol, 3-buten-2-ol and 3-buten-2-ol ( $k(\text{phenolate} + \text{O}_3) = 1.4 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ,  $k(\text{phenol} + \text{O}_3) = 1.3 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  [7],  $k(3\text{-buten-2-ol} + \text{O}_3) = 7.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  [8],  $k(3\text{-butyn-2-ol} + \text{O}_3) \sim 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). The difference of the ratio of the reaction rate constants of  $^{13}\text{C}$  and  $^{12}\text{C}$  becomes smaller with increasing observed reaction rate constants ( $k_{\text{obs}}$ ). At an enrichment factor under 0.5‰ the fractionation is called not significant [9].

**Table 1: Overview of the enrichment factors of the three compounds (the enrichment factor was determined by the Rayleigh-plot [2]; n.s. = not significant).**

Compound	pH value	Enrichment factor / ‰
3-buten-2-ol	2	$-5.1 \pm 0.6\text{‰}$
3-buten-2-ol	2	$-5.9 \pm 0.5\text{‰}$
Phenol	2	$-5.5 \pm 0.2\text{‰}$
Phenolate	7	n.s.
Phenolate	11	n.s.

## Conclusion

The stable isotopic effect for compounds under study is related to their reaction rate constants. With increasing reaction rate constants, the enrichment factor ( $\epsilon_C$ ) decrease. This means also that in case the  $\epsilon_C$  cannot be measured, reaction may still happen at carbon containing moieties (e.g. phenolate).

## References

- [1] von Gunten, U., *Oxidation Processes in Water Treatment: Are We on Track?* Environmental Science & Technology, 2018. **52**(9): p. 5062-5075.
- [2] Elsner, M., Zwank, L., Hunkeler, D., and Schwarzenbach, R.P., *A new concept linking observable stable isotope fractionation to transformation pathways of organic pollutants.* Environmental Science & Technology, 2005. **39**(18): p. 6896-6916.
- [3] Maier, M.P., Prasse, C., Pati, S.G., Nitsche, S., Li, Z., Radke, M., Meyer, A., Hofstetter, T.B., Ternes, T.A., and Elsner, M., *Exploring trends of C and N isotope fractionation to trace transformation reactions of diclofenac in natural and engineered systems.* Environmental Science & Technology, 2016. **50**(20): p. 10933-10942.
- [4] Staehelin, J. and Hoigne, J., *Decomposition of ozone in water: rate of initiation by hydroxide ions and hydrogen peroxide.* Environmental Science & Technology, 1982. **16**(10): p. 676-681.
- [5] Schuchmann, M.N. and Von Sonntag, C., *Hydroxyl radical-induced oxidation of 2-methyl-2-propanol in oxygenated aqueous solution. A product and pulse radiolysis study.* The Journal of Physical Chemistry, 1979. **83**(7): p. 780-784.
- [6] Zhang, X.-M. and Zhu, Q., *Olefinic ozonation electron transfer mechanism.* The Journal of Organic Chemistry, 1997. **62**(17): p. 5934-5938.
- [7] Hoigné, J. and Bader, H., *Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—II.* Water Research, 1983. **17**(2): p. 185-194.
- [8] Dowideit, P. and von Sonntag, C., *Reaction of ozone with ethene and its methyl- and chlorine-substituted derivatives in aqueous solution.* Environmental Science & Technology, 1998. **32**(8): p. 1112-1119.
- [9] Jochmann, M.A. and Schmidt, T.C., *Compound-specific Stable Isotope Analysis.* 2012: RSC publishing.

## **Polyethylen glycol and other water-soluble polymers in the aquatic environment – development and optimization of a quantitative trace-analytical method and first occurrence data**

F. Pauelsen, Idstein/D, D. Zahn, Idstein/D, S. Huppertsberg, Idstein/D,  
T. P. Knepper, Idstein/D

Hochschule Fresenius gem. GmbH, Limburger Str. 2, 65510 Idstein  
Corresponding author: Thomas P. Knepper, [knepper@hs-fresenius.de](mailto:knepper@hs-fresenius.de)

### **1. Introduction**

Synthetic polymers have been recognized as environmentally relevant particulate contaminants at the macro- (plastic litter), micro- (microplastics), and nanoscale (nanoplastics) and are thus under intensive investigation. The environmental occurrence, fate, and distribution of water-soluble polymers (WaSPs), on the other hand remains largely unknown. This lack in knowledge can be attributed to the complete absence of comprehensive monitoring data for WaSPs, which can be explained by the lack of suitable trace-analytical methods. As a consequence of the polydispersity of synthetic polymers, varying chain length distributions that may be present in the environment, and the often pronounced adduct formation their MS-spectra show a high abundance of low intensity signals. Consequently, there is no single  $m/z$  value that is present in all possible variations (chain lengths, charge state, ion species) of a given polymer type. Thus, single ion monitoring or multiple reaction monitoring (MRM) methods cannot be employed for WaSPs. Therefore, the development of trace-analytical methods suitable to quantify WaSPs in complex matrices must be the first step in the evaluation of their environmental relevance.

To achieve this, we further optimized a previously developed analytical strategy [1] that relied on the fragmentation of all generated ions right after ionization and analysis of the resulting indicative fragments. While the applicability of this analytical principle was proven for polyethylene glycol (PEG) with an Orbitrap and a triple quadrupole instrument other WaSPs like polyvinylpyrrolidone (PVP) proved to be problematic since fragmentation in the ion source was found to be inefficient for this polymer. Consequently, we transferred the method to a quadrupole - time of flight (QToF) mass spectrometer to compare its performance with the previously tested instruments. We investigated if this change in instrumentation allows the analysis of additional WaSPs and results in improved detection limits. We finally used the most promising of the three mass spectrometers to generate some first semi-quantitative results.

## 2. Analytical principle

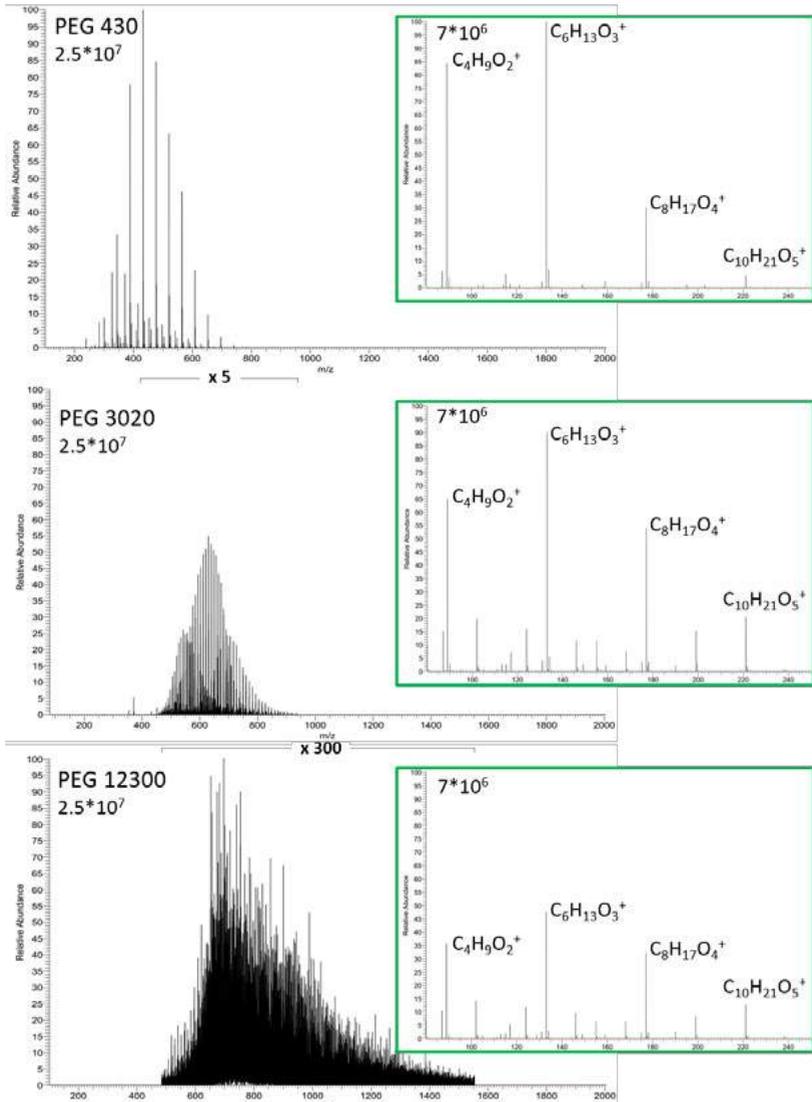


Figure 1: HRMS full scan and MS<sup>1.5</sup> spectra (green boxes) of PEG 430, PEG 3020, and PEG 12300 (from top to bottom). All PEG solutions were prepared at a concentration of 10  $\mu$ g/mL.

To facilitate the analysis of WaSPs their high complexity, that is reflected by the number of signals in the full scan mass spectrum (Figure 1) must be reduced. Therefore, we utilized the in-source fragmentation of an orbitrap MS followed by a full scan ( $MS^{1.5}$ ) or provoked fragmentation in the ion source of a triple quadrupole MS by applying exceedingly high delustering potentials in combination with an MRM method ( $MS^{2.5}$ ). This initial fragmentation step without previous precursor selection resulted in the conversion of the myriad of WaSP-ions formed during ionization into few indicative fragments (e.g. PEG:  $C_4H_9O_2^+$ ,  $C_6H_{13}O_3^+$ ,  $C_8H_{17}O_4^+$ ,  $C_{10}H_{21}O_5^+$ ). This not only resulted in significant simplification of the sample, reducing the number of signals from dozens or even hundreds down to only four but also counteracted the pronounced decrease in the maximum intensity of the individual signals that was evident with increasing molecular mass. While these fragments can in principle be utilized for quantification, their formation efficiency is still not entirely independent of the chain length which complicates accurate quantification.

### 3. Results and Discussion

While  $MS^{1.5}$  with an Orbitrap and  $MS^{2.5}$  with a triple quadrupole MS were applicable to PEG, both approaches had limitations for PVP. The limiting factor was in both cases the initial fragmentation directly after the ionization. Since only in-source fragmentation setups and no collision cell were utilized for fragmentation the applicable energy proved to be insufficient for an efficient fragmentation of PVP. This drawback was circumvented with the use of a QToF-MS. Here, the first quadrupole was operated solely as an ion-guide so that a dedicated collision cell and consequently significantly higher energies could be utilized for fragmentation. This improved the fragmentation efficiency for PVP significantly, and thus facilitated the integration of WaSPs that require higher collision energies into the method.

In addition, several possibilities to counteract the molecular mass dependency of the response were explored. While this problem could not be completely solved, some improvements were made.

#### Acknowledgement:

This work has been funded by 'Forschung und Forschungsförderung (FuF)' of Hochschule Fresenius, University of Applied Sciences

#### References:

[1] Huppertsberg et al., in preparation

## Matrix effects in the analysis of polar organic water contaminants with HILIC-ESI-MS

Kathrin Müller, Idstein/D, Daniel Zahn, Idstein/D, Tobias Frömel, Idstein/D, Thomas P. Knepper, Idstein/D

Hochschule Fresenius gem. GmbH, Limburger Str. 2, 65510 Idstein  
Corresponding author: Daniel Zahn, daniel.zahn@hs-fresenius.de

### 1. Introduction

Persistent and mobile organic chemicals (PMOC) are able to penetrate natural and artificial barriers, and thus spread quickly in the water cycle, therefore representing a threat to the drinking water quality and a potential risk for humans [1]. It is currently considered to integrate these chemicals into REACH regulation as persistent mobile and toxic (PMT) or very persistent and very mobile (vPvM) substances [2]. Consequently, accurate trace analysis of these chemicals is of ever-increasing importance.

Besides difficulties in chromatographic separation and enrichment of these chemicals from aqueous matrices, several studies observed pronounced partially highly variable matrix effects for some very polar water contaminants [3,4]. While ESI matrix effects after reversed-phase separation have been investigated for years, such effects after separation with hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) are still only scarcely studied [4].

To address this issue, we investigated matrix effects when analysing drinking water (DW) and wastewater treatment plant (WWTP) effluent. We enriched these samples with two sample preparation methods suitable for very polar analytes, namely evaporation of the aqueous matrix and a multi-layer solid phase extraction (mISPE) method [5] and utilized post-column infusion of 26 polar model analytes to investigate their matrix effects throughout the chromatographic run [6].

### 2. Methodology

Twenty-six polar model substances, which represent suspected or known PMOCs, as well as known polar water contaminants and probe chemicals, were selected for the study of matrix effects. A post column infusion setup was employed for this purpose (Figure 1). This experimental setup enabled the investigation of all selected polar substances independent from their retention time.

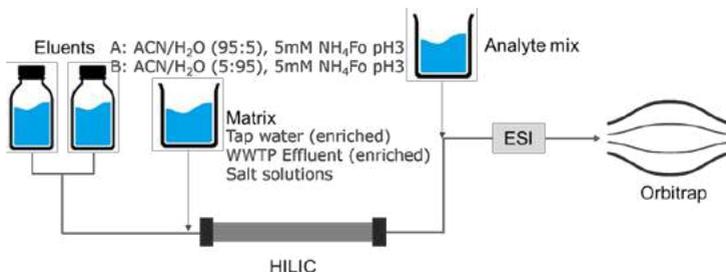


Figure 1: Experimental setup for the determination of matrix effects with direct post-column infusion

Two water matrices were selected to investigate matrix effects: drinking water (DW) and wastewater treatment plant (WWTP) effluent. Both water matrices and a blank consisting of deionized water were enriched employing the evaporation method and mSPE method [5]. Additionally, ten inorganic ions were selected based on their presence in WWTP effluent, surface water, and drinking water. These ions were tested as: sodium chloride, calcium chloride, magnesium sulfate, ammonium nitrate, lithium acetate, monopotassium phosphate, iron(II) sulfate and iron(III) phosphate.

Each enriched water matrix, the salt solutions and a solvent blank consisting of ACN:H<sub>2</sub>O (95:5, v:v) were measured in triplicate and randomized order with post-column infusion of the analyte mixture. In addition, the enriched water matrices were also analyzed with post-column infusion of ACN:H<sub>2</sub>O (1:1, v:v) to assess the presence of any of the analytes in the matrices. After data processing the matrix effects were calculated for each analyte.

### 3. Results and Discussion

In order to compare the general matrix effects of the two sample preparation methods, mSPE and evaporation, as well as the two water matrices, the mean matrix effects of all analytes, the inter quantile range and the minimum and maximum were calculated and plotted (Figure 2).

These experiments showed general ion suppression that coincides with a high total ion count and can thus be attributed to limitations in the generated excess charge and therefore the total amount of free gas-phase ions. This was more common in positive ESI polarity where generally higher ion counts were observed.

Depending on the sample preparation method, stronger matrix effects were observed for the WWTP effluent utilizing the mSPE method, while the matrix effects were stronger for DW when utilizing the evaporation method. The stronger matrix effects of WWTP effluent are attributed to a higher amount other substances present in the matrix, competing with the analytes over the excess charge, while for DW the greater amount of salt is assumed as cause. These observations are in compliance with Köke et al., that observed stronger matrix effects after evaporation for samples with a higher conductivity [5].

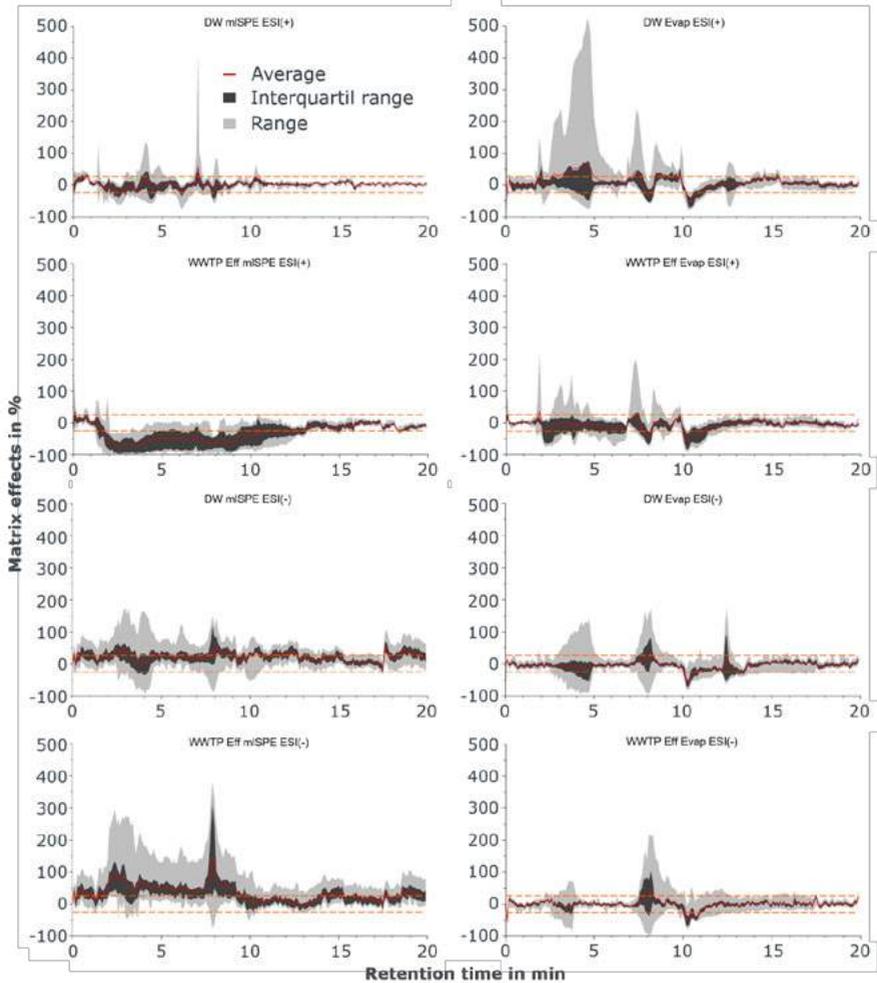


Figure 2: Statistical evaluation of matrix effects in drinking water (DW) and wastewater treatment plant (WWTP) effluent after enrichment with the mSPE method (left) and the evaporation method (right)

Additionally, defined retention time ranges with pronounced highly structure-specific matrix effects were observed. Matrix effects in these areas ranged from almost total ion suppression to 500% ion enhancement. For some of these observed matrix effects a correlation between the matrix effects and the physicochemical properties or the presence of a functional group can be assumed, as e.g. the analytes perfluoropropionic acid, perfluorobutyric acid and benzoic acid undergo ion suppression, while all other analytes are enhanced at a retention time of 8 min. These three analytes are the only

ones carrying a carboxyl group. However, also strongly diverse matrix effects were observed for structurally closely related analytes like mono- and dihalogenated methanesulfonic acids.

Structural elucidation of substances whose retention time, profile, and peak shape coincided with the observed structure-specific matrix effects revealed clusters of inorganic ions, and thus these inorganic ions may cause these matrix effects. This hypothesis was confirmed when solutions of inorganic ions were used as test matrices. The strongest matrix effects were caused by nitrate and chloride, while iron(III), phosphate and potassium did not provoke matrix effects.

Knowledge about the cause and extent of these matrix effects can prove valuable during method development, especially in the analysis of critical substances that are strongly influenced by the presence of specific inorganic ions and for which no isotope-labelled internal standards are available.

### Acknowledgment

The Authors thank the BMBF for funding the PROTECT project (FKZ: 02WRS1495B).

### References

- [1] T. Reemtsma *et al.*, Environ. Sci. Technol., 2016, 50, 10308–10315
- [2] M. Neumann *et al.*, UBA Texte, 2017
- [3] L. Boulard *et al.*, J. Chromatogr. A, 2018, 1535, 27–43
- [4] D. Zahn *et al.*, Environ. Sci. Technol., 2019, 53, 8994–9002
- [5] N. Köke *et al.*, Anal. Bioanal. Chem., 2018, 410, 2403–2411
- [6] K. Müller *et al.*, in preparation

## **Are ionic liquids persistent and mobile environmental contaminants or precursors thereof? Biotic and abiotic transformation and monitoring studies with selected ionic liquids**

A. Lindemann, Idstein/D, I. J. Neuwald, Idstein/D, T. Frömel, Idstein/D, D. Zahn, Idstein/D, T. P. Knepper, Idstein/D

Hochschule Fresenius gem. GmbH, Limburger Str. 2, 65510 Idstein  
Corresponding author: Daniel Zahn, [daniel.zahn@hs-fresenius.de](mailto:daniel.zahn@hs-fresenius.de)

### **1. Introduction**

Concerns about the environmental relevance of ionic liquids have been raised as early as 2010 [1, 2]. Most ionic liquid constituents are inherently polar, and thus potentially mobile in water cycle and various studies have shown that at least some ionic liquids may be persistent and/or toxic [3-6]. Consequently, many ionic liquids fulfil the criteria to be either persistent, mobile and toxic (PMT) or very persistent and very mobile (vPvM) [7] substances or precursors thereof. Environmental occurrence data for ionic liquids, however, is still scarce [8].

To generate the necessary data concerning the environmental fate and occurrence of these substances, various ionic liquids were prioritized either based on a comprehensive literature review or as consequence of a suspect screening. With these prioritized ionic liquids, we performed biotransformation and hydrolysis experiments to investigate their fate in the aquatic environment. Transformation products were elucidated with high-resolution mass spectrometry (HRMS) coupled to either reversed-phase liquid chromatography (RPLC) or hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC). To generate data about the environmental presence of these chemicals and their transformation products, we analysed surface water and other selected samples for the presence of the prioritized ionic liquids and their identified transformation products.

### **2. Results and Discussion**

Biotransformation experiments with ionic liquids were performed with regularly aerated wastewater treatment plant (WWTP) effluent containing 5% sludge over a period of 30 days and supplemented with hydrolysis experiments based on OECD 111. When primary biotic or abiotic transformation was observed, identification of transformation products was performed based on HRMS data, MS/HRMS data, and, if necessary, H/D-exchange experiments. If the proposed transformation products were commercially available, final identification with reference material was performed. Generally, ionic liquid cations were found to be more susceptible to biotic transformation than anions of which especially the fluorinated ones (e.g. tris(pentafluoroethyl)trifluorophosphate and bis(trifluoromethanesulfonyl)imide) were mostly persistent in these lab scale experiments. Additional experiments with various cations containing the same core structure (e.g. imidazolium) but varying chain lengths and modifications were performed

to investigate the potential of a wide variety of ionic liquids to be transformed into few or even one single transformation product, which can potentially result in transformation product concentrations vastly exceeding the emissions of every individual precursor.

To confirm the environmental presence of prioritized ionic liquids and identified transformation products, we developed an ultra-high performance liquid chromatography multiple reaction monitoring (UHPLC-MRM) method for these chemicals and utilized it to analyse surface water, WWTP effluent, and other relevant samples. This monitoring demonstrated that the two inorganic ionic liquid anions  $\text{BF}_4^-$  and  $\text{PF}_6^-$ , which were analysed with high-resolution mass spectrometry to achieve a high selectivity despite the lack of indicative fragments, were the most widespread in the aquatic environment, and present in many of the analysed surface waters. The presence of these commonly used ionic liquid anions on its own may be strong indicator for the release of ionic liquids into the aquatic environment and warrants further investigation.

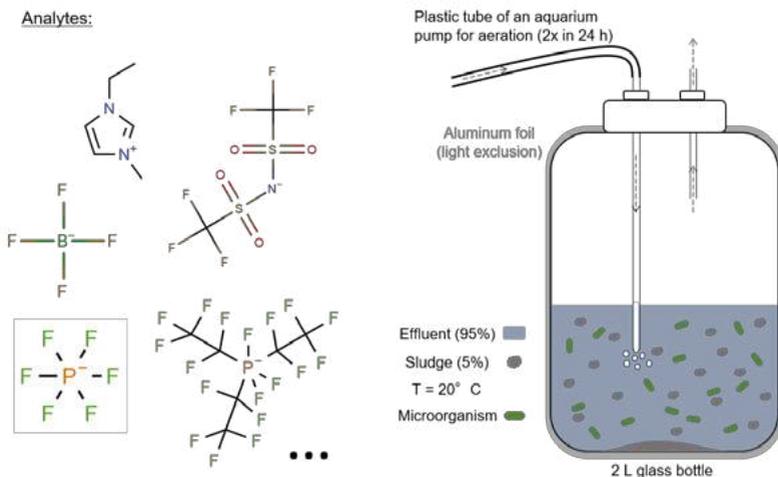


Figure 1: Exemplary analytes (left) and experimental setup of biotransformation experiments (right).

## Acknowledgement:

The Authors thank the BMBF for funding the PROTECT project (FKZ: 02WRS1495B)

## References:

- [1] Pham, T.P.; Cho, C.W.; Yun, Y.S.; Environmental fate and toxicity of ionic liquids: a review, *Water Res* 2010, 44, (2), 352-372.
- [2] Richardson, S.D.; Ternes, T.A.; Water analysis: emerging contaminants and current issues, *Analytical Chemistry* 2011, 83, (12), 4614-4648.

- [3] Cvjetko Bubalo, M.; Hanousek, K.; Radosevic, K., et al.; Imidazolium based ionic liquids: effects of different anions and alkyl chains lengths on the barley seedlings, *Ecotoxicological and Environmental Safety* 2014, *101*, 116-123.
- [4] Ventura, S.P.; Marques, C.S.; Rosatella, A.A., et al.; Toxicity assessment of various ionic liquid families towards *Vibrio fischeri* marine bacteria, *Ecotoxicological and Environmental Safety* 2012, *76*, (2), 162-168.
- [5] Peric, B.; Sierra, J.; Marti, E., et al.; A comparative study of the terrestrial ecotoxicity of selected protic and aprotic ionic liquids, *Chemosphere* 2014, *108*, 418-425.
- [6] Li, X.Y.; Miao, X.Q.; Zhang, L.F.; Wang, J.J.; Immunotoxicity of 1-methyl-3-octylimidazolium bromide on brocarded carp (*Cyprinus carpio* L.), *Ecotoxicological and Environmental Safety* 2012, *75*, (1), 180-186.
- [7] Neumann, M.; Schliebner, I. Protecting the sources of our drinking water - The criteria for identifying Persistent, Mobile, and Toxic (PMT) substances and very Persistent, and very Mobile (vPvM) substances under EU REACH Regulation (EC) No 1907/2006. <https://chemicalwatch.com/79659/germany-presents-mobility-criteria-to-commission-and-member-states#overlay-strip> (24.09.2019).
- [8] Neuwald et al., submitted

## **Are (fluorinated) ionic liquids relevant environmental contaminants? A high-resolution mass spectrometric screening approach for per- and polyfluoroalkyl substances in various matrices led to the detection of a novel fluorinated ionic liquid**

I. J. Neuwald, Idstein/D, D. Zahn, Idstein/D, T. P. Knepper, Idstein/D

Hochschule Fresenius gem. GmbH, Limburger Str. 2, 65510 Idstein

Corresponding author: T. P. Knepper, [knepper@hs-fresenius.de](mailto:knepper@hs-fresenius.de)

### **1. Introduction**

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) are applied in a large variety of industries since 1950 and gained worldwide attention due to their unique properties, such as persistency, hydrophobicity and concomitant lipophobicity [1]. As an inevitable consequence, PFASs are released into the environment from various places, often through unconscious or inadvertent release from industrial sewage or rain wash-off of households. Due to the toxic and bioaccumulative properties of some longer chain PFASs ( $>C_8$ ), a voluntary phase-out started that led to an increased usage of shorter chain homologs ( $<C_8$ ) and other replacement chemicals [2]. These substances are more mobile than their longer chain representatives and thus more likely to reach raw and drinking water. Additionally, analytical information and knowledge about environmental occurrence of these alternatives to legacy PFASs is still scarce.

Thus, various high-resolution non-target and suspect-screening approaches for PFASs are deployed. A rather scarcely used method is fragmentation flagging (FF) that can be used as a non-target screening approach for substances that form a consistent indicative set of fragments and utilizes these fragments to denote the retention time of the precursors. It has successfully been applied to water samples to screen for C5-C17 PFASs [3] and thus was proven to be a very useful tool for PFAS screening.

Fluorinated ionic liquids (ILs) are a so far only scarcely studied group of fluorinated chemicals. The field of ILs and their applications are very versatile and inhomogeneous. It is not uncommon that one specific anion and cation is used for only one application, which exacerbates the assessment of ILs in their entirety. Commonly, ILs are used in electrochemistry, for example in batteries [4] or supercapacitors [5], as a 'green' lubricant replacement for petroleum-based lubricants [6] or as extraction agent for industrial wastes [7, 8]. To the best of our knowledge, there is no environmental data about the majority of ILs so far.

This work presents a high-resolution screening approach combined with FF to identify PFASs and other fluorinated substances in a large variety of samples, such as surface waters, paints, sealants, awnings, public transport seat covers and foils. If available, reference materials were used to confirm the structure of novel PFASs and other fluorinated substances and facilitate their quantification.

## 2. Methodology

Nine liquid building materials, 16 fabrics and foils, and 21 SW's (some sampled repeatedly) were used for the experiments in this work. Sample selection was performed based on the results of finalized and ongoing PFAS monitoring campaigns.

The surface water samples for LC-HRMS measurements were enriched on a mixed mode weak anion exchange solid phase extraction cartridge (Oasis WAX, Waters, Milford, USA). The fabrics and foils were cut into small pieces and extracted with methanol. The liquid building materials were painted on plastic weighing pans twice. After drying, they were subsequently cut into small pieces and extracted with methanol. For quantification with LC-Qq MS, the selected surface water samples were filtered and directly injected.

LC-HRMS non-target screening using FF was performed with an Orbitrap Velos Pro with a 'Heated Electrospray Ionization' (H-ESI II, both Thermo Scientific, Bremen, Germany) ion source. Preliminary unknown identification was based on the exact mass, the isotopic pattern, and MS/HRMS data. If possible, the tentative candidates were compared to a reference standard. In addition, quantification of 21 surface waters was performed in duplicates with a QTRAP 5500 LC-MS/MS system (AB Sciex, Redwood City, USA) in MRM mode.

## 3. Results and discussion

LC-HRMS FF revealed the presence of various known and well-studied PFASs. Additionally, few infrequently analyzed PFASs with little information about environmental occurrence, such as PFPrA and TFMSA were detected in fabrics, foils (only PFPrA), surface waters and public transport seat covers (only TFMSA). The results are summarized in Table 1.

Table 1: Identified known PFASs in the analyzed samples

	Surface water	Building material	Fabrics, foils
<b>PFCA's</b>	C4-C8	C3-C16	C3, C4, C8
<b>PFSA's</b>	C1, C4, C6, C8	-	C1-C4

Furthermore, a high intensity unknown mass at  $m/z$  445 was identified in surface water samples via a pronounced  $C_2F_5^-$  signal in FF. Besides the  $^{13}C$  peak (height ca. 7-8 %), no isotopologues were observed for this substance. Based on the exact mass and the isotopic pattern this ion was assigned an elemental composition of  $C_6F_{18}P^-$ .  $MS^2$  and  $MS^3$  experiments generated fragments that imply the presence of at least two  $C_2F_5$  moieties (see Figure 1). Consequently, a structure containing a central phosphorous atom connected to three  $C_2F_5$  moieties and three fluorine atoms was proposed. This structure proposal was confirmed with a reference standard and thus  $m/z$  445 was confirmed as tris(pentafluoroethyl)trifluorophosphate (FAP).

The FAP anion is an IL anion that is applied, among others, in electrochemistry (e.g. supercapacitors) and as lubrication or extraction agent [5-7].

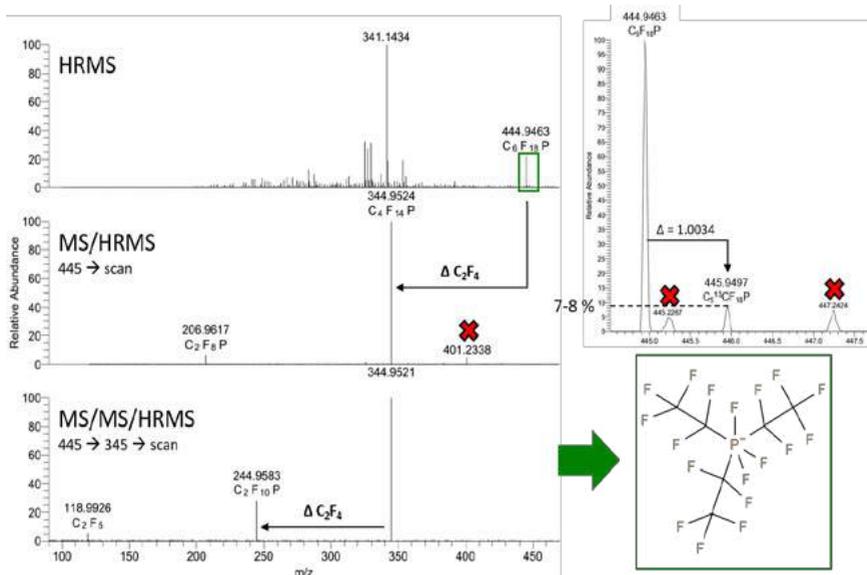


Figure 1: Identification of  $m/z$  445, the FAP anion, based on HRMS, MS/HRMS and MS/MS/HRMS data, red cross: masses do not belong to substance

Quantification in 21 surface water samples via LC-QqQ MS resulted in significant concentrations for two connected surface waters with concentrations of FAP ranging from 45 to 3400 ng/L (SW 1) and 30 to 280 ng/L (SW 2) (see Figure 2). Since SW 1 enters into SW 2, dilution in flow-direction was expected and could be confirmed by the data at hand. Additionally, SW 3, a much larger stream in which SW 2 enters, showed concentrations of FAP slightly above LOQ, at 0.4 ng/L [9]. The SW's with positive findings correlate with the ones in which FAP has initially been identified via FF.

To further assess the potential of ILs being possible environmental contaminants, a thorough literature research was performed. It revealed that multiple laboratory scale tests have been conducted in order to examine the toxicity of various IL an- and cations and concerns have been raised, especially regarding the fluorinated ILs [10]. Environmental monitoring data that proves their presence in the environment is, to the best of our knowledge, so far not available. Particularly fluorinated ionic liquids and ionic liquid anions may be prime candidates for persistent, mobile and toxic (PMT) or very persistent and very mobile (vPvM) substances [11] or act as precursors thereof. Thus, they might be able to overcome natural and artificial barriers in the water cycle, finally reach drinking water and pose a potential risk to human health.

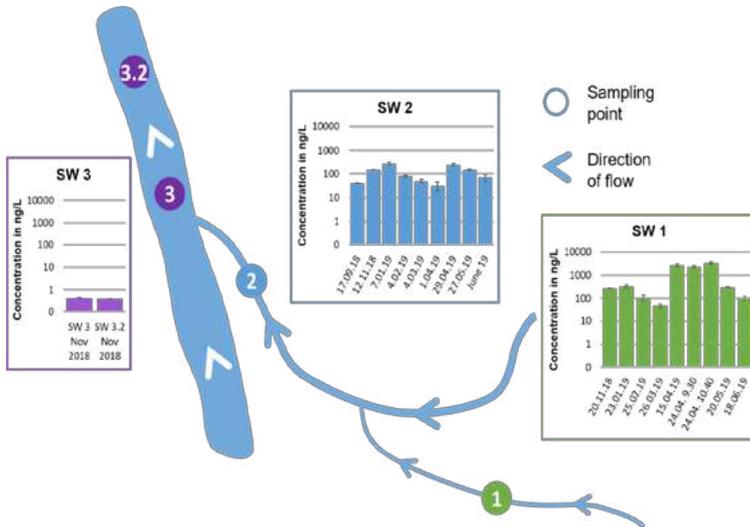


Figure 2: Mean concentrations of FAP in the analyzed SW samples, measured in duplicates

## Acknowledgements

The authors thank the thank the Federal Ministry of Education and Research (BMBF) for funding the PROTECT project (FKZ: 02WRS1495B) as well as Merck KGaA for the supply of solvents and the Hessian Agency for Nature Conservation, Environment and Geology (HLNUG) for the provision of water samples.

## References

- [1] Kissa, E., *Fluorinated Surfactants and Repellents*; 2. ed.; Marcel Dekker Inc., Basel, 2001.
- [2] Ritscher, A., et al.; *Environmental Health Perspectives* **2018**, 126, 84502.
- [3] Liu, Y., et al.; *Analytical Chemistry* **2015**, 87, 4260-8.
- [4] Stepniak, I., et al.; *Electrochimica Acta* **2014**, 121, 27-33.
- [5] Pandey, G.P., et al.; *Electrochimica Acta* **2013**, 105, 333-341.
- [6] Blanco, D., et al.; *Tribology International* **2011**, 44, 645-650.
- [7] Yao, C., et al.; *Analytical Chemistry* **2009**, 81, 5054-5063.
- [8] Plechkova, N.V., et al.; *Chemical Society Reviews* **2008**, 37, 123-50.
- [9] Neuwald, I.J., et al.; *submitted*
- [10] Pham, T.P., et al.; *Water Research* **2010**, 44, 352-72.
- [11] Neumann, M., et al. Protecting the sources of our drinking water - The criteria for identifying Persistent, Mobile, and Toxic (PMT) substances and very Persistent, and very Mobile (vPvM) substances under EU REACH Regulation (EC) No 1907/2006. <https://chemicalwatch.com/79659/germany-presents-mobility-criteria-to-commission-and-member-states#overlay-strip> (24.09.2019).

## **Ultrasensitive Bestimmung von Hormonen gemäß Anforderungen der EU-Wasserrahmenrichtlinie**

F. Itzel, Duisburg/D, J. Kerstein, Duisburg/D, O. Gassner, Duisburg/D, T. Teutenberg, Duisburg/D, J. Türk, Duisburg/D

Dr. Fabian Itzel, Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V. – IUTA, Bliersheimer Straße 58-60, Duisburg/D

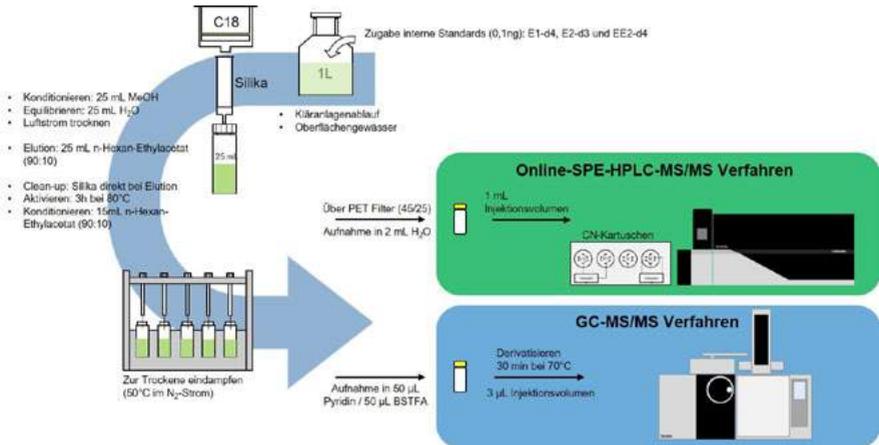
### **Einleitung**

In der von der Europäischen Union erstellten Beobachtungsliste sind die östrogen aktiven Substanzen Estron (E1), 17 $\beta$ -Estradiol (E2) und 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol (EE2) aufgeführt [1]. Für das Gewässermonitoring sind Nachweisgrenzen (NWG) von 400 pg/L für E1 und E2 sowie 35 pg/L für EE2 zu erreichen. Der Grund für diese niedrigen NWG liegt in den biologischen Effekten dieser Substanzen im genannten Konzentrationsbereich. Soll die Probe nach Vorgaben der EU-Wasserrahmenrichtlinie untersucht werden, so ist die Gesamtwasserprobe ohne vorherige Filtration zu analysieren, was zu erheblichen Problemen durch Matrixbestandteile führt. Eine aktuelle Studie des Joint Research Centers (JRC) der EU zeigte aktuell den Fortschritt einiger Labore insbesondere bei der Detektion von EE2. Bislang konnten nur sehr wenige Labore eine NWG von 35 pg/L in Oberflächenwasser erreichen [2]. Die Herausforderungen für eine robuste Methode, die eine Quantifizierung der Östrogene im Ultraspurenbereich erlaubt, liegen in der zielgerichteten Abtrennung störender Matrixbestandteile [3].

### **Ergebnisse**

Zur zielgerichteten Abtrennung von störenden Matrixkomponenten, welche zu deutlichen Signalintensitätsverlusten führen, konnte eine selektive Probenvorbereitung entwickelt werden. Basierend auf einer Anreicherung der nativen Probe von 1 L über eine C-18 Speedisk® sowie anschließendem Clean-up durch Aufreinigung mittels Silika-Kartuschen, konnte die Matrix abgetrennt und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis gesteigert werden. Für das LC-MS/MS-Verfahren wurde hierbei zusätzlich zur HPLC-Trennung eine Methode basierend auf der online-SPE zur erweiterten Matrixabtrennung entwickelt. Die besten Ergebnisse in Bezug auf die Selektivität wurden mit einer Raptor Biphenyl-Säule (50 x 2,1 mm, 2,7  $\mu$ m) erzielt. Als Eluenten wurden Acetonitril / Wasser verwendet. Hierbei zeigte sich eine deutliche Sensitivitätssteigerung bei der massenspektrometrischen Detektion durch Zugabe von 0,01 mM NH<sub>4</sub>F in der mobilen Phase. Um sowohl die Empfindlichkeit zu steigern als auch weitere Matrixbestandteile der angereicherten Probe zu entfernen wurde 1 mL injiziert und über eine online-SPE erneut aufgereinigt. Hierbei zeigten sich zur Anreicherung und Matrixabtrennung CN-Kartuschen als am

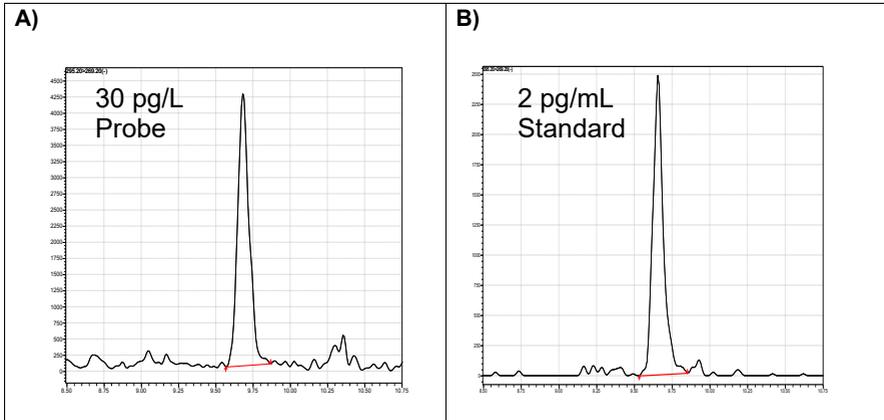
besten geeignet für Oberflächenwasser und Kläranlagenablaufproben. Das in Abbildung 1 skizzierte Gesamtverfahren weist inklusive aller Anreicherungs- und Aufreinigungsschritte unter Verwendung der internen Standards eine Wiederfindung im Bereich von 95-105% für die untersuchen Analyten (E1, E2, EE2) auf.



**Abbildung 1** Zusammenfassung der Probenvorbereitung sowie online-SPE-HPLC-MS/MS bzw. GC-MS/MS Methode zur ultrasensitiven Bestimmung von Hormonen in Oberflächenwasser und Abwasser.

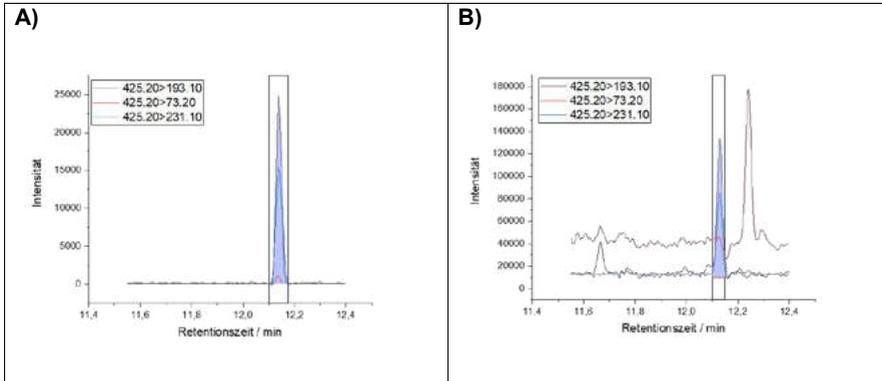
Der resultierende Arbeitsbereich für E1, E2 und EE2 liegt zwischen 2,5 ng/mL und 0,02 ng/mL. Über das Signal-zu-Rauschverhältnis (S/N) eines der kleinsten detektierbaren Standards (0,045 ng/mL) lassen sich rechnerisch unter der Berücksichtigung aller Anreicherungs-faktoren (Faktor 500 für die offline-SPE x Faktor 20 für die online-SPE = 10.000) Nachweisgrenzen von 0,7 pg/L für das EE2, 0,4 pg/L für das E2 sowie 0,3 pg/L für das E1 in Reinstwasser bestimmen. Aus dotierten Wasserproben (200 pg/L) wurden ebenfalls über das Signal-zu-Rauschverhältnis die entsprechenden NWG berechnet. Diese lagen bei 30 pg/L für das EE2, 30 pg/L für das E2 sowie 10 pg/L für das E1 in einer Oberflächenwasserprobe. Analog lagen die ermittelten NWG bei 40 pg/L für das EE2, 35 pg/L für das E2 sowie 30 pg/L für das E1 in einer Kläranlagenablaufprobe.

Zur Bestätigung wurden zusätzlich Realproben (Oberflächenwasser und Kläranlagenablauf) untersucht. Hierbei lagen die gefundene Konzentration in einer Oberflächenwasserprobe für das EE2 unterhalb der NWG (< 30 pg/L). Zur Verifizierung der ermittelten NWG wurde erneut eine zweite Teilprobe vor der gesamten Probenvorbereitung mit 30 pg/L dotiert. Mit der finalen Methode konnten 30 pg/L EE2 bei einem Signal-zu-Rauschverhältnis von 3,2 für den spezifischen MRM-Massenübergang  $m/z$  295.05 → 269.10 im negativen ESI Messmodus in einer Oberflächenwasserprobe nachgewiesen und die NWG bestätigt werden (Abb.2, A).



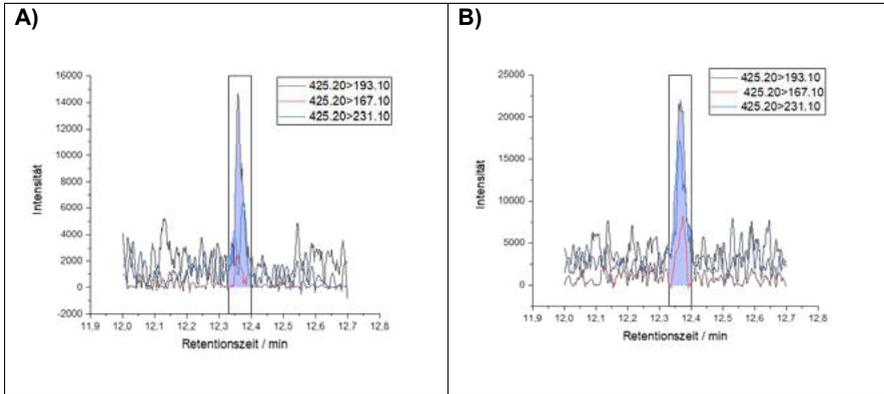
**Abbildung 2** MRM-Chromatogramm von EE2 in einer dotierten Oberflächenwasserprobe ( $c = 30 \text{ pg/L}$ , Abb. A) sowie EE2 als Standard ( $c = 2 \text{ pg/mL}$ , Abb. B). Detektion mittels LC-MS/MS (Shimadzu LCMS 8060, ESI negativ).

Für die Kläranlagenablaufprobe lag die gefundene Konzentration bei  $74 \text{ pg/L}$  EE2 bei einem Signal-zu-Rauschverhältnis von 2,8. Somit konnten die errechneten NWG für den Kläranlagenablauf nicht bestätigt werden und würden nach einer Hochrechnung bei etwa  $80 \text{ pg/L}$  liegen. Neben der LC-MS/MS Methode wurde zusätzlich eine GC-MS/MS Methode entwickelt. Dazu wurde die auf der online-SPE-LC-MS/MS Methode basierende Probenvorbereitung inklusive Clean-up angewandt. Auch hier zeigte sich eine deutliche Reduktion von Matrixstörungen (Abb. 3).



**Abbildung 3** Vergleich des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses aus einer GC-MS/MS Messung (Shimadzu TQ8040) mit Clean-up (A) sowie ohne Clean-Up (B) für EE2 aus einer dotierten Oberflächenwasserprobe ( $c = 0,1 \text{ ng/L}$ ).

Im Gegensatz zur LC-MS/MS Methode wurden eine deutlich höhere Empfindlichkeit sowie ein geringeres Rauschen für alle Analyten im Vergleich ohne Clean-up erzielt. Die entsprechenden Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (BG) wurden zunächst analog zur online-SPE-LC-MS/MS über das S/N-Verhältnis aus einer mit den Zielanalyten dotierten Oberflächenwasserprobe ( $100 \text{ pg/L}$ ) errechnet. Für EE2 ergab dies eine BG von  $30 \text{ pg/L}$  bzw. eine NWG von  $10 \text{ pg/L}$ . Um die rechnerisch ermittelten BG bzw. NWG zu verifizieren, wurden erneut Oberflächenwasserproben mit einer Konzentration von  $30 \text{ pg/L}$  bzw.  $10 \text{ pg/L}$  dotiert und gemessen. Um sicher zu stellen, dass die Probe nicht ohne Dotierung bereits eine höhere Konzentration der Zielanalyten enthält, wurden die Proben zunächst nativ gemessen. Die Ergebnisse konnten die rechnerisch ermittelten NWG und BG für das EE2 bestätigen (Abb. 4).



**Abbildung 4** Detektion von 30 pg/L (A) und 10 pg/L (B) für das EE2 dotiert in 1 L Oberflächenwasserprobe. Gemessen mittels GC-MS/MS (Shimadzu TQ8040).

Die Wiederfindung über das gesamte Verfahren unter Berücksichtigung der entsprechenden internen Standards lag bei 90-110%. Somit konnte eine Analysenmethode nach Anreicherung, Matrixabtrennung und Derivatisierung zur Bestimmung von E1, E2 und EE2 mittels GC-MS/MS gemäß den Anforderungen der EU-Wasserrahmenrichtlinie entwickelt und anhand von Realproben erfolgreich angewandt werden. Da die Matrix in jedem Oberflächengewässer stark variieren kann, werden in folgenden Arbeiten weitere Gewässerproben untersucht. Da bei der hier vorgestellten GC-MS/MS Methode ein Injektionsvolumen von 3  $\mu$ L appliziert wurde, besteht die Möglichkeit durch eine großvolumige Direktinjektion die Empfindlichkeit weiter zu steigern.

## Literatur

- [1] EU 2018/840, Official Journal of the European Union, 2018, L141/9-12
- [2] R. Loos et al., Publications Office of the European Union, 2018, ISBN 978-92-79-81839-4.
- [3] F. Itzel et al. Trends in Anal. Chem. 2018, 188, 699-708.

## **Analysis of Ultrashort-Chain and Alternative PFAS: LC-MS/MS Method Development and Application to Water Samples**

Shun-Hsin Liang, Justin Steimling, Mike Chang, Paul Connolly, Bellefonte/USA

Shun-Hsin Liang, Restek Corporation, 110 Benner Circle, Bellefonte, PA 16823/USA

### **Abstract & Introduction**

LC-MS/MS methods for the analysis of legacy short-chain (C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>) and long-chain (>C<sub>5</sub>) per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) have been well-developed based on reversed-phase (RP) chromatography. With proper modification, these typical RP methods can be applied to the analysis of emerging PFAS alternatives such as GenX and ADONA, which are perfluoroalkyl ether carboxylic acids used as PFOA substitutes. F-53B is a China-produced PFOS alternative containing two polyfluoroalkyl ether sulfonate components, 9Cl-PF3ONS and 11Cl-PF3OUdS, which are included as analytes in the updated EPA 537.1 method. Current LC methods, however, may not be suitable for the analysis of newly trending ultrashort-chain (C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>) PFAS mainly due to their insufficient retention on typical RP columns. While the use of short-chain PFAS (PFBA and PFBS) is intentional, more and more studies have shown the ubiquitous occurrence of C<sub>2</sub> and C<sub>3</sub> PFAS in aqueous environmental samples. These include trifluoroacetic acid (TFA), perfluoropropanoic acid (PFPrA), perfluoroethane sulfonate (PFEtS), and perfluoropropane sulfonate (PFPrS). It was shown that PFPrA is the predominant PFAS (up to 45% of total detectable PFAS) in the rain and snow samples collected from USA, France, and Japan. To date, there are not many studies showing the contamination sources and levels for these ultrashort-chain PFAS. A recent study showed the detection of PFEtS and PFPrS in aqueous film-forming foams (AFFFs) and ground waters from 11 military sites in the US, indicating AFFF firefighting foam may be one of the sources of the ultrashort-chain PFAS. This presentation will discuss the LC-MS/MS method development for simultaneous quantification of C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>8</sub>, and alternative PFAS in a variety water samples.

## Methods

**Table 1:** Analytical Conditions for Shimadzu Nexera X2 with Sciex 4500 MS/MS

Analytical Column	Raptor C18 100 mm x 3.0 mm, 2.7 $\mu$ m (Restek Catalog # 9304A1E)	
Delay Column	PFAS Delay Colum (Restek Catalog # 27854)	
Mobile Phase A	5mM ammonium acetate in water	
Mobile Phase B	methanol	
Gradient	<b>Time (min)</b>	<b>%B</b>
	0.00	20
	7.00	95
	9.00	95
	9.01	20
	11.0	20
Flow Rate	0.25 mL/min	
Run Time	11 min	
Column Temp.	40°C	
Ion Mode	Negative ESI	
IonSpray Voltage	-2000	
Source Temp.	450°C	

**Table 2:** Analyte MS Transitions

Analyte	Precursor Ion	Product Ion	IS for Quantification
PFPrA	162.9	119.0	$^{13}\text{C}_2$ -PFHxA
PFBA	212.8	169.0	$^{13}\text{C}_2$ -PFOA
PFPrS	248.8	79.6	$^{13}\text{C}_2$ -PFHxA
PFBS	298.8	79.9	$^{13}\text{C}_2$ -PFHxA
HFPO-DA	285.0	168.9	$^{13}\text{C}_2$ -PFOA
ADONA	376.9	250.7	$^{13}\text{C}_2$ -PFOA
PFOA	413.1	368.9	$^{13}\text{C}_2$ -PFOA
PFOS	498.8	80.0	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS
9Cl-PF3ONS	530.8	350.7	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS
11Cl-PF3OUdS	630.7	451.1	$^{13}\text{C}_4$ -PFOS
$^{13}\text{C}_2$ -PFHxA	314.9	270.0	-
$^{13}\text{C}_2$ -PFOA	415.0	370.0	-
$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	503.0	80.0	-

## Sample Preparation

In a polypropylene vial, mixed 250  $\mu$ L of testing water sample with 250  $\mu$ L of 40/60 reagent water/methanol and 5  $\mu$ L of internal standard solution (5 ng/mL of  $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA,  $^{13}\text{C}_2$ -PFOA,  $^{13}\text{C}_4$ -PFOS in methanol). The vial was capped with polyethylene cap for injection analysis.

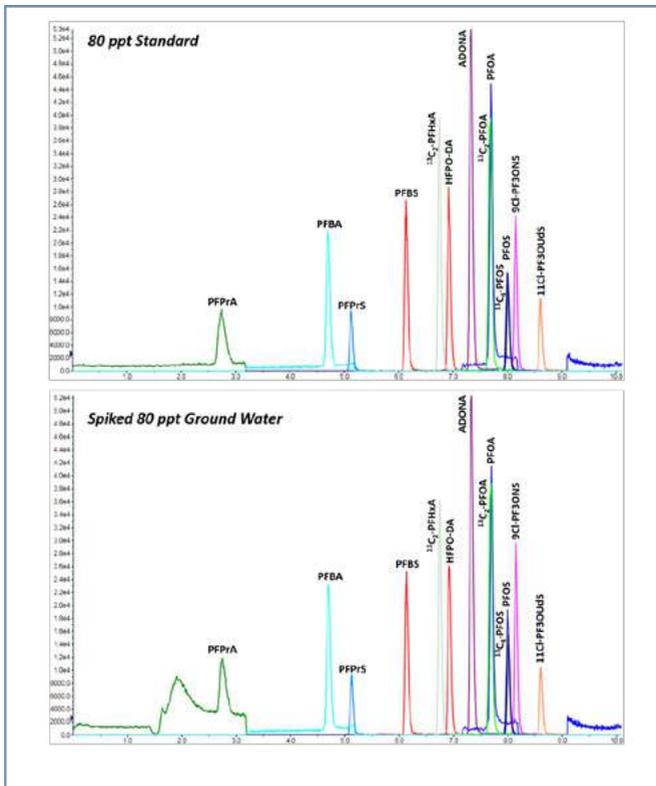
### Calibration Standards

Reagent water (Optima LC-MS water) was fortified with 10 analytes at a range of 5 – 400 ng/L. The calibration standard solutions were then prepared as described for sample preparation procedure.

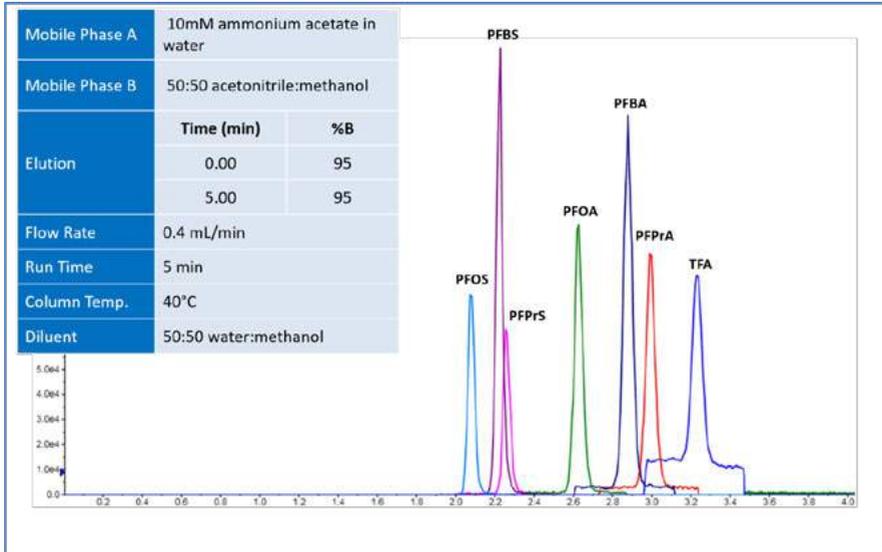
### Analysis of Fortified Water Samples

A tap water collected from Restek facility and 3 water samples (Chicago river water, groundwater, and POTW effluent water) supplied by United States Environmental Protection Agency (US EPA) were spiked at 10 (20 ppt for PFPrA) and 80 ppt. The unspiked and spiked waters were subjected to sample preparation procedure for chromatographic analysis and quantified with the calibration standards.

### Chromatograms



**Figure 1:** Chromatograms of Standard and Fortified Water Sample



**Figure 2:** Analysis of C2 - C8 PFAS with a Hybrid HILIC/Ion Exchange Column

## Results and Discussion

**Chromatographic Performance:** The analyte peak shapes, retention, and intensity were similar between reagent water and field water samples. There was a higher baseline and front noise for PFPrA signal in field water sample (Figure 1), which did not have negative impact on peak integration and quantification of PFPrA. No matrix interference was observed for all water samples upon 2-fold dilution.

**Linearity:** The calibration range is 10-400 ppt for PFPrA and 5-400 ppt for all other analytes. All compounds showed acceptable linearity with  $r$  value  $\geq 0.999$  and deviations  $<20\%$ . 11CI-PF3OUdS is the only analyte to be quantified with quadratic regression ( $1/x$  weighted) of standard curve. All other analytes are quantified with  $1/x$  weighted linear regression.

**Accuracy & Precision:** The unspiked water samples showed various levels of C3, C4, and C8 PFAS with no detectable ADONA, HFPO-DA, 9CI-PF3ONS, and 11CI-PF3OUdS (Table 3). For accuracy determination, the analyte's measured amount in the spiked sample was adjusted to the unspiked concentration for recovery calculation. Water samples were spiked at low and high concentration in duplication for each batch of analysis. Total of 3 batches of analyses were performed on different days. Table 4 shows the accuracy and precision results calculated from the collection of all 3 batches of data.

The method accuracy was demonstrated with recovery values of within 20% of the nominal concentration for both fortified levels and at LLOQ concentration in water samples. The %RSD was <15% indicating acceptable method precision.

Analysis of C2 (Trifluoroacetic Acid) with a Hybrid HILIC/Ion Exchange Column: The minimal retention of TFA on a typical reversed-phase column makes it difficult to analyze TFA together with other PFAS. A newly developed hybrid HILIC/ion exchange column was tested and showed versatile performance of simultaneous analysis of TFA, C3, C4, and C8 PFAS (Figure 2). This is accomplished with a fast and easy isocratic elution and therefore provides convenient set-up and high throughput analysis for the lab interested in adding ultrashort-chain compounds to PFAS assay.

**Table 3:** Analytes in Unspiked Water Samples

Samples	Detected Concentration (ng/L)									
	PFPrA	PFBA	PFPrS	PFBS	HFPO-DA	ADONA	PFOA	PFOS	9Cl-PF3ONS	11Cl-PF3OUdS
Tap Water	ND	1.1	ND*	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
River Water	ND	1.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ground Water	9.0	3.4	ND	2.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
POTW Water	11.7	10.6	ND	3.1	ND	ND	15.0	6.0	ND	ND

\*non-detected

Table 4: Accuracy and Precision

Matrices	Average Recovery, % (RSD, %)									
	Tap Water		River Water		Ground Water		POTW Water		Reagent Water	
	10*	80	10*	80	10*	80	10*	80	5* (LLOQ)	
PFPrA	96.9 (11.0)	105 (3.91)	105 (6.57)	95.4 (6.84)	92.0 (9.54)	99.4 (7.40)	94.2 (5.29)	87.2 (8.18)	103 (10.9)	
PFBA	99.3 (9.19)	108 (1.81)	108 (5.20)	110 (1.70)	104 (8.21)	108 (6.68)	108 (8.12)	97.1 (8.17)	97.9 (12.0)	
PFPrS	100 (4.24)	107 (3.14)	103 (6.71)	105 (2.64)	105 (8.48)	109 (6.68)	109 (5.65)	103 (9.28)	99.1 (8.59)	
PFBS	101 (5.20)	106 (1.84)	99.7 (7.54)	105 (2.10)	100 (6.57)	106 (2.82)	103 (1.93)	97.8 (5.85)	96.0 (8.75)	
HFPO-DA	96.2 (7.86)	102 (4.64)	96.2 (4.99)	105 (3.94)	95.0 (3.59)	101 (8.92)	92.9 (4.87)	90.3 (7.77)	99.3 (8.54)	
ADONA	101 (6.23)	106 (3.82)	97.6 (6.36)	106 (2.32)	98.4 (2.68)	105 (4.08)	98.2 (7.09)	98.2 (7.09)	102 (10.3)	
PFOA	105 (8.65)	105 (3.70)	108 (12.1)	107 (3.63)	108 (9.66)	105 (5.26)	99.9 (10.5)	94.5 (7.24)	100 (9.05)	
PFOS	99.3 (2.10)	108 (4.24)	112 (1.87)	107 (4.93)	101 (2.96)	102 (2.31)	104 (4.46)	98.3 (5.82)	94.3 (8.85)	
9Cl-PF3ONS	95.6 (4.60)	106 (5.93)	105 (5.37)	110 (8.20)	97.2 (4.52)	107 (7.41)	101 (6.52)	99.8 (4.89)	98.8 (5.47)	
11Cl-PF3OUdS	114 (8.78)	112 (8.91)	102 (15.0)	91.5 (2.34)	96.7 (5.99)	105 (15.2)	115 (2.67)	103 (8.45)	105 (8.04)	

\*20 ng/L for PFPeA

#10 ng/L for PFPrA

## Conclusions

A simple dilute-and-shoot method was developed and validated for the simultaneous analysis of C3, C4, C8, and alternative PFAS in various water samples. Using a Raptor C18 (2.7µm) 100x3.0mm column, the analytical method was demonstrated to be fast, rugged, and sensitive with acceptable accuracy and precision. This method is suitable for the analytical labs wanting to include the C3 compounds for their existing PFAS analysis in drinking or non-portable water sources.

## Proven Consistency in PFAS Analytical Workflow with Extended Compound List

Mike Chang, Shun-Hsin Liang, Susan Steinike, Hansjoerg Majer, Bellefonte/USA,  
Ute Beyer, Bad Homburg/D

Mike Chang, Restek Corporation, 110 Benner Circle, Bellefonte, PA 16823/USA

### Abstract & Introduction

Per- or polyfluorinated alkyl substances (PFAS) have been used in various consumer products and industrial applications including clothing, food packaging, kitchenware, and aqueous film forming foams (AFFFs), which are critical for firefighting practice and widely used globally in many military bases and airports. Production of these chemicals began in the late 1940's, and toxicity information on many PFAS is still unknown except for the two with the longest production history and usage: perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS), which are C8 based. With known toxicity of traditional C8 PFAS, the industry trend has been moving toward various alkyl chain length – typically shorter than C8 – as well as functional group modifications.

While its unique chemical and physical properties (water resistance, persistence, and surface tension lowering) have provided benefits in many applications, appearances of these compounds are not limited to the regions where manufacturers of these compounds are located. Their ubiquitous use and the stability of these compounds make them present everywhere from the Arctic environment [1] to the bloodstream of the majority of human populations, including even the most remote one at measurable concentrations [2, 3].

The analytical workflow for the detection of PFAS requires an LC-MS/MS (liquid chromatography tandem mass spectrometry) system. Often many components in the system (degasser, LC pump, mobile phase bottle lining, etc.) contain various fluoropolymer materials such as PTFE (polytetrafluoroethylene). Slow leaching of those materials can interfere with accurate quantitation of target PFAS at low levels.

The most recent findings in PFAS analysis and research are presented here with an extended list of target PFAS. The LC-MS/MS system was equipped with a delay column to selectively retain system-related PFAS interferences.

### The PFAS Delay Column - Why

With recent global movements in low level PFAS detection in drinking water, the role of a PFAS delay column has become critical. Most of the workflow for PFAS analysis include parts made of plastic, specifically PTFE parts in the LC pump and the degasser, etc. PTFE is a fluoropolymer material with  $-(CF_2-CF_2)_n-$  building block and during the manufacturing of PTFE, PFAS compounds e.g. PFOA has been used as a processing

agent. The processing agent is supposed to be removed at the end of the PTFE manufacturing, however, it's inevitable that the residues are in the final product of PTFE. The residual processing agent will eventually leach out from the parts made of PTFE in the LC pump, pump seal, and many other parts in the analytical workflow as system-related interferences.

Different manufacturers of LC systems and replacement parts for the LC modules may use PTFE parts from a variety of different sources; hence the degree of leachable system-generated PFAS interferences may vary greatly from one manufacturer to another. Even if the current system is free from PFAS interferences, once any part in the system is replaced with a PTFE-containing part during maintenance, it may start generating system-related PFAS interferences leading to inconsistent data quality due to inaccurate quantitation, especially for low level PFAS analysis in samples such as drinking water.

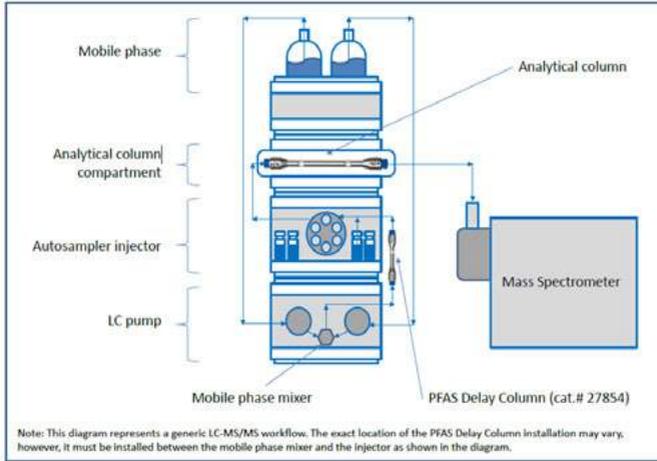
The use of the PFAS Delay Column allows the analysis to remain free of system-related interferences by holding them and releasing them after the elution of compounds of interest. It is a universal solution to delay system-related interferences that can be installed in any LC-MS/MS system regardless of the configuration (HPLC or UHPLC) from any manufacturer.

Another advantage of the PFAS Delay Column is that it is packed with 5µm fully porous particles which provide retention without breakthrough for system-related PFAS, with a negligible contribution to system.

### **The PFAS Delay Column - How**

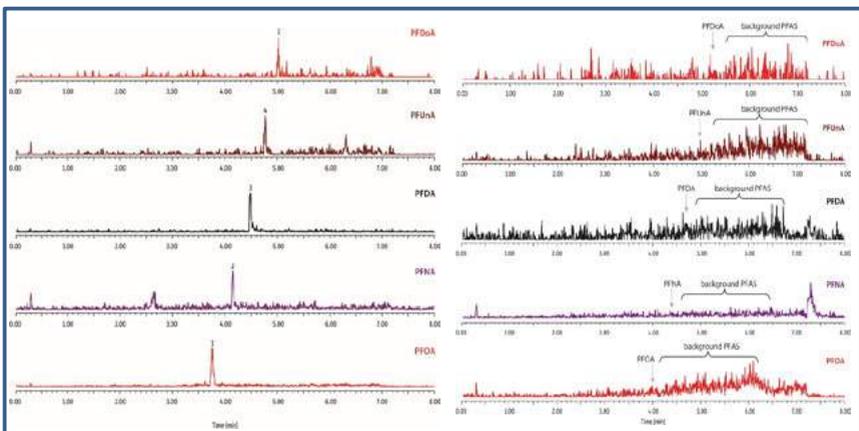
The PFAS analysis is a dual column system with one delay column and one analytical column. The analytical column separates compounds of interest after proper analyte focusing at the time of injection, with retention based on the chemistry of the bonded phase. The PFAS Delay Column delays system-related interferences in a continuum while the sample is being analyzed.

When using the PFAS Delay Column, it must be installed between the LC pump and the injector. This ensures any system-related interferences prior to the sample are delayed before they reach the analytical column.



**Figure 1:** Location of the PFAS Delay Column and the analytical column

The chromatograms in Fig 2 clearly indicate the PFAS Delay Column serves its purpose. With no delay column in the flowpath, a blank injection revealed multiple system-related PFAS that built up on the head of the analytical column during a 10-min equilibration and eluted as distinct peaks. When the PFAS Delay Column was installed, system-related PFAS were seen after the retention time of the target compounds, and as an elevated baseline since their elution was a continuum, not a focused injection. The degree of system-related interference will vary based on materials used by different manufacturers.



**Figure 2:** Blank injection without the PFAS Delay Column after 10 min equilibration (left chromatogram) and with the PFAS Delay Column under the same condition (right chromatogram)

### **Choose the Right Analytical Column for Your System**

The role of an analytical column is to focus compounds of interest at the head of the column after sample injection, then separate them based on differences in retention. Our experiment included three different particle sizes to see impactful performance differences. A smaller particle size is better suited for UHPLC, while larger particle sizes are more commonly used for HPLC systems.

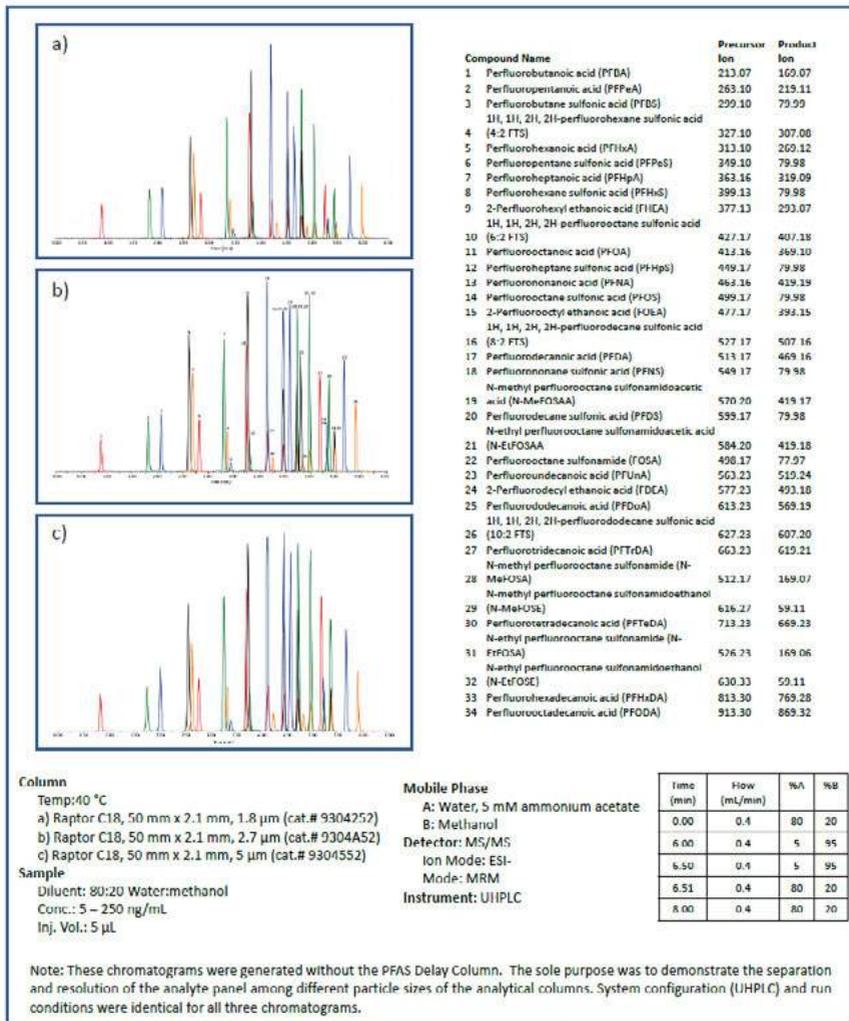


Figure 3: Particle Size Comparison of Raptor C18 for the PFAS Analysis

All columns used in this experiment are based on the superficially porous particle (SPP) technology. Our data indicate that retention times do not change significantly among all particle sizes. The most noticeable difference was the system backpressure, which was in the range of 6,500 – 8,000 psi, 4,000 – 5,500, and 2,000 – 3,500 psi for columns a), b), and c), respectively. System backpressure can come from many sources such as

tubing ID, particle size of the column, etc. Column b) with 2.7 µm particles is flexible for use in both HPLC and UHPLC systems.

### Conclusions

The PFAS analytical workflow can contribute interferences from many system parts. Appropriate installation of the PFAS Delay Column made the analysis suitable for low level PFAS detection by delaying and dispersing the system-related interferences past the retention times of the compounds of interest for accurate quantitation. It is a universal solution, which is applicable regardless of the system type (HPLC or UHPLC) and the LC instrument manufacturer. Different particle sizes of the Raptor C18 column with SPP technology were compared, offering versatile selection options for any system used for the PFAS analysis (HPLC or UHPLC.)

### References

- [1] C.J. Young et al., *Environ Sci Technol* **2007**, *41*(10), 3455-3461
- [2] C.H. Lindh et al., *Chemosphere* **2012**, *88*(11), 1269-1275
- [3] <https://www.ewg.org/research/pfcs-global-contaminants/pfoa-pervasive-pollutant-human-blood-are-other-pfcs>

## **Using Free, High-Performance, Computer Modeling Software to Simulate Gas Chromatographic Separations**

J. de Zeeuw, C. Rattray, C. Nelson, S. Adams, K. Sellers, Bellefonte/USA

J. de Zeeuw, Restek Corporation, 110 Benner Circle, Bellefonte, PA 16823/USA

### **Introduction**

Our recently introduced modeling software is a selectivity tool that relies on a pre-loaded library of thermodynamic retention indices. This makes it possible to predict retention times and optimize chromatographic methods without the need to analyze your compound sets under many different conditions. The program allows the user to select the stationary phase and simultaneously adjust: film thickness, temperature, column length, column internal diameter and flow. Users can enter each compound or cut/paste large lists of compounds into the program.

Since its introduction there have been thousands of searches across a broad range of compound classes. The program outputs: compound retention time, resolution and peak width along with the column conditions and dimensions. A model chromatogram is provided to illustrate retention, peak width and resolution. Users have the option to view compound mass spectral data with the added benefit of overlaying mass spectra for co-eluting analytes. The expanded capabilities allow the user to choose column dimension and conditions. Specific searches can be saved and accessed at a later date. Besides developing optimal new applications, it is also possible to optimize many existing applications WITHOUT having a GC available, saving a lot of time and costs. For this 100% free service one only has to register once and set a password.

### **Entering components of interest**

Components can be entered directly by name or Cass-number. You can also copy and paste from an excel spreadsheet. The second way is to use the large libraries of components that have been indexed in ProEZGC database. One can select a stationary phase and a library and scroll through the list, selecting components of interest. In this setting one can also define peak pairs that MUST be base line resolved. The modeler will immediately report back components that are not found. Sometimes there is a spelling error.

**Option 1:**  
search by compound name or CAS#

Pro EZGC<sup>®</sup> Chromatogram Modeler BETA

Compounds   Conditions   My EZGC<sup>®</sup> <<

Search by Name or CAS #   Search by Phase >>

Example:  
acetonitrile  
dichloromethane  
methanol  
pentane

Enter a compound list here

Clear   **Solve**

**Option 2:**  
search by stationary phase

Pro EZGC<sup>®</sup> Chromatogram Modeler BETA

Compounds   Conditions   My EZGC<sup>®</sup> <<

Search by Phase   Search by Name or CAS # >>

Phase: **Rtx-5ms**

Library: **Semi-volatile Organic Compound (SVOC)**

Select All   Filter Compounds:

Compound Name	CAS #
n,n-Dimethylacetamide	122-99-8
1,2,4,5-Tetrachlorobenzene	95-64-3
1,2,4-Trichlorobenzene	120-82-1
1,2-Dichlorobenzene	95-80-1
1,2-Dinitrobenzene	520-29-0
1,2-Diphenylhydrazine	122-66-7
1,3,5-Trinitrobenzene	99-35-4
1,3-Dichlorobenzene	541-73-1
1,3-Dinitrobenzene	99-85-0
1,4-Dichlorobenzene	106-46-7
1,4-Dichlorobenzene-D4	3855-82-1
1,4-Dinitrobenzene	100-25-4

Selected   Targeted to resolve   **Solve**

**Figure 1:** Pro EZGC<sup>®</sup> allows two different ways to select your compounds:  
1: enter the name or cut/paste from excel sheet; 2: select from the libraries

By clicking “solve”, you get a number of results on different stationary phases, of which the BEST separation will be displayed immediately. If you are interested in a different stationary phase, you simply click that phase and the chromatogram will show.

Fig 2 shows the results for 74 VOC components. Best result was on Rtx-VMS, but there are 5 other models.



**Figure 2:** Pro EZGC® will show results on multiple phases. The best selectivity will be displayed. This may not be the optimal selectivity for YOUR sample as some components may be present in very large concentrations, masking neighboring peaks.

## Conditions

Here we can change all conditions we may be interested into check for our components of interest. A different type of carrier gas can be selected. You will be amazed how good separations still are using N<sub>2</sub>. You can select a different column length, diameter or film thickness. You can change oven temperatures and iso times. With the “refine” button you can see the impact of faster programming by steps of 3°C/min on your components. Maximum rate here is 30°C/min as this is a limit for several ovens, but if you have a system that can program faster, you can add ANY value here.

In the custom mode you can also change column flow to reduce the analysis time even more. Of course you can also work with conditions for atmospheric as well as vacuum detection systems.

Chromatograms can be displayed in efficiency optimized (maximum resolution), in speed optimized (maximum speed/minimum loss of resolution.. typically 30% faster then efficiency optimized), or as custom where also the flow can be changed, see fig.3

Pro EZGC<sup>®</sup> Chromatogram Modeler RESTEK

Compounds Conditions My EZGC<sup>®</sup> <<

Carrier Gas Helium

Column Rtx-440

Length 30.00 m

Inner Diameter 0.32 mm

Film Thickness 0.50 µm

Available Columns 30, 0.32, 0.50

Control Parameters

Column Flow 2.54 mL/min

Average Velocity 43.78 cm/sec

Holdup Time 1.14 min

Inlet Pressure: PSI 14.35 psi

Outlet Pressure (abs) 14.70 psi

Oven Program

Isothermal  Ramp

Ramp Rate (°C/min)	Temp (°C)	Hold Time (min)
100	1	
4	250	0

Number of Ramps (1-5) 1

Target Resolution 1.50

Control Method Constant Flow

Results Change to: Efficiency Speed Custom

Run Time 30.40 min

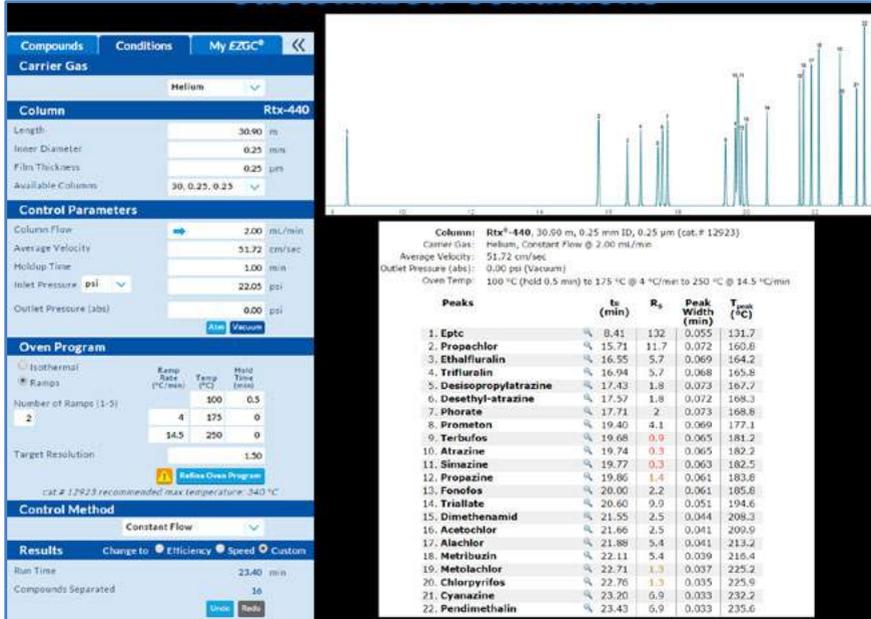
Compounds Separated 14

- Helium, hydrogen, or nitrogen carrier
- Any dimension column can be modeled
- Flow control is set by the Results heading
  - Efficiency, Speed, or full custom
- Oven program can be up to 5 ramps
- Refine oven program optimizes the ramp rates

**Figure 3:** One can change carrier gas, flow, oven program and column dimensions and see immediate impact on the separation.

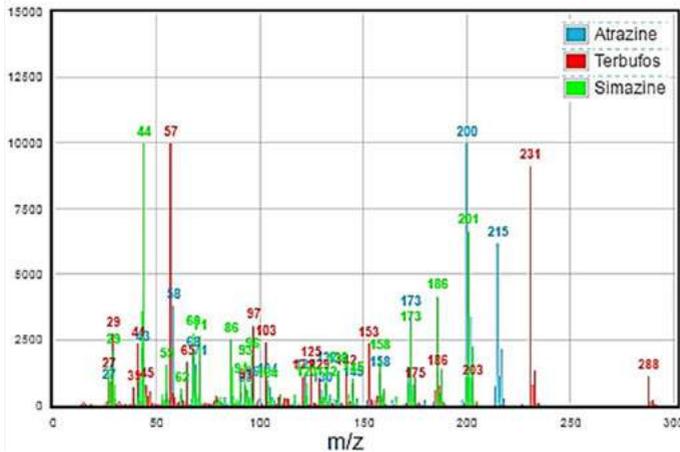
Restek's Pro-EZGC program contains over 7,500 compounds and allows the user to instantly optimize separations and jump start method development.

## Customized Conditions



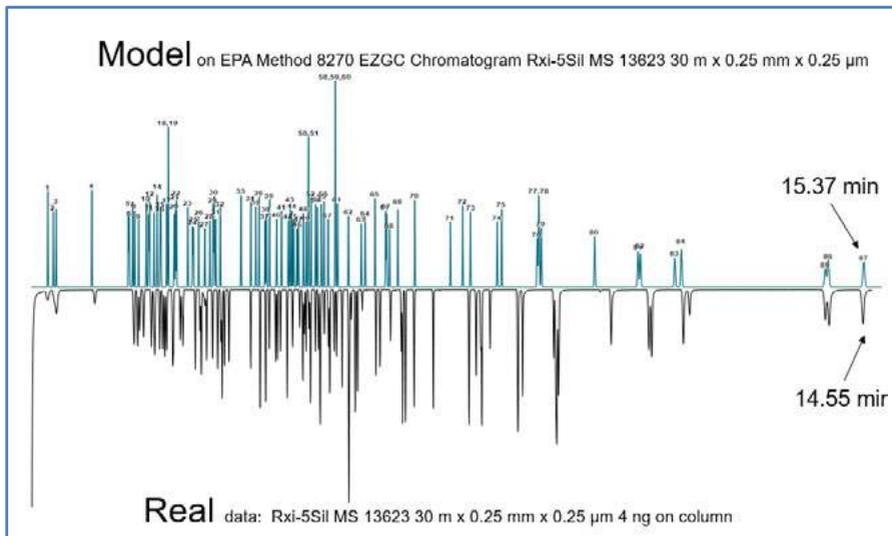
**Figure 4:** This example illustrates a customized list and a set of conditions chosen by the user. Notice under the “Results” tab “Custom” has been chosen.

## MS Overlay of co-elutions



**Figure 5:** Compounds presented will also display Mass Spectra and coelutions can be displayed as an overlay which helps the analyst determine if the compounds can be resolved by MS.

### Example of Model vs Real chromatogram



**Figure 6:** EPA 8270 method predicted as model, followed by real analysis using a 30m x 0.25mm Rxi-5Sil MS. Chromatogram courtesy: Chris Rattray, Restek

### Summary

ProEZGC is a free service that allow the user to speed up existing applications and develop new applications without using an actual GC. One can select the most selective stationary phase and choose the settings for gas velocity and temperature programming while experimenting with different column length, ID and film thickness. ProEZGC saves a huge amount of time and has already proven to work for many users. It is also configured for several international languages.

### Limitations

ProEZGC can only model components that are in the database. Starting temperature must be adjusted in relation with injection technique and solvent used. Modeling is done on Liquid phases, not on adsorbents. Peaks are perfect gaussian, while in reality peaks can show different shape due to overload, activity related to absolute amount injected. There may always be more selective or more component-optimized stationary phases available.

## **Photo- und elektrochemischer Abbau von poly- und perfluorierten Alkylsubstanzen (PFAS) – LC-HRMS-Screening von Transformationsprodukten**

B. Bugsel, Tübingen/D, M. Schmitt, Tübingen/D, O. Nied, Tübingen/D, J. Zweigle, Tübingen/D, C. Zwiener, Tübingen/D

Umweltanalytik am Zentrum für Angewandte Geowissenschaften,  
Universität Tübingen, Hölderlinstr. 12, Tübingen/D  
E-mail: boris.bugsel@uni-tuebingen.de

### **1. Einleitung**

Die Stoffklasse der poly- und perfluorierten Alkylsubstanzen (PFAS) umfasst mehr als 3000 Verbindungen. Die große Anwendungsbreite reicht von industriellen Prozessen bis zu Verbraucherprodukten. PFAS-Produkte werden auch bei der Herstellung von imprägnierten wasser- und fettabweisenden Verpackungspapieren verwendet und umfassen verschiedene Verbindungsklassen mit poly- und perfluorierten Ketten. PFAS erweisen sich als persistent, toxisch und bioakkumulativ. Die Vorläuferverbindungen können auch persistente Transformationsprodukte (TP) bilden.

Aufgrund der einzigartigen Stoffeigenschaften und der großen Vielfalt der Anwendungsgebiete sind analytische Screeningsansätze der PFAS von großem Interesse. In Produkten, die in der Vergangenheit für die Papierimprägnierung verwendet wurden, konnte bereits eine Vielzahl verschiedener PFAS Stoffklassen nachgewiesen werden. Dazu zählen insbesondere Fluortelomeralkohole (FTOH) sowie FTOH-basierte Monomere und Polymere [1], beispielsweise Fluortelomeralkoholmono-, -di- und -triester der Phosphorsäure (monoPAP / diPAP / triPAP).

In einem gegenwärtigen Fall liegt eine großflächige Kontamination landwirtschaftlich genutzter Flächen im Raum Rastatt / Baden-Baden vor, die auf die Ausbringung mit PFAS verunreinigter Papierschlämme zurückzuführen ist. Mit einer für PFAS optimierten analytischen Screeningmethode konnte bereits gezeigt werden, dass hauptsächlich diPAPs verschiedener Kettenlängen (4:2/6:2 bis 12:2/14:2), N-ethylperfluoroalkyl sulfonamidoethanol phosphat diester (diSAmPAP) der Kettenlänge C<sub>8</sub> sowie Abbauprodukte beider Stoffklassen (insbesondere perfluorierte Carbonsäuren (PFCA) und perfluorierte Sulfonsäuren (PFSA)) für die Kontamination verantwortlich sind [2].

Zwar wurden bereits Studien zum elektrochemischen & photochemischen Abbauverhalten einzelner PFAS durchgeführt [3] [4], allerdings zielten diese Untersuchungen stets auf die Abbauprodukte wie PFCA ab. Die Untersuchung der Präkursoren, wie sie im Fall Rastatt / Baden-Baden auftreten, ist bislang unzureichend. In dieser Arbeit zeigen wir das elektrochemische sowie photochemische Abbauverhalten der Stoffklasse der diPAP, einer der Hauptkontaminanten in den Böden von Rastatt. Ergänzend zum bereits bestehenden Total Oxidizable Precursor-Assay (TOP) können damit mögliche Transformationsprodukte unter Umweltbedingungen besser abgeschätzt werden.

## 2. Material und Methoden

Photochemische Abbauxperimente wurden in einem Sonnenlichtsimulator (UVACUBE 400, Hoenle UV Technology, Gräfeling, Deutschland) mit 10-facher Strahlungsintensität der Sonne zum Beschleunigen langsamer Abbauprozesse durchgeführt. Um die photokatalytische Aktivität von umweltrelevanten Festphasen zu untersuchen, wurden Goethitpartikel mit diPAP beaufschlagt und in einer wässrigen Suspension unter stetigem Rühren bestrahlt.

Elektrochemische Abbauxperimente wurden in einer elektrochemischen Zelle mit einer effektiven Arbeitsoberfläche von etwa 2 cm<sup>2</sup> durchgeführt. Eine bordotierte Diamantelektrode wurde als Arbeitselektrode, ein Platinnetz als Gegenelektrode und eine Ag/AgCl-Elektrode als Referenzelektrode verwendet. Die diPAP wurden auf feinen Silikatpartikeln als Trägermaterial aufgebracht, da sie eine geringe Wasserlöslichkeit aufweisen (< 1 µg/L) und bei den Experimenten auf organische Lösemittel wegen der radikalfangenden Eigenschaften verzichtet werden muss.

Sowohl bei den photochemischen als auch den elektrochemischen Abbauxperimenten wurde zusätzlich zu den diPAP Terephthalsäure (TPA) hinzugegeben. TPA reagiert unter Bildung von Hydroxyterephthalsäure (OH-TPA) mit OH-Radikalen und kann daher verwendet werden, um die OH-Radikal Konzentration in einem System zu bestimmen [5]. Non-Target-Messungen wurden mit einem Flüssigchromatographen (1290, Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) gekoppelt an ein Quadrupol-Flugzeitmassenspektrometer (6550 QTOF, Agilent Technologies) mit Elektrosprayionisation durchgeführt, Target-Messungen mit einem Flüssigchromatographen (1260, Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) gekoppelt an ein Tripel-Quadrupol- Massenspektrometer (6490 QqQ, Agilent Technologies).

## 3. Ergebnisse und Diskussion

In den durchgeführten photochemischen Experimenten mit simuliertem Sonnenlicht konnte ein deutlicher Abbau der diPAP auf Goethitpartikeln gezeigt werden. Hierbei wurden sowohl 6:2 / 6:2 diPAP als auch 8:2 / 8:2 diPAP eingesetzt, wobei über einen Versuchszeitraum von sechs Stunden bei einem pH-Wert von 4 ein teilweiser Abbau von 6:2 / 6:2 diPAP und ein vollständiger Abbau von 8:2 / 8:2 diPAP gezeigt werden konnte. Mittels der Non-Target Analytik konnten als Abbauprodukte neben den PFCA und den ungesättigten Fluortelomercarbonsäuren (FTUCA) weitere Transformationsprodukte qualitativ ermittelt werden (TP m/z 292.9822, ein TP von 6:2 / 6:2 diPAP und TP m/z 392.9758, ein TP von 8:2 / 8:2 diPAP), deren endgültige Struktur noch nicht abschließend geklärt wurde. Der zeitliche Verlauf des TP zeigt, dass dieses unter den verwendeten Bedingungen weiter abgebaut werden kann (siehe Abbildung 2).

Bei elektrochemischen Abbauxperimenten konnte mit der Indikatorsubstanz TPA die Beteiligung von OH-Radikalen beim Abbau von 6:2 / 6:2 diPAP und der Bildung des TP Perfluorhexansäure (PFHxA) gezeigt werden.

Die Ergebnisse geben erste Hinweise zum photochemischen Abbau von diPAP und der Bildung von perfluorierten Carbonsäuren unter umweltrelevanten Bedingungen. Damit lässt sich ein Teil der PFAS-Transformationsprodukte erklären, die bisher in kontaminierten Ackerböden nachgewiesen werden.

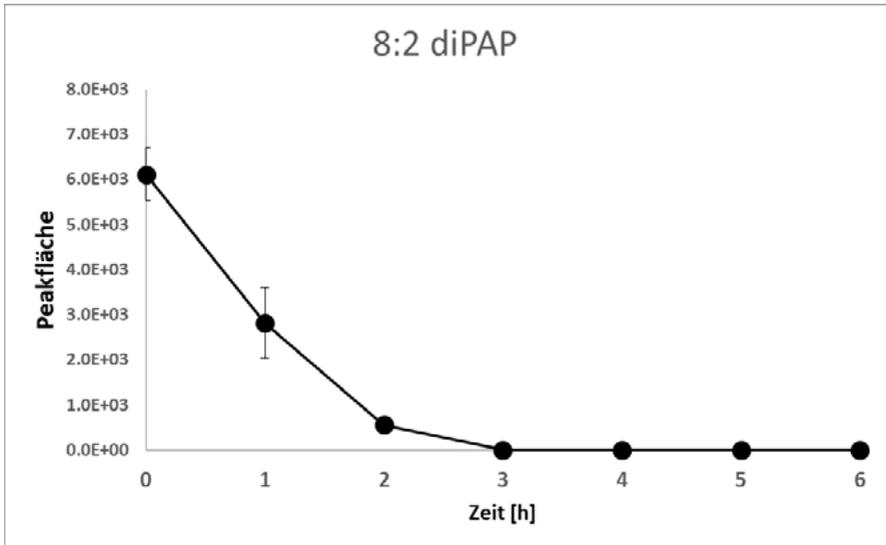


Abbildung 1: Abbau des Präkursors 8:2 diPAP auf Goethit mit simuliertem Sonnenlicht.

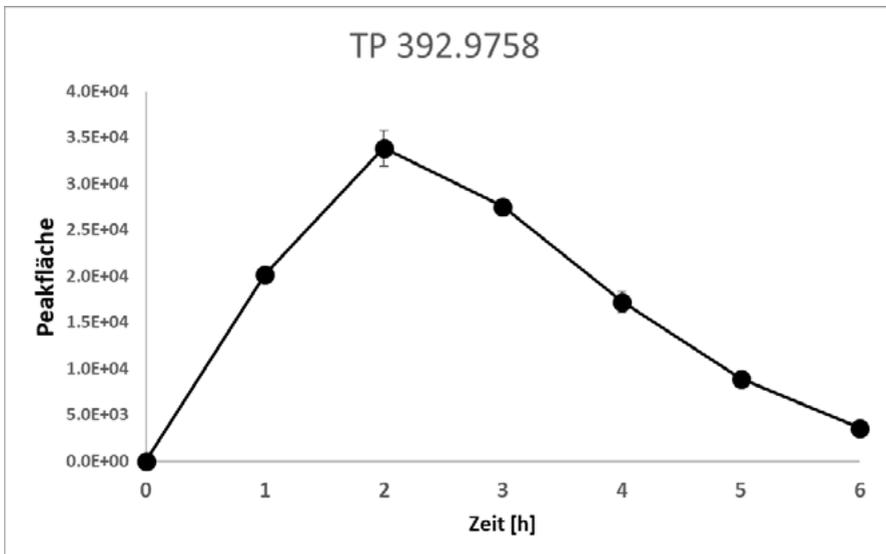


Abbildung 2: Bildung und weiterer Abbau des Transformationsprodukts  $m/z$  392.9758 nach Photoabbau von 8:2 diPAP auf Goethit mit simuliertem Sonnenlicht.

## 4. Literatur

1. Trier, X., K. Granby, and J.H. Christensen, *Polyfluorinated surfactants (PFS) in paper and board coatings for food packaging*. Environmental Science and Pollution Research, 2011. **18**(7): p. 1108-1120.
2. Bugsel, B. and C. Zwiener, *LC-MS screening of poly- and perfluorinated compounds in contaminated soil by Kendrick mass analysis*. Anal Bioanal Chem, 2019: In review.
3. Barisci, S. and R. Suri, *Electrooxidation of short and long chain perfluorocarboxylic acids using boron doped diamond electrodes*. Chemosphere, 2019: p. 125349.
4. Wang, Y., et al., *Photochemical degradation of environmentally persistent perfluorooctanoic acid (PFOA) in the presence of Fe(III)*. Chinese Chemical Letters, 2008. **19**(3): p. 371-374.
5. Page, S.E., W.A. Arnold, and K. McNeill, *Terephthalate as a probe for photochemically generated hydroxyl radical*. J Environ Monit, 2010. **12**(9): p. 1658-65.

**Danksagung** – Das Projekt FluorTECH wird im Rahmen der Baden-Württemberg-Programme (BWPlus) finanziert.

## Leitfaden zur Anwendung des Non-Target-Screenings mittels LC-ESI-HRMS in der Wasseranalytik

W. Schulz<sup>1</sup>, Langenau/D, T. Lucke, Langenau/D

Dr. Wolfgang Schulz, Zweckverband Landeswasserversorgung,  
Am Spitzigen Berg 1, Langenau/D

<sup>1</sup> Leiter des Fachausschusses „Non-Target-Screening“  
der Wasserchemischen Gesellschaft

### Einleitung

Die Entwicklungen der letzten Jahre auf dem Gebiet der hochauflösenden Massenspektrometrie (HRMS) führten zu einem zunehmenden Einsatz dieser Systeme auch in der Wasseranalytik. In Kombination mit der Flüssigkeitschromatographie (LC) wurden Screening-Methoden etabliert. Die LC-HRMS ermöglicht die Detektion von Substanzen über ihre akkuraten Molekülmassen ohne die vorherige Kenntnis über deren Vorhandensein (Non-Target-Screening, NTS). <sup>[1,2]</sup> Eine Voraussetzung für die Etablierung der Methode ist die Vergleichbarkeit der Analyseergebnisse unabhängig vom ausführenden Laboratorium und dem eingesetzten Analysensystem. Die sich dadurch ergebenden neuen Fragestellungen und die daraus resultierenden Anforderungen an die Analytik waren Grundlage für die Gründung des Fachausschusses (FA) „Non-Target-Screening“ in der Wasserchemischen Gesellschaft.

### Zielsetzung

Die Mitglieder des FA (Tabelle 1) setzten sich die Erstellung eines Leitfadens für die Anwendung der LC-HRMS in der Wasseranalytik zum Ziel. Darin sollten neben typischen Anwendungsbereichen und angewandten Messtechniken besonders auf kritische Verfahrensschritte hingewiesen und einige Lösungsansätze für häufige Probleme aufgezeigt werden. Dadurch sollte ein erster Rahmen für eine bessere Vergleichbarkeit von HRMS-Ergebnissen unabhängig vom Analysensystem geschaffen werden. Aus Gründen der Komplexität der Thematik erfolgte dabei vorerst eine Eingrenzung auf die Elektrospray-Ionisation. Der zu erarbeitende Leitfaden sollte insbesondere für Neueinsteiger eine erste Hilfestellung darstellen, um den Einstieg in diese Analysetechnik zu erleichtern und auf essentielle Punkte des Verfahrens hinzuweisen. Zukünftig könnte er als Grundlage eines Normungsansatzes für das Non-Target-Screening dienen.

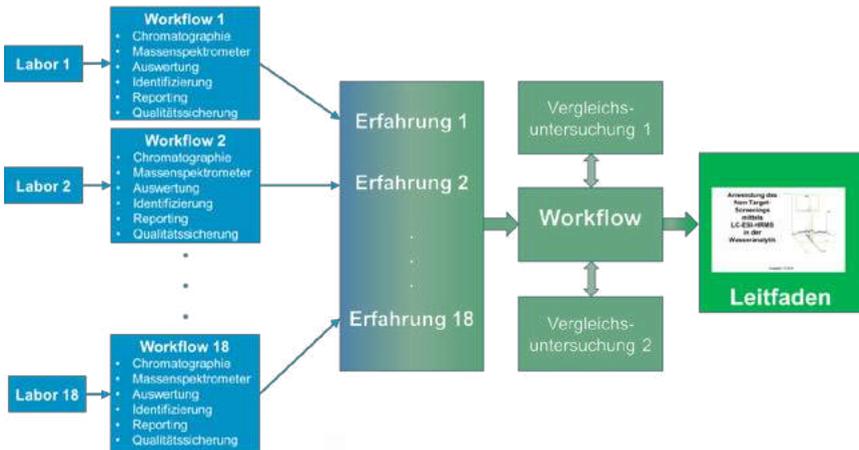
### Herangehensweise

Die FA-Mitglieder hatten unterschiedliche Erfahrung in der Anwendung des Non-Target-Screenings in der Wasseranalytik. Diese reichte von „Neueinsteiger“ bis zu mehrjähriger Erfahrung in Methodenentwicklung und Anwendung des NTS. Diese Mi-

schung stellte sich als Stärke des FA heraus, da dadurch besonders die praktischen Aspekte der Messung beim NTS thematisiert werden konnten. Die etablierten Workflows in den einzelnen Laboratorien und die damit gemachten Erfahrungen wurden zusammengetragen, diskutiert und strukturiert (Abbildung 1).

**Tabelle 1** Mitglieder des Fachausschusses

<b>Achten, Christine; Oberleitner, Daniela</b>	Universität Münster
<b>Balsaa, Peter; Hinnenkamp, Vanessa</b>	Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasserforschung (IWW)
<b>Brüggen, Susanne</b>	Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW
<b>Dünnbier, Uwe; Liebmann, Diana</b>	Labor der Berliner Wasserbetriebe (BWB)
<b>Fink, Angelika; Götz, Sven</b>	Hessenwasser GmbH & Co. KG
<b>Geiß, Sabine</b>	Thüringer Landesanstalt für Umwelt und Geologie
<b>Hohrenk, Lotta</b>	Universität Duisburg-Essen
<b>Härtel, Christoph</b>	Ruhrverband
<b>Letzel, Thomas</b>	Technische Universität München (TUM)
<b>Liesener, André; Reineke, Anna</b>	Westfälische Wasser- und Umweltanalytik GmbH
<b>Logemann, Jörn</b>	Freie und Hansestadt Hamburg
<b>Schulz, Wolfgang; Lucke, Thomas</b>	Zweckverband Landeswasserversorgung
<b>Petri, Michael</b>	Zweckverband Bodensee-Wasserversorgung
<b>Sawal, George</b>	Umweltbundesamt
<b>Scheurer, Marco; Nürnberg, Gudrun</b>	DVGW-Technologiezentrum Wasser
<b>Schlüsener, Michael</b>	Bundesanstalt für Gewässerkunde
<b>Seiwert, Bettina</b>	Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung
<b>Sengl, Manfred; Kunkel, Uwe</b>	Bayerisches Landesamt für Umwelt
<b>Singer, Heinz</b>	Eawag
<b>Türk, Jochen</b>	Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V. (IUTA)
<b>Zwiener, Christian</b>	Universität Tübingen



**Abbildung 1** Schematische Darstellung der Herangehensweise zur Entwicklung des Leitfadens

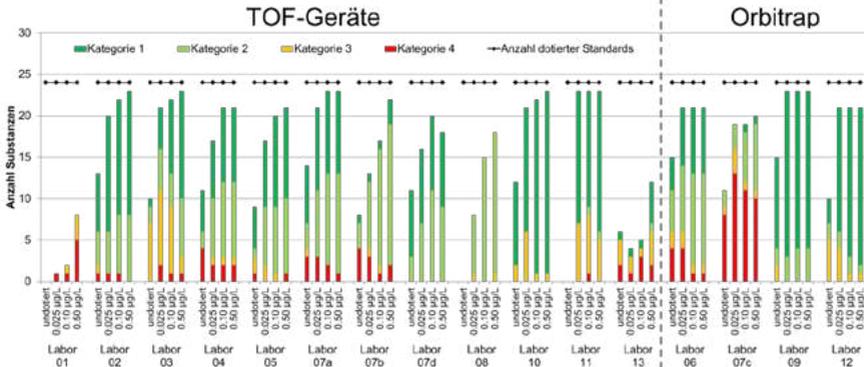
Durch die Verwendung unterschiedlicher HRMS-Geräte verschiedener Hersteller mit unterschiedlichem Aufbau der Ionenquelle (Elektrospray-Ionisation, ESI) und diversen Softwarelösungen stellt sich primär die Frage nach der grundsätzlichen Vergleichbarkeit der NTS-Ergebnisse. Deshalb wurden zwei Vergleichsuntersuchungen innerhalb des FA konzeptioniert und durchgeführt. In der Ersten sollten mögliche signifikante Unterschiede in der Nachweisgrenze und Massengenauigkeit der eingesetzten HRMS-Systeme erkannt werden. In der Zweiten war die Konzentrationsabhängigkeit der Identifizierung von Substanzen in einer realen Matrix näher betrachtet worden. Bei den insgesamt 18 teilnehmenden Laboratorien (erste und/oder zweite Vergleichsuntersuchung) kamen sowohl Time-of-Flight-Geräte unterschiedlicher Hersteller als auch Orbitraps zum Einsatz.

## Ergebnisse der Vergleichsuntersuchungen

Zur Bewertung der Nachweisgrenze der Systeme wurde an die Teilnehmer eine methanolischen Standardlösung (10 mg/L je Substanz) mit Angaben der Massen von Molekül- und Fragmentationen ausgegeben. Nach dekadischer Verdünnung des Standards mit Wasser erfolgte eine LC-HRMS-Messung mit den jeweils in den Laboratorien etablierten Akquisitionsmethoden. Die Detektionsgrenze wurde dabei als diejenige Konzentration definiert, bei der noch zwei der angegebenen Fragmentationen bei 10 µL Injektionsvolumen detektiert werden konnten. In der Auswertung des Datenrücklaufs ergaben sich im Rahmen dieser Herangehensweise keine merklichen Unterschiede bei der Nachweisstärke und der Massengenauigkeit (MS1) der eingesetzten TOF- und Orbitrap-Systeme. Der Median der Massenabweichungen der dotierten Verbindungen lag dabei entgegen der Erwartung unter 5 ppm. Ebenso waren die Massenabweichungen im untersuchten Bereich nahezu unabhängig von der dotierten Konzentration. Qualitative Unterschiede in den Fragmentationenspektren waren hauptsächlich durch die Kollisionsenergie bedingt. Wird die Massengenauigkeit der Fragmente (MS2) betrachtet, so zeigt sich in dieser Vergleichsuntersuchung ein Unterschied zwischen den TOF- und den Orbitrap-Geräten. Flugzeitmassenspektrometer wiesen eine etwas größere Massenabweichung gegenüber Orbitrap-Geräten bei MS/MS-Experimenten auf.

In der zweiten Vergleichsmessung erfolgte die Ausgabe einer Flusswasserprobe, die mit verschiedenen Substanzen und unterschiedlichen Konzentrationen (25 ng/L bis 500 ng/L) aufgestockt war. Hinsichtlich der Messung und Auswertung waren dabei keine Vorgaben an die Teilnehmer gestellt. Als Rücklauf war eine Kategorisierung (ähnlich zu <sup>[3]</sup>) der detektierten Signale gefordert (identifiziert (Kategorie 1), wahrscheinliche Substanz (Kategorie 2), Substanzvorschlag aus Summenformel (Kategorie 3) und Signal der Substanz (Kategorie 4)). <sup>[4]</sup> In Abbildung 2 ist die Anzahl der kategorisierten dotierten Standardsubstanzen dargestellt. Der Anstieg des Anteils der Vertreter in Kategorie 1 und 2 mit zunehmendem Dotierniveau ist deutlich zu erkennen. Dies liegt in der Regel an der besseren Erfassbarkeit eines aussagekräftigen MS<sup>2</sup>-Spektrums.

Im Vergleich der Workflows und der Erfahrungen der Teilnehmer waren das Vorhandensein und die leichte Zugänglichkeit von Referenzspektren sowie die Erfahrung der Anwender und deren Zeiteinsatz klar als Einflussgröße auf den Identifizierungserfolg herausgearbeitet worden. Dies zeigt klar, wie wichtig gute Datengrundlagen und Erfahrungswerte sowie deren Austausch bei der Anwendung von NTS sind.



**Abbildung 2** Vergleich der identifizierten dotierten Standardsubstanzen der teilnehmenden Laboratorien nach den Identifizierungskategorien 1 bis 4

## Aufbau des Leitfadens <sup>[4]</sup>

Die Struktur des Leitfadens ist an den allgemeinen Aufbau eines Analysenverfahrens angelehnt. In Abbildung 3 ist das Analysenverfahren dem Inhaltsverzeichnis des Leitfadens gegenübergestellt. Ausgangspunkt jedes Non-Target-Screenings ist eine möglichst genaue Formulierung der Aufgabenstellung. Beispiele für Aufgabenstellungen sind:

- Suche nach zusätzlich (über das Monitoring hinaus) vorhandenen Substanzen und deren Charakterisierung
- Ermittlung von Unterschieden (hinsichtlich organischer Spurenstoffe) zwischen mehreren Proben (Hydrogeologie, zeitlicher Verlauf, Prozessbetrachtung hinsichtlich Entfernung oder Bildung von unbekanntem Substanzen)
- Detektion und Charakterisierung von Transformationsprodukten (z. B. bekannter Ausgangsverbindungen)
- Nachweis / Auftreten von Substanzen als Folge eines Ereignisses - Ursachenermittlung (Toxizität – Fischsterben, Geruch – Geschmack, Starkregen, Havarie, Brand, etc.)
- Erweiterung / Anpassung von Monitoringprogrammen (dynamisches Monitoring)
- Identifizierung von unbekanntem Substanzen unter Zuhilfenahme weiterer Informationen (Datenbankabgleich, Vergleich von MS/MS-Spektren aus Literaturdaten oder *in-silico*-Fragmentierungen) und Messungen (Referenzsubstanzen, Einsatz orthogonaler Techniken wie NMR oder Raman-Spektroskopie)

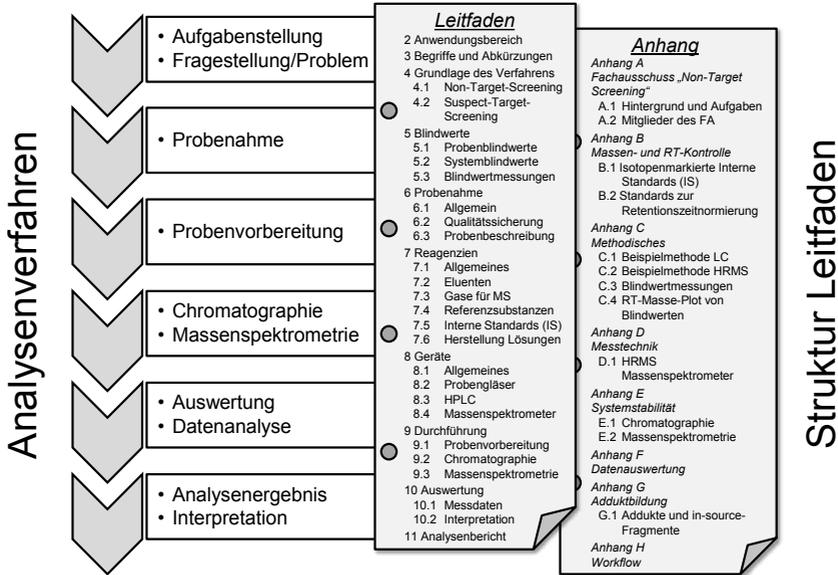


Abbildung 3 Struktur des Leitfadens und Bezug zum Analyseverfahren

Aspekte bezüglich der Probenahme, wie Art (z. B. Einzel-, Misch- oder Sammelprobe), Technik (Pumpprobe, Schöpfprobe u.a.), Ort und Zeitpunkt ergeben sich aus der Aufgabenstellung. Bereits ab der Probenahme ist die Thematik möglicher Blindwerte stets zu berücksichtigen. Im Leitfaden werden Blindwerte bei Probenahme (Probenahme-technik und -materialien), Probenvorbereitung (Laborgeräte und -materialien) sowie der Messung (Reinheit, Methoden) diskutiert und Möglichkeiten zu deren Vermeidung angegeben. Für eine zielgerichtete Auswertung der Daten und Beantwortung der analytischen Fragestellung ist das Sammeln möglichst vieler Zusatzinformationen sinnvoll. Diese Metadaten können bei der Interpretation der Messdaten hilfreich sein.

Zur Vergleichbarkeit der LC-HRMS-Datensätze <sup>[5]</sup>, auch über einen längeren Zeitraum, ist die Stabilität des Massenspektrometers entscheidend. Die Aufgabe einer Qualitätssicherung muss es deshalb sein, den messtechnischen Zustand des HRMS zu dokumentieren. Hierzu gehören die Parameter Massenauflösung, Massengenauigkeit und Empfindlichkeit (MS und MS<sup>2</sup>). Im Leitfaden befinden sich hierzu Lösungsvorschläge wie beispielsweise eine Liste von isotopenmarkierten Verbindungen, die als interne Standards eingesetzt werden können. Diese internen Standards können darüber hinaus zur Kontrolle von Matrixeffekten herangezogen werden.

Die Qualität der Daten ist für die weitere Datenauswertung mit z. B. statistischen Methoden wie der Clusteranalyse (E DIN SPEC 38402-80) oder der Hauptkomponentenanalyse zur Vermeidung von Fehlinterpretationen wichtig. Nur mit genauer Kenntnis über Fehlerquellen und über die eingesetzte Messtechnik kann eine Fehlinterpretation der Non-Target-Daten vermieden werden.

## Ausblick

Die Erarbeitung von Standards bei der Auswertung von Non-Target-Daten sowohl mit der Herstellersoftware als auch mit herstellerunabhängiger Software ist das zukünftige Thema des FA. Ein Punkt dabei sind vergleichbare Referenzstandards, die es ermöglichen die Auflösung und Massengenauigkeit (MS und MS<sup>2</sup>) des Massenspektrometers bei jeder Probenmessung zu erfassen. Zudem könnte der Referenzstandard auch als Retentionszeitstandard verwendet werden, um Datensätze unterschiedlicher LC-HRMS-Systeme besser vergleichen zu können. Ein zukünftiges Ziel ist die Erarbeitung einer Norm zum Non-Target-Screening.

## Literatur

[1] J. Hollender, E. Schymanski, H. Singer und P. Ferguson, *Environ. Sci. & Technol.* **2017**, *51*, 11505-11512

[2] T. Bader, W. Schulz, T. Lucke, W. Seitz und R. Winzenbacher, Application of Non-Target Analysis with LC-HRMS for the Monitoring of Raw and Potable Water: Strategy and results, in *Assessing Transformation Product by Non-Target and Suspect Screening - Strategies and Workflows Volume 2*, ACS Symposium Series, 2016, S. 49-70

[3] E. Schymanski, J. Jeon, R. Gulde, K. Fenner, M. Ruff, H. Singer und J. Hollender, *Environ. Sci. & Technol.* **2014**, *48*, 2097-2098

[4] W. Schulz, T. Lucke et al., Non-Target Screening in der Wasseranalytik - Leitfaden zur Anwendung der LC-ESI-HRMS für Screening-Untersuchungen, **2019**, Download unter <http://www.wasserchemische-gesellschaft.de>

[5] T. Bader, W. Schulz, K. Kümmerer und R. Winzenbacher, *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 13219-13226

## **Ionenanionentransmission – ein wichtiger Parameter in der HRMS-Analytik**

B. Schulze<sup>1,2</sup>, Langenau/Aalen/D, T. Bader<sup>1</sup>, Langenau/D,  
W. Seitz<sup>1</sup>, Langenau/D, R. Winzenbacher<sup>1</sup>, Langenau/D

Dr. Tobias Bader, <sup>1</sup> Zweckverband Landeswasserversorgung,  
Am Spitzigen Berg 1, Langenau/D

<sup>2</sup> Hochschule Aalen, Beethovenstraße 1, Aalen/D

### **Einleitung**

Einige persistente und mobile Spurenstoffe werden durch Wasseraufbereitungsverfahren, wie beispielsweise Ozonung oder Aktivkohlefiltration, nur unzureichend zurückgehalten. Sie treten daher vereinzelt auch im Trinkwasser auf und stellen somit eine potentielle Gefahr für die Gesundheit der Menschen dar. <sup>[1,2]</sup>

Da viele dieser Stoffe gleichzeitig sehr polar sind, können diese mit standardmäßigen Analysemethoden, wie der Umkehrphasenchromatographie (RP) - Tandem-Massenspektrometrie, nicht oder nur mit hohen Nachweisgrenzen erfasst werden. Einige Methoden wurden bereits zur Analyse dieser Stoffe vorgeschlagen, um die „analytische Lücke“ <sup>[2]</sup> weiter zu reduzieren. Darunter sind vor allem folgende Techniken zu nennen: 1) Mixed-mode-Chromatographie (MMC), 2) Hydrophile Interaktionschromatographie (HILIC), 3) Überkritische Fluidchromatographie (SFC), 4) Ionenchromatographie (IC) und 5) Kapillarelektrophorese (CE). <sup>[3-6]</sup>

In dieser Arbeit wurde daher eine Auswahl (n = 55) polarer Analyte hinsichtlich deren Retentionsverhalten auf verschiedenen HPLC-Säulen (HILIC, MMC, RP) untersucht. Zur zukünftigen Nutzung als Screening-Methode wurde die Detektion mit einem hochauflösenden Massenspektrometer (HRMS) durchgeführt. Hierbei konnte gezeigt werden, dass Säulenbluten und die damit einhergehende schlechtere Ionenanionentransmission (IT) einen teils markanten Einfluss auf die analytische Performance hat und daher einen wichtigen und bislang oftmals nicht beachteten Aspekt während der Methodenentwicklung darstellt.

### **Methoden**

Alle Analysen wurden mit dem LC-System Nexera X2/XR (Shimadzu) gekoppelt an ein X500R Q-TOF-System (Sciex) durchgeführt. Die Datenauswertung wurde mittels SciexOS (V 1.5, Sciex) durchgeführt.

## a) Retentionsversuche

Insgesamt wurden 17 verschiedene Säulen (Tab. 1) betrachtet, wobei umfassendere Retentionsversuche mit 55 Target-Substanzen (logD -8,2 bis 3,4) und acht ausgewählten Säulen durchgeführt wurden. Nach vorherigem Tuning der Einzelsubstanzen wurde ein 10 µg/L-Standard zur Bestimmung der Retentionszeiten analysiert. Neben dem Molekülion im MS1 wurde auch mindestens ein Übergang zur sicheren Zuordnung herangezogen. Zur Einordnung des Retentionsverhaltens wurden die Kapazitätsfaktoren (k) berechnet und für verschiedene Säulen gegenübergestellt.

## b) Untersuchung der Ionentransmission (IT)

Um das Säulenbluten und die damit einhergehende IT für verschiedene Säulen (Tab. 1) zu untersuchen, wurde ein „Test-Gradient“ entwickelt. Dieser startete bei 90 % v/v Acetonitril (ACN) und nahm in 5 %-Schritten auf 70 % ACN ab, wobei jeder Schritt für 4 min gehalten wurde. Für Säulen, welche im RP-Modus betrieben werden, wurden drei zusätzliche Schritte bei 50 %, 30 % und 10 % ACN hinzugefügt, um den typischen Anwendungsbereich abzudecken. Jede Säule wurde vor den Versuchen mehrfach mit dem Gradienten gespült. In jedem 4-minütigen Gradienten-Fenster wurde anschließend der Medianwert der IT, des Totalionenchromatogramms (TIC) und des Basepeakchromatogramms (BPC) aus einem 1-min-Fenster ermittelt.

Tabelle 1 Übersicht HPLC-Säulen

Nr.	Hersteller	Säulename	Modus	Dimension
1	Restek	Ultra Aqueos C18	RP	250 x 4,6 mm; 5 µm
2	Agilent	Zorbax Eclipse Plus C18	RP	150 x 2,1 mm; 3,5 µm
3*	KPrime Technologies	KP-RPPX	RP	250 x 4,6 mm; 5 µm
4*	Thermo Scientific	Accucore PFP	RP	100 x 2,1 mm; 2,6 µm
5*	Waters	XSelect® CSH™ Fluoro-Phenyl	RP	100 x 2,1 mm; 2,5 µm
6	VDSOptilab	VD Spher	HILIC	150 x 4,6 mm; 5 µm
7	Phenomenex	Kinetex-HILIC	HILIC	100 x 4,6 mm; 2,6 µm
8*	Merck	ZIC-HILIC	HILIC	150 x 2,1 mm; 5 µm
9	Merck	ZIC-HILIC	HILIC	100 x 2,1 mm; 3,5 µm
10*	Macherey-Nagel	Nucleodur-HILIC	HILIC	250 x 3 mm; 3 µm
11	Macherey-Nagel	Nucleodur-HILIC	HILIC	250 x 3 mm; 5 µm
12	Macherey-Nagel	Nucleodur-HILIC	HILIC	250 x 2 mm; 3 µm
13	Macherey-Nagel	Nucleodur-HILIC	HILIC	150 x 3 mm; 3 µm
14*	Macherey-Nagel	Nucleoshell-HILIC	HILIC	150 x 3 mm; 2,7 µm
15*	ACE	HILIC-N	HILIC	150 x 2,1 mm; 5 µm
16	TCI Chemicals	TCI Dual ODS CX	RP (MMC)	100 x 4,6 mm; 3 µm
17*	Thermo Scientific	Trinity Acclaim P1	RP (MMC)	150 x 2,1 mm; 3 µm

\*: ausführliche Retentionsversuche durchgeführt.

## c) Allgemeines zur Ionentransmission (IT)

In der Target-Analytik wird üblicherweise mit Triple-Quadrupol-Massenanalysatoren im „Selected reaction monitoring“ (SRM) - Modus analysiert. Da hierbei im ersten Schritt nur ein sehr kleiner m/z-Bereich (typischerweise 0,7 bis 1,0 Da) extrahiert wird, muss die Anzahl der Ionen nicht bzw. kaum reguliert werden. Im Gegensatz hierzu wird bei hochauflösenden Massenspektrometern ein sehr großer m/z-Bereich (z. B. 1000 Da-Fenster) simultan analysiert (MS1 scan). Da abhängig von der Komplexität der Matrix das TIC sehr hohe Werte annehmen kann, stellt die Regelung der IT vor allem bei hochauflösenden Massenspektrometern (TOF, Orbitrap) einen wichtigen Aspekt dar. Aus folgenden Gründen wird meist nur ein Teil aller erzeugten Ionen ins System eingelassen: 1) Vermeidung von Raumladungseffekten, 2) Schutz des Detektors, 3) Einhalten des linear dynamischen Bereichs.

Bei TOF-Geräten der Firma Sciex werden neben dem Gesamtionenstrom (TIC-Regulierung) auch einzelne Massenpeaks (im Folgenden durch das Basepeakchromatogramm (BPC) beschrieben) einer Regulierung unterzogen (BPC-Regulierung). Einzelne abundante Ionen können somit die Ionentransmission sehr stark beeinflussen, obwohl der Gesamtionenstrom noch weit vom Schwellenwert entfernt wäre. Die BPC-Regulierung ist vor allem dann als besonders nachteilig zu sehen, wenn nicht der Analyt, sondern Störmassen, z. B. verursacht durch Säulenbluten oder Hintergrundmatrix, diese abundanten Ionen darstellen und somit die IT stark reduzieren. Eine geringe Ionentransmission beeinflusst die Sensitivität und den linearen dynamischen Bereich. Aufgrund der schlechteren Ionenstatistik kann außerdem die Präzision reduziert werden.

## Ergebnisse und Diskussion

### a) Retentionsversuche

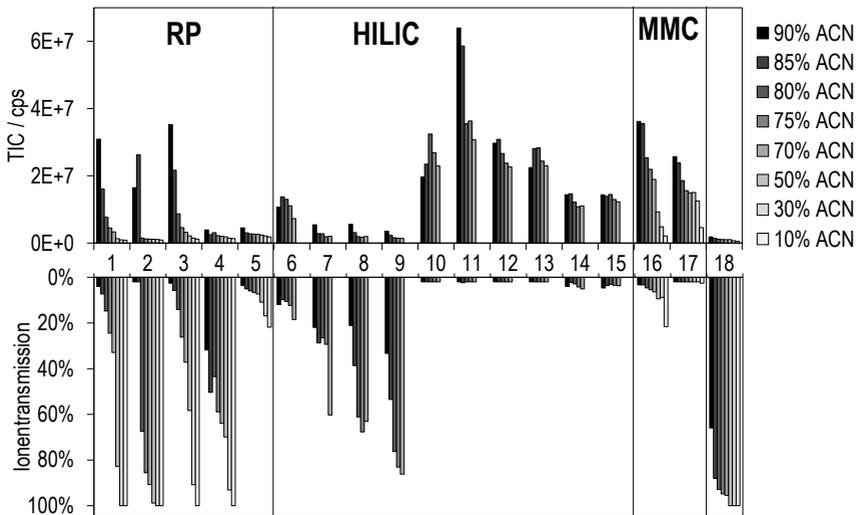
Trotz vorherigem Tuning der Einzelsubstanzen konnte mit keiner der 17 Säulen die Detektion aller 55 Substanzen erreicht werden. Sieben Substanzen konnten mit keiner der ausgewählten Säulen erfasst werden, während 30 Stoffe mit allen Säulen erfasst wurden. Unabhängig vom k-Wert konnten die meisten Stoffe (n = 44) mit Säule #8 und #15 (beides HILIC-Säulen) detektiert werden. Der größte Anteil an nicht-detektierten Stoffen war für die beiden RP-Säulen #3 (n = 20) und #5 (n = 23) zu verzeichnen. Dies war zu erwarten, da die meisten Stoffe aufgrund der hohen Polarität im Totvolumen von RP-Säulen eluieren und oftmals starken Suppressionseffekten unterliegen.

Mit der MMC-Säule *Trinity Acclaim P1* (#17) wiesen 34 (von 41 detektierten) Stoffe einen Kapazitätsfaktor  $k > 1$  auf und stellten damit hinsichtlich Retention das beste Ergebnis dar. Es zeigte sich jedoch, dass fast alle Substanzen, welche nicht retardiert wurden, einen negativen logD-Wert hatten. Es wird vermutet, dass die nicht erfassten Stoffe bei einem pH-Wert von 6,5 (Puffer) nicht ionisch vorliegen und demnach keine Wechselwirkung mit den Ionentauschern eingehen, gleichzeitig für eine Wechselwirkung mit der RP-Phase jedoch zu polar sind. Diese Annahme konnte durch pH-abhängige Ladungsberechnungen gestützt werden. Die MMC scheint eine sehr

gute Trenntechnik zur Abdeckung eines breiten Polaritätsbereichs zu sein. Allerdings gehen sehr polare, aber neutral vorliegende Stoffe (ähnlich wie bei der IC oder CE) ggf. verloren. Bei den Retentionsversuchen fiel auf, dass für verschiedene Säulen Unterschiede in der IT zu verzeichnen waren. Daher wurde dieser Aspekt eingehender untersucht.

#### b) Untersuchung der Ionentransmission (IT)

Es wurde vermutet, dass Säulenbluten für die teilweise schlechte Ionentransmission verantwortlich ist. Daher wurden 17 verschiedene HPLC-Säulen ohne Probeninjektion bei verschiedenen Gradientenzusammensetzungen ins HRMS-Gerät überführt und das TIC sowie die IT betrachtet (Abb. 1).

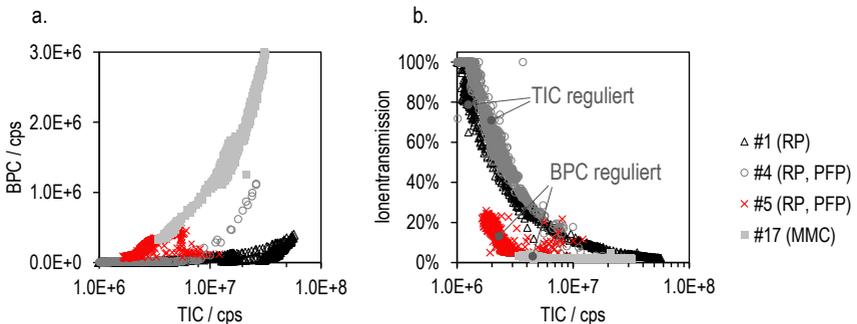


**Abbildung 1** Übersicht des Gesamtionenstroms (TIC, oben) sowie der Ionentransmission (unten) für alle 17 untersuchten Säulen sowie ohne Säule (#18, Verbindung LC-Gerät direkt mit HRMS ohne HPLC-Säule) bei verschiedenen Gradientenstufen (% ACN).

Generell zeigte sich bei allen Säulen (sowie ohne HPLC-Säule), dass die IT bei geringeren ACN-Anteilen höhere Werte aufweist. Dies könnte dadurch zu erklären sein, dass i) ACN stärker verunreinigt ist als Labor-Reinstwasser und/oder ii) die Ionisierungseffizienz mit steigendem ACN-Anteil zunimmt und damit ubiquitäre Systemblindwerte höhere Signale verursachen. Die untersuchten RP-Säulen #1 bis #4 zeigten eine vergleichbar gute IT, welche bei geringen ACN-Anteilen auch 100 % erreichte. Säulenbluten scheint bei RP-Säulen tendenziell einen weniger großen Einfluss zu haben. Bei den untersuchten HILIC-Säulen konnten teils große

Unterschiede festgestellt werden. Interessanterweise konnten diese oftmals auch zwischen gleichen stationären Phasen unterschiedlicher Hersteller erkannt werden. So konnte mit der HILIC-Säule #8 eine deutlich bessere Ionentransmission als mit HILIC-Säule #10 erreicht werden, obwohl beide stationäre Phasen eine Sulfobetain-Struktur aufweisen. Dies könnte ggf. auf Unterschiede im Fabrikationsprozess zurückzuführen sein. Es wird daher im Zuge der Methodenentwicklung empfohlen, stets gleiche stationäre Phasen unterschiedlicher Hersteller zu testen. Unterschiedliche Säulendimensionen gleicher Hersteller (bspw. #12 gegen #13) scheinen dagegen eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Entgegen der Erwartung zeigte sich beim Vergleich der beiden Pentafluorphenylphasen (#4 und #5), dass trotz ähnlichem TIC extreme Unterschiede in der Transmission zu verzeichnen waren. Bei der Betrachtung der Spektren fiel auf, dass im Fall von #5 das Säulenbluten durch eine sehr dominante Störmasse erzeugt wurde, während bei #4 die Störmassen gleichmäßiger verteilt waren. Es wurde daher vermutet, dass die individuelle Störmasse die Ionentransmission deutlich reduziert, gleichwohl das TIC noch deutlich höhere Werte zulassen würde. In Abb. 2 sind diese Unterschiede für vier Säulen aufgezeigt. Bei den Säulen #1 und #4 waren die Störmassen (durch Säulenbluten) tendenziell gleichmäßiger verteilt. Dies zeigte sich auch durch eine verhältnismäßig geringe Intensität im BPC. Im Gegensatz hierzu war bei #5 und #17 jeweils eine dominante Störmasse vorhanden (BPC höhere Werte). In Abb. 2b. zeigt sich, dass bei gleicher TIC-Intensität deutlich unterschiedliche IT generiert werden. Säulen, welche einen eher gleichverteilten Untergrund aufweisen, sind demnach TIC reguliert, während bei einzelnen dominanten Störmassen die BPC-Regulierung greift. Im Resultat führt die BPC-Regulierung zu einer deutlich geringeren IT und damit zu schlechterer Empfindlichkeit und einem geringeren linearen dynamischen Bereich.



**Abbildung 2** a. Basepeakchromatogramm (BPC) gegen das Totalionenchromatogramm (TIC) und b. Ionentransmission gegen das Totalionenchromatogramm (TIC) jeweils für eine Auswahl von 4 HPLC-Säulen (#1, #4, #5 und #17).

## Schlussfolgerung und Ausblick

In dieser Arbeit wurden verschiedene HPLC-Säulen hinsichtlich Retentionsfaktoren verglichen. Die MMC-Säule *Trinity Acclaim P1* wies in Summe das beste Retentionsverhalten für die getestete Substanzauswahl auf.

Bei weiteren Untersuchungen zeigte sich, dass das Säulenbluten einen sehr starken Einfluss auf die analytische Performance haben kann. Während bei RP-Säulen nur ein geringer Einfluss erkannt wurde, konnten bei HILIC- oder MMC-Säulen extreme Einschränkungen durch die Ionentransmission festgestellt werden. Es konnte gezeigt werden, dass gleiche stationäre Phasen unterschiedlicher Hersteller markante Unterschiede aufwiesen. Es wird daher empfohlen, die Ionentransmission bereits bei der Methodenentwicklung zu überwachen und LC-Säulen mit gleicher stationärer Phase von unterschiedlichen Herstellern zu testen.

Eine kürzlich entwickelte Methode Namens „Boxcar“<sup>[7]</sup> könnte hier Abhilfe schaffen. Anstatt den gesamten MS1 scan simultan zu erfassen, werden mehrere MS1-Fenster sequenziell analysiert (analog Swath-Akquisition im MS2), um somit die Transmission und damit den linear-dynamischen Bereich groß zu halten. In zukünftigen Arbeiten soll dies eingehender untersucht werden.

## Literatur

- [1] U. Berger et al., Assessment of persistence, mobility and toxicity (PMT) of 167 REACH registered substances, Umweltbundesamt, **2018**.
- [2] T. Reemtsma et al, *Environ. Sci. Technol.* **2016**, *19*, 10308-10315.
- [3] S. Bieber et al., *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 7907-7912.
- [4] K. Zhang et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2016**, *128*, 73-88.
- [5] B. Buszewski et al., *Anal. Bioanal. Chem* **2012**, *402*, 231-247.
- [6] M. K. Parr et al., *Anal. Bioanal. Chem* **2016**, *408*, 6789-6797.
- [7] F. Meier et al. *Nat. Methods* **2018**, *15*, 440-448.

## **Judge- and assessment of high resolution mass spectrometry investigations of DOM - Examples for identification of biogeochemical processes in waters**

P. Herzsprung, N. Kamjunke, W. von Tümpling, C. Wilske, Magdeburg/D,  
T. Reemtsma, O.J. Lechtenfeld, Leipzig/D

Dr. Peter Herzsprung, Helmholtzzentrum für Umweltforschung UFZ, Brückstraße 3a,  
Magdeburg/D

### **Introduction**

Dissolved organic matter (DOM) consists of various complex structures, thousands or even millions of different molecules. The identification of the isomeric structure of each molecule is still far from any instrumental analytical realization [1]. The highest analytical resolution of DOM, which is the elemental composition of components, can be achieved by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FTICR-MS) [2-5]. Nevertheless with the high resolution attempts it can be possible to identify aquatic biogeochemical processes by investigating water samples as function of time and / or space. In the case of water body monitoring as function of depth and season or time rather small abundance variations can be expected due to mixing effects of the water body.

### **Methods**

The time and or space dependend collected water samples are filtered and extracted via solid phase extraction (SPE) [4]. The methanolic extracts are measured with negative electrospray ionization using an FTICR mass spectrometer [4]. The mass peaks are assigned to molecular formulas [3,6-7]. While the above mentioned sample preparation, the FTICR-MS measurements and the formula assignment can be read in the literature, the focus of our study is on the comparison of samples with rather similar DOM quality. That means, often the major part of the mass peak intensities is occupied by components which are present in all samples (total common presence) of a data set. Two different methods (1) inter sample ranking and (2) slope judgement from regression are discussed.

### **Results**

1 – Inter sample ranking

a) The total common present components can be used for calculation of intensity ranking of each sample in separate and from those ranking the calculation of the inter sample ranks [8-10] (table 1).

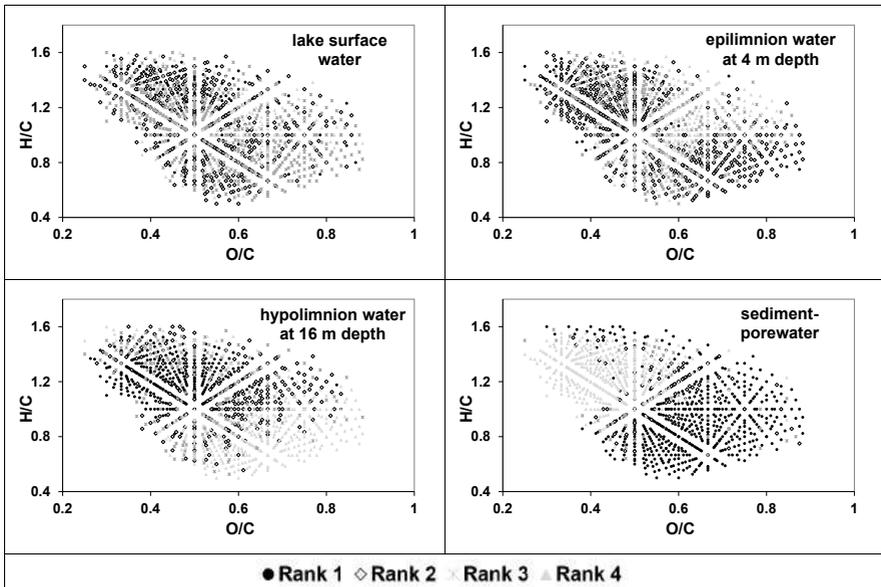
**Table 1** Example for calculation of inter sample ranks [8]

C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>11</sub>	Rank within 638 formulas	Rank within 4 samples
Rote Mulde*, March 2009	124	4
Rote Mulde*, April 2009	86	3
Rote Mulde*, July 2009	36	1
Rote Mulde*, August 2009	52	2

\*Rote Mulde is the left spring creek of the River Zwickauer Mulde, German Elbe catchment

The component C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>11</sub>, oxygen-rich and relatively unsaturated, showed relative higher intensity (lower rank values) in summer months (July, August) compared to spring (March, April). This is expressed by the calculated inter sample ranks shown in Table 1 (rank within 4 samples).

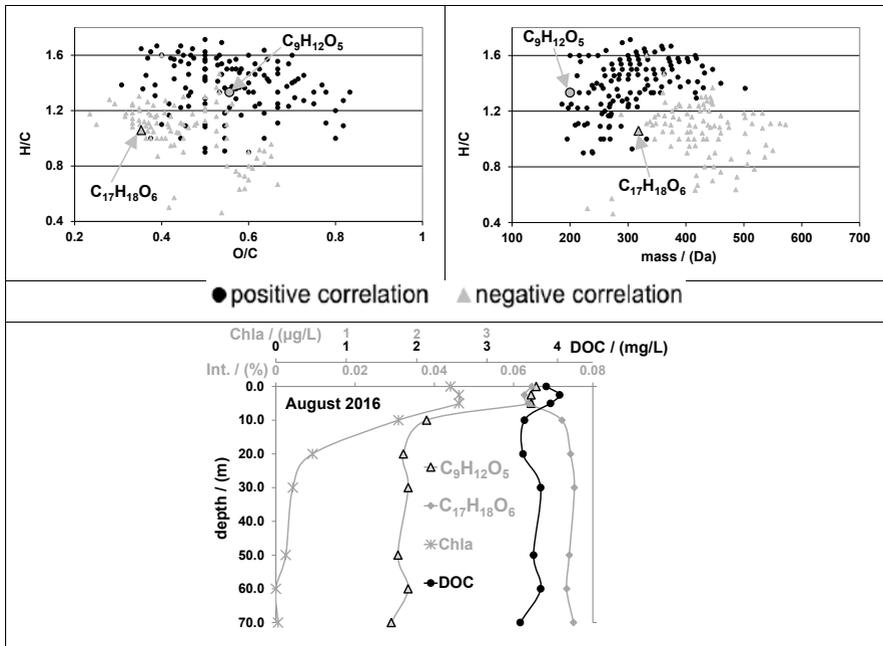
b) Inter sample ranks also can be visualized in van Krevelen diagrams for comparison of DOM quality in different samples [10]. For each sample a diagram is shown with total common present components as function of their inter sample ranking.



**Figure 1** Inter sample ranking analysis of four different water bodies in a predam of the Rappbode drinking water reservoir in the Harz Mountains [10]

In figure 1 different depths of the Rappbode predam are shown. In the sediment pore-water oxygen-rich and relatively unsaturated components (polyphenol-likes) show relative higher intensities compared to the bottom water (hypolimnion). The epilimnion water showed intermediate relative intensities for such components, less compared to the sediment pore-water and more compared to the hypolimnion water. Using this inter sample ranking analysis, hypotheses addressing processes could be deduced. The oxygen-rich and relatively unsaturated components are potentially adsorbed to ferric iron particles under oxic conditions and are potentially released under unoxic conditions if solid ferric iron is reduced to water soluble ferrous iron [10].

c) Furthermore the inter sample ranks also can be used for calculation of Spearman's rank correlation with external parameters, like the fluorescence intensity [8-9] or the concentration of chlorophyll a (Chla). In figure 2 top left and right significant positive and negative correlating components ( $p < 0.005$ ,  $n = 60$ ) are shown.



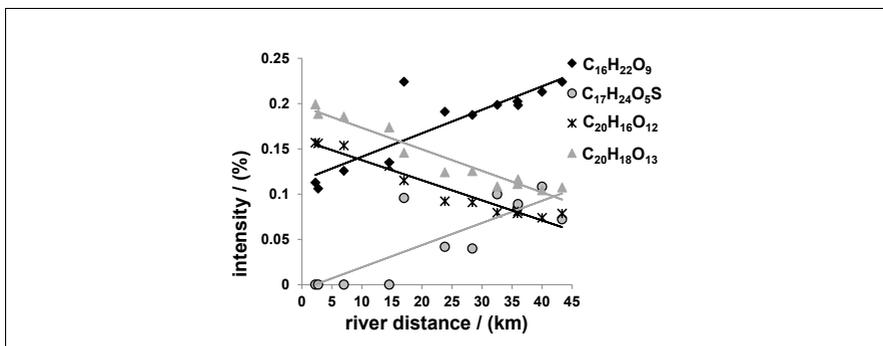
**Figure 2** Rank correlation of elemental formula components with Chla concentrations in a drinking water reservoir Rappode (Harz mountains) using samples from different water depths and different seasons and depth profile of DOC, Chla, and relative component intensities in August 2016

The components can be visualized in van Krevelen diagrams not only as function of the sign of the correlation as shown in figure 2 but also as function of the levels of significance of correlation [8-9]. The highly significant correlating components have potentially the highest abundance (relative intensity) differences in the investigated samples. An example is shown in figure 2 bottom for the components  $C_9H_{12}O_5$  and  $C_{17}H_{18}O_6$ .

The rank correlation with external parameters as shown in figure 2 top left and right helps to find out components with potential large abundance differences in samples. The Rappbode Reservoir was monitored in 2016 in each eight or nine different depths and at seven different month (from January to December). The correlation to Chla was calculated because Chla is depending on light. As one result, components could be identified like  $C_9H_{12}O_5$  to correlate positively with Chla. This component was identified in another experiment as potential product of photochemical degradation processes. The component  $C_{17}H_{18}O_6$  correlated negatively with Chla. It was identified to be photo degraded in the other experiment. The photo product  $C_9H_{12}O_5$  was evidently accumulated in the epilimnion during lake stratification whereas the photo degraded component  $C_{17}H_{18}O_6$  was depleted.

## 2 - Slope judgement from regression

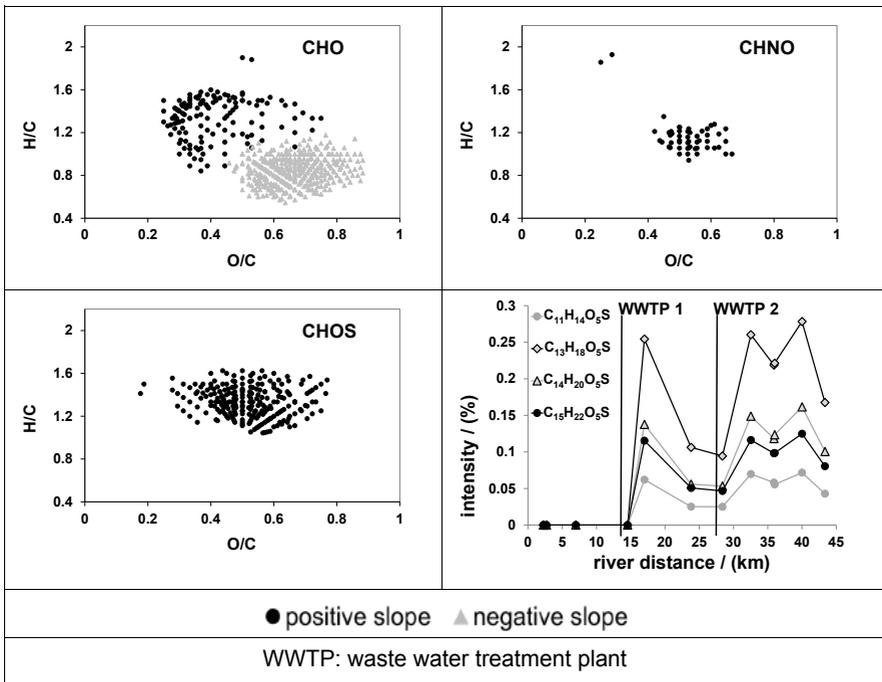
While the Spearman's rank correlation represents a robust (distribution free) method for relation of elemental formula data sets to external parameters, the slope of a linear regression is an alternative to receive DOM quality differences on a more semi-quantitative level. Here the slopes are calculated component-wise using their relative intensities as function of an external parameter like the distance of sampling along a river transect. The principle is shown in figure 3. Along the Holtemme River, a tributary of the Bode River in the Harz Mountains in the Saale catchment area, 12 samples were taken [11].



**Figure 3** Examples for different slopes of linear regressions, component abundances versus river distance [11]

The components can be visualized again in van Krevelen diagrams as function of their slopes. In figure 4 top left and right and bottom left the component slopes are grouped in positive and negative ones for CHO, CHNO, and CHOS separately.

The linear regression as shown in figure 3 helped to identify components which change abundance along a river transect, here along the Holtemme River in the Harz Mountains as function of land use [11]. Polyphenol-like components showed negative slopes potentially due to dilution (by tributaries) of the head water stream containing high amounts of humic substances (figure 4 top left). In contrast, CHNO and CHOS abundances were increased along this river (figure 4 top right and bottom left). CHNO were hypothesized to be discharged from diffuse sources from agriculture or communal waste water. The CHOS showed a clear response (abundance increase) to the waste water treatment plants (figure 4 bottom right). They were identified to be potentially metabolites of surfactants [11].



**Figure 4** Visualization of positive and negative regression slopes of different components (CHO, CHNO, CHOS) in van Krevelen diagrams and profiles of relative intensities of four selected CHOS components (bottom left) [11]

## Conclusions

The presented elemental formula data evaluation methods are appropriate to distinguish the DOM quality in different water body samples on a molecular level. The investigation of DOM quality changes as function of time and / or space can be a tool for understanding biogeochemical processes, for example photo degradation, microbial consumption, adsorption or desorption from minerals. The investigation of such processes in drinking water reservoirs (like the Rappbode reservoir) is also of social interest, because increasing levels of DOC in drinking water reservoirs pose serious challenges for processing and the commercial supply of drinking water.

## References

- [1] J.A. Hawkes, C. Patriarca, P.J.R. Sjöberg, L.J. Tranvik, J. Bergquist, *Limnol. Oceanogr. Let.* **2018**, 3, 21-30
- [2] T. Reemtsma, A. These, A. Springer, M. Linscheid, *Water Res.* **2008**, 42, 63-72
- [3] N. Hertkorn, M. Frommberger, M. Witt, B.P. Koch, P. Schmitt- Kopplin, E.M. Perdue, *Anal. Chem.* **2008**, 80, 8908-8919
- [4] J. Raeke, O.J. Lechtenfeld, M. Wagner, P. Herzsprung, T. Reemtsma, *Environ. Sci.: Proces. & Imp.* **2016**, 18, 918-927
- [5] N. Kamjunke, W. von Tümpling, N. Hertkorn, M. Harir, P. Schmitt-Kopplin, H. Norf, M. Weitere, P. Herzsprung, *Water Res.* **2017**, 123, 513-523
- [6] B.P. Koch, T. Dittmar, M. Witt, G. Kattner, *Anal. Chem.* **2007**, 79, 1758-1763
- [7] P. Herzsprung, N. Hertkorn, W. von Tümpling, M. Harir, K. Friese, P. Schmitt-Kopplin, *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, 406, 7977-7987
- [8] P. Herzsprung, W. von Tümpling, N. Hertkorn, M. Harir, O. Büttner, J. Bravidor, K. Friese, P. Schmitt-Kopplin, *Environ. Sci. Technol.* **2012**, 46, 5511-5518
- [9] P. Herzsprung, K. Osterloh, W. von Tümpling, M. Harir, N. Hertkorn, P. Schmitt-Kopplin, R. Meissner, S. Bernsdorf, K. Friese, *Sci. Total. Environ.* **2017**, 586, 770-781
- [10] T. Dadi, M. Harir, N. Hertkorn, M. Koschorreck, P. Schmitt-Kopplin, P. Herzsprung, *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 13705-13713
- [11] N. Kamjunke, N. Hertkorn, M. Harir, P. Schmitt-Kopplin, C. Griebler, M. Brauns, W. von Tümpling, M. Weitere, P. Herzsprung, *Water Res.* **2019**, 164, 114919

## Diskriminierungsfreie Aufkonzentrierung von Wasserproben mittels der Mikrowellentechnik

J. Funke<sup>1</sup>, V. Valkov<sup>1</sup>, P. Balsaa<sup>1</sup>, T. C. Schmidt<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>) IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH, Moritzstraße 26, 45476 Mülheim an der Ruhr

<sup>2</sup>) Universität Duisburg-Essen, Instrumentelle Analytische Chemie und Zentrum für Wasser- und Umweltforschung, Universitätsstraße 5, 45141 Essen

### 1. Einleitung

Die EU-Wasserrahmenrichtlinie (EU-WRRL) dient dazu, die Qualität des Oberflächenwassers in der EU zu verbessern. Zur Beschreibung des chemischen Zustandes sind für ausgewählte organische Spurenstoffe individuelle Umweltqualitätsnormen (UQN) festgelegt worden. [1] Für einige östrogenwirkende Substanzen und halogenierte Pflanzenschutzmittel wurden analytische Nachweisgrenzen von  $< 1$  ng/L festgelegt. [2]

Die vorgegebenen methodischen Nachweisgrenzen sind mit LC-MS-MS-Direktinjektionsmethoden häufig nicht zu erreichen, da zum einen die Empfindlichkeit der entsprechenden massenspektrometrischen Detektoren nicht ausreicht und zum anderen Matrixeffekte zu Signalsuppressionen führen können.

Anreicherungsmethoden, die auf Festphasen (SPE) basieren, sind *a priori* diskriminierend für Analyten, dementsprechend sind Verfahren vorteilhafter, in denen der benötigte Anreicherungsfaktor durch Einengen des Wasservolumens erreicht wird.

Ziel dieser Arbeit sollte die Aufkonzentrierung der Analyten durch Verdampfung der Wasserphase mit Hilfe von Mikrowellenstrahlung sein. Es wurden die Stabilität der Analyten gegenüber Mikrowellenstrahlung, ihr Anreicherungsverhalten und die Methodik der Verdampfung selbst evaluiert. Zusätzlich sollte überprüft werden, ob die angereicherte Matrix der unterschiedlichen Wasserproben einen Einfluss auf die chromatographische Trennung hat.

### 2. Methodik

Die eingesetzte Labormikrowelle Discover SP (CEM GmbH) wurde drucklos im Laborabzug betrieben (Abb. 1). Dazu wurde die Probe in ein Reagenzglas (RG) (150 mL) gefüllt, in die Mikrowelle eingesetzt und für eine Dauer von 20 min mit einer Leistung von 300 W bestrahlt. Bei einer Wassersäule von mind. 10 cm ist eine Durchmischung des Wassers erforderlich, um Siedeverzüge zu vermeiden. Daraufhin wurden verschiedene Varianten, wie Siedesteine, Glaskugeln, sowie das Einblasen von Stickstoff getestet. Insbesondere die Abführung des Wasserdampfes muss sichergestellt sein, denn Kondensation an der RG-Wand kann zu Problemen, wie bspw. Verschleppung führen. Zur Optimierung der Verdampfungsbedingungen wurden Proben mit Reinstwasser und aufgestocktem Reinstwasser verwendet. Die ersten Anreicherungsversuche wurden mit

Östrogenen getestet, die anschließend mit einer LC-MS-MS-Methode bestimmt wurden. Die Praxistauglichkeit wurde anhand von Realproben (Oberflächen-, Roh- und Trinkwasser) geprüft.



Abbildung 1: Eingesetzte Labormikrowelle.

### 3. Ergebnisse

Die höchste Priorität besaß die Optimierung des Verdampfungsprozesses selbst, da die Strahlungsleistung, die Zeit, sowie die Wasserdampfabführung essentielle Faktoren waren. Es zeigte sich, dass die maximale Strahlungsleistung von 300 W nur verwendet werden konnte, wenn kein Siedeverzug auftrat. Hierzu lieferte das Einblasen von Stickstoff auf den RG-Boden die besten Ergebnisse. Siedesteine und Glasperlen reichten nicht aus, um den Siedeverzug zu vermeiden. Der Versuchsaufbau wurde im Laborabzug eingerichtet, so konnte die kontinuierliche Luftabsaugung den Wasserdampf sehr gut abführen. Innerhalb von 20 min war es möglich ein Probenvolumen von 100 mL Wasser auf 5 - 10 mL einzuengen (Aufkonzentrierungsfaktor 10 bzw. 20).

Für die untersuchten Östrogene Estron (E1), Estradiol (E2) und 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol (EE2) konnten gute Wiederfindungsraten (WFR) von über 90% in matrixfreien Wässern ermittelt werden. Dementsprechend sind die methodischen Nachweisgrenzen der Watchlist bereits im LC-MS-MS-Direktinjektionsverfahren erreichbar.

In den getesteten Oberflächen- und Trinkwasserproben führte die Aufkonzentrierung zu einer Niederschlagsbildung, welche auf ausgefallene anorganische Salze (hauptsächlich schwerlösliche Carbonate) zurück zu führen war. Trotz der ausgefallenen Salze zeigten die Östrogene gute WFR und spiegeln somit die Stabilität unter den Versuchsbedingungen wider. Die angereicherte Matrix hatte dabei keinen Einfluss auf die Chromatographie, Signalsuppressionen wurde nicht beobachtet.

## 4. Fazit

Im Projekt konnte bisher gezeigt werden, dass die Aufkonzentrierung von Wasserproben mit Mikrowellenstrahlung innerhalb weniger Minuten möglich ist. Die Verdampfung war robust, reproduzierbar und einfach durchzuführen. Die Vielseitigkeit dieser Methode zeigte sich auch darin, dass die Analyten nur zwei relevante Kriterien erfüllen müssen: 1) Thermische Stabilität in Wasser (bis 100 °C); 2) inert gegenüber Mikrowellenstrahlung. Zukünftig soll es möglich sein, die einfache Form der Anreicherung zu automatisieren und die angereicherte Probe direkt in ein chromatographisches System zu injizieren.

## 5. Danksagung

Die Autoren danken dem BMWi im Rahmen des ZIM-Programms (FKZ: 4575102RE8) für die finanzielle Unterstützung und dem Projektpartner SIM, sowie CEM für die Bereitstellung der Mikrowelle.

## 6. Referenzen

[1] Richtlinie 2008/105/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Umweltqualitätsnormen im Bereich der Wasserpolitik und zur Änderung und anschließenden Aufhebung der Richtlinien des Rates 82/176/EWG, 83/513/EWG, 84/156/EWG, 84/491/EWG und 86/280/EWG sowie zur Änderung der Richtlinie 2000/60/EG.

[2] Durchführungsbeschluss (EU) 2018/840 der Kommission 5. Juni 2018.

## Detection of discharge events in the sewer network by online solid-phase extraction – liquid chromatography – tandem mass spectrometry

<sup>1</sup>N. Köke, Idstein/D, <sup>1</sup>T. Frömel, Idstein/D, <sup>2</sup>F. Hauser, Wiesbaden/D, <sup>2</sup>M. Pütz, Wiesbaden/D, <sup>1</sup>T. P. Knepper, Idstein/D

<sup>1</sup>Hochschule Fresenius gem. GmbH, Limburger Straße 2, 65510 Idstein

<sup>2</sup>Bundeskriminalamt, KT 45, 65173 Wiesbaden

Corresponding author: T. P. Knepper, knepper@hs-fresenius.de

### 1. Introduction

Wastewater-based epidemiology (WBE) is a useful tool to estimate drug consumption at a population level, but has weaknesses in differentiating between consumption, direct discharge of drugs or discharge of production waste [1][2]. Illegal production of drugs (e.g. amphetamine following the Leuckart route [3]) or the conversion of precursors ( $\alpha$ -phenylacetoacetonitrile (APAAN) to benzyl methyl ketone (BMK)) may have an impact on the environment, if production waste (20-30 kg waste is produced for 1 kg amphetamine with the Leuckart route [4]) is discharged in the environment like the sewer network [5][6]. This was demonstrated by Emke et al., who showed that discharges of amphetamine production waste can cause malfunctions in municipal wastewater treatment plants (WWTP) [4].

The aim of this work was to setup and install a liquid chromatograph-mass spectrometer (LC-MS/MS) system in a WWTP, which was able to collect samples from various locations within the WWTP area. An automatic sampling procedure (sampling frequency of ten minutes) and an online solid-phase extraction – liquid chromatography-tandem mass spectrometry (oSPE-LC-MS/MS) method was developed to detect discharge events from amphetamine and methamphetamine production wastes. This method was validated according to standard parameters like linear range, instrumental limit of detection (LOD) and quantification (LOQ), repeatability, accuracy, recovery and matrix effects. Samples containing small amounts of target substances (production markers, precursors and drugs like amphetamine (AMPH), N-formylamphetamine (NFA), diphenylisopropylamine (DPIA), 4-methyl-5-phenylpyrimidine (4M5PP), 3-oxo-2-phenylbutanamide (APAA), methamphetamine (METH), ephedrine (EPHE), N-formylmethamphetamine (NFMA), methylenedioxy-N-methylamphetamine (MDMA), cocaine (COC) or benzoylecgonine (BE)) were discharged in the sewer network by the Bundeskriminalamt (BKA).

### 2. Materials and methods

#### 2.1 Sampling procedure

The sampling procedure comprised three steps. In the first step, wastewater was pumped (50 L/min) with a submersible pump from a selected point of the WWTP in a tank (A, 500 L), which was stirred permanently and resulted in a replacement of wastewater every ten minutes (cf. Figure 1). In the second step, wastewater from the tank was pumped with 100 mL/min through a filter membrane (0.45  $\mu$ m, polycarbonate) into a vessel (B, 1 L), which was also stirred permanently. In the last step, a PAL3 RTC 850 autosampler (CTC Analytics AG, Zwingen, Switzerland) was utilized to inject the sample directly from the vessel into the LC-MS. The PAL3

autosampler was equipped with a syringe module holder (including three syringes with a volume of 1  $\mu\text{L}$ -100  $\mu\text{L}$ , 250  $\mu\text{L}$ -1000  $\mu\text{L}$  and 1000  $\mu\text{L}$ -10000  $\mu\text{L}$ ), a Peltier cool stack, a fast wash station and an injection port with a sample loop of 1 mL. Additionally, the PAL3 was programmed to collect a sample from a vessel that was placed directly under the PAL3 (cf. Figure 1, B) and to collect an internal standard solution (isotopically-labelled target analytes) prior to sample collection and injection.

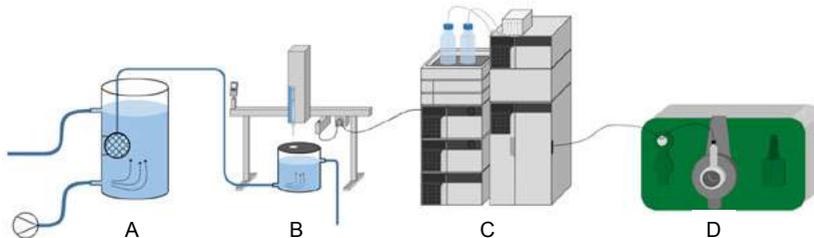


Figure 1: Scheme of the sampling procedure (A and B) and the LC-MS (C and D). Wastewater was pumped into the tank (A) and a second pump transferred the mixed wastewater from the tank through a filter membrane (0.45  $\mu\text{m}$ ) into a vessel (B). A PAL3 autosampler injected a mixed sample from the vessel in the LC-MS (C and D).

## 2.2 oSPE-LC-ESI( $\pm$ )-MS/MS method

The oSPE-LC-MS/MS method was performed with a Shimadzu Nexera LC (Duisburg, Germany), consisting of three binary pumps (LC20AD XR), two degassers and a column oven where the analytical column, SPE column and two 2-position/6-port valves were placed. Pump A and B were responsible for a water/acetonitrile gradient, containing 5 mM ammonium formate at pH 3, at any time and pump C was responsible for the enrichment of the sample on the SPE material. Chromatographic separation was achieved using a MZ-AquaPerfect C18 column (MZ Analysentechnik, Mainz, Germany, 50 x 2.1 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) and a corresponding guard column (10 x 2.1 mm, 5  $\mu\text{m}$ ). The combined flow rate of pump A and B was set to 750  $\mu\text{L}/\text{min}$ , the oven temperature to 40°C and the injection volume was set to 10  $\mu\text{L}$ .

oSPE was performed using an Oasis HLB Online Column (Waters, Milford, USA, 2.1 x 20 mm, 25  $\mu\text{m}$ ). Configuration 1 was used and pump C pumped the sample through the HLB column with 2 mL/min deionized water (cf. Figure 2). Both valves changed to configuration 2 after 1.9 minutes and retained analytes were eluted using the LC gradient.

The HPLC was connected to an AB Sciex QTrap 5500 (Sciex, Darmstadt, Germany), composed of an ESI source, a triple quadrupole mass analyzer, where the third quadrupole was able to work also as a linear ion trap, and a channel electron multiplier.

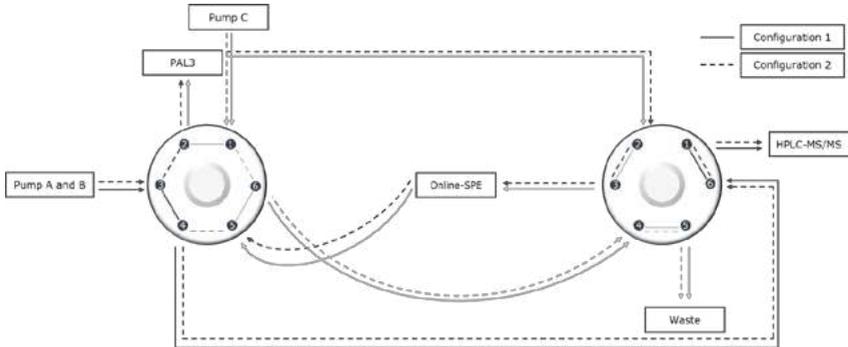


Figure 2: Valve configurations for oSPE-LC-ESI(±)-MS/MS analysis. Configuration 1 (continuous lines) was used to load the sample on the HLB material and reequilibration/conditioning. Configuration 2 (dashed lines) was used for elution and subsequent LC-MS analysis.

### 2.3 Validation

To determine the linear range for each analyte, repeatability ( $RSD \leq 30\%$ ) and accuracy (70% - 130%), eight calibration standards were analyzed in triplicate. Instrumental limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were calculated with S/N of 3 or 10, respectively, of the lowest calibration standard. The recoveries and matrix effects ((-) indicating ion suppression, (+) indicating ion enhancement) were calculated using the 10xLOQ standard and WWTP influent as matrix.

### 2.4 Discharge experiments

100 mL of an unknown sample containing typical compounds from a drug production was discharged by the BKA at an unknown time in the sewer network before the WWTP influent, which had a volume of approximately 30000 L. The submersible pump was placed directly in the WWTP influent.

### 3. Results and discussion

#### 3.1 Validation

Table 1: Validation of the oSPE-LC-MS/MS method. The method was validated according to the linear range, repeatability (%RSD < 30%), accuracy (70-130%), instrumental LOD and LOQ, recoveries and matrix effects (-) indicating ion suppression, (+) indicating ion enhancement)

Substance	Lin. Range (µg/L)	Regression (R <sup>2</sup> )	Repeatability (%RSD)	Accuracy (%)	Instrumental LOD <sub>i</sub> (µg/L)	Instrumental LOQ <sub>i</sub> (µg/L)	Recovery (%)	Matrix effects (%)
AMPH	5-125	0.993	6.8	75-113	0.25	0.82	94	-14
NFA	1.5-150	0.999	4.2	92-110	0.13	0.45	94	+1
DPIA	0.5-50	0.994	9.1	72-122	0.04	0.13	70	-10
4MSPP	15-750	0.999	4.9	86-113	2.89	9.64	89	+5
APAA	5-500	0.998	6.5	87-113	0.59	1.97	100	+1
METH	1.5-75	0.998	4.7	91-113	0.09	0.30	98	-7
EPHE	1-50	0.990	8.3	70-114	0.06	0.19	111	-2
NFMA	2.5-250	0.999	3.3	92-110	0.81	2.69	96	+5
MDMA	1-50	0.990	4.6	74-117	0.02	0.08	120	-4
COC	1.5-37.5	0.995	4.2	89-113	0.08	0.28	105	-5
BE	1.5-75	0.993	7.0	77-114	0.10	0.33	130	+14

## 3.2 Discharge experiments

A concentration of 29 µg/L of EPHE and 8 µg/L of METH was determined 30 minutes after the start of the discharge experiment. Methamphetamine can be produced following different synthesis routes like the Leuckart or Nagai route. Each synthesis route has precursors, reagents and markers that provide information by which route methamphetamine was produced, like BMK, NFMA and MA for the Leuckart route. Using the Nagai route, EPHE is used as precursor and BMK could be produced as reaction by-product. BMK was not detected in this experiment, but preliminary tests had already shown that BMK cannot be detected when the current filter membrane is used, which might be caused by adsorption. Since no other marker of another synthesis route was detected, the assumption of a discharge of a methamphetamine production waste following the Nagai route was suggested and confirmed by the BKA.

## 4. Conclusion

The developed setup and method showed that it was possible to analyze wastewater with a sampling frequency of ten minutes and to detect and quantify discharges of drug production waste in the environment. The results demonstrated also that it was feasible to acquire real-time data from WWTP influent with a LC-MS system with average recoveries of 101% ( $\pm 16\%$ ) and matrix effects of -1.5% ( $\pm 8\%$ )).

Beside the presented work, this setup and method has a high potential for many other applications. Real-time monitoring of various waters and substance classes like pesticides, pharmaceuticals or industrial chemicals in the aquatic environment could be performed autonomously.

## Acknowledgement

This work has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 787128 (Project SYSTEM). The contents of the poster are the sole responsibility of the authors and can in no way be taken to reflect the views of the European Commission.

## References

- [1] A.L.N. van Nuijs et al. Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: A critical review; *Science of the Total Environment* 409, 3546-3577, 2011
- [2] Tomáš Mackul'ak, Jaroslav Škubák, Roman Grabic, Miloslav Drtil & Igor Bodík (2014): Comparison of illicit drug use in three selected towns in Slovakia by wastewater analysis, *Urban Water Journal*, DOI: 10.1080/1573062X.2014.949797
- [3] F. Hauser et al., Identification of specific markers for amphetamine synthesised from the pre-precursor APAAN following the Leuckart route and retrospective search for APAAN markers in profiling databases from Germany and the Netherlands. *Drug Test. Anal.* 2017. doi:10.1002/dta.2296.
- [4] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. 2016 EU Drug Markets Report: In-depth Analysis. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2016.

- [5] E. Emke, et al., Wastewater-based epidemiology generated forensic information: Amphetamine synthesis waste and its impact on a small sewage treatment plant, *Forensic Sci. Int.* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.03.019>
- [6] Netherlands Police Agency Dismantling Facility (LFO). Conversion of APAAN ( $\alpha$ -phenylacetoacetonitrile) into BMK (benzylmethylketone). 2013

## Abbauverhalten von „Quorum Sensing“-Substanzen bezüglich oxidativer Halogenierung

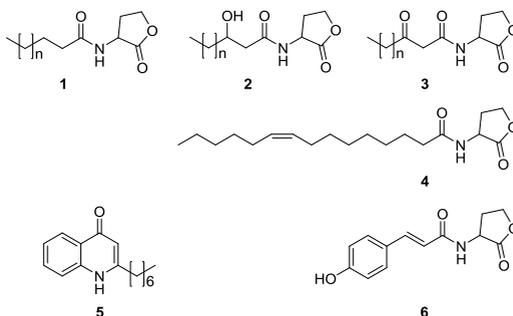
Keltsch, N.G. Koblenz/D, Dietrich, C. Koblenz/D, Wick, A. Koblenz/D, Ternes, T.A. Koblenz/D

Nils G. Keltsch, Bundesanstalt für Gewässerkunde, Am Mainzer Tor 1, 56068 Koblenz

### Einleitung

Quorum Sensing (QS) beschreibt ein chemisches Kommunikationssystem, welches Bakterien nutzen, um die Zelldichte der Population zu messen bzw. zu regulieren. Diese Kommunikationssysteme können artspezifisch sein, aber auch zwischen verschiedenen Arten vorkommen und dienen dazu, Prozesse zu koordinieren, die ineffizient wären, wenn sie nur von einzelnen Zellen durchgeführt würden. Beispiel für solche Prozesse sind die Biolumineszenz von Meeresalgen sowie die Bildung von Biofilmen [1].

In Abbildung 1 sind Beispiele für QS-Moleküle gezeigt, wie verschiedene Homoserinlactone (HSL) oder 2-Heptyl-4-hydroxychinolin (HHQ). Je nach Bakterienart können sich QS-Moleküle in ihrer Struktur und somit auch stark in ihrer Stabilität unterscheiden [2]. Letztere wird durch verschiedene Abbauprozesse wie abiotische und biotische Hydrolyse sowie Oxidation bestimmt und ist in der Regel stark vom pH-Wert abhängig [3]. Die einzelnen Molekülbausteine, wie z.B. Doppelbindung, aromatische Teilstrukturen oder auch Keto-Gruppen, können diese maßgeblich beeinflussen.



**Abbildung 1** Beispiele für unterschiedliche QS-Moleküle (HSL (1), 3-OH-HSL (2), 3-Oxo-HSL (3), C<sub>14:1</sub>-HSL (4), HHQ (5), p-Coumaroyl-HSL (6)). n = ganzzahlig

Die Marine Rotalge *Delisea pulchra* nutzt solche Abbauprozesse zum Schutz vor Biofouling, indem sie QS-Moleküle durch das Enzym Vanadium-Bromoperoxidase mithilfe von katalytisch gebildeten Hypobromit oxidativ bromiert [4]. Auf dieser Grundlage sollen enzymmimetische Nanopartikel, wie beispielsweise Ceroxid-Nanopartikel, die Antifoulingwirkung derartiger Enzyme nachahmen. In Zukunft könnten diese Nanopartikel als umweltfreundliche Alternative zu herkömmlichen Bioziden wie  $\text{Cu}_2\text{O}$  in Antifouling-Farben in der Schifffahrt verwendet werden [5, 6].

Die vorliegende Studie wird in Kooperation mit dem Institut für Anorganische Chemie der Johannes Gutenberg Universität Mainz durchgeführt. Ein Ziel dieser Studie ist es, das Oxidationsverhalten bezüglich der Halogenierung von QS-Molekülen durch Hypobromit und Hypochlorit zu untersuchen und dabei entstehende Transformationsprodukte zu identifizieren, um den Mechanismus der Antifoulingwirkung aufzuklären.

## Methodik

### 2.1 Experimenteller Aufbau

Die Abbauprozesse wurden in 30-mL Braunglasflaschen in Batchversuchen durchgeführt. Als Reaktionsmedium wurde MilliQ<sup>®</sup>-Wasser (MilliQ<sup>®</sup>-Integral, Merckmillipore) verwendet. Das Totalvolumen der Reaktionslösung betrug 20 mL und enthielt 5  $\mu\text{M}$  Substrat und einen 6-fachen Überschuss an Natriumhypochlorit bzw. Natriumhypobromit. Zur Herstellung der Natriumhypobromit Lösung wurde wie bei Criquet et al. [7] Natriumhypochlorit (Sigma Aldrich) mit 1,05 Äquivalenten NaBr versetzt.

Nach definierten Reaktionszeiten wurden Proben von 1 mL entnommen und mit einer Natriumthiosulfat-Lösung (20-facher Überschuss zum Agens) abgestopt.

Der Abbau von 6 verschiedenen repräsentativen QS-Molekülen, welche von Sigma Aldrich und Cayman erworben wurden, ( $\text{C}_{14}$ -HSL, 3-OH- $\text{C}_{14}$ -HSL, 3-Oxo- $\text{C}_{14}$ -HSL,  $\text{C}_{14:1}$ -HSL, HHQ, p-Coumaroyl-HSL) konnten untersucht werden. Neben den Reaktionen mit Hypohalogeniden wurden auch die Reaktionen mit Wasserstoffperoxid mit und ohne NaBr Zusatz untersucht, um weitere Oxidationsmittel zu untersuchen, die nicht hypohalogenige Säure (HOX) als aktives Agens bilden.

### 2.2 Analytik

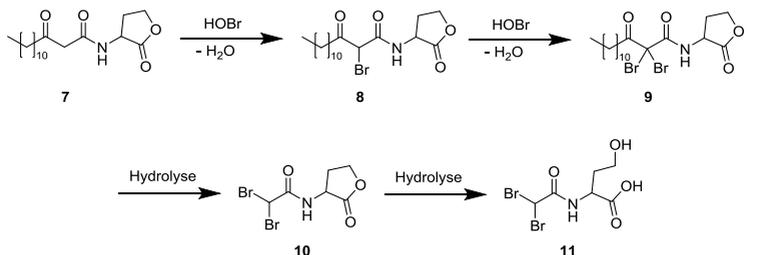
Die Messung der QS-Moleküle sowie deren Transformationsprodukte wurde mit einer LTQ-Orbitrap (Q Exactive HF, Thermo Fisher Scientific/Bremen) durchgeführt, welche mit einer Vanquish LC gekoppelt war. Der verwendete Gradient für die LC Methode wurde von Nürenberg et al. 2015 [8] entwickelt. Die chromatographische Trennung wurde mithilfe einer Poroshell 120 C18 Säule (3,0 x 50 mm, 2,7  $\mu\text{m}$ , Agilent) durchgeführt und das Injektionsvolumen betrug 10  $\mu\text{L}$ .

Die LTQ-Orbitrap Messung erfolgte mittels Elektronensprayionisation, sowohl im negativen als auch im positiven Ionenmodus. Mittels Data Dependent Acquisition wurden MS<sup>2</sup>-Daten aufgenommen, um Strukturinformationen über die Transformationsprodukte zu erhalten.

## Ergebnisse

In den Abbaueversuchen mit Hypohalogeniden konnte gezeigt werden, dass 3-Oxo-C<sub>14</sub>-HSL, C<sub>14:1</sub>-HSL, HHQ und p-Coumaroyl-HSL (vgl. Abb. 1) eine Vielzahl an halogenierten Transformationsprodukten bilden. Bei C<sub>14</sub>-HSL und bei 3-OH-C<sub>14</sub>-HSL konnten hingegen keine halogenierten Verbindungen identifiziert werden.

Die dabei identifizierten Transformationsprodukte geben zum einen Hinweise auf Abbaupfade und zum anderen wertvolle Informationen über den Reaktionsmechanismus der Hypohalogenide mit QS-Molekülen. Ein Beispiel für einen Abbaupfad wurde bereits von Michels et al. [9] für 3-Oxo-HSL beschrieben und die dabei entstehenden Transformationsprodukte konnten in den durchgeführten Abbaueperimenten ebenfalls detektiert werden.

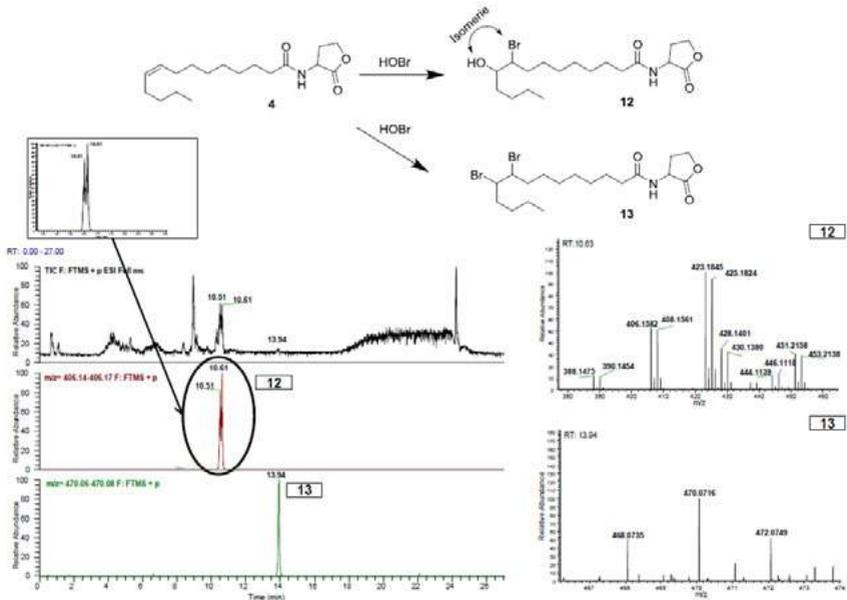


**Abbildung 2** Abbaupfad von 3-Oxo-C<sub>14</sub>-HSL nach Michels et al. [9]

Der in Abbildung 2 gezeigte Abbaupfad verläuft über eine Keto-Enol Tautomerie bei der das Elektrophil (beispielsweise HOBr) an die α-Position des Enols angreift und sich somit halogenierte Transformationsprodukte bilden.

Für die weiteren QS-Moleküle lagen bislang keine Kenntnisse zum Verhalten bei oxidativer Halogenierung vor.

Im Rahmen dieser Studie hat sich gezeigt, dass es bei Verbindungen wie C<sub>14:1</sub>-HSL nicht wie bei 3-Oxo-C<sub>14</sub>-HSL zur Halogenierung des α-Kohlenstoffs sondern zu einer elektrophilen Addition von Halogeniden an der Doppelbindung kommt. Hierbei entstehen Bromhydrine, welche Regioisomeren bilden (Abbildung 3) und mittels LC-MS getrennt detektiert werden konnten. Außerdem kann auch eine zweifache Bromierung der Doppelbindung beobachtet werden.



**Abbildung 3** Abbaupfad, EIC- und MS-Spektren der jeweiligen Transformationsprodukte von C<sub>14:1</sub>-HSL.

Ein ähnliches Reaktionsverhalten konnte auch schon bei ungesättigten Fettsäuren bezüglich oxidativer Halogenierung gezeigt werden [10].

Durch die Halogenierung der QS-Moleküle kann die Kommunikation von Bakterien beeinflusst werden und Wachstumsprozesse von Biofilmen verlangsamt oder verhindert werden. Dieser Eingriff wird auch als Quorum Quenching bezeichnet und wird als Ursache für die Antifouling Wirkung von Vanadium-Bromoperoxidasen der Marine Rotalge *Delisea pulchra* sowie den Ceroxid-Nanopartikeln vermutet [4, 5].

### Fazit und Ausblick

Mithilfe der in dieser Studie identifizierten halogenierten Transformationsprodukte können die Abbaupfade der verschiedenen QS-Moleküle bezüglich oxidativer Halogenierung aufgeklärt werden. Die Transformationsprodukte und die unterschiedlichen repräsentativen QS-Moleküle sollen zudem für kinetische Betrachtungen genutzt werden, um den Einfluss verschiedener Molekülstrukturen auf die Reaktivität und damit auch die Wirksamkeit von Ceroxid-Nanopartikeln gegen die entsprechenden Organismen zu untersuchen. Im Rahmen des Projektes soll neben der

kinetischen Aufklärung mit Hypohalogeniden auch die Reaktion von QS-Molekülen mit Ceroxid-Nanopartikeln und mit dem Enzym Vanadium-Bromoperoxidase durchgeführt werden. Damit soll der Mechanismus der Halogenierungsreaktion aufgeklärt werden, um ein größeres Verständnis für die Antifouling-Wirkung der Ceroxid-Nanopartikel zu erhalten, welches letztlich als Alternative zu herkömmlichen Bioziden die Umweltbelastung durch Antifoulingmittel verringern kann.

### Danksagung

Die Autoren danken der Deutschen Gesellschaft für Forschung (DFG) für die finanzielle Unterstützung.

### Literatur

- [1] M.B. Miller und B.L. Bassler, *Annu. Rev. Microbiol.* **2001**, 55, 165-199.
- [2] J.S. Dickschat, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, 27, 343-369.
- [3] A.W. Decho et al., *Chem. Rev.* **2011**, 111, 86-99.
- [4] M. Sandy et al., *Chem. Commun.* **2011**, 47, 12086-12088.
- [5] K. Herget et al., *Adv. Mater.* **2017**, 29, 1603823.
- [6] K. Herget et al., *Chem. Unserer Zeit* **2017**, 51, 278-281.
- [7] J. Criquet et al., *Environ. Sci. Technol.* **2012**, 46, 7350-7357.
- [8] G. Nürenberg, *J. Chromatogr. A* **2015**, 1426, 77-90.
- [9] J.J. Michels, *J. Chromatogr. A* **2000**, 898, 153-165.
- [10] C.M. Spickett et al., *Acta Biochim. Pol.* **2000**, 47, 889-899.

## Wie kritisch ist die Membranfiltration bei der Bestimmung von organischen Spurenstoffen in Wasser mittels LC/MS?

V. Schmalz, Dresden/D, R. Fiskal, Dresden/D, L. Carstensen, Dresden/D, H. Börnick, Dresden/D

Dr. Viktor Schmalz, TU Dresden, Institut für Wasserchemie, 01062 Dresden

### Anlass und Zielsetzung

In den letzten Jahren erfolgte eine enorme Entwicklung hinsichtlich der Bestimmung von stark polaren organischen Spurenstoffen in Wässern mittels Reversed-Phase-Flüssigchromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (LC/MS). Dabei wurde die Empfindlichkeit dieser Technik soweit gesteigert, dass für die meisten Fragestellungen eine Direktinjektion der Wasserprobe ausreicht und eine Probenvorbereitung lediglich zur Entfernung störender Partikel dient. Zum Einsatz kommen hierbei sowohl die Zentrifugation, als auch die Filtration. Im Vergleich zur Zentrifugation spart die Probenfiltration Zeit, Kosten sowie Arbeitsaufwand und resultiert zusätzlich in einer gleichwertigen oder sogar besseren Effizienz bezüglich der Partikelentfernung <sup>[1]</sup>. Auch in der DIN-Vorschrift zur Bestimmung von ausgewählten Arzneimittelwirkstoffen und weiteren organischen Stoffen in Wasser und Abwasser wird eine Partikelabtrennung über Spritzenvorsatzfilter bei der Analyse von Wasserproben empfohlen, wobei auf mögliche Analytverluste hingewiesen wird <sup>[2]</sup>.

Das Hauptproblem bei der Filtration sind mögliche Analytverluste infolge Adsorption an den Filtermaterialien, was zu Minderbefunden bzw. schlechten Reproduzierbarkeiten führt <sup>[3]</sup>. Hierbei spielt die Wechselwirkung zwischen Zielverbindung und Filtermembran eine maßgebende Rolle. Die physikalischen Eigenschaften der Analyten, die chemische Struktur, der Ladungszustand und das Molekulargewicht können diese Effekte beeinflussen. Ebenso bedeutsam sind die Eigenschaften der Membran (u.a. chemische Struktur der Membranpolymere, Hydrophobizität, Ladungszustand, Filteroberflächen-größe) sowie weitere Randbedingungen wie Geschwindigkeit des Probendurchflusses, Temperatur oder Filtrationsdauer <sup>[4,5]</sup>.

Die Auswahl einer geeigneten Membran hängt von den Eigenschaften der zu analysierenden Stoffe ab. Es wird jedoch erwartet, dass für Filtermaterialien mit einer geringen Neigung zur selektiven Sorption ein breiterer Anwendungsbereich hinsichtlich Multistoffanalytik gegeben ist.

Die vorliegenden Untersuchungen beschäftigten sich daher mit der Ermittlung des Adsorptionsverlustes von organischen Spurenstoffen mit unterschiedlichen chemischen Strukturen und funktionalen Gruppen an verschiedenen Filtermaterialien während der Probenvorbereitung zur UHPLC-MS/MS-Bestimmung von Spurenstoffen in Wasser.

### Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurde eine Substanzmischung aus 34 relevanten Spurenstoffen mit verschiedenen funktionalen Gruppen (Säuren, Basen) und unterschiedlichen Kohlenstoffanordnungen (einzelne bzw. mehrere aromatische Ringe, cyclische Verbindungen) hergestellt, die einen logK<sub>OW</sub>- Wert im Bereich von -2,8 bis 4,8 abdecken.

Der physikalische Aufbau der Substanzen umfasst flachere, planare bis hin zu dreidimensional verzweigten Strukturen. Die Konzentration je Substanz in den Testmischungen lagen bei 50 und 200 ng/L in Ultra-Reinstwasser (LC-MS grade).

Die Messung erfolgte mittels UHPLC (Nexera X2, Fa. Shimadzu) und MS/MS (QTRAP 6500+, Fa. Sciex). Zur chromatographischen Trennung wurde die Säule Luna Omega Polar C18 (100 x 2,1 mm, 1,6 µm, Fa. Phenomenex) und ein Gradient aus Wasser und Acetonitril (beide mit je 0,02 % Essigsäure) eingesetzt. Das Injektionsvolumen betrug 50 µL und die Säulentemperatur 40°C. Die Ionisierung der Analyten erfolgte durch die Elektrosprayionisation im positiven bzw. negativen Modus.

Zur Probenfiltration wurden Spritzenvorsatzfilter (SVF) mit sechs verschiedenen Membran verwendet:

1. regenerierte Cellulose (RC) – Chromafil Xtra RC, d = 25 mm und 0,2 µm Porengröße, Fa. Macherey Nagel;
2. hydrophilisiertes Polytetrafluorethylen (PTFE) – Chromafil Xtra H-PTFE, d = 13 mm, 0,2 µm, Fa. Macherey Nagel;
3. hydrophiles Polyamid (Nylon) – AF0-0414, d = 13 mm, 0,2 µm, Fa. Phenomenex;
4. Glasmikrofaser (GMF) – GD/X GMF, d = 25 mm, 0,45 µm, Fa. Whatman;
5. Polypropylen (PP) – Puradisk PP, d = 25 mm, 0,2 µm, Fa. Whatman;
6. Polypropylen (PP), d = 25 mm, 0,2 µm, VWR.

Die Lösungen der Testmischung mit Volumina von 3 mL (bzw. 6 mL für RC-Filter) wurden filtriert und in drei bzw. sechs Fraktionen von jeweils einem Milliliter (Aliquote) gesammelt und analysiert. Parallel wurde stets eine unfiltrierte Probe vermessen, um die Wiederfindungsraten zu ermitteln. Um den Einfluss einer Vorbehandlung der Filter mit Methanol auf die Wiederfindung der Spurenstoffe bestimmen zu können, wurden die RC- und PTFE-Filter vor dem Durchlaufen der Testmischungen zuerst mit 1 mL Methanol gewaschen.

## Ergebnisse

Die Untersuchungen ergaben eine starke Variation der Wiederfindungsraten (WFR) der eingesetzten Analyten im Bereich von 0 % bis 125 % in Abhängigkeit der getesteten Membranfilter (vgl. Tabelle 1). Insbesondere für Stoffe mit einem  $\log K_{ow} > 2$  ist eine stärkere Filteradsorption sowohl für saure als auch basische Verbindungen zu beobachten. Für Nylon- und PP-Filter wurden WFR z.T. erheblich unter 80 % für etwa ein Drittel aller eingesetzten Stoffe festgestellt. An GMF-Filter wurden basische Verbindungen wie Metoprolol und Erythromycin stark adsorbiert, was mit der negativen Oberflächenladung des Glasfilters bei pH = 7 zusammenhängen könnte. Verbindungen wie Triclocarban und Fluoxetin zeigten starke Adsorption an allen eingesetzten Filtern mit einer WFR von 0 % bis 18 %. Ebenso wurde Triclosan nach der Filtration durch PP-Filter nicht mehr nachgewiesen.

Die besten Ergebnisse wurden mit den Membranfiltern aus regenerierter Cellulose bzw. PTFE erzielt. Diese Filter wurden für weitere Untersuchungen eingesetzt, bei denen für jeden Milliliter durchflossenes Filtrat eine separate Bestimmung der WFR erfolgte. Für fast alle analysierten Substanzen wurden starke Minderbefunde im ersten Milliliter des Filtrats gemessen. In den nachfolgenden Fraktionen des Filtrats (Aliquote) wurde eine signifikante Verbesserung der WFR beobachtet.

# An 017

Tabelle 1: WFR der ausgewählten Analyten bei Einsatz des entsprechenden Spritzenvorsatzfilters,  $\beta = 200 \text{ ng/L}$ ,  $n = 3$

Stoff	WFR (jeweils in 3. Fraktion)					
	RC*	PTFE	Nylon	PP-What.	PP-VWR	GMF
Iomeprol	100	105	107	103	98	100
Acesulfam	88	97	100	103	99	96
Gabapentin	94	96	101	107	306	107
Coffein	106	105	112	106	99	89
Imidacloprid	100	96	<b>79</b>	96	89	98
Cotinin	95	98	106	101	104	103
Dimethoat	97	99	<b>24</b>	100	92	101
Sulfamethoxazol	103	101	98	104	99	103
Tolyltriazol	99	98	93	103	97	103
Paracetamol	97	94	88	95	98	97
1H-Benzotriazol	103	102	95	102	100	92
Metoprolol	103	105	91	95	84	<b>4</b>
Clindamycin	99	99	80	10	90	84
Carbamazepin	102	103	100	90	88	99
Erythromycin	116	110	<b>61</b>	<b>0</b>	97	<b>0</b>
Atrazin	100	101	85	91	71	91
Diuron	98	101	<b>45</b>	102	<b>74</b>	102
Isoproturon	100	100	97	93	<b>78</b>	106
Naproxen	103	95	103	110	<b>60</b>	95
Bisphenol A	102	103	<b>11</b>	95	<b>11</b>	<b>125</b>
Bezafibrat	101	103	125	92	<b>65</b>	100
Terbutryn	101	101	<b>50</b>	69	<b>66</b>	88
Diclofenac	100	97	91	100	89	98
Irgarol	101	100	<b>38</b>	59	<b>60</b>	89
Ibuprofen	98	102	93	100	<b>69</b>	94
Fluoxetin	<b>18</b>	<b>17</b>	<b>13</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Triclocarban	<b>1</b>	<b>1</b>	n.a.	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Triclosan	80	<b>36</b>	n.a.	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>75</b>
Dimethachlor-OA	100	101	86	105	83	102
Metazachlor-OA	102	101	82	109	89	100
Metolachlor-OA	97	98	92	103	81	97
Dimethachlor-ESA	102	102	82	110	87	101
Metazachlor-ESA	100	98	92	102	94	96
Metolachlor-ESA	99	101	91	99	79	97

\* - WFR in sechster Fraktion

Der typische Verlauf der Stoffkonzentration in Abhängigkeit vom Filtrationsvolumen wurde beispielhaft für vier Spurenstoffe in Abb. 1 dargestellt. Bei der Anwendung von Spritzenvorsatzfiltern aus regenerierter Cellulose stieg die Analytkonzentration in jeder weiteren Fraktion an und erreichte in den beiden letzten Aliquoten annähernd die Ausgangskonzentration. Bei Einsatz des PTFE-Filters wurden bereits in der dritten Fraktion hohe WFR von über 90 % für die meisten Analyten erreicht (Tabelle 1). Die Analytverluste in der ersten Fraktion könnten durch Adsorption an den Filtermaterialien erklärt werden. Lediglich bei den hydrophoben Verbindungen Fluoxetin und Triclocarban ( $\log K_{ow}$  4,05 bzw. 4,34) wurden starke Minderbefunde bei der Anwendung beider Filter registriert (WFR 18 % bzw. 1 %; Tabelle 1, Abb. 1). Bei Verwendung des PTFE-Filters wurden auch für Triclosan erhebliche Minderbefunde (WFR = 7 %) gemessen (vgl. Tabelle 1).

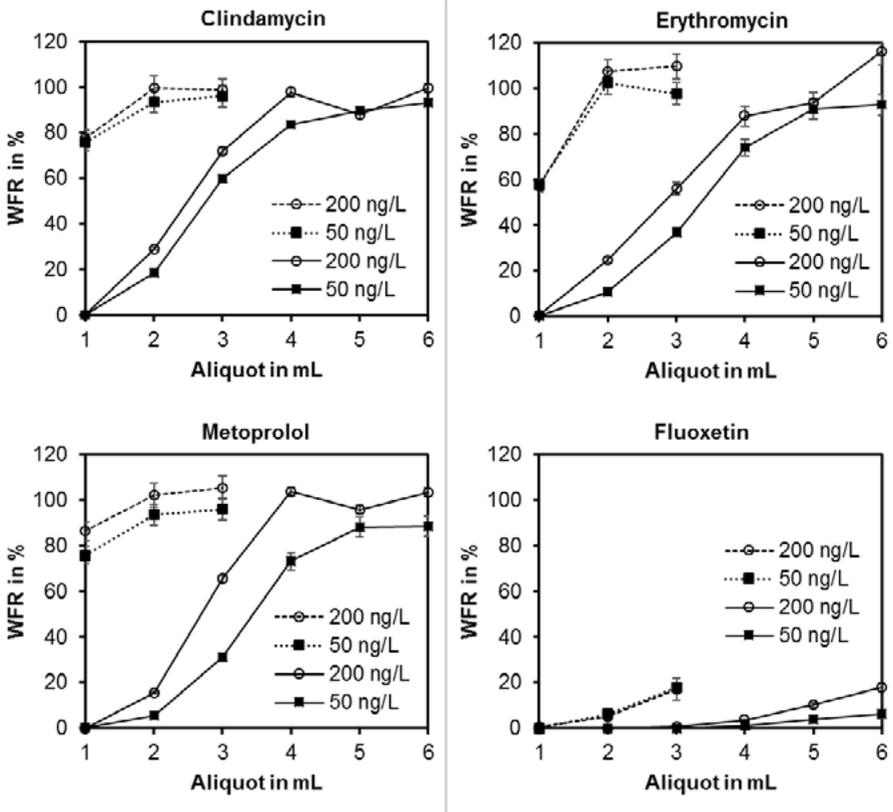


Abb. 1: Abhängigkeit der Wiederfindungsrate (WFR) ausgewählter Spurenstoffe vom Aliquot, (RC-Filter – durchgezogene Linie; PTFE-Filter – gepunktete Linie)

Um die WFR für Triclocarban und Fluoxetin zu erhöhen, wurden die RC- und PTFE-Filter vor der Filtration mit 1 mL Methanol gespült. In Abb. 2 sind die Ergebnisse der Versuche mit vorbehandelten (RC+MeOH und PTFE+MeOH) bzw. nicht vorbehandelten Filtern (RC und PTFE) dargestellt. Für die RC-Filter ergab sich eine Steigerung der WFR für Triclocarban von 1 % auf 48 % und für Fluoxetin von 18 % auf 88 %. Bei der Anwendung von PTFE-Filtern wurden die WFR von Triclocarban im Gegensatz zu Fluoxetin (von 17 % auf 77 %) nur geringfügig (1 % auf 9 %) erhöht (vgl. Abb. 2). Offensichtlich besitzt PTFE eine größere Affinität gegenüber Triclocarban. Generell stieg erwartungsgemäß die Sorptionsneigung mit abnehmender Polarität der Substanzen an einer hydrophoben Membran. Durch anschließende Filterbehandlung mit reinem Methanol konnte analytisch bestätigt werden, dass Triclocarban durch das Filtermaterial zurückgehalten wurde.

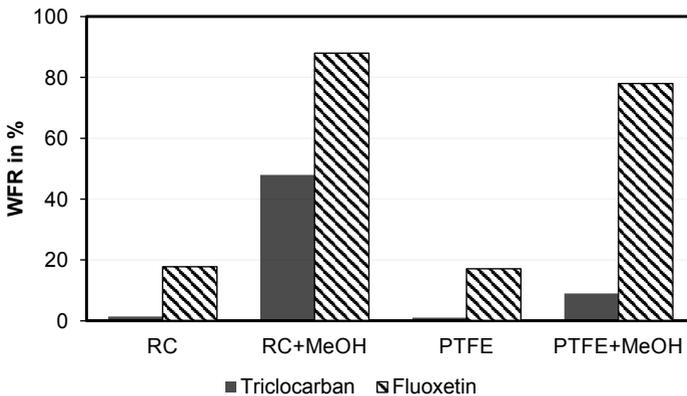


Abb. 2: Abhängigkeit der Wiederfindungsrate von Triclocarban und Fluoxetin ( $\beta$  jeweils 200 ng/L) an RC- und PTFE-Membranfiltern

Die WFR der Analyten hängt nicht nur von der Art des eingesetzten Filtermaterials, sondern auch vom Hersteller ab. In Abb. 3 sind die WFR von verschiedenen Spurenstoffen bei Einsatz von Polypropylen-Membranfilter der Firmen Whatman bzw. VWR vergleichend dargestellt. Die PP-Filter von Whatman zeigten mit Ausnahme von Clindamycin und Erythromycin zumeist deutlich bessere WFR für die ausgewählten Verbindungen als die Filter von VWR. Bei der Wahl geeigneter Filter für die Analyten sollte demnach nicht nur die Art des Filtermaterials, sondern auch der Hersteller berücksichtigt werden.

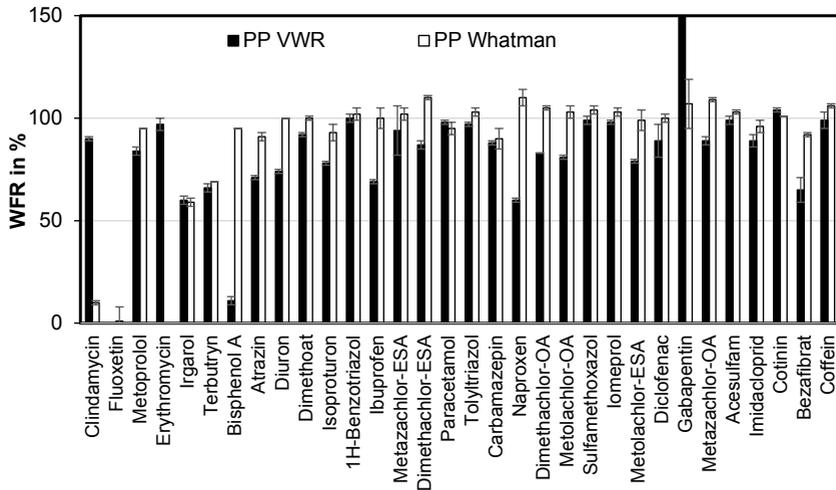


Abb. 3: Abhängigkeit der Wiederfindungsrate von Analyten an verschiedenen PP – Membranfiltern ( $\beta$  jeweils 200 ng/L)

Der Ansatz einer Vorspülung des Filters mit Methanol wurde auch mit dotiertem Elbewasser getestet. Die Ergebnisse waren zu den Modellwasseruntersuchungen vergleichbar. Die Wiederfindungsexperimente für Spurenstoffe mit unterschiedlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften zeigten, dass sich die Membranfilter aus regenerierter Cellulose und PTFE hinsichtlich der Adsorption von Analyten vergleichsweise wenig unterschieden und dass sie nach einer Filtervorspülung mit Methanol für alle untersuchten Stoffen angewendet werden konnten. Ein Vorteil bei der Anwendung von PTFE- gegenüber den kostengünstigeren RC-Filtern besteht darin, dass weniger Spülvolumen (3 mL) notwendig ist.

## Literatur

- [1] L. Zhao. *Agilent Application note 5991-1309EN* **2012**, 12.
- [2] DE, DIN 38407-47, DIN-Normenausschuss Wasserwesen, Juli **2017**.
- [3] M. Carlson; R.D. Thomson *J. Chromatogr. Sci.* **2000**, 38, 78-83.
- [4] Sumitra A. Pillai; D. Urimi; N. Ravindra *J. Pharm. Sci. & Res.* **2016**, 8(5), 271-278.
- [5] T. Bin; A.K. Kulshreshtha; R. Al-Shakhshir; S.L. Hem *Pharm Dev Technol.* **1999**, 4, 151-165.

## Identification of organic micropollutants in water samples from a drinking water treatment process by means of UPLC-IM-Q-TOF-MS

V. Hinnenkamp<sup>1,2</sup>, P. Balsaa<sup>1</sup>, T. C. Schmidt<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>) IWW Water Centre, Moritzstraße 26, 45476 Muelheim an der Ruhr, Germany

<sup>2</sup>) Instrumental Analytical Chemistry and Centre for Water and Environmental Research, University of Duisburg-Essen, Universitaetsstraße 5, 45141 Essen, Germany

### Introduction

Liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS) has become of high interest for the investigation of known and unknown organic micropollutants in water matrices and has already been used for the analysis of drinking water by target, suspect or non-target screening analysis [1, 2]. The objective of this work is to identify contaminants encountered in drinking water by a non-target screening analysis workflow by means of ultra-performance liquid chromatography coupled to ion mobility quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-IM-Q-TOF-MS) measurements. The drinking water studied in this work is purified from a water reservoir. In the water reservoir, surface water is supplied, which is influenced by anthropogenic entries. A sample set containing two waste water treatment plant (WWTP) effluents, one surface water, one raw water, one process water and one drinking water sample were investigated with focus on micropollutants encountered in all samples.

### Experimental section

An Acquity UPLC I-Class (Waters) coupled to a Vion IM-Q-TOF MS (Waters) was used. For the chromatographic separation, a BEH amide (2.1 × 5 mm) 1.8 µm pre column connected with a HSS T3 (2.1 × 100 mm) 1.8 µm main column was utilized. Ultrapure water and methanol were used as mobile phase, both containing 0.1% formic acid. A flow rate of 0.35 mL/min at a column temperature of 40 °C was applied. A direct injection of 100 µL was used. For gradient settings, the elution started with 100% water, holding for 1 minute. Within 11.5 minutes the proportion of methanol increased to 99%

and was held for 2 minutes. Afterwards, the eluent was set to initial conditions (100% water) and held for 5 minutes. Electrospray ionization (ESI) was operated in ESI positive and ESI negative mode in different runs. Desolvation and source temperature were set to 500 °C and 150 °C, respectively. Desolvation gas flow and cone gas flow were adjusted to 800 L/h and 50 L/h, respectively. Cone voltage was set to 20 V and a capillary voltage of 0.8 kV was applied. A scan time of 0.3 s was adjusted. HDMSE acquisition mode was used. Low energy spectra were recorded at 4 eV, high energy spectra in the range of 15-40 eV. For the ion mobility separation by traveling wave ion mobility spectrometry was used.

### Data processing

Data processing was carried out using the Unifi 1.9.4 software (Waters). In the first step a quantitative screening for 143 micropollutants was carried out [3] and in a second step a suspect screening was performed using an in-house database, a CCS pesticide database (Waters) as well as a database obtained from Wode et al. [4]. Regarding the non-target analysis, for peak finding, a threshold value of 200 counts was set and a retention time range from 1.5 minutes to 14 minutes was selected. Multiple adduct finder, implemented in the Unifi 1.9.4 software, was used and multiple ions from one component were removed from the feature list and only the most intense ion remained. The 4D isotope clustering algorithm was applied, where isotopes from one component are grouped together during peak detection. In the next step, a script programmed in Origin 2018b was used to merge triplicates from each sample, thereby only features occurring in all three sample feature lists were further considered. After that, features present in the blank sample were subtracted. Furthermore, identified (by reference standard) or tentatively identified substances by the quantitative screening or the suspect screening were removed from the lists. The part of merging of triplicates and the blank reduction was controlled by internal standards, which have to be recovered in the lists of merged triplicates and on the other hand they have to be removed in the blank reduced list. In a next step feature intersections of the two WWTP effluents, the surface water, raw water, process water and the final drinking water sample were determined and only features occurring in all feature lists of all samples were further considered to examine WWTP effluent derived organic substances reaching drinking water. The resulting features were confirmed by manual checking of

the peak form (to avoid false positive peak findings), and plausible intensity distribution over all samples (to avoid peaks, which have similar response values over all samples, which may indicate a sample contamination). All remaining features were subjected to a molecular formula finder using the elucidation tool set, included in the Unifi 1.9.4 software. The elements carbon, hydrogen, nitrogen, oxygen, sulphur, phosphor, fluorine, chlorine and bromine were selected and a maximum mass error of  $\pm 1$  mDa for the molecular formula was adjusted. Molecular formula with an i-fit confidence  $\geq 80\%$  were further regarded and entered in the open source database FOR-IDENT. Features with matches in the database were prioritized. By using the categorization of identification confidence from Schymanski et al. [5], features with matching fragments, were tentatively identified (level 2) and as far as possible reference standards for level 1 or disproving identification were purchased.

## Results and discussion

Feature lists for all samples containing  $m/z$ , retention time, CCS values and response values of each feature were copied to Origin 2018b and the data were processed as described in the experimental section part. The quality control of the two data reduction steps (merging of triplicates and blank reduction) by the spiked internal standards showed that these were still present after pooling the triplicates in the feature lists but were completely removed after blank reduction. Table 1 shows the results for each processing step considering the drinking water sample.

Table 1. Results of the data processing.

Processing step	Remaining number of features in ESI+ mode	Remaining number of features in ESI- mode
Drinking water sample (first replicate)	2280	771
Multiple ion correction	2215	769
Features in all sample triplicates	1147	269
Blank reduction	409	134
Formation of intersections (WWTP effluent samples, surface water, raw water, process water and drinking water sample)	52	20
Manual checking of the peaks	25	11
Proposed molecular formula with an i-fit confidence $\geq 80\%$	7	3

Regarding the ESI+ data, for one of the seven prioritized features, with  $m/z$  268.1545, retention time of 6.06 minutes and a CCS value of  $168.3 \text{ \AA}^2$  a molecular formula of  $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_4$  was proposed and matched with the FOR-IDENT database for metoprolol acid/atenolol acid, a transformation product of both metoprolol and atenolol that are used as beta blockers. Another match for the same feature was obtained for the fungicide diethofencarb. However, diethofencarb use is not authorized in Germany making the plausibility of a positive result less likely and was not further investigated. A reference spectrum for metoprolol acid/atenolol acid was received by the PubChem database and matched with the recorded fragment ion spectrum. A reference standard of metoprolol acid/atenolol acid was purchased and compared to sample measurement results by  $m/z$ , retention time, CCS value (Figure 1) and fragment ion spectra (Figure 2).

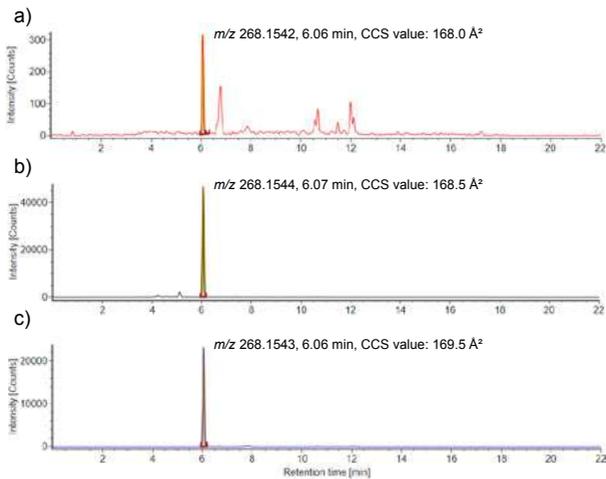


Figure 1. Extracted ion chromatograms of metoprolol/atenolol acid for a) the drinking water sample, b) one of the WWTP effluent samples and c) for the reference standard (500 ng/L) in a 30 ppm mass window.

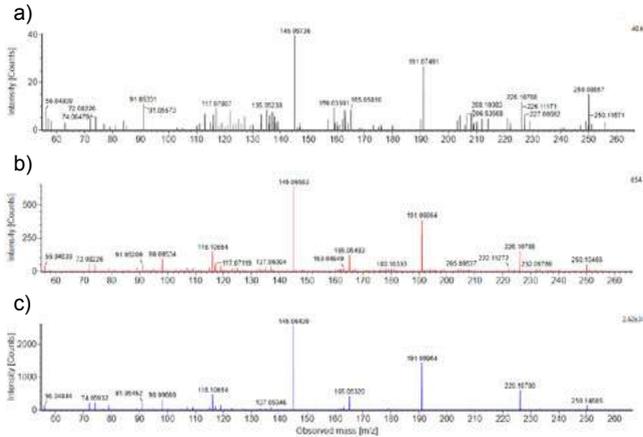


Figure 2. Fragment ion spectra for a) the drinking water sample, b) one of the WWTP effluent samples and c) for the reference standard (500 ng/L).

The comparison of the drinking water sample, the WWTP effluent sample and the reference standard indicate the match in  $m/z$  value (deviation < 1 mDa), retention time (deviation < 0.05 minutes), and CCS value (deviation < 2%) and in the fragment ion spectrum meaning that this confirms the presence of metoprolol acid/atenolol acid in the samples.

Regarding data from measurements in ESI negative mode, for the feature with  $m/z$  213.9643 at 6.21 minutes with a CCS value of 138.5 Å<sup>2</sup> a molecular formula match for C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>3</sub>S<sub>2</sub> with an i-fit confidence of 100% was determined. In the FOR-IDENT database a match with 1,3-benzothiazole-2-sulfonic acid was received. 1,3-benzothiazole-2-sulfonic acid is a known transformation product of the vulcanization accelerator 2-mercaptobenzothiazole, and its occurrence in waste and surface water has been reported [6]. Schymanski et al. [7] identified 1,3-benzothiazole-2-sulfonic acid during a non-target and suspected screening for sulphur containing surfactants in wastewater samples. They reported signals in the fragment ion spectra corresponding to a loss of SO<sub>2</sub> and SO<sub>3</sub> from the [M-H]<sup>-</sup> ion of 1,3-benzothiazole-2-sulfonic acid. Similar to the results by Schymanski et al. fragment ions, which suggest the loss of SO<sub>2</sub> (theoretical  $m/z$  of 150.0019) and SO<sub>3</sub> (theoretical  $m/z$  of 134.0070), were recorded in the sample measurements. In comparison to the reference spectra (obtained from PubChem), the intensity distribution of the fragment ions showed a

good agreement as well. A reference standard was not available at the time of this investigation. Therefore, this feature could be tentatively identified as 1,3-benzothiazole-2-sulfonic acid.

## Conclusion

With the used non-target screening analysis workflow for a drinking water production process by means of data reduction and prioritization by database matches metoprolol acid/atenolol acid could be identified and 1,3-benzothiazole-2-sulfonic acid could be tentatively identified. Due to the detection of both substances in the drinking water these should be further monitored by targeted analysis.

## References

- [1] Kaserzon SL, Heffernan AL, Thompson K, Mueller JF, Gomez Ramos MJ. *Chemosphere* **2017**, *182*, 656-664.
- [2] Tröger R, Klöckner P, Ahrens L, Wiberg K. *Sci. Total Environ.* **2018**, *627*, 1404-1432.
- [4] Hinnenkamp V, Balsaa P, Schmidt TC. *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *411*, 6101-6110.
- [5] Wode F, van Baar P, Dünnbier U, Hecht F, Taute T, Jekel M, Reemtsma T. *Water Res.* **2015**, *69*, 274-283.
- [3] Schymanski EL, Jeon J, Gulde R, Fenner K, Ruff M, Singer HP, Hollender J. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 2097-2098.
- [4] Wick A, Fink G, Ternes TA. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 2088-2103.
- [5] Schymanski EL, Singer HP, Longrée P, Loos M, Ruff M, Stravs MA, Vidal CR, Hollender J. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 1811-1818.

## **Development of an universal measuring instrument for quality monitoring of ultrapure water**

S. Schäfer, Rheinbach/D, K. van Dyk, Rheinbach/D, J. Warmer, Rheinbach/D,  
D. Schulze, Rheinbach/D, T. C. Schmidt, Essen/D, P. Kaul, Rheinbach/D

Sara Schäfer, Hochschule Bonn-Rhein-Sieg, von-Liebig-Str. 20, 53359 Rheinbach/D

### **Introduction:**

This work presents the development of a measuring system for the quality control of ultrapure water. The quality of ultrapure water is of particular importance in the pharmaceutical and semiconductor industry. Due to its unique properties it serves as a solvent or starting product for pharmaceuticals and is also used to clean surfaces in the production of high-precision components in semiconductor manufacturing <sup>[1]</sup>. For this reason, water quality monitoring is of utmost importance and an universal measuring instrument is required.

One method for monitoring the quality of ultrapure water is the measurement of the total organic carbon (TOC) dissolved in the water as organic substances are the most common contaminants in water. TOC comprises all organic compounds present in water. For water used in the pharmaceutical industry, not only the TOC content, but also the temporal development of the TOC due to bacterial growth is a parameter of interest concerning the quality control <sup>[2]</sup>. Boundary values and standards for the analysis of TOC are defined by the European Pharmacopeia or the Deutsches Institut für Normung <sup>[3] [4]</sup>. Conventional methods of TOC determination are based either on thermal oxidation of carbonaceous substances or on wet chemical oxidation. In the latter method oxidation is carried out either by persulfate or UV radiation <sup>[5]</sup>. All these systems are based on the oxidation of the present organic carbon (OC) and the subsequent detection of the resulting CO<sub>2</sub>.

The presented new developed system (Figure 1) combines two standard methods of oxidation. The oxidation is performed by ozonation in combination with UV radiation. That leads to an advanced oxidation process and a significant increase in the oxidation power of the entire system. The system offers three main advantages: it does not require the addition of chemicals - ozone is generated in situ and decomposes without leaving residues and the new system is of significantly smaller footprint and can therefore be easily used at various locations. In addition, it enables online monitoring of the TOC as conductivity is measured permanently.

**Experimental:**

The core of the setup is a 20 mm long quartz glass tube with an inner diameter of 4 mm and a wall thickness of 1 mm. This tube serves as reaction chamber or irradiation section and is wedged between two PTFE blocks. Ozone is generated in situ in water with a so-called "ozone microcell (OMC)", developed by the company Innovatec Gerätetechnik GmbH [5].

Water from an ultrapure water system passes the ozone generator into the quartz glass tube. For irradiation 5 SMD LEDs from Neumüller [6] with a wavelength of 275 nm are used. The first conductivity measurement (C1) is placed in front of the entrance of the glass tube. After the irradiation section, the gas bubbles are separated from the water by a PTFE membrane. Thereafter, the conductivity is measured a second time (C2). The water temperature is measured with a Pt1000 sensor.

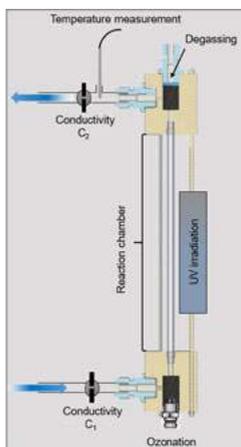
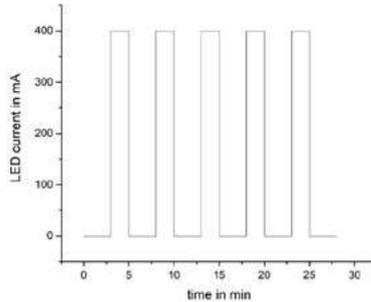


Fig. 1: Schemack Illustration of the sensor design

**Figure 1: Schematic illustration of the sensor design**

The measuring principle is a conductance measurement while the TOC of the solution is oxidized. For this purpose, a defined quantity of OC is permanently added with a syringe pump to the ultrapure water flow. Variation in volume flow of the syringe pump offers the possibility of varying the TOC concentration.

For all experiments 2-Propanol (99.8 %, Merck) serves as source of organic carbon and a constant ozone cell current of 150 mA is applied. Figure 2 demonstrates the measuring procedure.

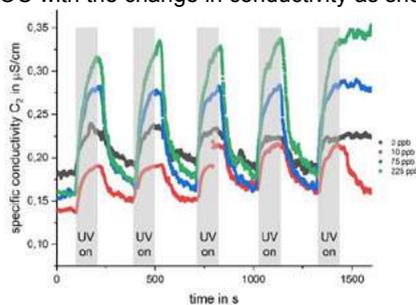


**Figure 2: Cycle of operation of the UV-LEDs**

In a five-time repetition the 2-Propanol-solution is oxidized by applying a current of 400 mA to the UV-LEDs. In each repetition the LEDs are switched off for three minutes followed by two minutes with UV irradiation. The conductivity of the water is permanently measured.

### Results:

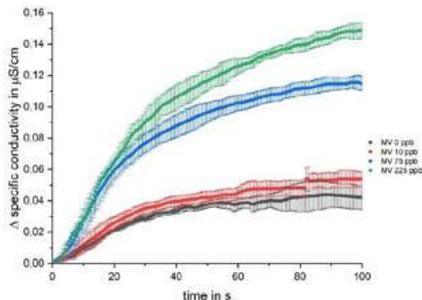
The change in conductivity caused by the oxidation of the solution gives information about the OC concentration in water. Concentration-dependent measurements were used to correlate the TOC with the change in conductivity as shown in Figure 3.



**Figure 3: Overlay of four measurements of differently concentrated TOC-solutions, five repetitions**

The figure shows an overlay of the results of the measurement of four differently concentrated solutions (0 ppb, 10 ppb, 75 ppb and 225 ppb). The irradiation periods are marked by grey bars (see Figure 3 "UV on").

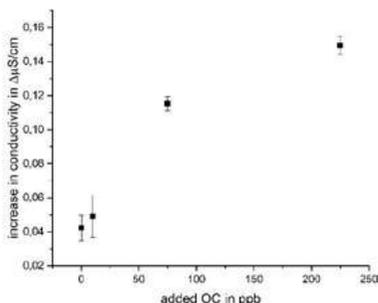
It is clearly apparent that conductivity increases with increasing initial OC concentration. That is evident when comparing the first 100 seconds of the increase in conductivity, which is illustrated in Figure 4.



**Figure 4 :Mean values and standard deviations of normalized TOC measurements while radiation**

The mean increase in conductivity is plotted as a function of time for the four different measurements. The irradiation of the ozonated water leads to the formation of highly reactive hydroxyl radicals which further react to form acidic oxidation products. The more OC is added, the higher is the increase in conductivity. Even the solution without OC addition shows an increase during oxidation, which can be attributed to a residual amount of impurities in the water.

For the final correlation with the OC in solution, the increase conductivity after 100 seconds of irradiation is used (Figure 5).



**Figure 5: Correlation of added OC with increase in conductivity**

The mean values of the increase in conductivity after 100 s of oxidation are plotted as a function of the respective added OC. The figure shows that it is possible to use the newly developed system to correlate the change in conductivity during oxidation with the TOC of the solution.

## References

- [1] T. Menzel, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2006**.
- [2] G. Visco, L. Campanella, V. Nobili, *Microchemical Journal* **2005**, 79, 185.
- [3] *European Pharmacopeia 2.2.44* **2014**.
- [4] Deutsches Institut für Normung e.V. DIN EN 1484 **1997**.
- [5] Innovatec Gerätetechnik GmbH. Datasheet Ozonmicrocell, **2018**.
- [6] Neumüller. Datasheet UV-LED CUD8AF4D, **2018**.

## **Selektive Extraktion von Pestiziden aus Oberflächenwasser mittels quervernetzten Cyclodextrin-Polymeren für die substanzspezifische Kohlenstoffisotopenanalytik**

D. Glöckler, München/D, R. Bakkour, München/D, C. Wabnitz, München/D, M. Elsner, München/D

David Glöckler, Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie, Technische Universität München, Lichtenbergstraße 4, 85748 Garching bei München/D

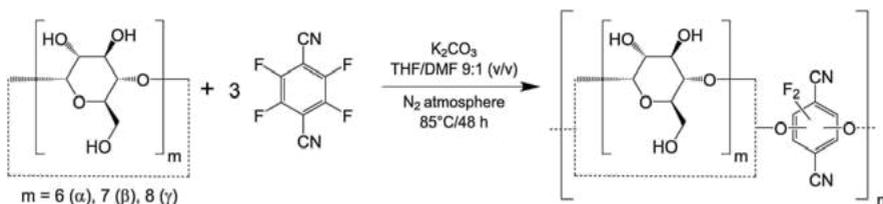
### **Einleitung**

Im letzten Jahrzehnt konnte anhand von Laborexperimenten gezeigt werden, dass die substanzspezifische Isotopenanalyse (engl. *compound-specific isotope analysis*, CSIA) besonders für die Identifizierung von Kontaminationsquellen organischer Mikroschadstoffe (z.B. Pestizide und Pharmazeutika) sowie für die Beurteilung ihrer Abbauprozesse geeignet ist. Für die Anwendung auf Proben aus natürlichen Systemen ist eine Extraktion der Mikroschadstoffe aus großen Wasservolumina (> 5 L) notwendig, um einerseits den niedrigen Umweltkonzentrationen der Substanzen (sub- $\mu\text{g/L}$  Bereich) sowie andererseits der für die substanzspezifische Isotopenanalyse erforderlichen hohen Analytmassen (LoD im mg/L Bereich) zu entsprechen.

Kommerziell erhältliche Sorbenten für die Festphasenextraktion (engl. *solid phase extraction*, SPE) sind zwar in der Lage große Probenvolumina zu prozessieren, ihnen fehlt hingegen die Selektivität, um exklusiv Mikroschadstoffe zu extrahieren und die gleichzeitige Anreicherung von anderem gelösten organischen Kohlenstoff (DOC) zu minimieren. Diese Ko-Anreicherung bedeutet jedoch eine große analytische Herausforderung, da bei der flüssig- und gaschromatographischen Isotopenverhältnismassenspektrometrie (LC- bzw. GC-IRMS) die Analyten von der Matrix getrennt werden müssen, damit eine ausreichend hohe chromatographische Auflösung die Bestimmung substanzspezifischer Isotopenverhältnisse gewährleistet.

Folglich werden für die Probenvorbereitung Sorbenten benötigt, die (i) schnelle Kinetiken aufweisen, um große Wasservolumina in akzeptablen Zeitspannen zu prozessieren und

(ii) hohe Selektivitäten gegenüber den Mikroschadstoffen bei gleichzeitigem Auftreten mindestens 10000fach höherer Konzentrationen an natürlichem organischem Material (NOM) zeigen. In den letzten Jahren wurden stark quervernetzte poröse Cyclodextrin-Polymere synthetisiert (Abb. 1), die eine hohe spezifische Oberfläche (263 m<sup>2</sup>/g) und sehr schnelle Sorptionskinetiken aufweisen, welche ihren Nutzen für eine effektive Aufbereitung von großen Wasservolumina ermöglichen. Die Selektivität der Cyclodextrin-Polymere gegenüber Mikroschadstoffen wurde bisher allerdings nicht untersucht.



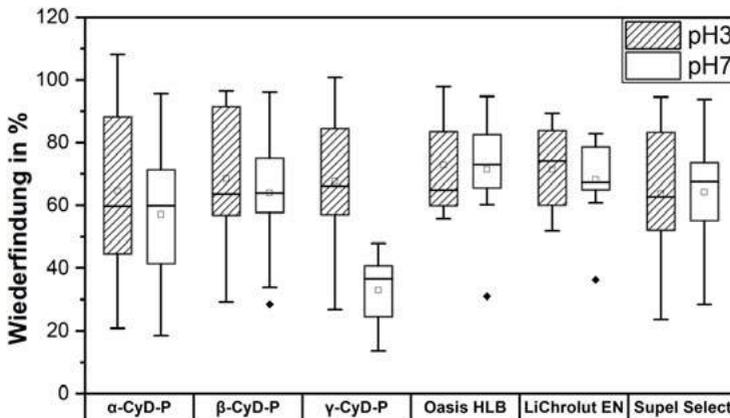
**Abbildung 1** Synthese der porösen, quervernetzten  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Cyclodextrin-Polymere unter Verwendung von Tetrafluoroterephthalonitril als Quervernetzer.

In dieser Arbeit wird die Eignung von Cyclodextrin-Polymeren mit unterschiedlichen Hohlraumgrößen ( $\alpha$ -Cyclodextrin-Polymer: 0.57 nm,  $\beta$ -CyD-P: 0.78 nm,  $\gamma$ -CyD-P: 0.95 nm) für die selektive Extraktion von Pestiziden von Oberflächenwasser für die Kohlenstoffisotopenanalytik untersucht und mit der Leistung von HLB-basierten (engl. *hydrophilic lipophilic balanced*) Sorbenten verglichen (OASIS HLB, LiChrolut® EN, Supel™-Select HLB).

## Ergebnisse

Die porösen und quervernetzten Cyclodextrin-Polymere wurden erfolgreich unter Verwendung von wasserfreiem Tetrahydrofuran und *N,N*-Dimethylformamid als Porogene im Verhältnis 9:1 (v/v) unter einer Stickstoffatmosphäre synthetisiert und als SPE-Sorbenten für die Extraktion einer Auswahl von 10 verschiedenen Pestiziden aus fortifiziertem, natürlichem Oberflächenwasser verwendet. Die Wiederfindungsraten der Pestizide waren generell höher, wenn die Festphasenextraktion bei pH 3 statt bei pH 7 durchgeführt wurde (Abb. 2). Mit einer mittleren Wiederfindungsrate von 68.5%, 67.7%

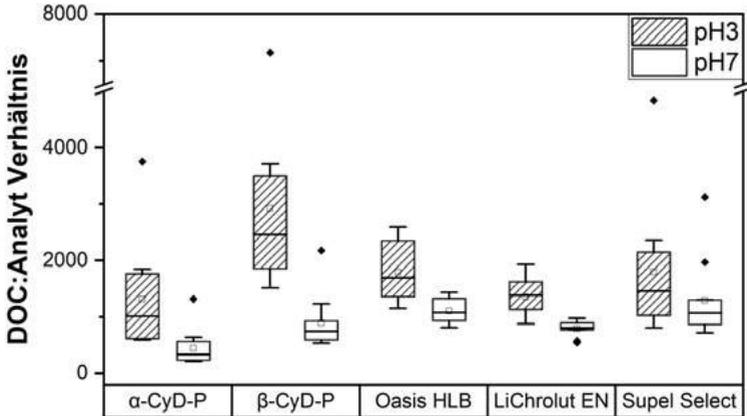
und 64.6% befinden sich die Extraktionsleistungen von  $\beta$ -,  $\gamma$ - bzw.  $\alpha$ -CyD-P auf dem gleichen Niveau wie die der kommerziellen Sorbenten OASIS HLB (72.9%), LiChrolut® EN (71.5%) und Supel™-Select HLB (63.8%).  $\beta$ -CyD-P zeigte für acht,  $\gamma$ -CyD-P für sieben und  $\alpha$ -CyD-P für fünf der zehn Pestizide identische Wiederfindungsraten wie OASIS HLB. Besonders polare Substanzen wie 2,6-Dichlorbenzamid ( $\log K_{ow} = 0.77$ ) und Metamitron ( $\log K_{ow} = 0.85$ ) zeigten hingegen im Vergleich zu OASIS HLB und LiChrolut® EN deutlich niedrigere Wiederfindungsraten. In weiteren Experimenten werden die Sorptionsaffinitäten und -kapazitäten der Cyclodextrin-Polymere gegenüber den Pestiziden quantifiziert, um auszuschließen, dass niedrigere Wiederfindungsraten der polaren Substanzen Ursache eines Durchbruchs der Analyten sind.



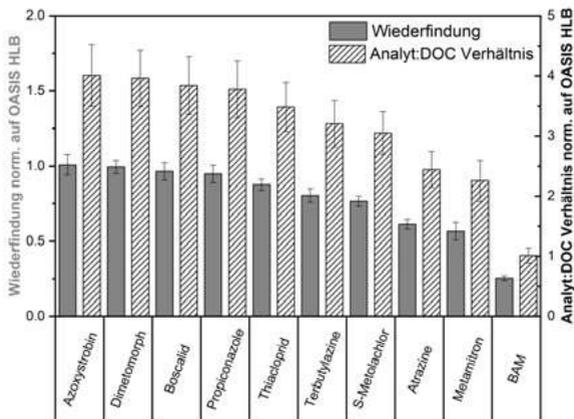
**Abbildung 2** Wiederfindungen der 10 Pestizide für die synthetisierten Cyclodextrin-Polymere ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -CyD-P) und die kommerziellen Sorbenten OASIS HLB, LiChrolut® EN und Supel™-Select HLB nach der Festphasenextraktion bei pH 3 bzw. 7 und einer initialen Analytkonzentration von 1  $\mu$ g/L.

Im Gegensatz zu den Wiederfindungsraten, zeigten die DOC:Analyt-Verhältnisse der Extrakte, die ein Maß für die Ko-Anreicherung von organischem Kohlenstoff sind, nicht bei pH 3 sondern bei pH 7 vorteilhaftere, d.h. niedrigere Werte (Abb. 3). Diese Beobachtung kann mit der Deprotonierung von funktionellen Gruppen (z.B. Carboxygruppen) des NOM bei neutralem pH-Wert und der damit verminderten Extraktionsleistung der Sorbenten erklärt werden. Im Vergleich zu den kommerziellen Sorbenten, erwies sich die Sorption bei den  $\alpha$ - und  $\beta$ -CyD-Polymeren allerdings als

selektiver. DOC:Analyt-Verhältnisse für neun Pestizide waren bei  $\alpha$ -CyD-P um den Faktor 2 bis 4 (Abb. 4) und bei  $\beta$ -CyD-P um den Faktor 1,5 geringer im Vergleich zu OASIS HLB.



**Abbildung 3** DOC:Analyt-Verhältnisse in den Extrakten nach der Festphasenextraktion für das  $\alpha$ - und  $\beta$ -Cyclodextrin-Polymer sowie die kommerziellen Sorbenten.



**Abbildung 4** Substanzspezifische Wiederfindungen und Analyt:DOC-Verhältnisse für das  $\alpha$ -Cyclodextrin-Polymer normiert auf die Ergebnisse für OASIS HLB. Während die Wiederfindungen für Azoxystrobin, Dimethomorph, Boscalid, Propiconazole und Thiacloprid vergleichbar sind, wird das DOC:Analyt-Verhältnis bei Einsatz des  $\alpha$ -Cyclodextrin-Polymer für diese Pestizide um den Faktor 3,5 bis 4 verbessert.

Eine Größenselektivität der Sorption verschiedener NOM-Molekularfraktionen (<1, 1-3, 3-10, >10 kDa) an die Cyclodextrin-Polymere mit unterschiedlichen Hohlraumgrößen konnte in ersten Experimenten nicht nachgewiesen werden. Darüber hinaus unterschieden sich die Wiederfindungsraten der Pestizide bei kompetitiver Sorption mit den verschiedenen Molekularfraktionen nicht signifikant. Als wesentlicher Mechanismus wurde folglich unspezifische Sorption identifiziert, die mit den Substanzeigenschaften der Pestizide korreliert, van-der-Waals Wechselwirkungen auszubilden. Die Ursache der beobachteten selektiveren Anreicherung der Pestizide bei den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Cyclodextrin-Polymeren wird in weitergehenden Experimenten untersucht.

Aufgrund dieser ersten Ergebnisse erscheinen die porösen und quervernetzten  $\alpha$ - und  $\beta$ -Cyclodextrin-Polymere als vielversprechende Sorbenten für die selektive Anreicherung von Mikroschadstoffen aus natürlichen Wassermatrizes, die zu signifikanten Verbesserungen der Probenvorbereitung für die Kohlenstoffisotopenanalyse beitragen könnten. Durch Optimierungen hinsichtlich der Extraktionseigenschaften des neuen Festphasenmaterials und in Kombination mit Weiterentwicklungen anderer analytischer Probenvorbereitungstechniken (z.B. präparative HPLC oder molekular geprägte Polymere) könnte das Anwendungsfeld der substanzspezifischen Isotopenanalytik für Mikroschadstoffe somit in umweltrelevante Konzentrationsbereiche ausgeweitet werden.

### Literatur

- [1] Elsner, M., Jochmann, M.A., Hofstetter, T.B., Hunkeler, D., Bernstein, A., Schmidt, T.C., and Schimmelmann, A., *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, 403, 2471-2491.
- [2] Elsner, M. and Imfeld, G., *Curr. Opin. Biotech.* **2016**, 41, 60-72.
- [3] Alsaiee, A., Smith, B.J., Xiao, L., Ling, Y., Helbling, D.E., Dichtel, W.R., *Nature* **2015**, 529, 190-194.

## **Identifizierung von Spurenstoffen aus der Non-Target Analytik mittels Feature Based Molecular Networking (FBMN): Uferfiltration an Ems und Ruhr**

D. Oberleitner, Münster/D, R. Schmid, Münster/D, C. Achten, Münster/D

Daniela Oberleitner, Universität Münster, Institut für Geologie und Paläontologie –  
Angewandte Geologie, Corrensstraße 24, 48149 Münster/D  
E-Mail: oberleitner@uni-muenster.de

### **Einleitung und Zielsetzung**

Die sichere Identifizierung von organischen Spurenstoffen mittels Non-Target Analytik stellt eine große Herausforderung dar. Der Abgleich von Fragmentspektren mit Datenbanken liefert zwar häufig einige Treffer, jedoch größtenteils für Muttersubstanzen oder weithin bekannte Metabolite. Weitere Metabolite müssen meist zielgerichtet recherchiert und dann im Datenpool gesucht werden. Um diese Identifizierung zu vereinfachen, wurde 2018 das sogenannte Feature Based Molecular Networking (FBMN) auf der Plattform GNPS (Global Natural Products Social Molecular Network) eingeführt, das neben Datenbankabgleichen von Features und deren Fragmentspektren auch eine Gruppierung und Verbindung von Features innerhalb eines Probenpools ermöglicht [1, 2]. Dadurch werden eventuelle Metabolite direkt mit der (identifizierten) Muttersubstanz verbunden und sind durch Retentionszeitunterschiede und Massendifferenzen leichter zu identifizieren. Darüber hinaus lassen sich Verteilungen der Netzwerkknoten (Nodien) innerhalb der Probengruppen anzeigen, die eine Priorisierung der Identifizierungen ermöglichen.

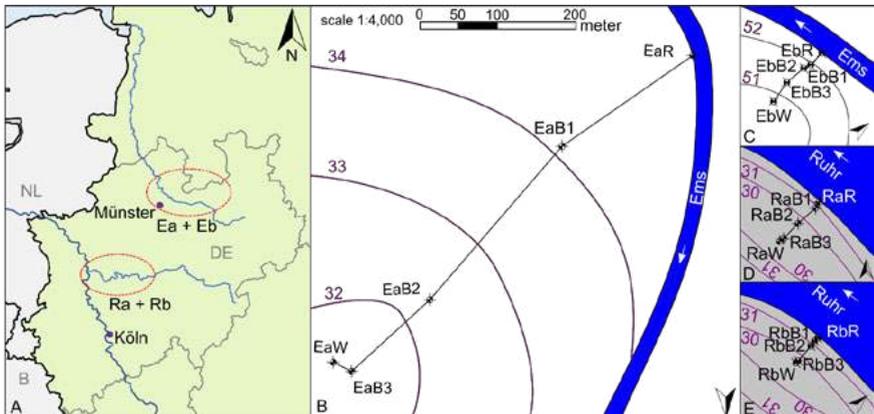
Das Ziel dieser Studie sind Erkenntnisse zum Verhalten von organischen Spurenstoffen, die mittels Non-Target Analyse mit Fokus auf Identifizierung von Features während der Uferfiltration untersucht wurden. In vorausgehenden Arbeiten wurden Ergebnisse aus Target Analysen [3] und Non-Target Analysen mit gekoppelter wirkungsbezogener Analyse [4] an denselben Proben studiert.

Die Uferfiltration (RBF) stellt eine natürliche und kostengünstige Methode zur Entfernung von Spurenstoffen (und Mikroorganismen, Partikeln etc.) dar, die - nach wie vor - eine entscheidende Bedeutung in Deutschland, aber auch weltweit, aufweist. Durch die Entnahme von Grundwasser in unmittelbarer Nähe eines Oberflächengewässers findet eine natürliche Filtration des Oberflächenwassers, unterstützt durch mikrobielle Aktivität, statt. Dabei können Einflussfaktoren wie die Länge der Uferfiltrationsstrecke oder die vorherrschenden Redoxbedingungen von entscheidender Bedeutung für die Entfernung von Spurenstoffen sein. Darüber hinaus besteht auch die Möglichkeit, dass neue Metabolite auf dieser Strecke gebildet werden. Für die Trinkwassergewinnung kann es

also von großer Bedeutung sein, nicht nur das Auftreten von bekannten Spurenstoffen in den Uferfiltrationsbrunnen zu kennen, sondern darüber hinaus auch weitere Metabolite mit möglicherweise reduziertem Eliminationsverhalten zu beobachten [5]. Aus diesem Grund sollen in der vorgestellten Studie Metabolite von bekannten Spurenstoffen in der Uferfiltration identifiziert werden.

## Material und Methoden

Die vier untersuchten Uferfiltrationsstrecken befinden sich an den Fließgewässern Ems und Ruhr in Nordrhein-Westfalen (NRW) und repräsentieren unterschiedliche Aquifere, Redoxbedingungen und Distanzen vom Fluss zum Brunnen (Abb. 1). Drei saisonale Probenahmen erfolgten im Sommer 2017, Herbst 2017 und Frühjahr 2018.



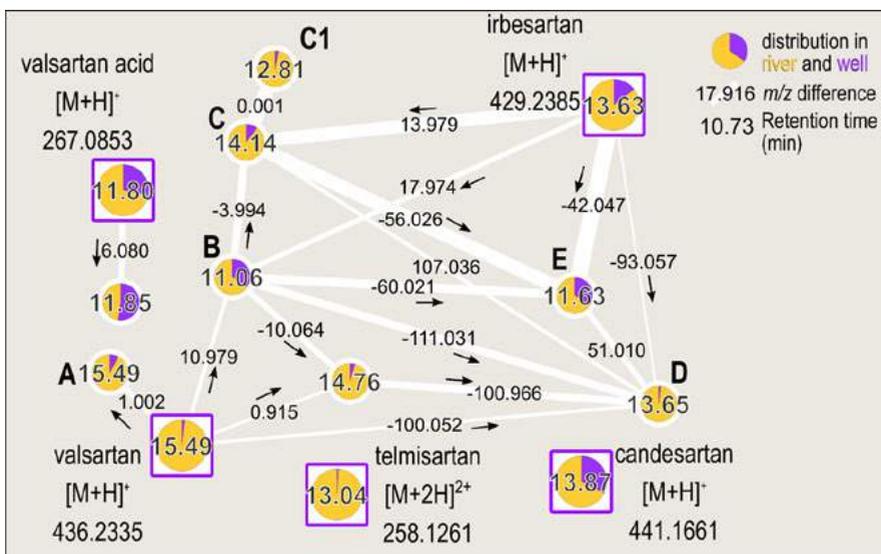
**Abbildung 1** A) Flussverläufe der Ems (nördlich) und Ruhr (südlich) sowie die Lage der untersuchten Standorte in NRW (umrandet). B) – E) Lage der untersuchten Uferfiltrationsstrecken „Ems A“ und „Ems B“ sowie „Ruhr A“ und „Ruhr B“. Die Ruhrstandorte sind grau hinterlegt.

Die Proben wurden zunächst mit einer Direktinjektionsmethode (490  $\mu\text{L}$  + 10  $\mu\text{L}$  interner Standard) mittels Flüssigchromatographie - hochauflösender Tandem-Massenspektrometrie (LC-HRMS/MS) analysiert. Die generierten Datensätze der Proben aus Flusswasser (R) und Brunnenwasser (W) wurden anschließend mittels MZmine 2.51 [6] einer Feature-Detektion (definiert über Masse-zu-Ladungsverhältnis, Retentionszeit und Intensität) unterzogen. Dabei wurde eine Liste generiert, die nur Features enthält, für die auch mindestens ein MS/MS-Spektrum vorhanden ist. Diese Liste wurde zur Plattform GNPS (Global Natural Products Social Molecular Network, <https://gnps.ucsd.edu/>) exportiert. Dort wurde ein Spektrenableich mit mehreren Datenbanken sowie ein Feature Based Molecular Networking (FBMN) durchgeführt.

Dabei werden alle Features miteinander verbunden, die einen gewissen Übereinstimmungsgrad (cosine) in ihren MS/MS-Spektren aufweisen. Die resultierenden Netzwerke enthalten alle über Datenbanken identifizierten Features (cos > 0,7). Die Netzwerke wurden bezüglich der identifizierten Features untersucht und nach Auftreten in Fließgewässern und Brunnen bzw. hinsichtlich der verschiedenen Jahreszeiten analysiert. Anschließend wurden über die identifizierten Features weitere Netzwerknodien des gleichen Netzwerks überprüft und identifiziert.

## Ergebnisse

Mittels des Datenbankabgleichs der Features mit GNPS wurden 47 Substanzen in mindestens einer der Proben bis zum Level 2 (Wahrscheinliche Struktur durch Datenbank- bzw. diagnostische Abgleiche, [7]) identifiziert (cos > 0,7;  $m/z$  error < 10 ppm). Darunter befanden sich auch fünf Stoffe, die bereits über vorherige Target-Analysen detektiert wurden (z. B. Carbamazepin, Diclofenac). Weitere Stoffe waren vor allem abwasserbürtige Arzneimittel (z. B. Sartane, Clindamycin, Sitagliptin) und wenige Pestizide/Biozide bzw. deren Metabolite (z. B. Terbutryn, Desethylterbutylazin). Exemplarisch wurde ein Netzwerk näher untersucht, dass mehrere Sartane enthielt (Abb. 2).



**Abbildung 2** Netzwerke, die identifizierte Sartane enthalten (eckige Knotenpunkte) und Metabolite mit ähnlichen Fragmentspektren. Die Strichstärke der Verbindungslinien (edges) gibt den Übereinstimmungsgrad zwischen den Knoten an.

Die gekennzeichneten Netzwerknodien bzw. Features (A - E) wurden mithilfe der Massendifferenzen und Retentionszeiten über Literaturrecherchen identifiziert. Dabei war die Vorkenntnis, dass diese Features vermutlich auch der Gruppe der Sartane oder derer Metabolite angehören entscheidend. So konnten zunächst das  $^{13}\text{C}$ -Isotop von Valsartan (A) sowie Olmesartan (B) identifiziert werden. Über die hohe Übereinstimmung des Features C mit Irbesartan und der Massendifferenz von 14 Da konnte der Metabolit IRB\_442 und für C1 ein Strukturisomer dieses Transformationsprodukts angenommen werden [8, 9]. Weiterhin wurde dealkyliertes Valsartan (D) identifiziert [10]. Auf ähnliche Weise wurde auch eine dealkylierte Form des Irbesartan (E) identifiziert [9]. Die Fragmentspektren der identifizierten Stoffe wurden jeweils auf diagnostische Fragmente untersucht und so die Identität bis zum Level 2 bestätigt. Darüber hinaus bietet die Verarbeitung der Netzwerke mit der Software Cytoscape (cytoscape.org) auch die Möglichkeit die Verteilung der Feature innerhalb verschiedener Gruppen darzustellen. Für die jahreszeitliche Verteilung ergab sich dabei ein typisches Bild hoher Intensitäten in Sommer und Frühjahr bei geringen Abflüssen sowie Verdünnungseffekten aufgrund von Niederschlag für den Herbst. Das besonders auffällige Auftreten im Frühjahr einiger Sartane (z.B. Telmisartan, Valsartan) im Vergleich zum Sommer ist ggf. durch erhöhte Photodegradation im Sommer zu erklären, die zu einer Reduktion der Intensitäten im Sommer führen kann.

Darüber hinaus ergab sich für die Untersuchung der Effizienz der Uferfiltrationsstrecken, dass einige Sartane (Valsartan, Telmisartan, dealkyliertes Valsartan, IRB\_442\_C1) lediglich in den Fließgewässerproben zu finden sind und somit während der Uferfiltration offensichtlich erfolgreich eliminiert werden. Die anderen Sartane treten hingegen auch in den Brunnenproben auf und stellen damit potentiell relevante Stoffe für die Trinkwasserproduktion dar.

Eine Detailuntersuchung der relativen Verteilung der Sartane im Verlauf der Uferfiltrationsstrecken ergab, dass Irbesartan, dealkyliertes Irbesartan und IRB\_442\_C nur an den anaeroben Standorten an der Ems eliminiert wurden, wohingegen sie an den aeroben Standorten der Ruhr auch in den Brunnenproben zu finden sind. Valsartansäure, Candesarant und Olmesartan zeigten hingegen, wie bereits bekannt, an allen Standorten eine hohe Persistenz [11, 12].

Damit konnten mehrere Metabolite der Sartane zielgerichtet bis zum Level 2 identifiziert und deren Verteilung innerhalb der Uferfiltrationsstrecke sowie über verschiedene Jahreszeiten dargestellt werden. Ein Abgleich der Retentionsreihenfolge mit Literaturdaten bestätigte die Identifizierungen.

### Fazit und Ausblick

Das Feature Based Molecular Networking mithilfe des Online-Tools GNPS stellt eine erhebliche Erleichterung und ein wertvolles Werkzeug für die Identifizierung von organischen Spurenstoffen dar, da basierend auf den Analyseergebnissen direkte Bezüge zu verwandten Stoffen hergestellt werden. Darüber hinaus erhält man bei der

Auswertung unmittelbar einen Überblick über das Auftreten in verschiedenen Gruppen und kann so leicht Identifizierungen priorisieren. Die Nutzung dieses Tools ist nicht nur für den Forschungsbereich der Natural Products, sondern auch für umweltrelevante Proben geeignet und vielversprechend.

Die erfolgreiche Identifizierung der Sartane und ihrer Metabolite lieferte zudem weitere Informationen über deren Verhalten bei der Uferfiltration an verschiedenen Standorten. Zukünftig soll die erfolgreiche Identifizierung und Implementierung des FBMN anhand eines Abgleichs mit Referenzstandards geprüft werden.

### Literatur

- [1] Wang et al., *Nature Biotechnology* **2016**, 34(8): 828.
- [2] Nothias et al., *Preprint* **2019**, doi:10.1101/812404.
- [3] Oberleitner et al., *Chemosphere* **2019**, eingereicht.
- [4] Oberleitner et al., in Bearbeitung.
- [5] Hiscock und Grischek, *Journal of Hydrology* **2002**, 266: 139-144.
- [6] Pluskal et al., *BMC Bioinformatics* **2010**, 11:395.
- [7] Schymanski et al., *Analytical & Bioanalytical Chemistry* **2015**, 407: 6237-6255.
- [8] Letzel et al., *Chemosphere* **2015**, 137: 198-206.
- [9] Boix et al., *Journal of Hazardous Materials* **2016**, 302: 175-187.
- [10] Helbling et al., *Environmental Science & Technology* **2010**, 44: 6621-6627.
- [11] Hellauer et al., *Journal of Hydrology* **2018**, 563: 1161-1168.
- [12] Sperlich et al., *Water* **2017**, 479(9).

## **Entwicklungen in Richtung eines Screenings mittels CE-MS von ionischen Schadstoffen in Wasserproben**

<sup>1</sup>T. Rösch, Tübingen/D, <sup>2</sup>G. Weber, München/D, <sup>1</sup>C. Huhn, Tübingen/D

<sup>1</sup>Eberhard Karls Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 18, Tübingen/D

<sup>2</sup>FFE Service, München/D

### **Einleitung**

Durch die stetig zunehmende Belastung von Oberflächengewässern, verursacht durch Industrieabfälle, Arzneimittel und Haushaltschemikalien, ist eine Überwachung von umweltkritischen Substanzen notwendig. Im Hinblick auf die Analytik von ionischen, sehr polaren umweltbelastenden Spurenstoffen gibt es einen großen Bedarf an neuen, innovativen Methoden [1], die zudem selbst möglichst umweltverträglich sind, d.h. einen möglichst geringen Verbrauch an organischen Lösemitteln haben. Die Kapillarelektrophorese verbindet beide Punkte durch ihre hervorragende Eignung für die Analyse von ionischen Stoffen und den geringen Verbrauch an organischen Lösemitteln. In Kombination mit geeigneten anreichernden Probenvorbereitungsverfahren können anschließend die notwendigen wasserrelevanten Konzentrationen im ng/L-Bereich erreicht werden.

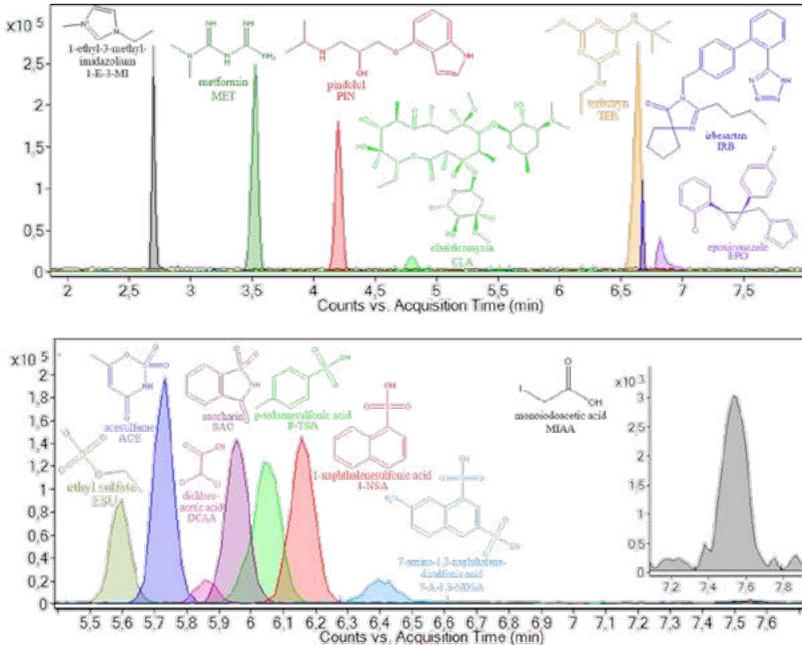
### **Ergebnisse**

Im ersten Schritt wurde eine Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie (CE-MS) Methode entwickelt, die einen nichtwässrigen Hintergrundelektrolyten mit 25 mM NH<sub>4</sub>Ac und 3 % HAC in MeOH nutzt. Lediglich durch Ändern der Spannungspolarität ist mit diesem System die Analyse von jeweils anionischen oder kationischen niedermolekularen Substanzen möglich. Die Modellanalyte decken einen breiten Bereich von physikochemischen Eigenschaften (Ladung, pK<sub>s</sub>, log D-Werte (pH 7.4)) ab, beispielsweise Dichloressigsäure, 1-Naphthalinsulfonsäure, Clarithromycin, Metformin und Acesulfam. Die Matrixtoleranz der Methode gegenüber verschiedenen Oberflächengewässern (Abbildung 1) sowie Leitungs- und Mineralwassern wurde untersucht, wobei Nachweisgrenzen zwischen 0.3 und 4.1 µg/L erhalten wurden (Tabelle 1). Kombinationen dieses Systems mit Probenvorbereitungen wie Festphasenextraktion oder Elektromembran-Extraktion [2] zur Verbesserung der Nachweisgrenzen sind Gegenstand aktueller Forschung.

## An 022

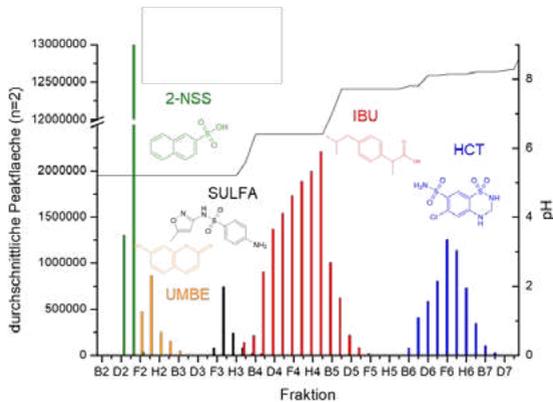
**Tabelle 1** Validierungsparameter von 15 der insgesamt 31 Analyte zugespielt zu einer Flusswasserprobe

Analyt	R <sup>2</sup>	NWG in µg/L	log D (pH 7,4) <sup>[3]</sup>	pK <sub>s</sub> <sup>[3]</sup> (sauer)	pK <sub>s</sub> <sup>[3]</sup> (basisch)	lin. Bereich in µg/L
Metformin	0,998	0,4	-5,6		12,3	1-50
7-Amino-1,3-naphthalin-disulfonsäure	0,996	2,4	-4,3	-2,8	3,6	5-250
1-Ethyl-3-methylimidazol-Kation	0,998	0,4	-3,1	-	-	1-50
Iodessigsäure	0,992	3,9	-2,8	3,1		5-250
Ethylsulfat	0,994	0,7	-2,5	-2,1		1-250
Dichloressigsäure	0,998	0,4	-2,5	2,3		1-50
Acesulfam	0,999	0,3	-1,5	3,0		0,5-50
p-Toluolsulfonsäure	0,997	0,6	-0,7	-2,1		1-50
Saccharin	0,998	0,4	-0,5	1,9		1-50
Pindolol	0,996	0,7	-0,5	14,1	9,7	1-50
2-Naphthalin-sulfonsäure	0,998	1,6	-0,2	-1,8		5-250
Clarithromycin	0,991	4,4	1,6	12,5	9,0	5-250
Terbutryn	0,998	0,4	2,8	14,3	6,7	1-50
Epoxiconazol	0,999	1,4	3,7		2,0	2,5-250
Irbesartan	0,997	2,0	4,2	5,9	4,1	2,5-250



**Abbildung 1** Elektropherogramme einer CE-MS Trennung einer zugespiktes Flussprobe (oben 25  $\mu\text{g/L}$ , unten 50  $\mu\text{g/L}$ ) mit einem nichtwässrigen Hintergrundelektrolyt in positivem und negativem (Trennspannung +30 kV bzw. -30 kV) Ionisierungsmodus.

Da das erste System speziell für Stoffe mit niedrigen  $\text{pK}_\text{S}$ - bzw.  $\text{pK}_\text{B}$ -Werten ausgelegt ist, wurde in einem zweiten Schritt ein alternativer Ansatz für Analyte mit einem breiten  $\text{pK}_\text{S}$ -Bereich untersucht. Dazu wurden sechs anionische Modellanalyte ausgewählt (Hydrochlorothiazid, 2-Naphthalinsulfonsäure, Sulfamethoxazol, Ibuprofen, Umbelliferon und Phenol), die einen breiten  $\text{pK}_\text{S}$ -Bereich (-1,8–10,0) abdecken. Um eine ausreichende Ladung und somit hohe Trenneffizienz zu erhalten, wurde ein wässriger Hintergrundelektrolyt bestehend aus 30 mM  $\text{NH}_4\text{Ac}$ , pH 9 verwendet. Die Analyte wurden einem Kläranlagenabfluss zugespiert. Da diese Art von Proben generell eine hohe Matrixbelastung aufweisen, war eine Vorfractionierung und Entfernung von Matrixkomponenten vor der eigentlichen Analyse vorteilhaft. In diesem Zusammenhang wurde die Free Flow Electrophoresis (FFE) mit einem stufenförmigen pH-Gradienten [4] als Alternative zur Festphasenextraktion untersucht. Dabei wurden die Analyte entsprechend ihren  $\text{pK}_\text{S}$ -Werten und den pH-Werten der FFE-Medien aufgetrennt und vorfractioniert. Diese Fraktionen konnten dann mithilfe der wässrigen CE-MS-Methode analysiert und die Auflösung der Fraktionen bestimmt werden (Abbildung 2). Durch Anpassung der pH-Stufen und größere Probenvolumina können Auflösung und Nachweisgrenzen optimiert werden.



**Abbildung 2** Trennung der fünf Analyte (Hydrochlorothiazid (HCT), 2-Naphthalinsulfonsäure (2-NSS), Sulfamethoxazol (SULFA), Ibuprofen (IBU) und Umbelliferon (UMBE)) der FFE-Fractionen. Phenol konnte mittels der wässrigen CE-MS nicht quantifiziert werden.

### Literatur

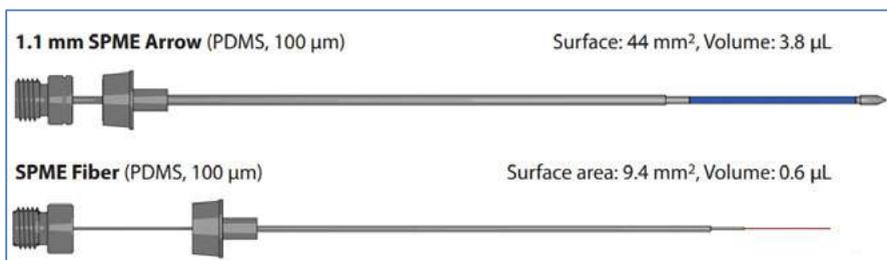
- [1] T. Reemtsma, U. Berger, H. P. H. Arp, H. Gallard, T. P. Knepper, M. Neumann, J. B. Quintana and P. de Voogt, *Environ. Sci. Technol.* **2016**, 50, 10308-10315.
- [2] S. Pedersen-Bjergaard, K. E. Rasmussen, *J. Chromatogr. A* **2006**, 1109 (2), 183-90.
- [3] log D und pK<sub>s</sub>-Werte wurden mit ChemAxon simuliert.
- [4] K. Hannig und H. G. Heidrich, *Free Flow Electrophoresis*, GIT Verlag Weinheim, 1990.

## DETERMINATION OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN WATER (ISO 17943) WITH SPME ARROW

Jason S. Herrington, Colton Myers, Gary Stidsen, Steve Kozel, Bellefonte/USA

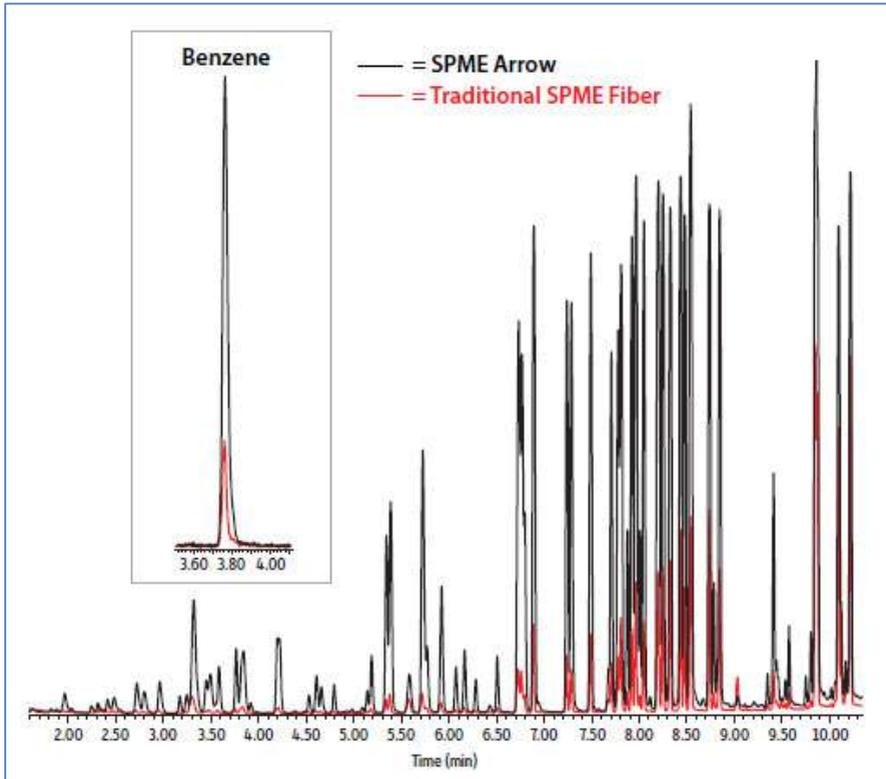
Jason S. Herrington, Restek Corporation, 110 Benner Circle, Bellefonte, PA 16823/USA

The SPME Arrow was designed to overcome 2 major short-comings associated with traditional SPME fibers: small phase volumes and limited mechanical robustness. The following figure provides a side-by-side comparison:



## An 023

With over 4x the phase surface area and 6x the volume, a 1.1 mm SPME Arrow (100  $\mu\text{m}$  PDMS) was compared head-to-head with a traditional SPME fiber (100  $\mu\text{m}$  PDMS) for 92 headspace VOCs in water (ISO 17943):



Refer to GC\_EV1439 at [www.restek.com](http://www.restek.com) and for all the analytical parameters.

## An 023

The SPME Arrow generated an average of 4 – 6x the response of the traditional SPME fiber, which is consistent with the increase in phase surface area and volume. In addition, after hundreds of samples the SPME Arrow does not suffer the same fate as these traditional SPME fibers did:



The SPME Arrow was evaluated for 92 VOCs. ISO 17943 only list 63 VOCs. The following results were obtained from 10 mL of water with only a 2 minute headspace extraction @ 60 °C and a 1 minute desorption @ 250 °C.

The SPME Arrow generated linear results (0.998 median  $R^2$ ) from a wide range (0.0025 – 166  $\mu\text{g/L}$ ); with excellent precision (3.24% median RSD); and low sensitivity (30.0 ng/L median MDL) for 92 headspace VOCs.

# An 023

Compound	r <sup>2</sup>	%RSD	MDL (ng/L)
	(0.0025 - 166 µg/L)	(n = 7 @ 250 ng/L)	
Dichlorodifluoromethane (CFC-12)	0.992	3.15	8.73
Chloromethane	0.997	12.3	135
Vinyl chloride	0.997	7.51	24.2
Bromomethane	0.999	18.8	47.3
Chloroethane	0.994	30.1	102
Trichlorofluoromethane (CFC-11)	0.991	1.97	2.75
Diethyl ether	0.998	5.11	11.1
1,1-Dichloroethene	0.998	3.09	7.25
Carbon disulfide	0.997	2.11	6.52
Trichlorotrifluoroethane (CFC-113)	0.992	6.73	8.08
Iodomethane	0.997	3.29	5.61
Allyl chloride	0.998	1.53	3.17
Methylene chloride	0.998	2.92	54.0
Acetone	0.996	5.76	1137
trans-1,2-Dichloroethene	0.999	1.91	7.78
Methyl tert-butyl ether (MTBE)	0.999	5.51	11.2
tert-Butanol (TBA)	0.999	6.97	28.5
Diisopropyl ether (DIPE)	0.999	14.1	39.7
Acetonitrile	0.999	3.01	169
Chloroprene (2-chloro-1,3-Butadiene)	0.999	3.18	11.4
1,1-Dichloroethane	0.999	3.17	7.03
Acrylonitrile	0.999	3.18	17.4
Ethyl-tert-butyl ether (ETBE)	0.999	4.36	9.34
cis-1,2-Dichloroethane	1.000	2.48	8.69
2,2-Dichloropropane	0.998	3.07	53.0
Bromochloromethane	0.999	2.51	6.69
Chloroform	1.000	1.00	22.6
Methyl acrylate	0.989	3.42	47.1
Carbon tetrachloride	1.000	13.3	29.4
Tetrahydrofuran	0.978	13.2	1456
1,1,1-Trichloroethane	1.000	2.66	6.74
2-Butanone (MEK)	0.984	4.86	2843
1,1-Dichloropropene	1.000	2.21	10.8
Benzene	0.999	3.20	31.3
Propionitrile	0.989	4.64	88.6
Methacrylonitrile	1.000	7.04	33.1
tert-Amyl methyl ether (TAME)	0.998	4.50	13.6
1,2-dichloroethane	1.000	2.87	10.0
Isobutyl alcohol	0.992	5.77	1702
Trichloroethene	1.000	1.37	16.3
Dibromomethane	0.996	2.25	5.3
1,2-Dichloropropane	0.997	4.96	16.9
Bromodichloromethane	0.999	2.33	11.6
Methyl methacrylate	0.999	6.24	30.1
1,4-Dioxane	0.987	3.76	386
2-Chloroethyl vinyl ether	0.999	4.16	16.2
2-Chloropropanol	0.999	6.83	407
cis-1,3-Dichloropropene	1.000	1.93	11.2
Toluene	0.995	1.88	63.6
2-Nitropropane	0.990	4.26	101
2-Hexanone	1.000	4.66	26.9
trans-1,3-Dichloropropene	0.990	2.34	34.0
Tetrachloroethene	0.997	2.74	49.6
Ethyl methacrylate	0.994	3.69	39.7
1,1,2-Trichloroethane	0.999	3.59	14.6
Dibromochloromethane	1.000	3.14	14.0
1,3-Dichloropropane	1.000	3.54	16.0
1,2-Dibromoethane	1.000	3.35	15.3
4-Methyl-2-pentanone (MIBK)	0.999	5.44	29.8
Ethylbenzene	0.989	2.34	11.6
Chlorobenzene	0.999	2.37	24.7
1,1,1,2-Tetrachloroethane	1.000	4.59	43.0
m-Xylene	0.981	2.47	50.8
p-Xylene	0.981	2.47	50.8
o-Xylene	0.989	2.93	38.1
Styrene	0.999	3.14	31.0
Bromoform	0.993	4.18	26.9
Isopropylbenzene	0.989	3.87	66.3
cis-1,4-Dichloro-2-butene	0.999	6.22	70.7
n-Propylbenzene	0.985	2.48	42.4
1,1,2,2-Tetrachloroethane	0.997	4.10	31.5
Bromobenzene	0.996	2.17	26.2
1,3,5-Trimethylbenzene	0.986	2.74	41.5
2-Chlorotoluene	0.996	2.11	20.2
trans-1,4-Dichloro-2-butene	0.997	2.79	30.2
1,2,3-Trichloropropane	1.000	3.51	30.8
4-Chlorotoluene	0.996	2.11	24.9
tert-Butylbenzene	0.990	2.69	34.9
1,2,4-Trimethylbenzene	0.987	2.19	31.8
Pentachloroethane	0.998	5.14	41.1
sec-Butylbenzene (1-methylpropyl)	0.987	3.30	53.7
p-Isopropyltoluene	0.990	3.29	47.7
1,3-Dichlorobenzene	1.000	2.33	22.8
1,4-Dichlorobenzene	1.000	1.70	16.4
n-Butylbenzene	0.995	1.95	11.0
1,2-Dichlorobenzene	1.000	3.81	33.6
1,2-Dibromo-3-chloropropane	0.985	5.50	31.1
Hexachlorobutadiene	0.999	3.30	30.0
Nitrobenzene	0.971	28.9	198
1,2,4-Trichlorobenzene	0.999	1.27	10.4
Naphthalene	0.998	3.39	33.0
1,2,3-Trichlorobenzene	0.998	2.80	21.6
<b>Median</b>	<b>0.998</b>	<b>3.24</b>	<b>30.0</b>

## Raman microspectroscopy analysis of atrazine biodegraders under different physiological conditions

O. Morgaienko, Munich/G, J. Weng, Munich/G, M. Elsner, Munich/G, N. P. Ivleva,  
Munich/G

Institute of Hydrochemistry,

Chair of Analytical Chemistry and Water Chemistry,

Technical University of Munich, Marchioninstr. 17, 81377, Munich, G.

Oleksii Morgaienko, e-mail: [oleksii.morgaienko@tum.de](mailto:oleksii.morgaienko@tum.de)

### Introduction

Micropollutants such as pesticides, herbicides, industrial compounds and pharmaceuticals are often detected in the environment at low concentrations, which raises concerns about drinking water quality and aquatic ecosystem health. Conventional waste water treatment plants are not designed to remove micropollutants completely. Natural and engineered systems that enhance biotransformation of pollutants are, therefore, attractive for environmentally-friendly and cost-efficient purification [1]. The herbicide atrazine is a micropollutant which was banned in the EU in 2003, but is still detected in ground water. *Arthrobacter aureescens* TC1 is known to degrade atrazine [2]. Therefore, this microorganism is a good model organism to study atrazine transformation and bioremediation.

Currently used techniques for detection and characterization of microorganisms are time consuming, expensive and need complicated sample preparation. Raman microspectroscopy (RM) can deliver a minimally invasive sensitive and effective tool with fast, simple sample preparation and analysis on the single cell level [3]. As a sensitive approach RM can reveal metabolic features of the cells. But it is challenging to analyze and identify microorganisms under different conditions (type of culture media, growth phase, presence of small report molecules, etc.).

The aim of our study is a single cell characterization of atrazine biodegrader *Arthrobacter aureescens* TC1 under different physiological conditions using Raman microspectroscopy.

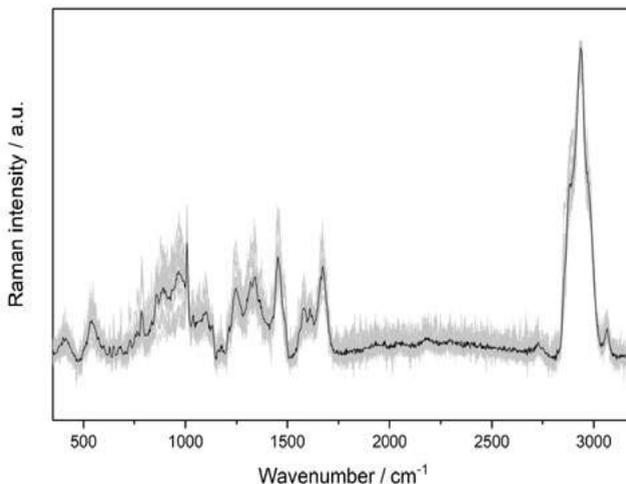
### Materials and methods

*Arthrobacter aurescens* TC1 was grown on mineral salt (MS) media supplemented with atrazine or/and lactate+nitrate as sources of carbon and nitrogen. The methionine analogue L-azidohomoalanine was added to the culture media as a reporter molecule to determine active bacterial cells [4].

Raman spectra were recorded by the Raman Microspectroscope *alpha 300 R* (WITec GmbH) using 532 nm frequency doubled Nd:YAG laser and a 100 × objective.

### Results

Raman spectra of bacteria under the conditions of lactate+nitrate MS medium, atrazine (50%) and lactate+nitrate (50%) MS medium showed insignificant changes compared with bacteria grown on the MS medium supplemented with atrazine. In order to get more insight into degradation properties and the activity of bacteria, bioorthogonal noncanonical amino acid targeting (BONCAT) experiments are planned. This technique is used to study the cell response to external signal *in situ* and relies on the *in vivo* incorporation of artificial amino acids into bacterial biomass [4]. Incorporation of L-azidohomoalanine (100 µM in cell suspension, 6 hours incubation) did not affect the spectra of bacteria.



**Figure 1** Single cell Raman spectra of *Arthrobacter aurescens* TC1 grown in MS medium with atrazine. Overlay of 16 normalized individual single cell Raman spectra (grey) and the average spectrum (black).

## Outlook

Analysis of the samples with various physiological conditions will explore the capability of Raman microspectroscopy to characterize and identify the microorganisms responsible for micropollutant degradation isolated from the environment.

## References

- [1] C. Grandclement et al., *Water research*, **2017**. 297.
- [2] K. Kundu et al., *ISME Journal*, **2019**. 13, 2236–2251.
- [3] N.P. Ivleva et al., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2017**, 409 (18), 1-23.
- [4] R. Hatzenpichler et al., *Environmental microbiology*, **2014**. 16(8), 2568-2590.

## **Titandioxid-basierte disperse Festphasenextraktion von Hydroxamat-haltigen Molekülen aus Meerwasser und Bakterienkulturen**

P. Egbers, Bremen/D, J. Tebben, Bremerhaven/D, T. Harder, Bremen/D

Philipp Egbers, Universität Bremen, UFT, Leobener Str. 6, 28359 Bremen/D

### **Einleitung**

Die gezielte Extraktion von hydrophilen Substanzen aus wässrigen Medien stellt analytische Labore vor eine besondere Herausforderung. Diese Studie zeigt, dass sich Eisenliganden, sogenannte Siderophore, mit Hilfe von Titandioxid-Nanopartikeln ( $\text{TiO}_2$ -NP) mit großer Effizienz aus unterschiedlichen wässrigen Medien adsorbieren und darauffolgend mit hoher Wiederfindung spezifisch eluieren lassen.

Siderophore sind organische Komplexbildner, die von Pflanzen, Pilzen oder Bakterien produziert werden und eine hohe Affinität gegenüber  $\text{Fe(III)}$  aufweisen. Eisen ist ein essentielles Element für nahezu alle Organismen. Siderophore beeinflussen entscheidend die Bioverfügbarkeit und die zelluläre Aufnahme von Eisen [1]. Neben umweltbezogenen Fragestellungen spielen Siderophore auch in der Medizin eine bedeutende Rolle. Sie können zum einen als Antidot bei zu hoher Eisenkonzentration im Blut verabreicht werden (Desferal), zum anderen spielen Siderophore eine wichtige Rolle bei Infektionen und Wachstum von Pathogenen. Der Erreger *Mycobacterium tuberculosis* produziert beispielsweise ein Siderophor, das in der Lage ist  $\text{Fe(III)}$  aus dem menschlichen  $\text{Fe(III)}$ -Transportprotein zu entfernen und dies für eigene Zwecke zu nutzen [2]. Siderophore lassen sich anhand ihrer  $\text{Fe(III)}$ -bindenden Gruppe einer der drei Kategorien zuteilen: Catecholate, Hydroxy-Carboxylate und Hydroxamate [3]. Die Isolierung von Siderophoren und anderen polaren Verbindungen aus wässrigen Medien beruht in der Regel auf Umkehrphasenchromatographie, die allerdings eine geringe Wiederfindung aus salzreichen Medien und keine Selektivität für diese Analyten aufweist.

Titandioxid wird hauptsächlich in der Katalyse und zur Herstellung von Keramiken, Farben und Solarzellen verwendet [4,5]. Aufgrund der hohen Affinität von stark negativ geladenen funktionellen Stoffgruppen wie Phosphaten, phosphorylierten Molekülen (z.B. Phosphopeptide und Phospholipide) und anderen Säuregruppen zu  $\text{TiO}_2$ , wird  $\text{TiO}_2$  zudem in der analytischen Chemie als Sorbent verwendet [6-10]. Die Affinität gegenüber Elektronenpaardonoren kommt durch die ungesättigte Lewis-säure-Stelle an der Oberfläche des Titandioxids zustande. Generell kann  $\text{TiO}_2$  bei niedrigem pH-Wert als Anionen- und bei hohem pH-Wert als Kationenaustauscher fungieren [11].

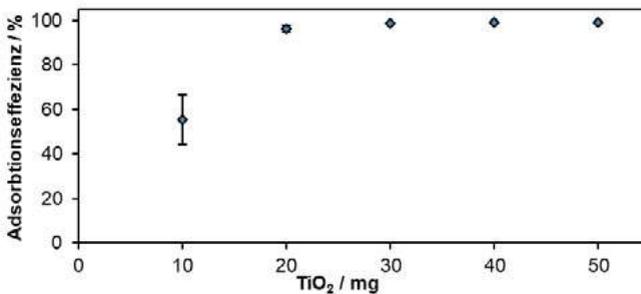
Die Stärke und Art der mit der Titandioxidoberfläche eingegangenen Bindung hängt von der jeweiligen funktionellen Gruppe, der Titandioxid-Kristallstruktur, dem pH Wert und der Ionenstärke des umgeben Mediums ab [12-15].

Um die Eignung von  $\text{TiO}_2$ -NP als disperses Sorbentmaterial für die Aufreinigung von Siderophoren aus komplexen, wässrigen Proben zu testen, wurde in dieser Studie die Modellschubstanz Desferrioxamin B (DFOB), ein Hydroxamat, verwendet und in verschiedenen Verhältnissen von Sorbent zu Analyt aus unterschiedlichen Medien extrahiert.

Wir haben gezeigt, dass  $\text{TiO}_2$  für eine gezielte Festphasenextraktion von Hydroxamat-haltigen Molekülen aus unterschiedlichen, komplexen wässrigen Medien geeignet ist. Diese Extraktionsmethode toleriert hohe Salzkonzentrationen, was einen entscheidenden Vorteil gegenüber der Extraktion dieser polaren Substanzen aus wässrigen Medien mit herkömmlichen Umkehrphasen- und ‚klassischen‘ Ionenaustausch-Verfahren darstellt. Ein weiterer Vorteil dieser Methode besteht darin, dass sowohl bei der Adsorption als auch vor allem bei der Desorption nach funktionellen Gruppen in Analyten selektiert werden kann indem die Elutionsbedingungen spezifisch angepasst werden.

## Ergebnisse

Zunächst wurde die Adsorptionseffizienz von DFOB auf handelsüblichen  $\text{TiO}_2$ -NP (Degussa P-25) aus salzhaltigem Medium (künstliches Meerwasser, ASW) geprüft. Hierfür wurde bei gleichbleibendem Volumen und DFOB-Konzentration die Menge an Sorbent variiert. Die Ergebnisse zeigen, dass  $\text{TiO}_2$ -NP dazu geeignet sind, DFOB direkt aus salinen Medien zu extrahieren, ohne dass der pH-Wert oder die Salinität optimiert werden müssen (Abbildung 1). Die DFOB-Wiederfindung nach Elution lag bei diesem Versuch jeweils bei >90%.



**Abbildung 1** Graphische Darstellung der Adsorptionseffizienz von DFOB aus künstlichem Meerwasser ( $c(\text{DFOB}) = 230 \mu\text{mol/L}$ ;  $\text{pH} = 7,8$ ;  $V(\text{ASW}) = 1 \text{ mL}$ ) mit unterschiedlichen Mengen an  $\text{TiO}_2$  bei einer Adsorptionszeit von 10 min.

Tests mit verschiedenen Elutionspuffern zeigten, eine starke Affinität von Hydroxamat-haltigen Molekülen (z.B. DFOB) zu  $\text{TiO}_2$ -NP als solche mit anderen funktionellen Gruppen, wie z.B. von Catecholaten oder Phosphaten. So konnte DFOB nur mit alkalischen Phosphatpuffern vollständig eluiert werden (Tabelle 1).

Der große Unterschied zwischen den erforderlichen Desorptionsbedingungen der jeweiligen Stoffgruppen eröffnet die Möglichkeit, diese polaren Analyten gemeinsam aus wässrigen Medien an  $\text{TiO}_2$ -NP zu adsorbieren, um sie anschließend getrennt und stoffklassenspezifisch zu eluieren. Diese Methode ist deshalb vielversprechend, verschiedene Analyten selektiv bei unterschiedlichen pH-Werten oder Salzkonzentration von  $\text{TiO}_2$  zu desorbieren und chromatographisch zu trennen.

**Tabelle 1** Vergleich der Desorptionsbedingungen von Hydroxamaten, Catecholaten und Phosphaten von  $\text{TiO}_2$

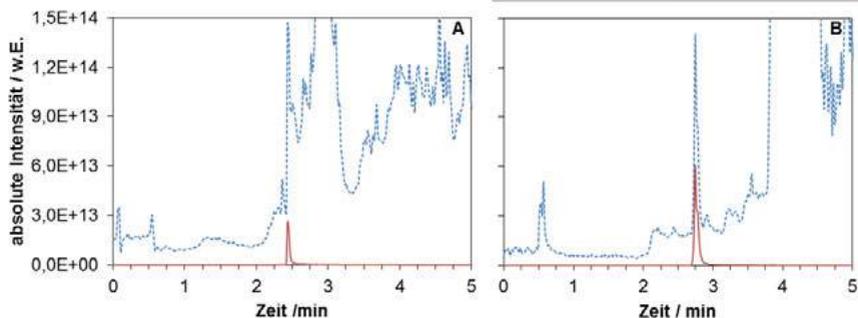
Desorptionslösung	Funktionelle Gruppe		
	Hydroxamat	Catecholat [16]	Phosphat [7,10]
Milli-Q Wasser	X	X	X
Natriumchlorid (c = 1 mol/L)	X	NA	NA
Methanol/Ameisensäure (pH 2)	X	✓	X
Milli-Q/Ameisensäure (pH 2)	X	✓	X
Ethanol/Ammoniak (pH 11,8)	X	X	NA
Milli-Q/Ammoniak (pH 9)	X	X	✓
Milli-Q/Ammoniak (pH 11,8)	(✓)	X	✓
Milli-Q/Ammoniak (pH 12,6)	(✓)	X	✓
Phosphatpuffer 1 (c = 5 mol/L, pH 8)	(✓)	NA	NA
Phosphatpuffer 2 (c = 0,1 mol/L, pH 12,6)	✓	NA	NA

X = Kein Analyt in Desorptionslösung detektiert; (✓) = Teile des Analyten in Desorptionslösung detektiert  
 ✓ = Gesamter Analyt in Desorptionslösung detektiert; NA = keine Informationen verfügbar

Um die Selektivität von  $\text{TiO}_2$ -NP für die Extraktion von Hydroxamat-haltigen Siderophoren aus komplexen, wässrigen organischen Matrices mit Umkehrphasenchromatographie zu vergleichen, wurden jeweils 5 mL des gleichen Bakterienkulturüberstands eines Desferrioxamin G1 (DFOG1) Produzenten entweder mit einer 1 g C18 SPE-Kartusche oder mit 0,03 g  $\text{TiO}_2$ -NP extrahiert. Im Falle der C18-SPE wurde nach dem zweimaligen Waschen mit zwei Kartuschenvolumen Milli-Q Wasser mit 2 mL Methanol eluiert. Die  $\text{TiO}_2$ -NP wurden zuerst mit 2 mL Milli-Q Wasser, Natriumchlorid (c = 1 mol/L), Milli-Q/Ameisensäure (pH 2) gewaschen, bevor mit 2 mL Milli-Q/Ammoniak (pH 11,8) eluiert wurde. Aliquote des C18 Methanol Eluats und des  $\text{TiO}_2$ -NP Milli-Q/Ammoniak (pH 11,8) Eluats wurden mittels UHPLC-ESI(+)-HR-MS untersucht.

Der Vergleich der zugehörigen Chromatogramme, die jeweils den totalen Ionenstrom und die extrahierte Massenspur des  $^{56}\text{Fe(III)}$ -haltigen Ferrioxamins G1 (FOG1) darstellen, macht deutlich, dass die adsorbierten Siderophore im Milli-Q/Ammoniak

(pH 11,8) Eluat detektiert wurden. Zudem konnte hiermit gezeigt werden, dass die Komplexität der Bakterienkulturprobe durch die chromatographische Behandlung mit TiO<sub>2</sub>-NP reduziert wurde (Abbildung 2). Es fällt besonders auf, dass Substanzen entfernt wurden, die eine dem FOG1 ähnliche Retentionszeit aufweisen, was die weitere massenspektrometrische Analyse verbessert.



**Abbildung 2** Chromatogramme von C18 Methanol Eluat (**A**) und TiO<sub>2</sub>-NP Milli-Q/Ammoniak (pH 11,8) Eluat (**B**) der gleichen DFOG1 produzierenden Bakterienkultur. Der totale Ionenstrom ist als gepunktete Linie und das extrahierte Ionenchromatogramm des <sup>56</sup>Fe(III)-Komplexes als durchgezogene Linie angegeben.

Die präsentierte Methode verknüpft eine hohe Wiederfindung mit einer hohen Selektivität von polaren Substanzen bei der Extraktion aus salzhaltigen wässrigen Proben, die nachunterschiedlichen funktionellen Gruppen selektiv eluiert werden können. Dies zeigt, dass diese Extraktionsmethode vielversprechend für ähnliche analytische Fragestellungen eingesetzt werden kann.

## Literatur

- [1] E. Ahmed, S.J.M. Holmström, *Microbial Biotechnology*, **2014**, 7, 196-208
- [2] J. Gobin, M.H. Horwitz, *J. Exp. Med.*, **1996**, 183, 1527-1532
- [3] R. Hider, X. Kong, *Nat. Prod. Rep.*, **2010**, 27, 637-657
- [4] U. Diebold, *Surf. Sci. Rep.*, **2003**, 48, 53-229
- [5] P.A. Connor, A.J. McQuillan et al., *Langmuir*, **1999**, 15, 2916-2921
- [6] M.W.H. Pinkse, P.M. Uitto et al., *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 3935-3943
- [7] M.R. Larsen, T.E. Thingholm et al., *Mol. Cell. Proteomics*, **2005**, 4, 873-886
- [8] G.T. Cantin, T.R. Shock et al., *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 4666-4673
- [9] A. Montoya, L. Beltran et al., *Methods*, **2011**, 54, 370-378
- [10] A. Leitner et al., *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2010**, 29, 177-185
- [11] J. Xu et al., *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2016**, 80, 41-56
- [12] W.R. McNamara et al., *Energy Environ. Sci.*, **2010**, 3, 917-923
- [13] B.J. Brennan et al., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2013**, 15, 16605-16614
- [14] H. Gulley-Stahl et al., *Environ. Sci. Technol.*, **2010**, 44, 4116-4121
- [15] H.G. Upritchard et al., *Langmuir*, **2007**, 23, 7189-7195
- [16] J. Kurepa et al., *The Plant Journal*, **2014**, 77, 443-453

## **Reduktion von Nitrat im Grund- und Oberflächenwasser durch den Einsatz von integrierter Aquakultur in traditioneller Fischzucht**

A. Dr. Harvey Harbach, Hof/D, B. Prof. Dr. Manuela Wimmer, Hof/D

Dr. Harvey Harbach, Hochschule Hof, Alfons-Goppel-Platz 1, 95028 Hof/D

### **Hintergrund und Zielstellung**

Im Rahmen des Verbundprojektes Grüne Technologiewerkstatt Hof (GTW Hof) des Instituts für Wasser- und Energiemanagement der Hochschule Hof (iwe) und gefördert durch den Europäischen Fonds für regionale Entwicklung wird in Zusammenarbeit mit kleinen und mittleren Unternehmen (KMUs) zu den Bereichen Wasser, Energie und Ressourcen anwendungsorientiert geforscht. Mit dem Projekt werden die Chancen und Grenzen von integrierter Aquakultur für bestehende traditionell wirtschaftende bayerische Aquakulturbetriebe untersucht.

In für Bayern repräsentativ ausgewählten Aquakulturbetrieben wurden zunächst die vorhandenen Nährstoffströme (Stickstoff- und Phosphormetaboliten) im Prozess- und Abwasser evaluiert. Aquakulturanlagen nutzen Quell- bzw. Oberflächenwasser in ihren Anlagen, welches anschließend wieder belastet, auch mit Nitrat, ins Ökosystem eingeführt wird. Nitratbelastungen des Grundwassers sind ein bekanntes und ernstzunehmendes Problem. Zum Schutz der menschlichen Gesundheit schreibt die Trinkwasserverordnung [1] Höchstgehalte von 50 Milligramm pro Liter (mg/L) Nitrat vor. Seit 2008 wird dieser Grenzwert an etwa 18 Prozent der Messstellen überschritten, sowie bei rund 37 Prozent der Messstellen um Werte von >25 mg/L [2]. Nitratbelastungen von Grundwasser und anderen Gewässern werden hauptsächlich auf die Kultur von Ackernutzpflanzen durch Landwirtschaft zurückgeführt. Die Landwirtschaft umfasst allerdings ebenfalls die Kultur von Fischen in Aquakultur. Durch Fütterung und Fischproduktion entstehen auch hier Belastungen des Prozesswassers mit Stickstoff- und Phosphormetaboliten. In Bezug auf die gesamten deutschen Aquakulturbetriebe befinden sich in Bayern knapp 85% der Teichanlagen zur Karpfenproduktion und mehr als 50% der Kaltwasseranlagen zur Produktion von Salmoniden, wie der Forelle [3].

Zielstellung des Projektes stellt es dar, die Marktposition der deutschen Unternehmen durch die Entwicklung von grünen Technologien zu stärken und weiter auszubauen. Im Bereich Wasser bündelt das iwe zahlreiche Kompetenzen, wie in den Bereichen der Abwasserbehandlung, Aquakultur und der Wasserwirtschaft. Module, in Container-Bauweise, werden entwickelt und in den jeweiligen Anlagen installiert. Die Module dienen der Kultur von Tieren und Pflanzen, welche die Reststoffe der Aquakultur zum Biomasseaufbau nutzen sollen. Tier- und Pflanzenarten sollen daher direkt einer wirtschaftlichen Nutzung zugeführt werden und werden daher im Folgenden als Nutztiere bzw. -pflanzen bezeichnet. Durch routinemäßig durchgeführte Dokumentation der relevanten Wasserparameter vor und nach den integrierten Modulen wird das Potential und ggfs. die Grenzen der dadurch erzielten Wasserreinigung validiert. Um den Wirkungsgrad zu verbessern können jederzeit flexibel Anpassungen der Systemkomponenten durch die Bauweise in Containerform vorgenommen werden. Durch die von den integrierten Aquakulturverfahren produzierte Biomasse werden

Erkenntnisse über das ökonomische Potential für die Anlagenbetreiber gewonnen. Der Umwelt- bzw. Grundwasserschutz soll für traditionelle Aquakulturbetriebe mit Hilfe dieses Projektes wirtschaftlich attraktiv ermöglicht werden.

## Einleitung

Es existieren zahlreich unterschiedliche Formen von Aquakultur. Für das Projekt wurden Forellen-Betriebe ausgewählt. Diese sind, neben der Karpfenproduktion in Teichen, charakteristisch für die Aquakulturproduktion Deutschlands. Sie sind durch kontinuierlichen Wasseraustausch und die Fütterung mit Kunstfuttermitteln gekennzeichnet. Durch diese Systeme werden kontinuierlich geringe Wasserbelastungen (u.a. Stickstoff) an das umgebende Ökosystem abgegeben.

In Zusammenarbeit mit zwei Aquakulturbetrieben wurden die zur Verfügung stehenden Nährstoffmengen der Anlagen in deren Prozesswasser erhoben. Die Module wurden an der Wasserführung installiert durch die das Prozesswasser vor dem Einleiten in das Ökosystem geführt und behandelt wird. Die Ergebnisse der Wasseraufbereitung und die Produktion zusätzlich vermarktbarer Produkte werden die Möglichkeiten und Grenzen aufzeigen. Besonders Limitierungen der Nutzung durch Umweltfaktoren (u.a. Temperatur, Wassermenge) bilden Teil der Untersuchungen.

## Material und Methoden

Sich im Wasser von Aquakulturanlagen anreichernde Stoffe, wie Stickstoffmetabolite, bleiben aktuell ungenutzt. Angeschlossene Module in flexibler Containerbauweise setzen die integrierte Aquakultur als Wirkprinzip ein, um diese Nährstoffe einer Nutzung zuzuführen und die Wasserbelastungen zu reduzieren. Die Module umfassen hierbei die Vermikompostierung und die Hydroponik. Im Vorhaben werden die Forellenproduktion mit der Produktion von Würmern (*Eisenia hortensis*) in einer Vermikompostierung gekoppelt. Die Kultivierung der Würmer wird in einem Kunststoffbehälter mit 1.000 Liter Volumen realisiert, welcher mit 800 Liter Kunststoffchips (Hel-X Flakes) befüllt wurde. Der Vermikompostierung nachfolgend wird Wasserminze (*Mentha aquatica*) in der Hydroponik in Deep Flow Technique kultiviert.

## Ergebnisse

Mit den angeschlossenen Modulen und der Nutzung der integrierten Aquakultur als Wirkprinzip, um die Wasserbelastungen zu reduzieren können nun erste Ergebnisse gezeigt werden (siehe Abbildung 1).

Zur Einschätzung der zur Verfügung stehenden Nährstoffmengen in der bestehenden Fischzucht wurde über drei Monate lang das Haltungswasser auf Ammonium ( $\text{NH}_4$ ), Nitrit ( $\text{NO}_2$ ) und Nitrat ( $\text{NO}_3$ ) untersucht. Es zeigen sich in positiver Korrelation zur Temperatur sinkende Werte an  $\text{NO}_3$ .  $\text{NO}_3$  sinkt von im Mittel von 3,49 mg/L im Juli auf ca. 2,14 mg/L im September ab. Die Werte an  $\text{NH}_4$  und  $\text{NO}_2$  bewegten sich über den Beprobungszeitraum auf einem relativ niedrigen Niveau (mit Ausnahme von 1,78 mg/L  $\text{NH}_4$  am 13.08.2019) von im Mittel von 0,32 mg/L  $\text{NH}_4$  sowie 0,04 mg/L  $\text{NO}_2$ .

Die Vermikompostierung beeinflusst die Konzentrationen an Stickstoffmetaboliten und deren vorliegenden Form nicht. Es konnte allerdings festgestellt werden, dass die Hydroponik die vorhandenen Mengen an  $\text{NO}_3$  reduziert. Es wurden Abnahmen von 95% (10.09.), 87% (24.09.), 89% (09.10.) ohne eine Veränderung der anderen Stickstoffmetaboliten im Haltungswasser festgestellt (siehe auch Tabelle 1).

Datum	Wassertemperatur	Teich			nach Vermikompostierung			nach Hydrokultur		
		NH <sub>4</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub>
02.07.2019	18,3°C	0,15 mg/l	0,06 mg/l	3,50 mg/l						
17.07.2019	16,3°C	0,08 mg/l	0,02 mg/l	2,92 mg/l						
31.07.2019	16,9°C	0,15 mg/l	0,04 mg/l	4,05 mg/l						
13.08.2019	17,8°C	1,78 mg/l	0,03 mg/l	2,10 mg/l						
27.08.2019	17,7°C	0,05 mg/l	0,03 mg/l	3,07 mg/l						
10.09.2019	13,1°C	0,08 mg/l	0,04 mg/l	1,98 mg/l	0,02 mg/l	0,04 mg/l	1,91 mg/l	0,02 mg/l	0,04 mg/l	0,11 mg/l
24.09.2019	12,4°C	0,01 mg/l	0,06 mg/l	2,63 mg/l	0,02 mg/l	0,02 mg/l	2,67 mg/l	0,02 mg/l	0,02 mg/l	0,34 mg/l
09.10.2019	10,8°C	0,27 mg/l	0,07 mg/l	1,81 mg/l	0,15 mg/l	0,10 mg/l	1,87 mg/l	0,16 mg/l	0,10 mg/l	0,19 mg/l
22.10.2019	11,2°C	0,18 mg/l	0,05 mg/l	1,74 mg/l	0,06 mg/l	0,04 mg/l	1,77 mg/l	0,04 mg/l	0,04 mg/l	1,76 mg/l
18.11.2019	6,9°C	0,23 mg/l	0,03 mg/l	2,20 mg/l	0,07 mg/l	0,03 mg/l	2,15 mg/l	0,08 mg/l	0,03 mg/l	2,24 mg/l

Abbildung 1: Entwicklung der Wassertemperatur (°C), der Gehalte an NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub> und NO<sub>3</sub> (mg/L) im Ablauf des Fischteichs, der Vermikompostierung und der Hydroponik über den Zeitraum vom 02.07. bis 18.11.2019.

## Diskussion

Ein Alleinstellungsmerkmal der traditionellen Aquakultur Deutschlands bildet der hohe Anteil der regionalen Direktvermarktung der Produktion mit einer ausgeprägten Kundennähe sowie hohen Produktionstransparenz. Durch die Nutzung der Nährstoffe aus dem Prozesswasser zur Produktion von Nutzpflanzen, wie beispielsweise Kräutern, in Hydroponik kann dem Kunden eine breitere Produktpalette angeboten werden und zugleich demonstriert werden wie umweltverträgliche, nachhaltige Fischproduktion vor Ort betrieben wird.

Die ersten Ergebnisse der Untersuchungen sind vielversprechend in Bezug auf die Reduktion der Belastungen des Ablaufwassers mit Stickstoff (im Mittel von ca. -90%). Im Folgenden muss untersucht werden in welchen Temperaturbereichen diese Reduktionen möglich sind und ob ähnliche Ergebnisse für Phosphor erzielt werden können. Zusätzlich werden zur Wirtschaftlichkeitsbetrachtung ebenfalls die Biomasserträge der Kräuter untersucht werden.

Allein in Bayern könnten 636 Betriebe der Kaltwasseranlagen (> 50% Deutschlands) diese Möglichkeit nutzen mit einer regionalen und nachhaltigen Produktion von Fisch in heimischer Aquakultur den Konsumenten zu überzeugen. Es wurden mit den Untersuchungen die ersten vielversprechenden Ergebnisse erzielt mit denen die Belastungen der Ökosysteme aus Fischzucht zu reduzieren sind, ggfs. vollständig, und zeitgleich die Wertschöpfung für die Produzenten zu erhöhen.

## References

[1] Trinkwasserverordnung 2001, zu finden unter [https://www.gesetze-im-internet.de/trinkvw\\_2001/BJNR095910001.html](https://www.gesetze-im-internet.de/trinkvw_2001/BJNR095910001.html), Zugriffen: 16. November 2019.

[2] Umweltbundesamt, zu finden unter <https://www.umweltbundesamt.de/faqs-zu-nitrat-im-grund-trinkwasser#textpart-1>, Zugriffen: 16. November 2019.

[3] Jahresabschlussbericht Institut für Binnenfischerei 2017, zu finden unter [https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Landwirtschaft/EU-Fischereipolitik/Meeresschutz/JahresberichtBinnenfischerei.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Landwirtschaft/EU-Fischereipolitik/Meeresschutz/JahresberichtBinnenfischerei.pdf?__blob=publicationFile), Zugriffen: 16. November 2019.

## Reaction pathways during ozonation of isoproturon

V. I. Merkus, Essen/D, V. Wirzberger, Essen/D, H. V. Lutze, Darmstadt/D, T. C. Schmidt, Essen/D

Valentina I. Merkus, University Duisburg-Essen, Universitätsstr. 5, 45141 Essen/D

### Introduction

The pesticide isoproturon was one of the most applied herbicides in Germany before its ban in 2016 <sup>[1, 2]</sup>. Isoproturon is listed as carcinogen (category 2) and the parent compound as well as its metabolites were regularly detected in surface waters and ground waters. Therefore, it was ranked as a major problem for the raw water supply and forbidden in the European Union <sup>[2, 3]</sup>. Isoproturon was detected in surface water in the United Kingdom in 2019 despite the ban <sup>[4]</sup>. Moreover, its use is still allowed in other countries (e.g., Switzerland <sup>[5]</sup>), where it could be also detected in groundwater <sup>[6]</sup>.

Ozone can be applied in water treatment to reduce the amount of isoproturon because the molecule contains an activated aromatic ring, which can be attacked by ozone (the tertiary amine group is non-reactive) <sup>[7]</sup>. Mascolo et al. (2001) examined the formation of ten transformation products (TPs) during ozonation in ultrapure water at pH 7 and proposed that isoproturon is mainly degraded by the reaction with molecular ozone at the aromatic ring or the methyl groups <sup>[8]</sup>. The oxidation of methyl groups though, may rather be related to reaction of intrinsically formed hydroxyl radicals, since experiments in presence of scavengers were not performed so far. The formed TPs may also have (eco)toxicological relevance, if they persist a subsequent biological treatment step <sup>[9, 10]</sup>.

The influence of compounds used for scavenging of hydroxyl radicals <sup>[7]</sup> can provide information about the reactive oxidation species involved in the formation of TPs. Additionally, formation pathways of TPs can be concluded from this knowledge. Therefore, the ozonation of isoproturon in presence of scavengers compared with the ozonation in ultrapure water with focus on the TPs was examined in this study.

### Materials and Methods

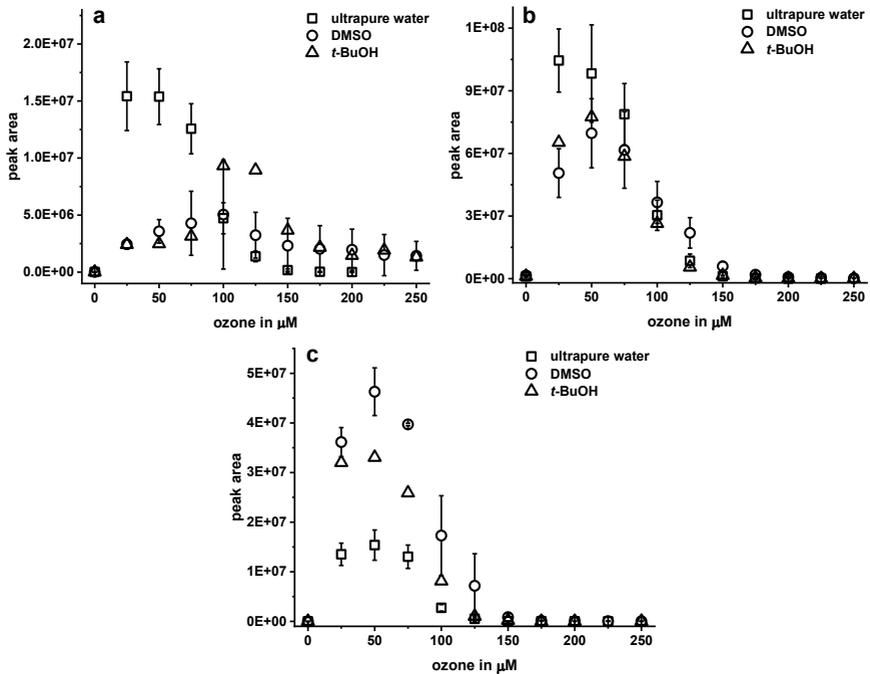
All standards and samples were prepared in ultrapure water. The final concentration of isoproturon within the samples was 25 µM. Dimethylsulfoxide (DMSO) and *tert*-butanol

(*tert*-BuOH) were used as scavengers and added in the concentrations 0.289 mM and 3.375 mM, respectively. These concentrations were sufficient for scavenging 90% of the formed hydroxyl radicals (based on kinetic calculations). The pH was buffered at pH 7 using 10 mM phosphate buffer. All samples were treated with 0 to 250  $\mu$ M ozone solution. Ozone was generated by ozone generators COM (Anseros) and Philaqua 802x (BMT Messtechnik) from pure oxygen. The solution was enriched by bubbling the gas stream through ice-cooled ultrapure water and dissolved ozone was determined by UV-absorption ( $\epsilon = 3200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) [7]. After ozonation the samples were stored at 4 – 6 °C overnight and measured by HPLC-HRMS (Dionex Ultimate 3000 UHPLC<sup>+</sup> focused (Thermo Fisher) coupled with Q Exactive Orbitrap (Thermo Fisher)). The chromatographic separation was carried out with a Kinetex 5  $\mu$ m EVO C18 Å 100x3.0 mm column (Phenomenex). Eluents A: water (LC-MS grade, Fisher Chemical) + 0.1% formic acid (99%, VWR Chemicals), and B: methanol (LC-MS grade 99.99%, Fisher Chemical) + 0.1% formic acid (99% VWR Chemicals) were used for an elution gradient with a flow rate of 300  $\mu$ L/min (0-4 min, 10% B; 7-10 min, 90% B; 10.1-20 min, 10% B). The injection volume was 10  $\mu$ L. Suspect screening for the proposed transformation products was performed with Xcalibur 4.0 (Thermo Scientific). The hydroxyl radical yield was determined by quantification of the reaction products of DMSO with hydroxyl radicals, methanesulfinic acid and methanesulfonic acid, by ion-exchange chromatography.

## Results and Discussion

Six of ten TPs proposed by Mascolo et al (2001) [8] could also be detected in this study. Isoproturon (mass 206 Da) is considered to be mainly degraded by the reaction with molecular ozone leading to the formation of the discovered TPs [8]. This was confirmed for four TPs. For one TP (TP 180) a new additional reaction pathway has been proposed in this study.

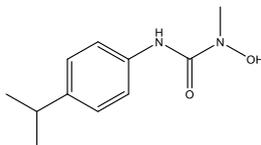
Figure 1 shows the determined peak areas for TP 208 (a), TP 222 (b) and TP 180 (c) against the ozone dosage in the different matrices ultrapure water, DMSO and *t*-BuOH, all buffered at pH 7. A comparison between the measured peak areas of the suspect TPs in absence and in presence of a hydroxyl radical scavenger provide information about the reaction mechanisms.



**Figure 1:** Formation of TP 208 (a), TP 222 (b) and TP 180 (c) from isoprotruron ( $c_0 = 25 \mu\text{M}$ ) by ozonation ( $c = 0\text{-}250 \mu\text{M}$ ) in different water matrices (pH 7; DMSO  $c = 0.289 \text{ mM}$ , *t*-BuOH  $c = 3.375 \text{ mM}$ ) measured with HPLC-HRMS. No standard deviation for *t*-BuOH is given as only two measurements were considered. Error bars represent the standard deviation of triplicate experiments.

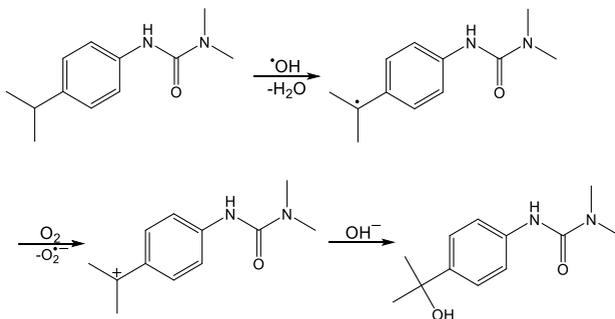
TP 208 (Figure 1 a) and one TP with mass 222 (Figure 1, b) showed a similar curve. Larger peak areas were detected in the systems without hydroxyl radical scavenger than in samples including hydroxyl radical scavengers (DMSO or *t*-BuOH) for both TPs at ozone concentrations between 25 and 75  $\mu\text{M}$ . At higher ozone dosages the peak areas in all systems are in the same range. The yield of hydroxyl radicals was 30%, which are quenched in the scavenged system. These results indicate that the two compounds TP 208 and TP 222 are mainly formed in the presence of hydroxyl radicals. Therefore, these radicals are assumed to be the major oxidative species in the reaction with isoprotruron leading to the corresponding TPs. Although an attack of molecular ozone at

an alkyl group was proposed, it is unlikely to happen [7, 8]. This consideration is supported by the shown results of the formation of TP 208 and TP 222 in presence of scavengers. In case of TP 208 (Figure 2) a hydroxyl group substitutes a methyl group at the tertiary amine [8], which is rather ozone refractory.



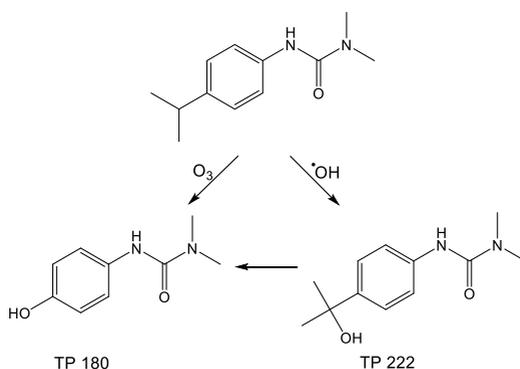
**Figure 2:** Structure of TP 208 (proposed by Mascolo et al. (2001) [8]).

During the formation of TP 222 a reaction occurred at the isopropyl group [8], which is also ozone refractory. This has to be explained by a different reaction mechanism (Figure 3). Instead of ozone, hydroxyl radicals may attack at the tertiary carbon of the isopropyl group and abstract a hydrogen atom leading to a carbon centred radical. In subsequent reactions with oxygen and hydroxyl ions TP 222 could be formed. Both TPs are degraded at higher ozone concentrations in scavenged and non-scavenged systems. Hence, molecular ozone or hydroxyl radicals are involved in this reaction. This degradation can lead to the formation of secondary TPs.



**Figure 3:** Proposed reaction pathway of isoproturon with hydroxyl radicals leading to TP 222.

One secondary TP formed from the further oxidation of TP 222 is TP 180 [8]. However, larger peak areas were measured for TP 180 in presence of scavengers than in the system without scavengers at ozone concentrations between 25 and 125  $\mu\text{M}$  (Figure 1, c). This observation is in contrast to the formation of the intermediate TP 222, which showed larger peak areas in the non-scavenged samples (Figure 1, b). Therefore, TP 180 can also be formed from other precursors than TP 222. As the peak areas in scavenged systems are larger than in ultrapure water without scavenger, this reaction may be mainly driven by molecular ozone as oxidative species (Figure 4). Degradation of TP 180 takes place in both systems at ozone concentrations higher than 125  $\mu\text{M}$  leading to a decrease in the measured peak areas.



**Figure 4:** Proposed formation pathway of TP 180 via direct ozonation of isoproturon or the intermediate TP 222.

The ozonation experiments in presence of hydroxyl radical scavengers showed that not only molecular ozone is important in the formation of TPs but also hydroxyl radicals. These are the main oxidative species leading to the formation of TP 208 and TP 222 in the ozonation of isoproturon. Corresponding reaction pathways were proposed in this work. Additionally, the experiments revealed a second pathway for the formation of TP 180. Hence, this work extends the previous knowledge about the ozonation of isoproturon described by Mascolo et al. (2001) [8] with formation pathways of TPs from isoproturon including hydroxyl radicals as reactive species.

## Literature

- 1 Hillenbrand, T., Marscheider-Weidemann, F., Strauch, M., Heitmann, K., Schaffrin, D. (2007) Emissionsminderung für prioritäre und prioritäre gefährliche Stoffe der Wasserrahmenrichtlinie: Stoffdatenblätter. *Umweltbundesamt Texte 29/07*.
- 2 The European Commission (2016) *Commission implementing regulation (EU) 2016/872 of 1 June 2016 concerning the non-renewal of approval of the active substance isoproturon, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market, and amending Commission Implementing Regulation (EU) No 540/2011*.
- 3 EurEau (2001) Keeping raw drinking water resources safe from pesticides. *EurEau Position Papers EU1-01-A56*.
- 4 Cui, S., Hough, R., Yates, K., Osprey, M., Kerr, C., Cooper, P., Coull, M., Zhang, Z. (2019) Effects of season and sediment-water exchange processes on the partitioning of pesticides in the catchment environment: Implications for pesticides monitoring. *Science of the Total Environment*, **698**, 134228.
- 5 Schweizerische Eidgenossenschaft Bundesamt für Landwirtschaft BLW – Pflanzenschutzmittelverzeichnis: Wirkstoff: Isoproturon. <https://www.psm.admin.ch/de/wirkstoffe/869> (12 September 2019).
- 6 Kiefer, K., Müller, A., Singer, H., Hollender, J. (2019) New relevant pesticide transformation products in groundwater detected using target and suspect screening for agricultural and urban micropollutants with LC-HRMS. *Water Research*, **165**, 114972.
- 7 von Sonntag, C. and von Gunten, U. (2012) *Chemistry of ozone in water and wastewater treatment: From basic principles to applications*, IWA Publishing, London.
- 8 Mascolo, G., Lopez, A., Huw, J., Fielding, M. (2001) By-products formation during degradation of isoproturon in aqueous solution: I: Ozonation. *Water Research*, **35** (7), 1695–1704.
- 9 Hübner, U., von Gunten, U., Jekel, M. (2015) Evaluation of the persistence of transformation products from ozonation of trace organic compounds - a critical review. *Water Research*, **68**, 150–170.
- 10 Magdeburg, A., Stalter, D., Schlüsener, M., Ternes, T., Oehlmann, J. (2014) Evaluating the efficiency of advanced wastewater treatment: target analysis of organic contaminants and (geno-)toxicity assessment tell a different story. *Water Research*, **50**, 35–47.

## **Wirkungsbezogene Analytik kombiniert mit der KOLa-Laboranlage: Ein Werkzeug für mehr Prozessverständnis in der Wasseraufbereitung**

O. Happel, Karlsruhe/D, M. Scheurer, Karlsruhe/D, B. Schmutz, Karlsruhe/D,  
L. Stütz, Langenau/D, W. Schulz, Langenau/D, R. Winzenbacher, Langenau/D

Dr. Oliver Happel, DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW),  
Karlsruher Str. 84, 76139 Karlsruhe/D

### **Einleitung**

Die modernen Methoden der instrumentellen Analytik sind in der Lage, eine Vielzahl organischer Verbindungen in einer Wasserprobe bis in den Spurenbereich nachzuweisen. Ergänzend zur gezielten Quantifizierung ausgewählter Verbindungen (Target-Analytik) werden in jüngerer Zeit immer mehr analytische Ansätze verfolgt, die eine möglichst große Anzahl auch unbekannter Verbindungen erfassen sollen (Non-Target-Analytik). Eine umfassende Identifizierung oder gar (toxikologische) Bewertung aller detektierten Verbindungen ist jedoch derzeit noch nicht möglich. Andererseits stehen für Wasserversorger die hygienische Sicherheit und die toxikologische Unbedenklichkeit des abgegebenen Wassers an oberster Stelle. Daher sind Ergänzungen und Neuentwicklungen von Analyseverfahren zur Erfassung von toxikologischen Wirkungen der im Wasser auftretenden Substanzen nötig. Insbesondere hat die Wirkungsbezogene Analytik (WBA) das Potenzial, Proben aufgrund ihrer Wirkungen im Bioassay zu monitoren und orientierend einzuschätzen. WBA ist eine Kombination aus Trennverfahren mit Bioassays, bei der durch nachfolgende chemische Analytik eine Substanzidentifizierung erreicht werden kann.

Im Rahmen der Trinkwassergewinnung und -aufbereitung können die einzelnen Prozessstufen ergänzend zu den chemisch-analytischen Untersuchungen auch mit der wirkungsbezogenen Analyse charakterisiert und optimiert werden. Neben der Untersuchung von Realwässern lassen sich mit dem Konzept der KOLa-Anlage (Kontinuierliche Ozonung mit Langsandsandfiltration) vielfältige Prozessvarianten im Laborversuch nachstellen. Die KOLa-Anlage wurde erstmals zur WASSER 2016 vorgestellt. Mit Hilfe der Anlage gelang es, realitätsnahe Versuche durchzuführen, die die Kombination aus oxidativer Aufbereitungsstufe (Ozonung) und biologischer Aufreinigung (Langsandsandfiltration) im Labormaßstab abbilden konnten (DMS/NDMA und Acesulfam/Oxidationsprodukt mit  $m/z$  168) [1].

Im Rahmen des DVGW-Forschungsvorhabens *WBA-BeReit* (W201518) sollte die Aussagekraft der WBA zum Monitoring und zur Beurteilung organischer Spurenstoffe im Roh- und Trinkwasser und zur Bewertung von Aufbereitungsprozessen verifiziert werden [2]. Ziel war es, zukünftig die WBA in Verbindung mit der Hochleistungs-dünnschichtchromatographie (HPTLC) als Ergänzung zur chemischen Analytik einzusetzen, so dass eine umfassendere Risikobewertung ermöglicht wird. Zur Erreichung der Projektziele wurden bereits verschiedene Methoden adaptiert und aufeinander abgestimmt. Beispielsweise wurden verschiedene Anreicherungsverfahren in Bezug auf ihre Kompatibilität mit den ausgewählten Wirktests und auf ihre chemisch-

analytischen und effektbasierten Wiederfindungen hin untersucht, auf die im folgenden Abschnitt näher eingegangen wird. Parallel zu Realwasseruntersuchungen wurde in einem Arbeitspaket des Projektes die Einsetzbarkeit der KOLa-Anlage in Kombination mit der WBA untersucht.

In diesem Beitrag werden Ergebnisse zum Modellansatz:

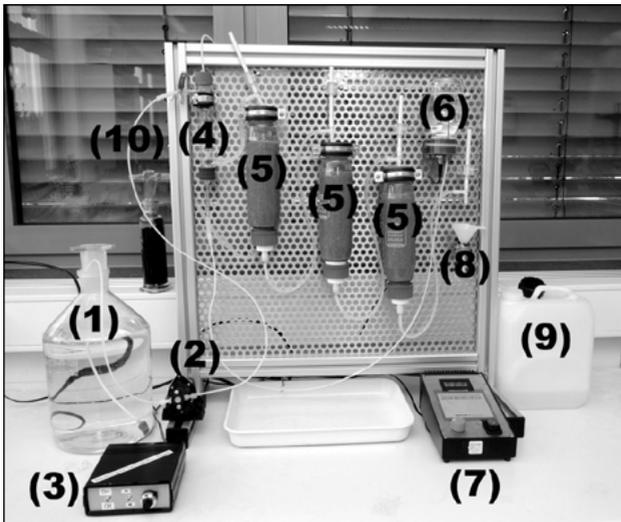
KOLa  $\Rightarrow$  Anreicherungsverfahren  $\Rightarrow$  WBA/HPTLC

gezeigt, bei denen ein mit Positivsubstanzen dotiertes Trinkwasser eingesetzt wurde.

## Materialien & Methoden

In diesem Abschnitt werden wesentliche Informationen zu den einzelnen Bestandteilen des Modellansatzes gegeben.

**KOLa-Anlage:** In Abbildung 1 ist ein Foto der KOLa-Anlage zu sehen, mit der die Versuche durchgeführt wurden. Details zu den Parametern (Flussrate, Säulendimensionen, Ozondosen, usw.) wurden bereits in [1] publiziert. In der KOLa-Anlage wird das Testwasser bis zur Blasensäule gepumpt und läuft ab hier vom Gefälle getrieben durch die Anlage. Die Verweilzeit in der gesamten Anlage beträgt ca. 4 h. Im Gegenstrom wird in die Blasensäule über eine Fritte gasförmiges Ozon dosiert, das elektrochemisch mittels einer Ozon-Mikrozelle (Fa. Innovatec, Deutschland) erzeugt wird. Aufgrund von nur zwei aktiven Bauteilen (Pumpe und Ozon-Mikrozelle) bleibt der Aufbau übersichtlich und wartungsarm.



**Abbildung 1:** Foto der KOLa-Anlage mit 1) Tank, 2) Pumpe, 3) Pumpensteuerung, 4) Ozon-Blasensäule, 5) Sandsäulen, 6) Ozon-Mikrozelle, 7) Steuerung Ozon-Mikrozelle, 8) Ablauf, 9) Abfallbehälter, 10) Ozonvernichtung

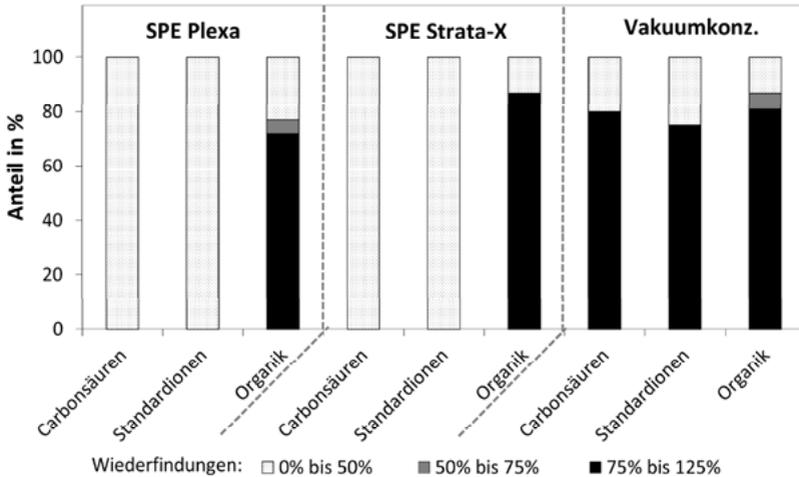
**Anreicherungsverfahren:** In toxikologischen Testverfahren treten Wirkungen von Substanzen erst dann auf, wenn ihre Wirkschwellen überschritten sind. Da in Umweltproben die Gehalte der Spurenstoffe im Bereich von 1 µg/L und kleiner liegen, können Anreicherungsverfahren – vergleichbar der Probenvorbereitung zur chemischen Analyse – eingesetzt werden. Hierbei muss ausgeschlossen werden, dass über die Anreicherungsverfahren falsch-positive oder falsch-negative Effekte in den Wirktests ausgelöst werden (z.B. Lösungsmitteltoxizität, extreme pH-Werte, Substanzverlust durch falsches Anreicherungsverfahren). Die Bedingungen zur Kopplung von Anreicherungsverfahren mit Wirktests wurden im Rahmen des Querschnittsthemas »(Öko-)Toxikologie« der BMBF-Fördermaßnahme RiSKWa erarbeitet und in einem Statuspapier [3] detailliert diskutiert.

Im Projekt *WBA-BeReit* wurden Varianten der Festphasenextraktion, Vakuumkonzentration, Gefriertrocknung und Flüssig-Flüssig-Extraktion auf ihre Kompatibilität zur WBA getestet. Hierzu wurden 64 organische Spurenstoffe, 5 Carbonsäuren und die Standardanionen und -kationen des Trinkwassers auf ihre Wiederfindungen in den Verfahren überprüft. Zusätzlich konnte die Kompatibilität der Extrakte mit den angewandten Wirktests bestätigt werden.

Im Projekt wurde letztlich die Kombination aus zwei Anreicherungsverfahren angestrebt, da insbesondere im Prozess der Ozonung mit der Bildung stark polarer oder ionischer Transformationsprodukte zu rechnen ist. Zur Anreicherung von unpolaren bis ionischen Verbindungen hat sich die Kombination aus Festphasenextraktion (SPE) und Vakuumkonzentration bewährt und wurde im Rahmen von *WBA-BeReit* parallel eingesetzt. In Abbildung 2 ist eine Übersicht der Wiederfindungen der drei Stoffgruppen unter drei verschiedenen Anreicherungsvarianten zu sehen. Während für die organischen Substanzen mit beiden SPE-Materialien überwiegend gute bis sehr gute Wiederfindungen erhalten wurden (d.h. >75 %), lagen die Wiederfindungen für Standardanionen und -kationen bei <1 %, die für Carbonsäuren im Falle der Plexa-Kartusche bei <2 % und im Falle der Strata-X-Kartusche zwischen 1 % und 27 %.

Im Gegensatz dazu konnten für das Verfahren der Vakuumkonzentration für alle drei Stoffgruppen in fast allen Fällen quantitative Wiederfindungen erzielt werden. Verluste können beispielsweise bei flüchtigen Substanzen durch das angelegte Vakuum entstehen, oder durch Mitfällung schwerlöslicher Salze auftreten (z.B. Calcium als Carbonat). Die Erhöhung der Salzgehalte im Konzentrat limitiert den Anreicherungsfaktor dieser Methode (50-fach statt 1000-fach bei der SPE) und führt zu einer Verschlechterung der chromatographischen Trennung auf der Dünnschichtplatte.

Da keine umfassende Anreicherung über nur eine einzige Methode erzielt werden kann, wird im Projekt eine Kombination aus der SPE und der Vakuumkonzentration eingesetzt. Hierdurch können die Nachteile beider Einzelmethoden weitgehend kompensiert werden, wodurch ein breites Substanzspektrum erfasst wird.



**Abbildung 2:** Übersicht der Wiederfindungen dreier Stoffgruppen in drei Anreicherungsmethoden (1000-fach bei SPE, 50-fach bei Vakuumkonzentration).

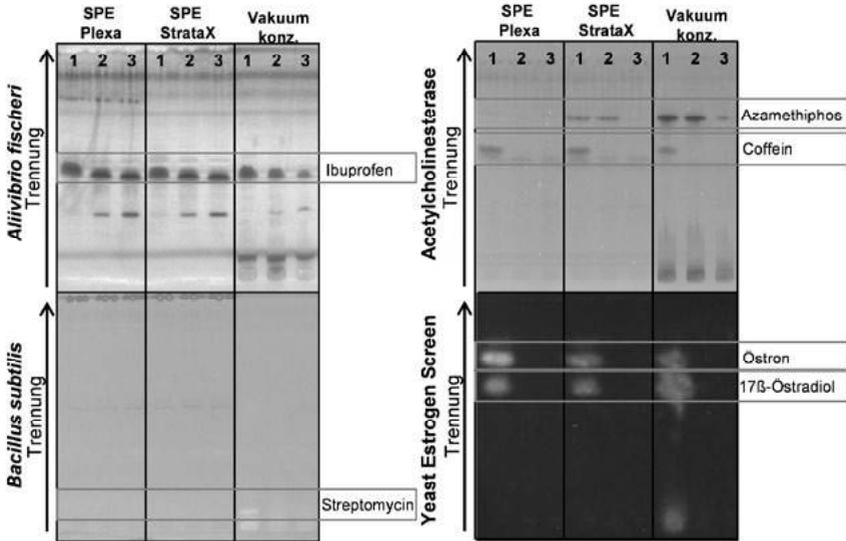
**WBA/HPTLC:** Nach der Anreicherung erfolgt die Untersuchung mittels WBA unter Verwendung der HPTLC. Die Extrakte beider Anreicherungsverfahren werden parallel auf mehreren HPTLC-Platten getrennt und anschließend den folgenden Bioassays unterzogen: Basistoxizität (*Aliivibrio fischeri*-Hemmtest), Antibiotische Effekte (*Bacillus subtilis*-Hemmtest), Neurotoxizität (Acetylcholinesterase-Hemmtest) und Östrogenität (Yeast Estrogen Screen). Nähere Angaben zu den Verfahren sind in [4] enthalten. In Tabelle 1 sind die Tests mit ihren zugehörigen Positivsubstanzen aufgeführt. Zur Untersuchung des gesamten Modellansatzes aus KOLa-Anlage, Anreicherungen und WBA wurden diese Positivsubstanzen in den Vorratstank der KOLa-Anlage in Karlsruher Trinkwasser dotiert. Der Gehalt wurde so gewählt, dass unter Berücksichtigung des Anreicherungsfaktors im Wirktest eine typische Wirkung eintritt.

**Tabelle 1:** Modellmischung mit WBA-Positivsubstanzen (50-fache Anreicherung und ein Auftragevolumen von 50 µL)

Bioassay	Testsubstanz	Gehalt in Testwasser / (µg/L)	Absolute Menge auf HPTLC-Platte / ng
<i>Aliivibrio fischeri</i> Hemmtest	Ibuprofen	400	1000
Acetylcholinesterase Hemmtest	Azamethiphos	40	100
	Coffein	200	500
<i>Bacillus subtilis</i> Hemmtest	Streptomycin	200	500
Yeast Estrogen Screen	17β-Östradiol	0,1	0,25
	Östron	0,1	0,25

Ergebnisse

Die wirkungsbezogenen Untersuchungen wurden mit drei Proben durchgeführt, die an verschiedenen Stellen der KOLa-Anlage entnommen wurden (Abbildung 3). Mit Hilfe der Bioassays wurden die möglichen Transformationen der Positivsubstanzen in der KOLa-Anlage und damit die Abnahme ihrer Wirkungen bestimmt. Des Weiteren wurde untersucht, ob durch die Ozonung eventuell neue Wirkungen im Bioassay auftreten, die durch Transformationsprodukte erklärt werden können.



**Abbildung 3:** Beispiele wirkungsbezogener Untersuchungen dotierten Karlsruher Trinkwassers nach verschiedenen Anreicherungsverfahren (1 = Probe aus dem Tank der KOLa-Anlage; 2 = Probe nach der Ozon-Blasensäule; 3 = Probe nach letzter Sandsäule).

Die dotierten Positivsubstanzen zeigen ein unterschiedliches Verhalten in der KOLa-Anlage. Die Wirkung von Ibuprofen konnte durch die KOLa-Anlage nicht, oder nur zu geringen Teilen verringert werden. Streptomycin konnte lediglich mit der Vakuumkonzentration angereichert werden und zeigte lediglich im Tank eine Wirkung, was auf eine Reaktion mit Ozon hinweist. Die Wirkung von Azamethiphos im Acetylcholinesterase-Hemmtest konnte erst durch den Sandfilter vollständig entfernt werden, wohingegen die Wirkungen von Coffein, Östron und 17β-Östradiol bereits nach der Ozonung nicht mehr nachweisbar waren. Im *Aliivibrio-fischeri*-Hemmtest trat nach der Ozonung eine neue Wirkung auf, die auch nach der anschließenden Sandfiltration bestehen blieb.

## Zusammenfassung

Die hier vorgestellte Methode erlaubt es, Prozessketten der Wasseraufbereitung im Hinblick auf ihre Wirkung zu verfolgen und zu beurteilen. Dies ist die konsequente Ergänzung zur Target- und Non-Target-Analytik. Als Vorteile der KOLa-Anlage können ihre breite Variabilität und ihr überschaubarer Aufwand genannt werden. Durch Variation einzelner Parameter kann die Anlage leicht an die Praxisbedingungen angepasst werden. Insbesondere die Miteinbeziehung der biologischen Stufe nach oxidativer Behandlung ermöglicht ein umfassenderes Prozessverständnis.

Im *WBA-BeReit*-Projekt konnte die Anwendbarkeit der WBA/HPTLC als Monitoring-Instrument der vorgestellten Prozesskette aus KOLa-Anlage, Anreicherungen und WBA/HPTLC anhand von Positivsubstanzen gezeigt werden. Im Projekt wurden auch analoge Experimente mit nicht-dotierten Rohwässern durchgeführt. Zur Auswertung und Interpretation der erhaltenen wirkungsbezogenen Daten wurde eine Methode zur Bildauswertung entwickelt, die eine vergleichende Bewertung der untersuchten Wasser und Prozesse ermöglicht.

Die Autoren danken dem DVGW für die finanzielle Unterstützung, worüber die Arbeiten des Projekts ermöglicht wurden. Wir danken auch dem UBA für zusätzliche toxikologische Untersuchungen. Der Abschlussbericht des Forschungsvorhabens kann über die DVGW-Homepage angefordert werden [5].

## Literatur

[1] O. Happel, P. Brendel, B. Schmutz, M. Scheuer, H.-J. Brauch, KOLa – Kontinuierliche Ozonung mit Langsandsandfiltration, Abstract zur WASSER in Bamberg, **2016**.

[2] WBA-BeReit – Wirkungsbezogene Analytik (WBA) als neuer Ansatz zur orientierenden Bewertung organischer Spurenstoffe in Rohwasserressourcen zur Trinkwassergewinnung und bei Aufbereitungsprozessen, DVGW-Forschungsvorhaben W7/01/16, Laufzeit: Juli 2017 bis Juni 2019.

[3] T. Grummt, R. Triebkorn, J. Oehlmann, T. Braunbeck, O. Happel, RiSKWa-Statuspapier – Methoden zur (öko-)toxikologischen Bewertung von Spurenstoffen im Wasserkreislauf, Dechema e.V., **2017**,  
[http://riskwa.de/Downloads/ /RISKWA\\_Toxikologie\\_Statuspapier\\_final.pdf](http://riskwa.de/Downloads/ /RISKWA_Toxikologie_Statuspapier_final.pdf)

[4] S.C. Weiss, N. Egetenmeyer, W. Schulz, Coupling of In Vitro Bioassays with Planar Chromatography in Effect-Directed Analysis. In Vitro Environmental Toxicology - Concepts, Application and Assessment. G. Reifferscheid and S. Buchinger. Berlin, Heidelberg, Springer, **2016**, 157, 187-224.

[5] <https://www.dvgw.de/themen/forschung-und-innovation/forschungsprojekte/dvgw-forschungsprojekt-wba-bereit/> (Zugriff: 14.11.2019)

## Removal and formation of PM substances during waste water treatment with ozone or activated carbon

<sup>1</sup>K. Kerth, Idstein/D, <sup>1</sup>I. J. Neuwald, Idstein/D <sup>1</sup>D. Zahn, Idstein/D, <sup>2</sup>M. Muschket, Leipzig/D, <sup>2</sup>U. Berger, Leipzig/D, <sup>2</sup>T. Reemtsma, Leipzig/D, <sup>1</sup>T. P. Knepper, Idstein/D

1 Hochschule Fresenius gem. GmbH, Limburger Str. 2, 65510 Idstein  
2 Helmholtz Zentrum für Umweltforschung GmbH – UFZ, Permoserstraße 15, 04318 Leipzig

Corresponding author: T. P. Knepper, [knepper@hs-fresenius.de](mailto:knepper@hs-fresenius.de)

### 1. Introduction

In recent years, persistent and mobile (PM) substances became a focal point of analytical research and regulatory efforts. After discharge into the environment, these substances exhibit a high potential to pass through natural and artificial barriers like waste water treatment plants and may reach raw and drinking water [1]. Due to their intrinsic properties it is unclear whether an additional (“fourth”) wastewater treatment stage like ozonation or activated carbon is able to remove PM substances at least partially. PM substances, however, may be formed by transformation processes [2], and thus the fourth treatment stage (most prominently ozonation or activated carbon) may not only act as barrier for but also as source of PM substances [3].

In this work we assessed selected PM substances before and after the fourth treatment stage, which was either ozonation or activated carbon. Removal efficiency and, if relevant, formation was monitored and evaluated using HILIC-MS/MS and SFC-HRMS in combination with suitable enrichment methods like multi-layer solid phase extraction (mISPE) and azeotropic enrichment. The selected PM substances were taken from previous prioritization and identification studies [4, 5] and expanded upon by the results of a suspect screening. These studies were supplemented by additional high-resolution non-target screening experiments to facilitate the identification of yet unknown PM substances formed during these treatment steps.

### 2. Methodology

Several samples for each waste water treatment plant were taken as a daily mixed samples before and after the fourth treatment stage (see Figure 1). The samples were enriched via multi-layer SPE, evaporation (HILIC-MRM) and azeotropic enrichment (SFC-HRMS).

Quantification was performed using a QTRAP 5500 UHPLC-MS/MS system (AB Sciex, Redwood City, USA) in MRM mode and an SFC-HRMS system. Several novel or scarcely investigated PM substances were included into existing methods, which were then further optimized and validated.

In addition, a non-target screening was performed using HRMS to investigate the formation of polar transformation products during quaternary treatment. The HILIC-HRMS system was

an Orbitrap Velos Pro with a 'Heated Electrospray Ionization' (H-ESI II, both Thermo Scientific, Bremen, Germany) ion source.

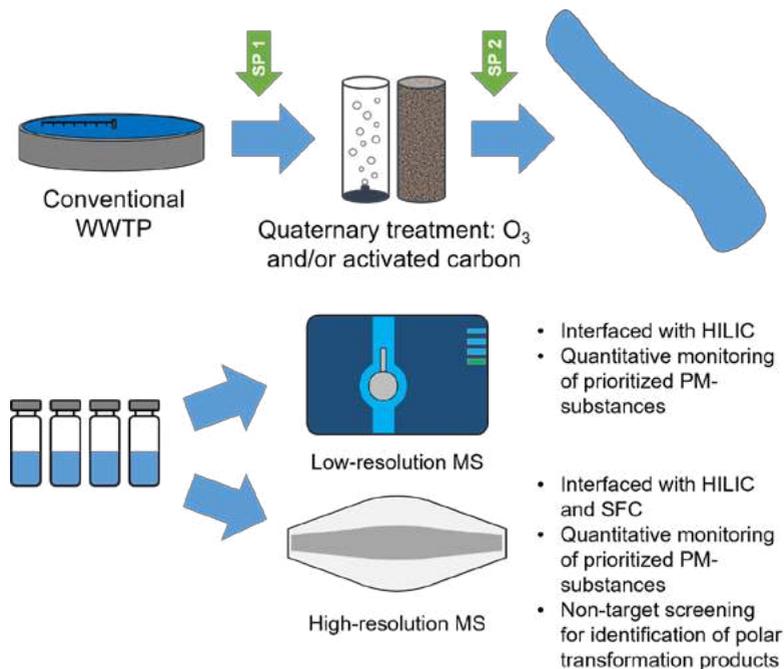


Figure 1: Methodological approach of the investigation of PM-substances during quaternary waste water treatment. Samples were taken before and after quaternary treatment and measured with low- and high-resolution MS for quantification and identification of potential transformation products. SP: Sampling point

### 3. Results and discussion

A selection of potential PM chemicals, including ionic liquids like tris(pentafluoroethyl)trifluorophosphate and bis(trifluoromethanesulfonyl)imide, identified during a suspect screening or by Neuwald et al. [6], were successfully integrated into the pre-existing HILIC-MRM and SFC-HRMS methods (Figure 2). Each of these chemicals was amenable to at least one of the utilized methods.

Analysis of samples taken before and after quaternary treatment steps utilizing either ozonation or filtration through activated carbon revealed that the most commonly utilized quaternary treatment technologies are inefficient to remove some of the most mobile and persistent PM substances like trifluoromethanesulfonic acid. Consequently, the removal of at least some PM substances is not possible with the methods investigated, even though quaternary wastewater treatment may act as an efficient barrier for many non-PM chemicals.

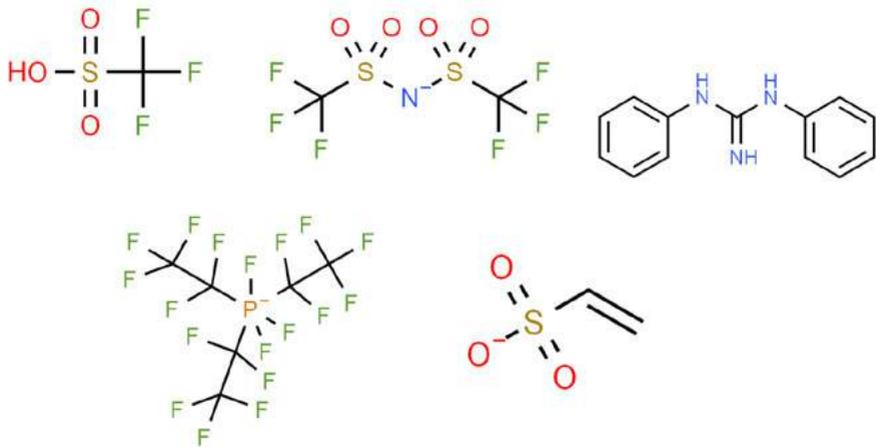


Figure 2: Structure of some exemplary analytes from left to right: trifluoromethanesulfonic acid, tris(pentafluoroethyl)trifluorophosphate, bis(trifluoromethanesulfonyl)imide, vinylsulfate, diphenylguanidine.

In addition the potential of quaternary wastewater treatment steps to act as sources of potential PM chemicals was assessed with a HILIC-HRMS non-target screening approach. Substances formed during the treatment step were prioritized by their signal intensity and, to a certain degree, by their retention time during HILIC, which can be utilized as a rough estimate of their polarity and thus mobility. Preliminary identification was based on the exact mass, isotopologues, and MS/HRMS data. Whenever possible the structure was confirmed with reference materials.

## Acknowledgement

The Authors thank the BMBF for funding the PROTECT project (FKZ: 02WRS1495A/B)

## References

- [1] Reemtsma, T., et al.; *Environmental Science & Technology* **2016**, 50, 10308-10315.
- [2] Zahn, D., et al.; *Water Research* **2019**, 150, 86-96.
- [3] Scheurer, M., et al.; *Water Research* **2017**, 126, 460-471.
- [4] Schulze, S., et al.; *Science of the Total Environment* **2018**, 625, 1122-1128.
- [5] Zahn, D., et al.; *Water Research* **2016**, 101, 292-299.
- [6] Neuwald, I.J., et al.; *submitted*.

## Einfluss der Porengrößenverteilung und des Cu-Gehalts auf Kinetik und Selektivität des Monochloramin-Abbaus an granulierter Aktivkohle

Dittmar, T., Dresden/D, Haaken, D., Dresden/D, Schmalz, V., Dresden/D, Kutzner, S., Dresden/D, Skibinski, B. München/D Stolte, S., /Dresden

Dr. Thomas Dittmar, TU Dresden, Institut für Wasserchemie, 01062 Dresden

### Anlass und Zielsetzung

Schwimmen ist eine ganzjährig beliebte Sportart, welche allein in Deutschland von ca. 300 Millionen Badegästen pro Jahr ausgeübt wird [1]. Dabei können eine Vielzahl von Pathogenen sowohl über die Haut als auch über Fäkalien ins Schwimmbeckenwasser abgegeben werden [2]. Zur dessen hygienischer Sicherung legt die DIN 19643 [3] neben mikrobiologischen und chemischen Qualitätsparametern auch die zulässigen Wasserbehandlungsverfahren fest. Den Stand der Aufbereitungstechnik dominiert gegenwärtig einer Kombination aus Flockung und Filtration, auf die eine Desinfektionsstufe folgt. Als Desinfektionsmittel sind in Deutschland ausschließlich chlorhaltige Stoffe zugelassen [3]. Als Mindestkonzentration an freiem Chlor sind 0,3 mg/L (als Cl<sub>2</sub>) vorgeschrieben.

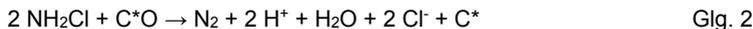
Die hochreaktive hypochlorige Säure bildet mit gelösten und partikulären Stoffen im Schwimmbeckenwasser verschiedene, mitunter gesundheitsschädliche Desinfektionsnebenprodukte (DNPs) [4]. Die überwiegend organischen Ausgangsstoffe werden dabei vor allem durch die Badegäste (v. a. Harnstoff) in den Kreislauf eingetragen [5]. Unter den schwimmbadtypischen DNPs sind die anorganischen Chloramine (CA), wie Monochloramin (MCA), Dichloramin (DCA) und Trichloramin (TCA), von besonderer Relevanz, da diese als humantoxikologisch relevant [6] angesehen werden und als Indikatorparameter sowie technischer Überwachungswert für gebundenes Chlor (0,2 mg/L als Cl<sub>2</sub>) für die Gesamtkonzentration an DNPs im Schwimmbecken genutzt werden [3].

Im Schwimmbadwasser vorliegende Chloramine können mittels Filtration über granulierte Aktivkohle (Glg. 1) vollständig entfernt werden, jedoch kommt es dabei zur Freisetzung von Ammoniumionen.



Diese akkumulieren im Wasserkreislauf und können so nicht nur erneut im Becken mit freiem Chlor zu MCA reagieren, sondern auch als Nährstoff für unerwünschtes mikrobielles Wachstum im Aktivkohlefilter fungieren [7].

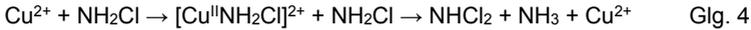
Ein geringer Teil des MCA reagiert an den oxidierten Gruppen der Aktivkohleoberfläche (C\*O) als untergeordnete Nebenreaktion zu elementarem Stickstoff (Glg. 2).



Dabei ist bisher jedoch nicht bekannt, welche sauerstoffhaltigen Gruppen an der Reaktion beteiligt sind. Im Gegensatz dazu reagiert Dichloramin (DCA) auf den aktiven Kohlenstoffzentren der Aktivkohle (C\*) vollständig zu elementarem Stickstoff (Glg. 3) [8].



Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass es einen Zusammenhang zwischen dem Kupfergehalt der Aktivkohlen und der N<sub>2</sub>-Ausbeute gibt [9]. Liegt ausschließlich Cu(II) vor, katalysiert dieses den Umsatz von Monochloramin zu Dichloramin (Glg. 4) [10].



Dichloramin kann anschließend an den aktiven Kohlenstoffatomen (C\*) der Aktivkohle vollständig zu elementarem Stickstoff reduziert werden (Glg. 3).

Unter Berücksichtigung dieser Überlegungen wurden optimierende MCA-Abbauversuche an granulierter Aktivkohle unter der Maßgabe einer verbesserten Kinetik und Selektivität durchgeführt. Dabei können erste Aussagen zum Einfluss der Porengrößenverteilung und des Gehalts an oxidierten Oberflächengruppen sowie des Cu-Dotierungsgrads getroffen werden.

## Material und Methoden

Die MCA-Abbauversuche wurden mit Hilfe eines komplexen Rezirkulations-Batchsystems durchgeführt (Abb. 1).

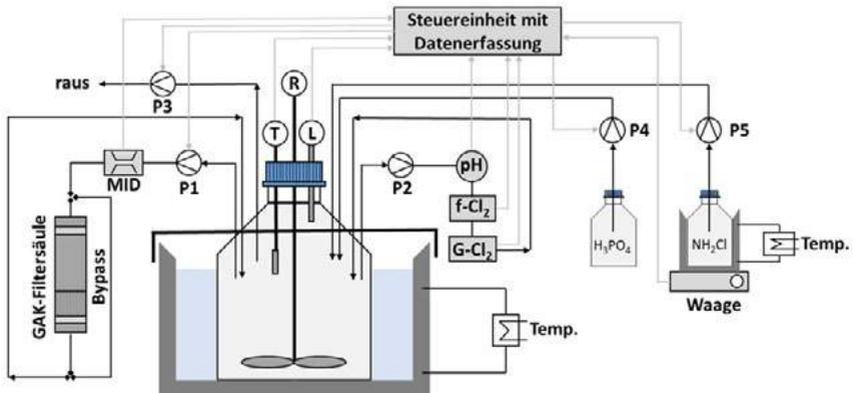


Abb. 1: Schema der Versuchsanlage zum MCA-Abbau

Als Filtersäule wurde eine 200 mm lange Glassäule mit einem Innendurchmesser von 34 mm genutzt. Das Bettvolumen ( $V_{\text{bett}}$ ) der Aktivkohleschüttung belief sich auf ca. 33 mL. Verschiedene Arten von granulierten Aktivkohlen wurden eingesetzt. Die wichtigsten Parameter zur Charakterisierung der ausgewählten GAK sind in Tab. 1 dargestellt. Die auf Kokosnussschalen basierende K 835 weist mit ca. 98,5 % den höchsten Volumenanteil an Mikroporen auf. Demgegenüber nehmen bei den aus Steinkohle hergestellten GAK SIL 15 Extra und S 835 die Mesoporen einen Anteil von 38...46 % am Gesamtporenvolumen ein. Zur Herstellung der K 835-CuO wurde zunächst Kupfer(II)oxid in Essigsäure aufgelöst. In dieser kupferhaltigen Lösung wurde eine Charge der K 835 getränkt und anschließend getrocknet. Der Kupfergehalt belief sich auf ca. 24 mg/g. Dieser Syntheseweg beeinflusste maßgeblich den Gehalt an sauren Oberflächenoxiden (C\*O) auf der Aktivkohleoberfläche. Im Vergleich zur Basisvariante K 835 wurde deren Menge um das ca. Fünffache erhöht, während Porenvolumen und die Porenverteilung der K 835-CuO weitgehend unbeeinflusst blieben.

Tab. 1: allgemeine Kennzahlen der verwendeten Aktivkohle (GAK)

Name	$\rho_{\text{Schütt}}$ [kg/m <sup>3</sup> ]	Fraktion [mm]	BET [m <sup>2</sup> /g]	$\varnothing d_{\text{Poren}}$ [nm]	$V_{\text{Poren, spez.}}$ [cm <sup>3</sup> /g]			Oberflächen- oxide (sauer)  μmol/g
					Mikro	Meso	Gesamt	
K 835	543	1,6...2	1056	0,61	0,407	0,006	0,413	58
S 835	560	1,6...2	986	0,61	0,3	0,25	0,55	71
SIL 15 Extra	450	1,6...2	1030	0,64	0,32	0,2	0,52	77
K 835-CuO	543	1,6...2	1015	0,61	0,304	0,056	0,36	301

Der Reaktor wurde mit ca. 11,5 L des Modellwassers befüllt, welches mit Hilfe eines Propellerrührers (R) ausreichend homogenisiert werden konnte. Die Temperatur des Modellwassers konnte mit Hilfe eines Thermostaten konstant gehalten werden. Diese wurde mit Hilfe eines Temperatursensors (T) über den gesamten Versuchszeitraum kontinuierlich aufgezeichnet. Mit einer magnetgekuppelten Kreiselpumpe (P1) wurde das Modellwasser im Kreislauf über die Filtersäule geführt. Der Volumenstrom von ca. 40 L/h ( $Q_{\text{bett}}$ ) wurde über einen magnetisch-induktiven Durchflussmessers (MID), messtechnisch überwacht und geregelt. Über die Schlauchpumpe P2 wurde das Modellwasser aus dem Reaktor mit einem Volumenstrom von 25 L/h kontinuierlich in einen Messkreislauf gefördert. Letzterer bestand aus einem pH-Sensor sowie zwei Sensoren zur Quantifizierung des freien Chlors (f-Cl<sub>2</sub>) und des Gesamtchlors (G-Cl<sub>2</sub>). Während die Konzentration des freien Chlors lediglich zu Überwachungszwecken herangezogen wurde, diente die kontinuierliche Aufzeichnung der Gesamtchlorkonzentration (G-Cl<sub>2</sub>), des pH-Werts (pH) und des Füllstands (L) der Steuereinheit als Eingangssignal zur Regelung der Schlauchpumpen P3, P4 und P5. Erstere verhindert das Überschreiten des Füllstands. Auf Basis des pH-Sensors (pH) wurde entsprechend eine 0,3 M Phosphorsäurelösung (P4) in den Reaktor dosiert, um den pH-Wert konstant zu halten. Mit Hilfe der Dosierpumpe P5 wurde das im GAK-Filter abgebaute MCA durch die Dosierung einer MCA-Stammlösung permanent nachgeliefert, so dass über die gesamte Reaktionsdauer von einer quasistationären Zulaufkonzentration  $c_{\text{bett,in}}$  von 4,5 mg/L (als Cl<sub>2</sub>) ausgegangen werden konnte. Die MCA-Stammlösung wurde zuvor durch die tropfenweise Zugabe einer Hypochlorit-Lösung (pH 10) in eine rasch gerührte NH<sub>4</sub>Cl oder (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung frisch hergestellt. Ab einem molaren Chlor/Ammonium-Verhältnis von 1,0 zu 1,03 wurde die Zugabe beendet. Der zeitliche Masseverlust der MCA-Stammlösung wurde mittels einer Waage registriert und zur Ermittlung einer spezifischen Dosierrate genutzt. Aus dieser wiederum war über eine Massenbilanz die Auslaufkonzentration  $c_{\text{bett,aus}}$  direkt am GAK-Filterablauf zugänglich. Um die Reaktionskinetik der Abbauxperimente zu quantifizieren, wurde folgende Gleichung genutzt, die einer Reaktion pseudo-erster Ordnung entspricht (Glg. 5).

$$k_{\text{eff}} = \frac{1}{t_{\text{EBCT}}} \cdot \ln \left( \frac{c_{\text{bett,in}}}{c_{\text{bett,aus}}} \right) \quad \text{Glg. 5}$$

Die Größen  $c_{\text{bett,in}}$  und  $c_{\text{bett,aus}}$  stellen die Zu- und Ablaufkonzentration des MCA beim Durchgang durch das Aktivkohlebett sowie  $t_{\text{EBCT}}$  die dafür bereitgestellte Kontaktzeit dar. Letztere wird aus dem Bettvolumen der Aktivkohleschüttung ( $V_{\text{bett}}$ ) und dem

Volumenstrom durch die Filtersäule ( $Q_{bett}$ ) berechnet. Auf Basis der berechneten kinetischen Daten ( $K_{eff}$ ) konnten die Aktivitäten der ausgewählten Aktivkohlen quantifiziert und verglichen werden. Zudem wurde die zeitliche Bildung des Ammoniumstickstoffs ( $NH_4-N$ ) über den Reaktionsverlauf ermittelt, um Aussagen zur Selektivität des MCA-Abbaus treffen zu können.

## Ergebnisse

In Abb. 2 sind zeitlichen Verläufe des MCA-Abbaus (normiert auf Stoffmenge MCA je g GAK) der ausgewählten Aktivkohlen dargestellt. Diese weisen einen hyperbolischen Reaktionsverlauf auf, der für GAK mit homogener Porengrößenverteilung und hohem Mikroporenanteil charakteristisch ist. Die höchsten Mengen an MCA werden an den auf Kokosnussschalen basierenden K 835 und K 835-CuO abgebaut, wobei die Kupferdotierung zu einem leichten Rückgang der abgebauten MCA-Menge führt. Demgegenüber ist der MCA-Verbrauch bei den steinkohlebasierten GAK S 835 und SIL 15 Extra über die Gesamtreaktionszeit um ca. 25 % verringert.

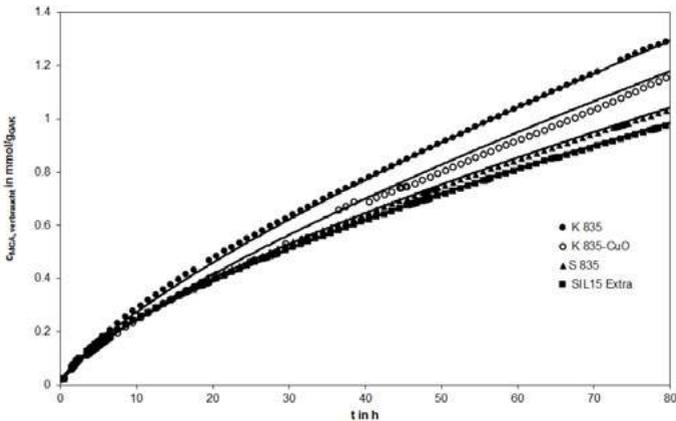


Abb. 2: Zeitlicher Verlauf des molaren MCA-Abbaus (pro g GAK) bei Verwendung verschiedener GAK

In Abb. 3 sind die ermittelten Reaktionskonstanten  $k_{eff}$  gegen den normierten MCA-Abbau aufgetragen. Bei allen verwendeten GAK wird zunächst ein permanenter Rückgang der Reaktionsgeschwindigkeit beobachtet, bis im Bereich von 0,6...1,0 mmol umgesetzten MCA je g GAK stationäre Bedingungen erreicht werden.

Der mit fortschreitender Reaktionszeit zunehmende Aktivitätsverlust wird mit einem Anstieg des Diffusionswiderstands erklärt. Dabei wird angenommen, dass der MCA-Abbau an der äußeren Oberfläche des Aktivkohlekorns beginnt und dessen Reaktionsfront mit zunehmender Reaktionszeit ins Korninnere wandert. Dabei müssen zunehmend abreagierte Aktivkohlezentren passiert werden. Der Fakt, dass die Reaktionsgeschwindigkeit unter stationären Bedingungen nicht vollständig auf null absinkt, kann durch die kontinuierliche Ablösung von sauerstoffhaltigen Gruppen in Form von  $CO$  oder  $CO_2$  erklärt werden. Dadurch werden erneut aktive Kohlenstoffzentren der Aktivkohle ( $C^*$ ) für den MCA-Abbau zugänglich.

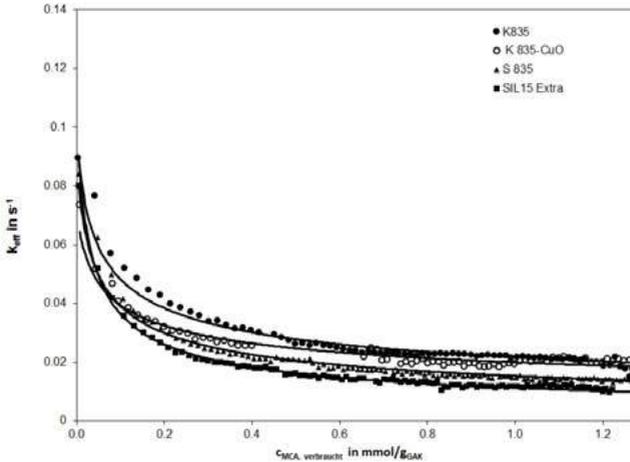


Abb. 3: Reaktionskonstante  $k_{\text{eff}}$  vs. molarer MCA-Abbau (pro g GAK)

Die Reaktionskonstanten  $k_{\text{eff}}$  unter stationären Bedingungen liegen für die weitgehend mikroporösen GAK K 835 und K 835-CuO jeweils bei ca.  $0,019 \text{ s}^{-1}$ . Im Gegensatz dazu erreichen die GAK S 835 und SIL 15 Extra, welche einen höheren Mesoporenanteil aufweisen, lediglich 50 % der Reaktionsgeschwindigkeit ( $k_{\text{eff}} \approx 0,01 \text{ s}^{-1}$ ) im stationären Bereich. Offensichtlich weisen GAK mit hohem Mikroporenanteil einen geringeren Diffusionswiderstand auf, was sich positiv auf die Reaktionskinetik des MCA-Abbaus auswirkt.

Um die Selektivität des MCA-Abbaus zu ermitteln, wurde die molare Bildung von Ammonium-Stickstoff ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ) ermittelt und gegen den molaren MCA-Abbau aufgetragen (Abb. 4). Allgemein kann die Bildungsreaktion von  $\text{NH}_4\text{-N}$  bei allen untersuchten GAK in hoher Korrelation ( $R^2 = 0,9848 \dots 0,9972$ ) mit einer linearen Funktion beschrieben werden. D. h. die Ausbeute an  $\text{NH}_4\text{-N}$  bleibt über die gesamte beobachtete Reaktionszeit des MCA-Abbaus konstant.

Die höchste Ausbeute an  $\text{NH}_4\text{-N}$  weist mit ca. 81 % die S 835 auf. Die Cu-impregnierte Variante der K 835 (K 835-CuO) weist mit ca. 64 % hingegen die geringste Ausbeute an  $\text{NH}_4\text{-N}$  und damit die höchste Ausbeute an elementarem Stickstoff beim MCA-Abbau unter den untersuchten Kohlen auf. Dies deutet auf eine katalytische Wirkung des Kupfers (siehe Glg. 3, Glg. 4) hin.

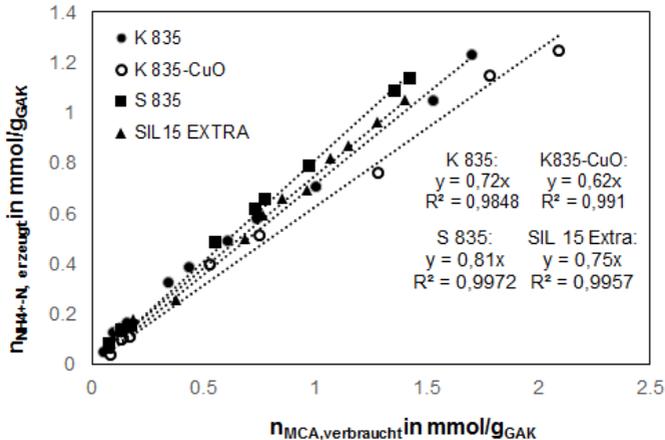


Abb. 4: Verlauf der molaren Ammoniumbildung (pro g GAK) vs. molarer MCA-Abbau (pro g GAK)

## Danksagung

Die Autoren bedanken sich beim Bundesministerium für Wirtschaft und Energie für die Förderung des ZIM-Vorhabens **KatAmin** (ZF 4200806RE8) sowie bei der Fa. Silcarbon Aktivkohle GmbH für die Bereitstellung der GAK-Chargen.

## Literatur

- [1] Erdinger, L. et al.: *Int. J. Hyg. Environ. Health*. **2004**, **207**, 571-575
- [2] Keuten, M.G.A. et al: *Water Res.* **2014**, **53**, 259-270
- [3] DIN 19643-1, Aufbereitung von Schwimm- und Badebeckenwasser – Teil 1, *Beuth Verlag*, **2012**, Berlin
- [4] Zwiener, C. et al.: *Environ. Sci. Technol.* **2007**, **41**, 363-372
- [5] Kanan, A.; Karanfil, T.: *Water Res.* **2011**, **45**, 926-932
- [6] Bernard, A. et al.: *Environ. Health Perspect.* **2006**, **114**, 1567-1573
- [7] Uhl, W.; Hartmann, C.: *Water Sci. Technol.* **2005**, **52**, 71-76
- [8] Bauer, C.; Snoeyink, V. L.: *J. Water Pollut. Con. F.* **1973**, **45**, 2290-2301
- [9] Skibinski, B. et al.: *Water Res.* **2019**, **152**, 74-86
- [10] Fu, J. et al.: *Sci. Total Environ.* **2009**, **407**, 4105-4109

## Entwicklung einer Methode zur Messung des Zetapotentials in LbL-beschichteten Kapillarmembranen

Dillmann S., Kaushik S.A., Ernst M., Hamburg/D

Technische Universität Hamburg, Institut für Wasserressourcen und Wasserversorgung, Am Schwarzenberg-Campus 3 (E), 21073 Hamburg

### Hintergrund und Ziele

Durch die Deposition von Polyelektrolyten auf der aktiven Membranfläche, der sog. Layer-by-Layer (LbL) – Oberflächenmodifizierung, werden sowohl Material- [1] als auch Trenneigenschaften [2] der Membran verändert. Zu ersteren gehören neben dem Molecular Weight Cut Off [3] und dem Kontaktwinkel [4] auch die Oberflächenladung, die sich mit Hilfe des Zetapotentials beschreiben lässt [5]. In Kapillaren gestaltet sich die Messung des Zetapotentials bei Hohlfasermembranen mit mehreren Kanälen schwierig, da in vorhandenen Messzellen in der Regel nur einzelne Hohlfasern mit einem begrenzten Außendurchmesser vermessen werden können [6].

Das Zetapotential als Beschreibung der Oberflächenladung von Membranen wird durch die Ausbildung einer elektrischen Doppelschicht an der fest-flüssig Grenzfläche beschrieben. Es wird sowohl durch die funktionellen Gruppen auf der Membranoberfläche als auch durch Ionen in der Messlösung beeinflusst. [7]

Das Zetapotential für Kapillaren kann mit Hilfe einer Annäherung der Helmholtz-Smoluchowski Gleichung beschrieben werden [7]:

$$\zeta = \frac{dU}{dp} \times \frac{\eta}{\varepsilon \times \varepsilon_0} \times K_B$$

$\zeta$  = Zetapotential [mV];  $dU/dp$  = Streaming potential;  $\eta$  = Elektrolyt Viskosität [Pa·s];  $\varepsilon$  = Dielektrischer Koeffizient des Elektrolyten [ $F \cdot m^{-1}$ ];  $\varepsilon_0$  = Dielektrizitätskonstante [ $F \cdot m^{-1}$ ];  $K_B$  = Elektrolyt Leitfähigkeit [ $S \cdot m^{-1}$ ]

Im Hinblick auf die Problematik der Zetapotentialmessung für Kapillarmembranen mit mehreren Kanälen wurde eine Methode für den SurPASS Electrokinetic Analyzer der Fa. Anton Paar entwickelt um die Multibore® Membranen der Fa. Inge, mit 7 Einzelkapillaren untersuchen zu können.

### Material und Methodenentwicklung

#### Membran:

Für die Untersuchung des Zetapotentials in Kapillarmembranen wurde die Ultrafiltrationsmembran Multibore® der Fa. Inge verwendet. Eine Membranfaser hat einen Gesamtdurchmesser von ca. 4 mm und teilt sich in 7 Einzelkapillaren mit einem Durchmesser von je 0,9 mm. Die Membran besteht aus Polyethersulfon (PES) und hat einen MWCO von ca. 100 kDa (Herstellerangabe).

Um die Plausibilität der Ergebnisse zu überprüfen, wurden diese mit Ergebnissen einer vergleichbaren Flachmembran verglichen, für die es eine etablierte Methode am SurPass Analyzer gibt. Dabei wurde die Membran UP150 von Microdyn-Nadir verwendet, die ebenfalls aus PES besteht und einen ähnlichen MWCO von 150 kDa hat.

### Beschichtung:

Die Membranen wurden mit 8 Doppelschichten der Polyelektrolyten PDADMAC (Polydiallyldimethyl-ammoniumchlorid) und PSS (Poly-(natrium-4-styrolsulfonat)) beschichtet. Die Beschichtung wurde automatisiert mit dem LbL-Coater der Firma Surflay Nanotec GmbH (Berlin) durchgeführt. Die Kapillarmembran wurde dabei mit dem jeweiligen Polyelektrolyten bzw. Wasser definiert durchspült [2]. Für die Flachmembranen wurde eine Beschichtungszelle entwickelt, sodass die Membran in der Zelle entsprechend modifiziert werden konnte.

### Zetapotential Messung:

Die Zetapotential Messung wurde mit dem SurPASS Electrokinetic Analyzer der Fa. Anton Paar durchgeführt. Da zylindrische Messzellen sich im SurPASS nur mit der Streaming Potential Methode messen lassen, wurden auch die Vergleichsmessungen für die Flachmembranen mit derselben Methode durchgeführt:

Die Membran wurde vor der Messung 24h in Wasser eingelegt um das Schwellverhalten der Membranen zu berücksichtigen. Die Flachmembran wurde dann auf den Probenhaltern fixiert und an die Messelektroden angeschlossen. Der Spalt zwischen den beiden Membranoberflächen sollte auf einen Abstand zwischen 100 µm und 110 µm eingestellt werden, um den benötigten Druckgradienten während der Messung zu erreichen. Der pH-Wert der Testlösung wurde mit KOH auf 9,0 und die Leitfähigkeit mit KCl auf 15 mS/cm eingestellt. Nachdem die Messzelle mit dem Elektrolyten gespült war, wurden die Titrationsschritte mit HCl zwischen 0 und 3 ml gewählt, sodass der pH-Bereich zwischen 9 und 3 untersucht werden konnte. An den eingestellten pH-Werten wurde dann jeweils das Streaming Potential gemessen.

Um Hohlfasermembranen im Gerät untersuchen zu können, muss eine geeignete Messzelle vorhanden sein. Wie zuvor schon erwähnt gibt es für dieses Gerät nur Messzellen mit denen sich Einzelfasern von einem maximalen Gesamtdurchmesser von 2 mm untersuchen lassen. Des Weiteren wird für die Messung ein Druckgradient von 200-400 mbar über die Länge der Membran benötigt. Da die Hohlfasermembran aus mehreren Kapillaren besteht, muss die Länge der Membranfaser so gewählt werden, dass dieser Druckverlust trotz des großen Gesamtdurchmessers erreicht werden kann. Dies wäre bei den vorhandenen Messzellen nicht gewährleistet, so dass eine Adaption nicht nur hinsichtlich des Durchmessers sondern auch der Länge nötig war. Ein weiteres Problem bei der Vermessung der Ultrafiltrationsmembranen ergab sich dadurch, dass bei einem aufgebrachten Druck von 200-400 mbar schon eine Filtration durch die Membran stattfindet und so die Lösung die zur Untersuchung eingesetzt wird durch die Membran permeiert. Um das zu verhindern, mussten also nicht nur die Verbindung zu den Elektroden des SurPASS überbrückt werden, es musste auch sichergestellt werden, dass der Druck nicht durch austretendes Permeat unterschritten und die Messung abgebrochen wird.

Nach mehreren Versuchen mit unterschiedlichen Hilfsmitteln wie Schläuchen, Röhren, Zwischenstücken etc., konnte eine erfolgreiche Messmethode für die Kapillarmembranen adaptiert werden (Abbildung 1). Dazu wird die Membran in einen Schlauch geschoben, dessen Innendurchmesser dem Außendurchmesser der Membranfaser entspricht. Über zwei verschiedene Verbindungsstücke aus flexiblem Schlauch kann die Membran dann mit den Elektroden verbunden werden, ohne dass Undichtigkeiten im System auftreten. Um den benötigten Druckverlust in den Kapillaren mit einem Durchmesser von 0,9 mm zu erreichen, muss das Membranstück 8 cm lang sein. Bei dieser Länge kann dann ein Druckgradient von 200 mbar erreicht werden.

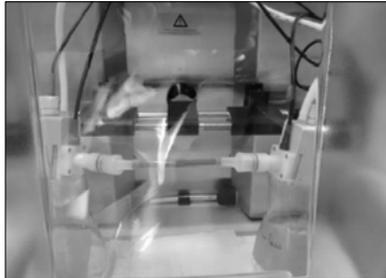


Abbildung 1: Messzelle für Zetapotentialmessungen von Kapillarmembranen

Mit diesen Anpassungen des Messsystems und der –methode konnten die Messungen des Zetapotentials in Kapillarmembranen mit mehreren Kanälen erfolgreich durchgeführt werden. Die Ergebnisse der Messungen und der Vergleich mit den Flachmembranen sind im folgenden Kapitel dargestellt.

### Ergebnisse

Zunächst wurden die beiden unbeschichteten Membranen, die Kapillarmembran und die Flachmembran untersucht. Beide Membranen bestehen aus Polyethersulfon und haben eine ähnliche Trenngrenze bzw. Porengröße (Herstellerangaben). Erwartet wurde daher ein ähnlicher Verlauf der Zetapotentialmessungen der beiden Membranen. Die Ergebnisse der Messungen sind in Abbildung 2 dargestellt.

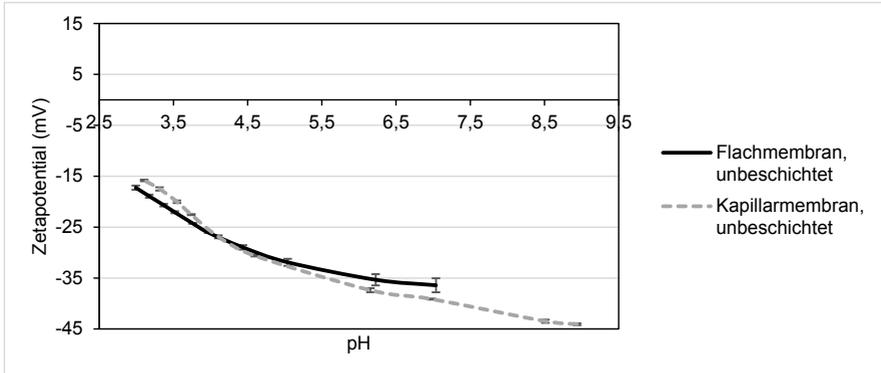


Abbildung 2: Zetapotentialmessungen der unbeschichteten Kapillar- und Flachmembran

Beide Membranen weisen über alle gemessenen pH-Werte ein negatives Zetapotential auf. Bei pH 3 liegen die Werte bei ca. -18 mV und verschieben sich bei steigendem pH-Wert weiter ins Negative, bis sie bei der Kapillarmembran bei einem pH von ca. 9 einen Wert von ca. -43 mV erreichen. Der Kurvenverlauf der Kapillar- und der Flachmembran ist dabei sehr ähnlich und überschneidet sich in einigen Punkten. Das zeigt, dass die Adaption der Messmethode zur Untersuchung des Zetopotentials in Kapillarmembranen erfolgreich war. Zur Prüfung der Plausibilität wurde die Messung mehrfach wiederholt und die Ergebnisse bestätigt.

Um die Methode auch für die LbL-modifizierten Membranen zu überprüfen wurden beide Membrantypen wie zuvor beschrieben mit 8 Doppelschichten der Polyelektrolyte PDADMAC und PSS beschichtet und das Zetapotential gemessen (Abbildung 3).

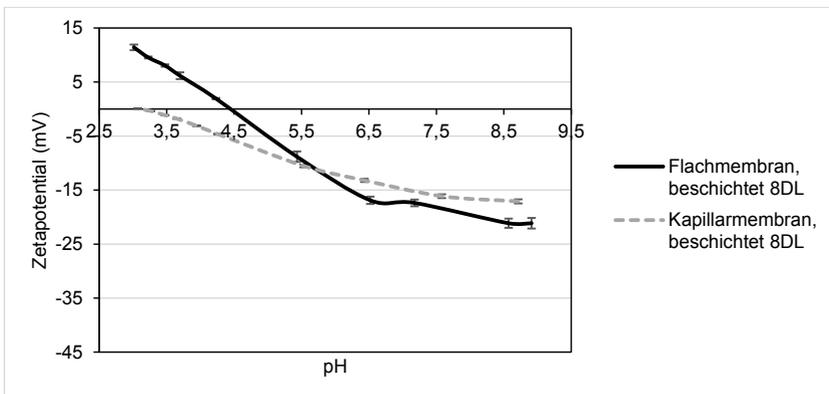


Abbildung 3: Zetapotentialmessungen der beschichteten Kapillar- und Flachmembran

Bei beiden Membranen zeigt sich die Verschiebung des Zetapotentials durch die Beschichtung. Auch wenn sich ein ähnlicher Kurvenverlauf für beide Membranen erkennen lässt, werden doch einige Unterschiede deutlich. Bei der Flachmembran liegt das Zetapotential bei einem pH-Wert von 3 bei ca. +12 mV, erreicht den Isoelektrischen Punkt bei pH 4,5 und sinkt mit steigendem pH ab, bis auf ca. -20 mV bei pH 9. Bei der Kapillarmembran hingegen liegt der Isoelektrische Punkt bei pH 3. Das Zetapotential sinkt im Folgenden stetig ab bis auf ca. -17 mV bei pH 8,5. Diese Unterschiede sind vermutlich auf Probleme während der Beschichtung der Flachmembranen zurückzuführen. Wahrscheinlich ist, dass die Einströmung der Lösung in die Zelle durch nur einen Schlauch nicht für einen ausreichenden Austausch der Beschichtungslösungen gesorgt hat und dadurch die Beschichtung nicht auf der gesamten Membranfläche homogen war. Dies spiegelte sich in den Messungen des Zetapotentials von mehreren Membranstücken derselben Membran wieder.

Da die Kurvenverläufe aber einen ähnlichen Verlauf haben und die Methode zuvor schon für die unbeschichteten Membranen erfolgreich adaptiert wurde, lässt sich von der Plausibilität der Ergebnisse für die Kapillarmembran ausgehen.

### Fazit

Da das Zetapotential von Kapillarmembranen mit mehreren Kanälen mit dem bestehenden Messsystem für den SurPASS Electrokinetic Analyzer nicht untersucht werden konnte, sollte in dieser Methodenentwicklung die Messmethode von Flachmembranen auf die Kapillarmembranen adaptiert werden. Dies konnte durch verschiedene Anpassungen und die Konstruktion einer neuen Messzelle erfolgreich umgesetzt werden.

In den Messungen zeigte sich eine sehr hohe Übereinstimmung der Werte für das Zetapotential der unbeschichteten Flach- und der Kapillarmembranen. Beide Membrantypen weisen ein negatives Potential über den gesamten pH-Bereich auf (-43 mV bei pH 8,5 und -18mV bei pH 3). Dabei stimmen die Kurvenverläufe weitestgehend überein. Die Messungen der beschichteten Flach- und Kapillarmembranen zeigen einen ähnlichen Trend, weichen allerdings voneinander ab. Dies ist wahrscheinlich nicht auf die Messmethode des Zetapotentials zurückzuführen sondern auf die Schwierigkeiten während der Beschichtung der Flachmembranen.

Durch die erfolgreiche Adaption der Messmethode konnten auch erste Rückschlüsse auf die Veränderung des Zetapotentials durch die LbL-Modifizierung der Membranen gezogen werden. Durch die Beschichtung wird das Zetapotential der Membran in einen weniger negativen Bereich verschoben (-17 mV bei pH 8,5 und 0 mV bei pH 3) und erreicht bei pH 3 den Isoelektrischen Punkt, an dem die Nettoladung der Membran 0 mV beträgt.

Mit der Adaption der Zetapotentialmessung für Kapillarmembranen mit mehreren Kanälen konnte so eine Methode etabliert werden, die zur Charakterisierung der modifizierten Membranen eingesetzt werden kann.

## Danksagung

Wir danken der Firma Inge GmbH für die freundliche Bereitstellung der Labormodule der Ultrafiltrationsmembran.

## Literatur

- [1] Joseph N., Ahmadiannamini P., Hoogenboom R., Vankelecom I. F. J. (2014): Layer-by-layer preparation of polyelectrolyte multilayer membranes for separation. In *Polym. Chem.* 5 (6), pp. 1817–1831.
- [2] Dillmann S., Ernst M. (2019): Untersuchungen zum Einfluss von Beschichtungsparametern auf die Wirksamkeit der LbL-Oberflächenmodifizierung von UF-Kapillarmembranen. Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft 2019, Erfurt
- [3] Menne D. (2017): Layer-by-Layer Design of Nanofiltration Membranes. Doctoral Thesis. Technische Hochschule Aachen. Faculty of Mechanical Engineering.
- [4] Mulyati S., Takagi R., Fujii A., Ohmukai Y., Matsuyama H. (2013): Simultaneous improvement of the monovalent anion selectivity and antifouling properties of an anion exchange membrane in an electro dialysis process, using polyelectrolyte multilayer deposition. In *Journal of Membrane Science* 431, pp. 113–120.
- [5] Adusumilli M., Bruening M.L. (2009): Variation of ion-exchange capacity, zeta potential, and ion-transport selectivities with the number of layers in a multilayer polyelectrolyte film. In *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids* 25 (13), pp. 7478–7485.
- [6] Luxbacher, T. (2012): Assessment of Surface Charge for Polymer Hollow Fibre Membranes. In *Procedia Engineering* 44, pp. 1440–1442.
- [7] Luxbacher, T. (2014): *The Zeta potential for solid surface analysis: a practical guide to streaming potential measurement*; 1<sup>st</sup> edition, Anton Paar GmbH, Austria.

**Influence of background water matrix on fouling behavior of ultrafiltration hollow fiber membranes by marine diatom microalgae**

H. Abuelgasim, S. Laksono, I.M.A. ElSherbiny, S. Panglisch

Chair of Mechanical Process Engineering and Water Technology, University of Duisburg-Essen, Lotharstr. 1, 47057, Duisburg, Germany

**Introduction**

Algal blooming is among many challenges facing the exploitation of several water reservoirs around the globe as potential sources for fresh water supply. Pressure-driven ultrafiltration (UF) membrane technology has showed a great potential for separating algal cells, debris and algal organic matters (AOMs) with a high efficiency; however, this is always accompanied by severe organic fouling that has been found to be, in certain cases, irreversible. Several publications have reported on possible fouling mechanisms occurred during bench-scale experiments using flat sheet membranes. Nevertheless, the fouling behavior of hollow fiber modules at operating conditions analogous to full-scale application has not been so far properly understood.

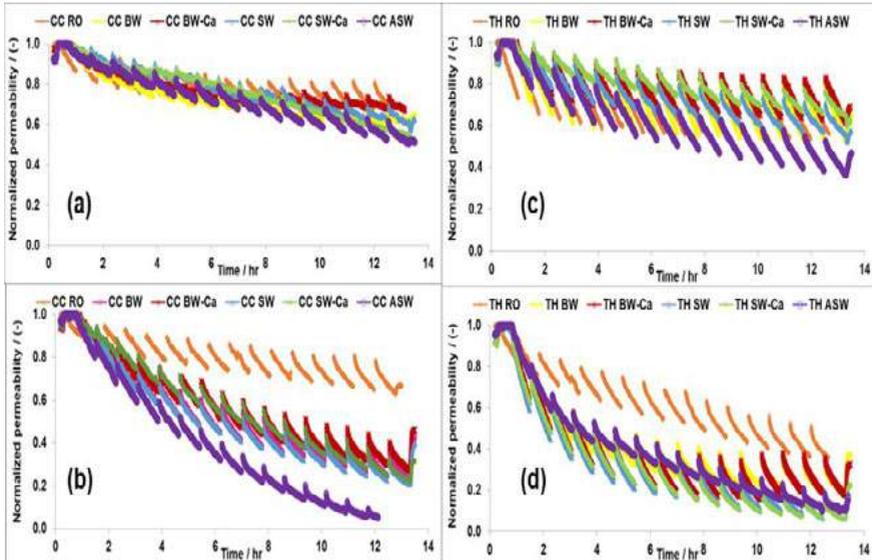
In this study, the influence of feed water matrix (i.e., concentration and type of salts) as well as filtration conditions on the performance and fouling propensity of polyethersulfone (PES) hollow fiber membrane modules, exhibiting average pore diameter of 0.02  $\mu\text{m}$  and active membrane surface area of 0.051  $\text{m}^2$ , at conditions similar to full-scale conditions was investigated. Algae feed solutions were prepared at constant *chlorophyll-a* concentration of  $\sim 30 \mu\text{g/L}$  using two marine diatom microalgae, *Chaetoceros Calcitrans* (CC) and *Thalassiosira Rotula* (TH), in intact and lysed conditions. Algae feed solutions were prepared in six different background waters as illustrated in (cf. Table 1). The filtration experiments were conducted in inside/out dead-end mode for 16 filtration cycles (each lasted for 45 min) at constant permeate flux of 100  $\text{L/m}^2\cdot\text{h}$ ; at the end of each cycle, mechanical cleaning at flux of 230  $\text{L/m}^2\cdot\text{h}$  for 55 s was performed. The filtration experiments were repeated two times for each background water.

**Table 1** Background water composition and abbreviations used in filtration experiments

Simulated condition	Description	Abbreviation
Pure water	RO water	RO
Brackish water	RO water + 10,000 ppm NaCl	BW
Brackish water + Calcium	RO water + 9,950 ppm NaCl and 50 ppm $\text{CaSO}_4$	BW-Ca
Seawater	RO water + 35,000 ppm NaCl	SW
Seawater + Calcium	RO water + 34,600 ppm NaCl and 400 ppm $\text{CaSO}_4$	SW-Ca
Seawater matrix	Artificial seawater (bought from Megazoo, Duisburg, Germany)	ASW

**Results**

For the same algae type and cell condition, different fouling behaviors for PES membrane modules have been interestingly seen, mainly due to different feed water matrices (cf. Figure 1).



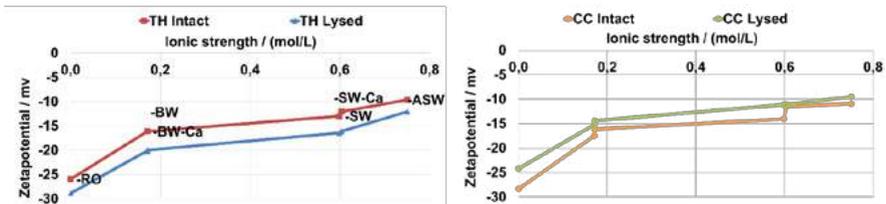
**Figure 1** Normalized permeability decline curves for PES hollow fiber modules during multiple-cycles filtration tests at constant filtration rate of 100 L/h.m<sup>2</sup> using algae feed solutions in different background waters, (a) intact CC, (b) lysed CC, (c) intact TH and (d) lysed TH

General speaking, the decline in membrane performance, because of organic fouling, has been found to increase with NaCl salt concentration; however, addition of Ca<sup>2+</sup> was emphasized to reduce internal / irreversible fouling by virtue of bridging of AOMs (e.g., biopolymers and humic substances). Moreover, the influence of background water was more explicit during filtration of lysed algae feeds rather than intact algae. Furthermore, the observed fouling behavior has been properly related to different feed compositions, measured by LC-OCD (cf. Table 2) and *chlorophyll-a* concentration analyzer. Increasing the background water salinity has been found to affect microalgae growth as well as increasing the released portions of biopolymers and humic substances. Moreover, TH algae feeds were revealed to cause more severe fouling compared to CC algae feeds, in both intact and lysed conditions, because of higher portions of dissolved organic carbon (in particular, biopolymers and building blocks).

**Table 2** Analysis of chromatographic carbon using LC-OCD analytical method

AlgaeType		DOC / (ppb)	Hydrophobic organic carbon / (ppb)	Biopolymers / (ppb)	Building blocks / (ppb)	LMW neutrals / (ppb)
CC Intact	RO	166	59	9	49	34
	BW	827	415	20	96	282
	ASW	1424	742	9	138	513
CC Lysed	RO	383	196	38	91	55
	BW	866	415	25	85	292
	ASW	1607	761	22	153	561
TH Intact	RO	324	88	31	84	66
	BW	876	477	33	106	259
	ASW	1644	946	22	156	494
TH Lysed	RO	800	281	110	221	134
	BW	1151	615	65	143	312
	ASW	1807	951	49	210	580

The influence of changing feed water ionic strength on algae particle distribution and zeta-potential was also investigated (cf. Figure 2). Increasing feed water ionic strength (by adding salts) was found to decrease AOMs' negative charge and shift foulants' surface to be more electrically neutral. On the other hand, increasing feed ionic strength increased slightly TH algae size distribution, due to a possible coagulation as a result of surface charge neutralization; however, no influence was observed in case of CC algae feeds. Moreover, membrane fouling propensity was studied using resistance-in-series model and hydraulic irreversible fouling index (HIFI) values were determined.



**Figure 2** Zetapotential of CC and TH algae feed solutions in different background waters as a function of solution ionic strength at 8 pH value during filtration

## Degradation of a cyanobacterial toxin by advanced non-thermal plasmas

M. Schneider, Brno/CZ, R. Rataj, Greifswald/D, J.F. Kolb, Greifswald/D, L. Bláha, Brno/CZ

Marcel Schneider, Masaryk University, RECETOX, Kamenice 753/5, 62500 Brno/CZ

### Introduction

Cyanobacteria can produce various toxic secondary metabolites, e.g. the hepatotoxic and potentially carcinogenic cylindrospermopsin (CYN). Due to increased eutrophication of surface waters, toxic cyanobacterial blooms occurred more frequently in recent years, consequently increasing the abundance of CYN and other cyanotoxins [1]. In order to mitigate the risk these toxins pose, appropriate treatment technologies are required to assure their removal and provide hazard-free drinking water. Recognizing the potential danger CYN poses to human health, the WHO currently evaluates the need of a guideline value for CYN in drinking water [2].

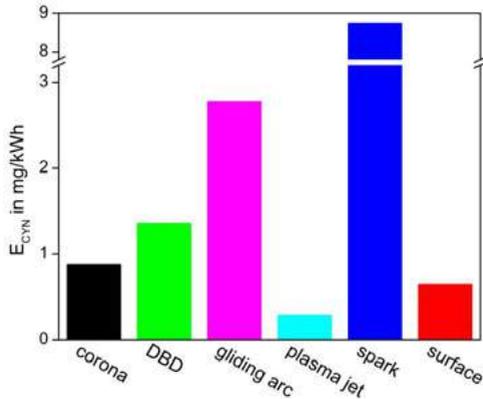
Recent research on CYN removal from drinking water includes different approaches such as biodegradation [3], activated carbon filtration [4] as well as degradation by chlorine [4, 5], ozone [5, 6] and different advanced oxidation processes (AOPs) [7-9]. AOPs promote the formation of hydroxyl radicals and other reactive species in situ. Amongst AOPs, non-thermal plasmas (NTPs) have increasingly received more attention for their potential application in water treatment due to their capability to produce a vast range of reactive species such as ozone, hydroxyl radicals, nitrogen oxides, photons and electrons in situ [10, 11]. NTPs are generated by electric discharges in water or gas under atmospheric or low pressure. They were shown to effectively degrade recalcitrant organic compounds, e.g. pharmaceuticals, that are not or somewhat less susceptible to conventional and other advanced treatment methods [10]. Despite their potential, the application of NTPs for cyanotoxin removal from drinking water has scarcely been investigated and is limited to very few cyanotoxins like the prototypical microcystin with a focus on gas-phase discharge systems [12].

This study is the first to provide a basic understanding of the interaction of different NTPs with CYN and to compare gas- and liquid-phase discharge systems in this context.

### Results

In the first part of the presented study, CYN was treated by six different plasmas and its removal was quantified by HPLC-DAD. The different plasma sources can be distinguished by their physico-chemical plasma characteristics, i.e. type of discharge and associated plasma-chemistry. A pulsed corona-like discharge submerged in water,

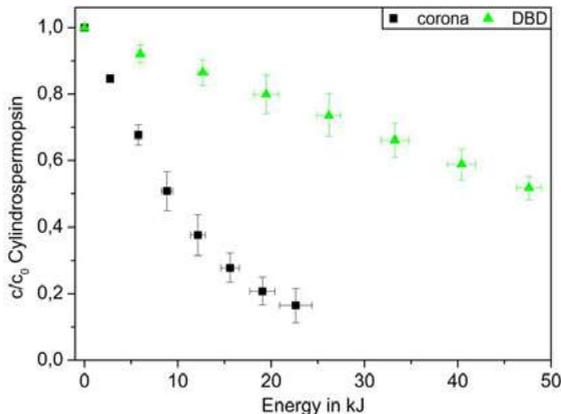
pulsed dielectric barrier discharge (DBD) in a water mist, gliding arc discharge, plasma jet submerged in water, pulsed spark discharge submerged in water and pulsed surface discharge at the air-water interface were compared based on their efficacy to degrade CYN, i.e. toxin degradation per applied energy ( $E_{\text{CYN}}$  in mg/kWh). After 60 min of plasma treatment, the plasma sources could be ranked according to their degradation efficacy as follows: spark discharge > gliding arc discharge > DBD > corona-like discharge > surface discharge > plasma jet (Figure 1).



**Figure 1** Comparison of CYN degradation efficacy ( $E_{\text{CYN}}$ ) after 60 min of treatment by six different electric discharges ( $n = 2$ , except for gliding arc discharge).

Based on these results, but also on the usability of the reactors and their plasma-chemistry, the corona-like discharge and DBD sources were selected for in-depth studies. For the corona-like discharge submerged in water, the effects of operating voltage, electrode wire diameter and solution pH on CYN degradation efficacy were investigated. An electric discharge in water primarily produces hydroxyl radicals and hydrogen peroxide which is formed as a product of hydroxyl radicals. An increase in the supplied voltage resulted in higher CYN degradation due to increased formation of hydroxyl radicals. The degradation efficacy also increased at elevated pH. After 15 min of plasma treatment at  $\text{pH} \geq 7.5$ , ongoing CYN degradation was observed even without further plasma application. Oxidation by produced hydrogen peroxide was neglected because of its ineffectiveness to degrade CYN. Hence, a residual oxidative effect of the plasma treated water by other long-lived reactive species or degradation mechanisms could be the reason. Correspondingly, persistent microbicidal and oxidative effects of plasma treated water were previously reported in other studies, which could have interesting implications for drinking water treatment, e.g. as an alternative to chlorine disinfection [11, 13]. Changing the wire diameter did not appear to have a significant effect on the degradation of CYN.

For the DBD in air with water droplets, the effects of operating voltage and solution pH on CYN degradation efficacy were examined. An electric discharge in air mainly produces ozone and nitrogen oxides. Increasing the applied operating voltage decreased the degradation efficacy which can be associated with a lower ozone yield. For a DBD in air at atmospheric pressure, consumption of oxygen in reactions with nitrogen oxides is more efficient than ozone production at elevated voltages. Furthermore, produced ozone can be depleted by reactions with nitrogen and nitric oxide [14]. Although ozonation of CYN was reported to be pH-dependent, the degradation by the DBD was observed to be pH-independent [6]. However, due to the production of nitrogen oxides, the solution pH decreased substantially, e.g. from an initial pH 9.0 to an approximate pH of 3.5 after 60 min of plasma treatment. A pH-buffer could not be used, because it increased the conductivity of the solution and consequently, altered discharge characteristics which would have complicated the comparison of experiments at different pH values.



**Figure 2** Comparison of CYN degradation by a corona-like discharge in water and a DBD in a water mist after optimization of studied parameters for a treatment time of 140 min ( $n = 3$ , error bars represent standard deviation).

After optimization of both plasma processes in the studied parameter range, their degradation kinetics and mechanisms were compared. CYN degradation by the corona-like discharge submerged in water followed pseudo first order reaction with an efficacy of  $60.0 \pm 5.3$  mg/kWh, while the DBD in air with water droplets was less effective with  $7.1 \pm 0.8$  mg/kWh and pseudo zeroth order kinetics (Figure 2). Hydrogen peroxide was determined colorimetrically using titanyl sulfate and served as an indicator for the presence of hydroxyl radicals. After 60 min of plasma application in the absence of CYN, approximately 30 mg/L hydrogen peroxide were produced by the corona-like discharge, while only about 2.9 mg/L were produced by the DBD, suggesting a difference in the degradation mechanism. Using HPLC-MS, distinctive product peaks for the corona-like discharge and DBD were observed. Additionally, three other product peaks were substantially elevated for the DBD. This indicates that the degradation is based on

different mechanisms, i.e. by hydroxyl radicals and ozone in the corona-like and the DBD plasma, respectively.

## References

- [1] L. Blahova, M. Oravec, B. Marsalek, L. Sejnohova, Z. Simek, L. Blaha, *Toxicol.* **2009**, *53*, 519-524
- [2] I. Chorus, Introduction in Current Approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries (Ed.: I. Chorus), Federal Environment Agency, Germany, 2012, pages 2-15
- [3] L. Ho, T. Tang, D. Hoefel, B. Vigneswaran, *Water Res.*, **2012**, *46*, 5735-5746
- [4] L. Ho, N. Slyman, U. Kaeding, G. Newcombe, *J. Am. Water Works Assoc.*, **2008**, *100*, 88-96
- [5] E. Rodriguez, G.D. Onstad, T.P.J. Kull, J.S. Metcalf, J.L. Acero, U. von Gunten, *Water Res.*, **2007**, *41*, 3381-3393
- [6] G.D. Onstad, S. Strauch, J. Meriluoto, G.A. Codd, U. von Gunten, *Environ. Sci. Technol.*, **2007**, *41*, 4397-4404
- [7] X. He, A.A. de la Cruz, D.D. Dionysiou, *J. Photoch. Photobio. A*, **2013**, *251*, 160-166
- [8] G. Zhang, X. He, M.N. Nadagouda, K. O'Shea, D.D. Dionysiou, *Water Res.*, **2015**, *73*, 353-361
- [9] J. Liu, S.E. Hernandez, S. Swift, N. Singhal, *Water Res.*, **2018**, *132*, 309-319
- [10] R. Banaschik, P. Lukes, H. Jablonowski, M.U. Hammer, K.-D. Weltmann, J.F. Kolb, *Water Res.*, **2015**, *84*, 127-135
- [11] V. Scholtz, J. Pazlarova, H. Souskova, J. Khun, J. Julak, *Biotechnol. Adv.*, **2015**, *33*, 1108-1119
- [12] Y. Zhang, H. Wei, Q. Xin, M. Wang, Qi Wang, Qiang Wang, Y. Cong, *J. Environ. Manage.*, **2016**, *183*, 726-732
- [13] B. Nisol, S. Watson, Y. Leblanc, S. Moradinejad, M.R. Wertheimer, A. Zamyadi, *Plasma Process. Polym.*, **2019**, *16*, e1800137
- [14] U. Kogelschatz, B. Eliasson, M. Hirth, *Ozone Sci. Eng.*, **1988**, *10*, 367-377

**Acknowledgement:** Supported by NaToxAq (H2020 MSC ETN project agreement No. 722493).

## Untersuchungen zu biologischen, organischen und anorganischen Veränderungen granulierter Aktivkohlen während der Trinkwasseraufbereitung

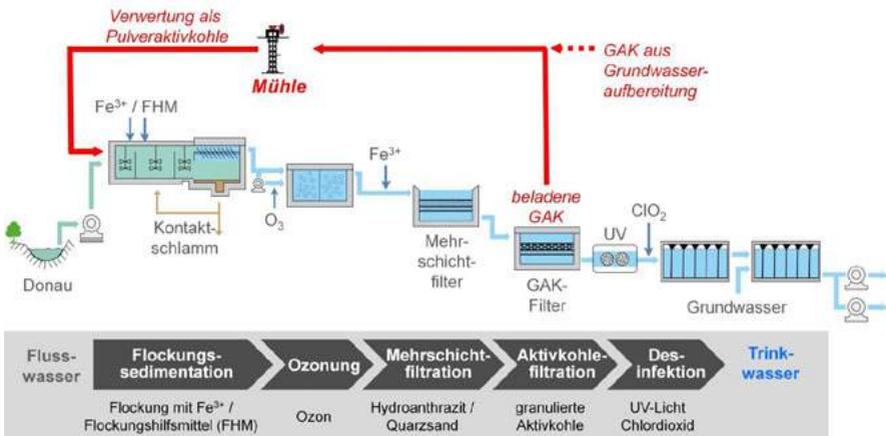
D. Dittmann, Berlin/D, T. Lucke, Langenau/D, A. S. Ruhl, Berlin/D,  
R. Winzenbacher, Langenau/D, M. Jekel, Berlin/D, U. Braun, Berlin/D

Daniel Dittmann, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung,  
Unter den Eichen 87, 12205 Berlin/D

Thomas Lucke, Zweckverband Landeswasserversorgung,  
Am Spitzigen Berg 1, 89129 Langenau/D

### Einleitung

Filterkolonnen mit granulierter Aktivkohle (GAK) werden in der Trinkwasseraufbereitung zur Entfernung von organischen Spurenstoffen, Geruchsstoffen, Algentoxinen oder Transformationsprodukten eingesetzt. Besonders bei Rohwasser aus Oberflächengewässern ist der Einsatz von GAK sinnvoll, nicht zuletzt als Sicherheitsstufe (Abbildung 1).



**Abbildung 1** Donauwasseraufbereitung im Wasserwerk Langenau der Landeswasserversorgung mit GAK-Filter als endständige Sicherheitsstufe (DoubleActiveDrink: Idee zur internen Weiterverwertung der GAK)

In GAK-Filtern werden gelöste Zielstoffe primär adsorptiv entfernt. Des Weiteren ist davon auszugehen, dass sich während der Laufzeit auf dem porösen GAK-Material Mikroorganismen ansiedeln und neben der Adsorption folglich auch biologische Prozesse stattfinden, die zur Reinigung des Wassers beitragen können. Durch die

Wechselwirkung der Aktivkohle mit gelösten Wasserinhaltsstoffen verändert sich das Filtermaterial mit zunehmender Beaufschlagung. Rückspülungen der Filter können adsorbierte Substanzen i. d. R. nicht wieder desorbieren, weshalb das Filtermaterial nach einer Laufzeit von bis zu 5 Jahren ausgetauscht werden muss. [1]

Zur Überwachung des Adsorptionsvermögens einer Sicherheitsstufe wird den GAK-Filtern in regelmäßigen Abständen eine Probe entnommen und diese auf charakteristische Parameter wie Iodzahl (IZ) oder Nitrobenzolzahl (NBZ) untersucht. Je nach Betriebskonzept werden damit Zeitpunkte definiert, an denen ein Tausch des Filtermaterials vorgenommen wird. Zur praxisnäheren Orientierung empfiehlt es sich, die entnommenen Proben gelegentlich einem Stoßbelastungstest mit ausgewählten Modellsubstanzen zu unterziehen. Denn selbst bei schlechten IZ- bzw. NBZ-Werten kann noch ein erhebliches Restadsorptionsvermögen, ausreichend für die Spurenstoffelimination bei kurzfristigen Rohwasserstoßbelastungen, gegeben sein.

In diesem Beitrag werden Veränderungen der GAK mit zunehmender Beaufschlagung detaillierter vorgestellt. Dazu wurden über einen Zeitraum von vier Jahren aus verschiedenen Aufbereitungsanlagen der Landeswasserversorgung GAK-Proben (Tabelle 1) entnommen und das Filtermaterial weitergehend charakterisiert. Neben der (Rest-)Adsorptionskapazität wurde die Zusammensetzung der GAK einschließlich anorganischer Stoffe analysiert sowie Hinweisen auf mikrobiologische Besiedlung nachgegangen. Auffällige Veränderungen in Leistung oder Betrieb von GAK-Filtern können so besser verstanden und erklärt werden. Vor dem Hintergrund der Idee einer brancheninternen Weiterverwertung gebrauchter GAK als Pulveraktivkohle (siehe Abbildung 1), Gegenstand des DVGW-geförderten Forschungsvorhabens DoubleActiveDrink, sind diese Untersuchungen zur Materialcharakterisierung von großem Interesse. [2,3]

**Tabelle 1** Proben und analysierte Parameter. Probenbezeichnung setzt sich zusammen aus Material (S1: Steinkohle, CC1: Kokosnussschale), Wasser (D: Donau, K: Karstquelle, G: Grundwasser) und Beaufschlagung in m<sup>3</sup>/kg Filtermaterial. Abgekürzte Parameter sind IZ: Iodzahl, NBZ: Nitrobenzolzahl, ML<sub>N2</sub>: pyrolytischer Massenverlust unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre bis 600 °C.

Probe	BET-Oberfläche m <sup>2</sup> /g	IZ mg/g	NBZ mg/L	Aschegehalt %	Flüchtige Bestandteile %	ML <sub>N2</sub> %	Anteil Mikroporen % von m <sup>2</sup> /g	Mittlerer Poren-Ø nm
S1	960	950	24	8	3	0,8	85	1,3
S1_D110	800	750	58	9	10	7,0	79	1,3
S1_D550	760	520	> 250	15	16	10,2	59	5,8
S1_K70	880	665	55	9	14	7,8	76	1,8
S1_K140	-	450	108	13	16	13,5	72	3,1
S1_K290	610	420	> 250	19	16	13,6	64	5,0
CC1	1030	1170	19	2	4	1,8	94	0,8
CC1_G15	1000	900	21	1	9	4,8	96	0,7
CC1_G120	1000	970	25	2	8	3,6	99	0,7
CC1_G200	980	910	25	2	14	6,9	93	0,8

## Methoden

Die für die Charakterisierung herangezogenen Methoden, sind neben den in Tabelle 1 genannten, insbesondere Röntgenfluoreszenzanalysen (RFA) sowie Thermogravimetrische Analysen (TGA) mit anschließender Zersetzungsgasanalyse mittels Infrarotspektroskopie (FTIR).

RFA als Elementanalyse erlaubt alle Elemente, bei Normaldruck ab dem Atomgewicht von Aluminium, über eine sogenannte Fundamentalparametermethode semi-quantitativ zu bestimmen. Somit lässt sich die anorganische Zusammensetzung von Proben nahezu vollständig erfassen. Allein Natrium und Magnesium sind nicht detektierbar.

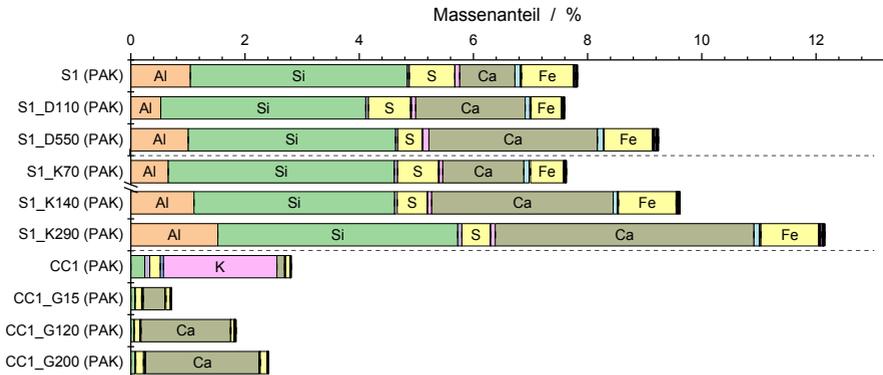
TGA bestimmen das thermische Zersetzungsverhalten von Proben, indem diesen unter inerter Stickstoffatmosphäre ein Temperaturgradienten von 10 °C/min aufgezwungen wird. Während der stattfindenden Pyrolyse wird die Probenmasse kontinuierlich aufgezeichnet. Der Massenverlust über der Temperatur ist charakteristisch für die chemische Zusammensetzung der Probe. Die entstehenden Zersetzungsgase können zeitgleich einer Gasanalyse zugeführt werden, welche das Analyseergebnis mehrdimensional erweitert und detailliertere Beschreibungen der Zersetzungsprozesse erlaubt.

## Ergebnisse

### a) Fixierung von Calcium

Alle untersuchten GAK erhöhen mit zunehmender Laufzeit ihren Aschegehalt (siehe Tabelle 1). Dies ist überwiegend durch eine Fixierung von Calcium verursacht, wie aus den Elementzusammensetzungen der Proben zu erkennen ist (Abbildung 2). TGA zeigten, dass Calcium nicht als Calcit ( $\text{CaCO}_3$ ) auf der Aktivkohle abgeschieden wird, da der für Carbonat typische Massenverlust zwischen 600 und 700 °C, bei dem  $\text{CO}_2$  abgespalten wird, fehlt. Stattdessen ist eine Fixierung des Calciums im Ionenaustausch oder als Ionenbrücke, die sich zwischen negativ geladenem, gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) und der größtenteils negativ geladenen Aktivkohleoberfläche ausbilden kann, zu vermuten.

Aus der Elementzusammensetzung der Aktivkohlen ist weiterhin zu erkennen, dass der Siliziumanteil konstant bleibt, Aluminium und Eisen nicht signifikant schwanken und Schwefel um bis zu 50 % abnimmt. Außerdem verschwindet das für Aktivkohlen auf Kokosnussschalenbasis charakteristische Kalium bereits nach kurzer Filterlaufzeit. Kalium in frischen Kokosnussschalenkohlen kann als natürlicher Bestandteil in der Biomasse vermutet werden. Beim Verkoken und Aktivierungsprozess bleibt es erhalten (z. B. als Pottasche,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ), wird im Zuge des Filterbetriebs dann aber als gut lösliches Salz ausgespült.



**Abbildung 2** Röntgenfluoreszenzanalysen (RFA) der gemahlene Aktivkohlen (PAK).

## b) Keine biologische Besiedelung

In den Filtern der Langenauer Donauwasseraufbereitung konnten bislang noch keine Hinweise auf biologische Aktivität der GAK nachgewiesen werden (obwohl zu vermuten). Die vorgeschaltete Ozonung und die sehr hohe Sauerstoffsättigung erschweren aber auch die Bestimmung einer dafür typischen Sauerstoffzehrung im Filter. Deshalb wurde ergänzend mit TGA und Zersetzungsgasanalyse mittels Infrarotspektroskopie (TGA-FTIR) nach Hinweisen auf biologisches Material an der GAK gesucht. Die bei 300 °C aus Mikroorganismen zu erwartenden Zersetzungsprodukte wie Essigsäure, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> und Substanzen mit Carbonylgruppen [4], wurden jedoch von keiner der Proben freigesetzt. Ein vergleichsweise niedriger DOC (max. 2 mg/L) im Rohwasser verhindert möglicherweise die Ausbildung einer ausgeprägten Besiedlung des GAK-Materials mit Mikroorganismen, sogar bei sehr langen Filterlaufzeiten.

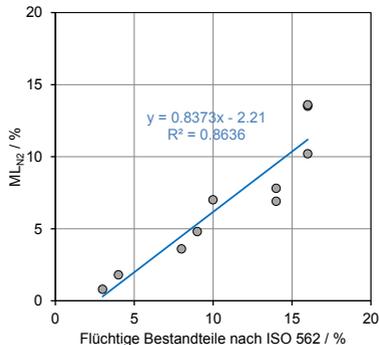
## c) Charakterisierung der Adsorptionskapazität

Bei Karstquell- und Donauwasseraufbereitung nimmt während der GAK-Beaufschlagung die NBZ deutlich zu. Die IZ der eingesetzten Steinkohle nimmt in Karstquellwasser sogar schon nach relativ kurzer Beaufschlagung deutlich ab. Auf der stark mikroporösen CC1 mit Grundwasser dagegen bleiben beide Parameter nahezu konstant. Dies zeigt sich auch am Mikroporenanteil und dem mittleren Porendurchmesser. Offensichtlich schließen sich die Mikroporen der S1-GAK bei Donau- bzw. Karstquellwasserfiltration deutlich stärker als die Mikroporen der CC1-GAK bei Grundwasserfiltration. Allerdings ist der DOC im Filterzulauf von Karst- und Grundwasser mit ca. 0,5 mg/L ähnlich niedrig. Eine Abnahme der Spurenstoffeliminationsleistung über die GAK-Laufzeit zeigt daher eine Abhängigkeit von der DOC-Zusammensetzung und vom Filtermaterial, welches möglicherweise nicht nur durch belegte Adsorptionsplätze, sondern auch durch Verblockung von Poren

verändert wird. Die untersuchte Steinkohle scheint hier stärker mit Verblockung zu reagieren als die GAK aus Kokosnussschalen.

## d) Charakterisierung der Beladung

Dass dennoch eine signifikante Beladung der CC1-GAK stattfindet, zeigt der Gehalt an flüchtigen Bestandteilen. Dieser nimmt mit der Beaufschlagung deutlich zu (Tabelle 1). Er wird zur Charakterisierung von Aktivkohle in DIN 12902 [5] genannt und ist in ISO 562 [6] als Masseverlust von 1 g Probe bei 900 °C in 7 Minuten beschrieben. Ergänzend dazu könnte der pyrolytische Masseverlust bis 600 °C ( $ML_{N_2}$ ) unter Stickstoffatmosphäre ( $ML_{N_2}$ ) ein alternativer Parameter zur Einschätzung der Beladung von Aktivkohlen sein. Geringere Probenmasse und gut kontrollierte Heizraten minimieren in der TGA den Temperaturgradienten innerhalb der Probe. Ein konstanter Inertgasstrom garantiert pyrolytische Bedingungen und erreicht dadurch geringere Messunsicherheiten. Bis 600 °C pyrolysiert der Großteil organischer Moleküle, bevor die Zersetzung anorganischer Bestandteile beginnt. Die Möglichkeit einer gleichzeitigen Zersetzungsgasanalyse, bietet zudem das Potential für eine detaillierte Charakterisierung der Beladung [7]. In Abbildung 3 ist die gute Korrelation zwischen flüchtigen Bestandteilen und  $ML_{N_2}$  zu sehen. Letzterer liegt immer niedriger als die flüchtigen Bestandteile nach ISO 562, da zum einen die Bestimmungstemperatur niedriger ist, aber auch keine Oxidation des Kohlenstoffgerüsts der Aktivkohle stattfinden kann.



**Abbildung 3** Korrelation zwischen Massenverlust unter  $N_2$ -Atmosphäre und den Flüchtigen Bestandteilen nach ISO 562.

## Zusammenfassung und Ausblick

Die Beobachtung von GAK Filtern über die Spurenstoffadsorption hinaus hilft das Verhalten der Filter während ihrer Laufzeit besser zu verstehen. So wurde eine Fixierung von Calcium, die sich günstig auf die DOC-Sorption auswirken kann, in signifikanten Mengen festgestellt. Entgegen der Erwartung scheinen die GAK-Filter unabhängig vom Rohwasser, trotz der langen Laufzeiten, nicht ausgeprägt biologisch besiedelt zu werden. Die Materialcharakterisierung der GAK lieferte neue Erkenntnisse über die Einlagerung von Calciumionen in Aktivkohle während des Filtrationsprozesses und damit neue Ideen zu deren Einfluss auf Sorptionsgleichgewichte für ionische oder (de-)protonierbare polare Substanzen, wie z. B. Melamin. Dies unterstützt damit eine mittels Modellierung durchgeführte Sorptionsprognose von Melamin vor dem Aspekt einer Weiterverwertung gebrauchter Aktivkohlen. In laufenden Untersuchungen soll die Charakterisierung von Adsorptionskapazität und Beladung weiter vertieft und in Zusammenhang gebracht werden. Außerdem sollen GAK-Filter anderer Betreiber ebenfalls herangezogen werden, um die Erkenntnisse als allgemeingültig oder spezifisch für die hier untersuchten Filter interpretieren zu können.

## Literatur

- [1] M Jekel, N Baur, U Böckelmann, U Dünnebier, A Eckhardt, R Gnirß, T Grummt u. a., Universitätsverlag der TU Berlin, **2016**. <http://dx.doi.org/10.14279/depositonce-4979>
- [2] R Winzenbacher, T Lucke, J Schneidewind, DVGW Regelwerk, Abschlussbericht W 201627, **2017**.
- [3] R Winzenbacher, T Lucke, J Schneidewind, DVGW Regelwerk, Abschlussbericht W 201734, **2018**.
- [4] D Dittmann, U Braun, M Jekel und A S Ruhl, Journal of Environmental Chemical Engineering, **2018**. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.010>
- [5] DIN EN 12902:2005-02, Deutsches Institut für Normung e.V., **2005**.
- [6] ISO 562:2010, International Organization for Standardization, **2010**.
- [7] D Dittmann, P Eisentraut, C Goedecke, Y Wiesner, M Jekel, A S Ruhl und U Braun, Scientific Reports, **eingereicht 2019**.

## Membranelektrosorption von negativ und positiv geladenen Farbstoffen mittels elektrisch leitfähiger Duplex-Au-Membran

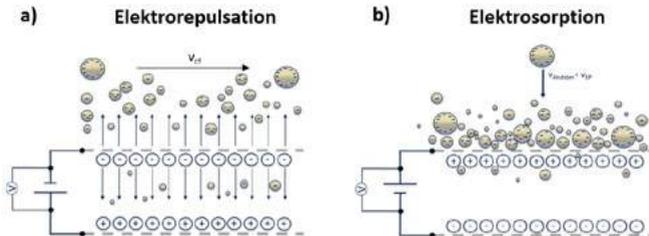
T. Mantel, Hamburg/D, E. Jacki/D, M. Ernst, Hamburg/D

Technische Universität Hamburg, Institut für Wasserressourcen und Wasserversorgung, Am Schwarzenberg-Campus 3, 21073 Hamburg/D

### 1 Einleitung

Die Wasseraufbereitung mittels poröser Membranen (Mikro- und Ultrafiltration; MF, UF) nimmt in den letzten Jahrzehnten stetig an Bedeutung zu [1]. Trotz des steigenden Einsatzes von UF und MF Membranen bleibt das Membranfouling, die Anhaftung von Partikeln, Organik bzw. Biologie, eine Herausforderung [2]. Weiterhin sind poröse Membranen nicht in der Lage, gelöste Wasserinhaltsstoffe wie natürliches organisches Material (engl. Natural Organic Matter, NOM) zu entfernen [2]. In vorangegangenen Arbeiten diverser Forschungsgruppen wurde gezeigt, dass sich leitfähige UF Membranen zur Verringerung von partikulärem bzw. organischem Fouling, aber auch zur Steigerung des Rückhalts durch das Anlegen eines negativen Potentials eignen (Elektrorepulsion, Abb.1a) [3-6]. Durch die intrinsische negative Ladung der Foulants (z. B. NOM) werden diese von der negativ geladenen Oberflächen abgestoßen [7].

Ein neu entwickelter Ansatz, ist die Verwendung von elektrisch leitfähigen Membranen zur gezielten Sorption von negativ geladenen Wasserinhaltsstoffen, in dem die Membran positiv geladen wird (Elektrosorption Abb.1b). Um den Prozess der Membranelektrosorption langfristig aufrechtzuerhalten, ist eine regelmäßige Desorption der adsorbierten Stoffe notwendig. Ziel der vorliegenden Studie ist es, mittels Elektrosorption Modellsubstanzen (geladene Farbstoffe) aus dem Feed auf der Membran zu adsorbieren, welche aufgrund ihrer Größe von UF-Membranen nicht zurückgehalten werden können. Hierbei soll weiterhin über photometrische Bilanzierung die Wiederfindungsrate der Substanzen nach der Desorption bestimmt werden.

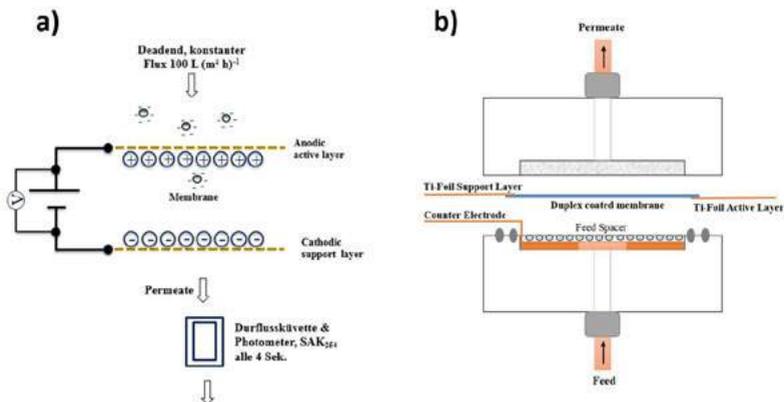


**Abbildung 1:** (a) Elektrorepulsion, negativ geladene Membran (b) Elektrosorption, positive Ladung

## 2 Material & Methoden

Für die Versuche wurden mit Au beschichtete UF-Flachmembranen verwendet (Hersteller i<sup>3</sup> membrane GmbH). Die Membranen wurden auf der Trenn- und Stützschrift mit einer ultradünnen Goldschicht (Schichtdicke 50 nm) bedampft.

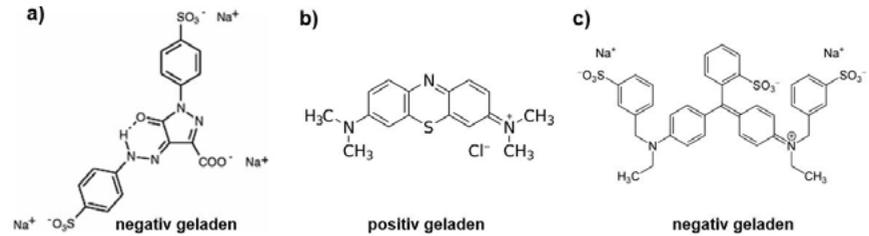
Für die Filtrationsversuche wurde eine kommerzielle Crossflow-Zelle mit einer aktiven Membranoberfläche von 42 cm<sup>2</sup> verwendet (CF042, Sterlitech). Die Kontaktierung der Membranelektroden erfolgte über Titanfolien, welche in die Zelle (Abb.2b) eingelegt wurden und an einen externen Potentiostaten (PGU, IPS Elektroniklabor GmbH) angeschlossen sind. Die Klemmspannung wurde potentiostatisch auf 2,5 V eingestellt, wobei während der Elektrosorptionsphase die Trennschicht der Membran als Anode und während der Desorptionsphase als Kathode diente. Während des Versuchs wurde der Flux konstant bei  $100 \pm 5 \text{ L (m}^2 \text{ h)}^{-1}$  gehalten. Die Filtration wurde bei einer Temperatur von  $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  durchgeführt. Um Sorption und Desorption zu bilanzieren, wird die UV-VIS Absorption der Farbstoffe mittels Durchflussküvette alle 4 Sekunden (DR5000, Hach Lange GmbH) gemessen (Abb.2a).



**Abbildung 2:** (a) Versuchsaufbau (b) Filtrationszelle mit elektrisch angesteuerter Au-Membran

Als negativ geladener Farbstoff wurde das gelbe Tatzazin ( $M=534 \text{ g/mol}$ , UV-VIS Absorptionsmaximum  $416 \text{ nm}$ ) und als positiv geladener Farbstoff Methylenblau ( $M=534 \text{ g/mol}$ , UV-VIS Absorptionsmaximum  $665 \text{ nm}$ ) gewählt (Abb.3a&b). Beide Farbstoffe wurden mit einer Konzentration von  $3,5 \text{ mg/L}$  angesetzt und anschließend gemischt, so dass sich eine grüne Färbung des Feeds ergab. Für die Bilanzierung der Elektrosorption und -desorption wurde weiterhin der negativ geladene Farbstoff Brilliant Blau verwendet

(UV-VIS Absorptionsmaximum 629 nm) verwendet (Abb.3c). Um die Ionenstärke der Lösungen anzuheben, wurden jeweils 1 mmol/L NaCl dosiert.

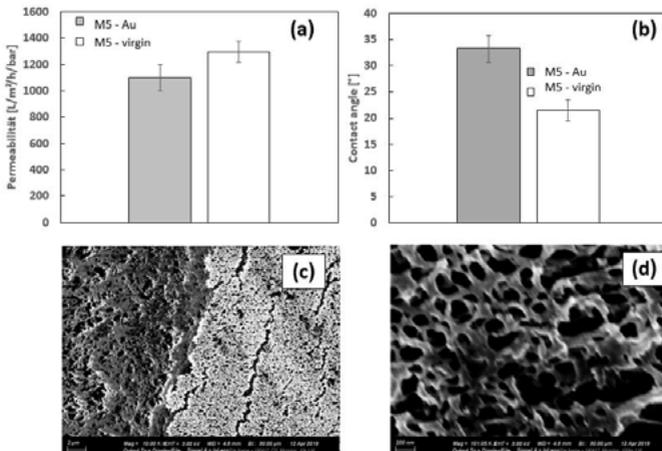


**Abbildung 3:** (a) Tetracyclin, M=534 g/mol, (b) Methylenblau, M=320 g/mol, (c) Brilliant Blau, M=793 g/mol

### 3 Ergebnisse & Diskussion

#### 3.1 Membrancharakterisierung

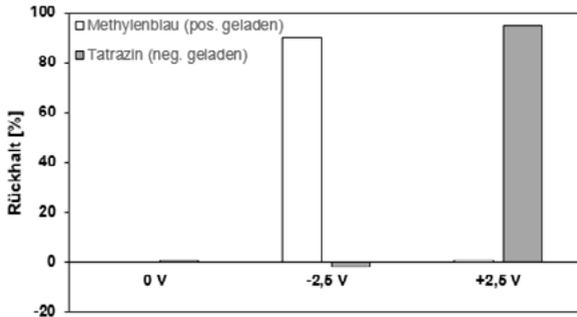
Durch die Beschichtung der Membran mit Gold [8] kommt es lediglich zu einer geringen Abnahme der Reinstwasser-Permeabilität von ca. 15 % (Abb.4a). Mit einer RW-Permeabilität von 1100 L (m<sup>2</sup> h bar)<sup>-1</sup> weist die beschichtete Membran weiterhin eine sehr hohe Permeabilität zwischen typischen Mikro- und Ultrafiltrationsmembranen auf. Durch die Goldbeschichtung vergrößert sich der Kontaktwinkel der Polymermembran, was bedeutet, dass die Beschichtung die Membran hydrophober macht (Abb.4b). Die REM-Aufnahmen (Abb.4c&d) zeigen eine poröse Membranstruktur, welche eine hohe innere Oberfläche aufweist und somit gut zur Adsorption geeignet ist.



**Abbildung 4:** Membrancharakterisierung: (a) Reinstwasser-Permeabilität, (b) Kontaktwinkelmessung, (c) REM-Querschnitt (d) REM Aufsicht

## 3.2 Elektrosorption von negativ und positiv geladenen Farbstoff

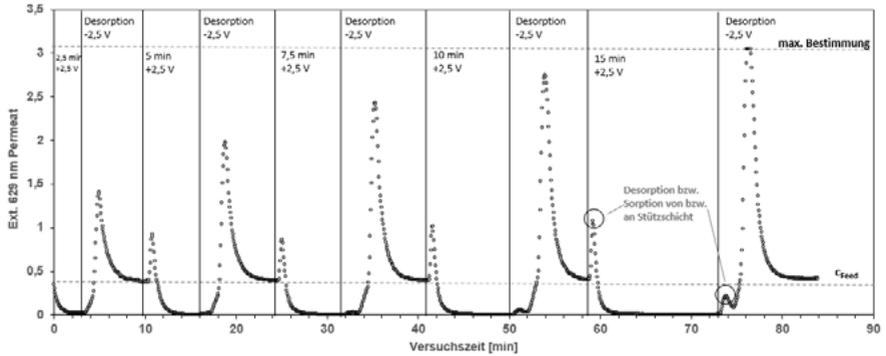
Bei der Filtration des Feeds, welcher aus positiv und negativ geladenen Farbstoffen besteht, wurde ohne das Anlegen eines externen Potentials kein Rückhalt für beide Farbstoffe gemessen (Abb.5, Feed und Permeat sind grün). Bei positiven Potentialen wurde Tatrazin, aufgrund der negativen Ladung an der Membranoberfläche adsorbiert und Methylblau wurde nicht zurückgehalten. In diesem Fall hatte das Permeat eine blaue Färbung. Bei negativen Potentialen wurde Methylblau zurückgehalten und das Tatrazin nicht, was zu einer gelben Färbung des Feeds führte.



**Abbildung 5:** Membranelektrosorption von negativ (Tatrazin) und positiv (Methylblau) geladenen Farbstoff

## 3.3 Bilanzierung Membranelektrosorption und -desorption

Ohne das Anlegen eines Potentials zeigt die Membran keinen Rückhalt für den Farbstoff Brilliant Blau, das Permeat hat dieselbe Extinktion (bei 629 nm) wie der Feed (Abb.6). Sobald die Membranoberfläche positiv geladen wird, kann eine plötzliche Abnahme der Extinktion beobachtet werden, bis eine Entfernung von über 98% des Farbstoffs erreicht wird. Nach dem Umpolen auf ein negatives Potential (-2,5 V) kann ein Desorptionspeak beobachtet werden, welcher langsam abflacht (Tailing) bis die Konzentration des Permeats wieder gleich der des Feeds ist. Der Desorptionspeak wird mit zunehmender Sorptionszeitdauer höher und nimmt an Flächeninhalt zu. Ab einer Sorptionszeit von 15 min erreicht der Desorptionspeak die maximale Bestimmungsgrenze des Photometers. Direkt nach dem Umpolen kann ein kurzzeitiger „kleinerer“ Adsorptions- bzw. Desorptionspeak beobachtet werden, was auf Adsorption bzw. Desorption von Farbstoffmolekülen an der leitfähigen Stützschiicht der Membran zurückgeführt wird.



**Abbildung 6:** Elektrosorption und –desorption von Brilliant Blau (3,5 mg/L), konstanter Flux von 250 L/m/h

Zur Bilanzierung der Sorptions-bzw. Desorptionspeaks wurden die Flächeninhalte unter bzw. ober der Konzentration des Feeds (gestrichelte Linie) integriert (Tab.1). Dabei zeigt sich, dass hohe Wiederfindungsraten (96-103%) erreicht werden und man somit von einer nahezu vollständigen Desorption des sorbierten Farbstoffes ausgehen kann. Die adsorbierte Masse ist linear abhängig von der Sorptionsdauer ( $R^2$  Sorption = 99,9%,  $R^2$  Desorption=99,7%).

**Tabelle 1:** Bilanzierung von Elektrosorption und -desorption

Sorptionsdauer [min]		2,5	5	7,5	10	15
Sorption [ext*s]		-20,171	-33,606	-45,536	-56,03	-81,031
Desorption [ext*s]		21,1	32,87	43,942	53,251	-
Wiederfindung		103%	98%	96%	96%	-

Nach etwa 35 Minuten Sorptionszeit beginnt der Farbstoff langsam durchzubrechen (hier nicht dargestellt). In diesem Zeitraum des vollständigen Rückhalts werden ca. 6,9 mg Brilliant Blau / g Membran oder 409 mg Brilliant Blau / m<sup>2</sup> aktiver Membranfläche adsorbiert.

Die Stromdichte beim Anlegen von 2,5 V Klemmspannung liegt durchschnittlich bei 0,03 mA cm<sup>-2</sup>. Daraus ergibt sich ein zusätzlicher Energiebedarf von ca. 0,005 kWh m<sup>-3</sup> für die elektrounterstützte Filtration. Im Verhältnis zur benötigten Pumpenenergie für die NF von ca. 0,4-0,6 kWh m<sup>-3</sup> [10] liegt die zusätzlich aufzuwendende Energie unterhalb von 1 % des Gesamtenergiebedarfs.

## 4 Fazit und Zusammenfassung

Die Untersuchungen zeigen, dass geladene Farbstoffe durch leitfähige UF Membranen im Deadend Betrieb (+2,5 V) adsorbiert und durch Umpolen (-2,5 V) wieder desorbiert werden können. Für die Entfernung von Farbstoffen dieser Molekülgrößen (< 1kDa) müsste üblicherweise eine Nanofiltrationsmembran gewählt werden. Vorteil der Membranelektrosorption ist weiterhin, dass mit geringen Drücken gearbeitet werden kann und kein Crossflow - wie bei der NF - notwendig ist, um Konzentrationspolarisation zu vermeiden [11]. Um den Ansatz in ein Aufbereitungsverfahren zu entwickeln, sind weitere Untersuchungen (Materialien, Porosität, eingesetzte Spannungen, Desorptionszeiten, etc.) notwendig. Die zur Elektrosorption von Farbstoffen aufzuwendende zusätzliche elektrische Energie beträgt im untersuchten Fall etwa 0,005 kWh/m<sup>3</sup> Permeat. In weiteren Untersuchungen soll die Anwendbarkeit der Membranelektrosorption für die Wasseraufbereitung von Rohwässern mit hohen Anteilen natürlichen organischen Materials (NOM) untersucht werden.

## Danksagung

Die vorliegende Studie wurde im Rahmen des Projekts „Einfluss des Oberflächenpotentials von leitfähigen Polymermembranen auf das Fouling- und Trennverhalten in der Wasseraufbereitung (ZETA-Membrane)“ durchgeführt. Wir bedanken uns bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Förderung (Projekt-Nr. 262559207). Weiterhin bedanken wir uns bei der i<sup>3</sup> membrane GmbH zur Bereitstellung der Membran.

## Literatur

- [1] X. Shi, J. Wat. Proc. Eng. **2014**, **1**.
- [2] A. Mehta, J. Membr. Sci. **2005**, **249**
- [3] F. Ahmad, Desal. **2016**, **391**.
- [4] A. Dudchenko, J. Membr. Sci. **2014**, **468**.
- [5] A. Ronen, Reviews in Chem. Eng. **2016**, **32**.
- [6] Q. Zhang, J. Membr. Sci. **2014**, **459**.
- [7] J. Shao, Water Research **2011**, **45**.
- [8] T. Mantel, Membranes **2018**, **8**, **64**
- [10] P. Lipp, gwf Wasser Abwasser **2005**, **146**.
- [11] M. Keller, Water Science and Technology: Water Supply **2017**, **17**.

## Investigation of ClO<sub>2</sub> reactions with reactive moieties, formation of hypochlorous acid as secondary oxidant - challenges and solutions

M.S. Abdighahroudi, Essen/DE, M. Jütte, Essen/DE, R. Kalnins, Essen/DE

H.V. Lutze, Essen/DE, T. C. Schmidt, Essen/DE.

Mohammad Sajjad Abdighahroudi, Universität Duisburg-Essen, Campus Essen,  
Fakultät für Chemie, Instrumentelle Analytische Chemie, Universitätsstr. 5, 45141,  
Essen/DE

### Introduction

Chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) is one of the oxidants that is in use for disinfection in drinking water and its usage increased after disinfection by-products, (DBPs) namely trihalomethanes (THMs) formed during chlorination were regulated in the 1970s [1]. It is reported that ClO<sub>2</sub> can be used for inactivating chlorine-resistant bacteria [2] as well as micropollutant abatement in water and wastewater treatment [3] [4]. Despite its application worldwide, knowledge on reaction mechanisms of ClO<sub>2</sub> with organic and inorganic compounds is largely lacking.

Wajon et al. 1982 suggested a pathway for the reaction of ClO<sub>2</sub> with phenol that leads to the formation of hypochlorous acid (HOCl) [5]. Recently it was proven that HOCl can indeed be formed intrinsically in the reaction of ClO<sub>2</sub> with phenol [6] and results in similar level of disinfection by-products (trichloromethane and dichloroacetonitrile) observed during chlorination [7]. This has not only consequences for water treatment but also for methods to investigate ClO<sub>2</sub> reactions. If intrinsic formation of HOCl is not taken into account, the investigated system under study is highly undefined, and one does not know if products or kinetics can be explained by reaction of ClO<sub>2</sub> or HOCl (Figure 1). Hence strategies to take intrinsic formation of HOCl into account and determine its yields have to be applied. This study presents a step by step methodology on how to systematically investigate ClO<sub>2</sub> reactions and how to determine HOCl yields (Figure 2). For this purpose, pyrrole is used as an example to demonstrate the workflow.

### Workflow and experiments

#### *Measurement of impurities in ClO<sub>2</sub> stock solutions*

It is known that in almost all of the generation technologies for ClO<sub>2</sub>, HOCl will also form [2]. Therefore, the very first step is to know the content of interfering impurities in ClO<sub>2</sub> stock solution such as HOCl and ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Therefore, a portion of stock solution should be purged with argon and the purified aqueous solution has to be measured for possible impurities such as chlorite, chloride and chlorate by ion chromatography (IC). Determining the HOCl impurities can be done either by DPD method or by measurement of *N*-chloroglycine in a purged ClO<sub>2</sub> stock solution by IC. In brief, glycine is added the ClO<sub>2</sub> stock solutions after purging the ClO<sub>2</sub> the solution is measured with Anion-IC. To make sure that the chosen method is interference free, it is recommended to perform an experiment for HOCl recovery in spiked ClO<sub>2</sub> solutions. Measurement of impurities in a

stock solution of chlorine dioxide with a concentration of  $9 \times 10^{-3}$  M showed impurities of around  $40 \times 10^{-6}$  M,  $130 \times 10^{-6}$  M for chloride and chlorite, respectively. The concentration of HOCl was determined to be less than  $6 \times 10^{-6}$  M. All impurities combined are less than 2 % of chlorine dioxide concentration.

*Reactivity and ClO<sub>2</sub> kinetics*

In the beginning, a simple screening is desirable to know if the compound is reactive toward ClO<sub>2</sub> or not. For this purpose, one can utilize a pseudo first-order approach in which compound is in at least 10-fold excess over ClO<sub>2</sub>. If the compound is indeed reactive and ClO<sub>2</sub> depleted, it is necessary to pay special attention to the role of speciation, which can have a significant effect on reactivity. Therefore, it is necessary to investigate the reaction in different pH values when there are different species of model compound existing. Measurement of pyrrole kinetics in different pH values shows a relatively constant reaction rate around  $1200 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . This is because pyrrole has no speciation in aqueous solutions. In the case of other compounds that have acidic or basic properties, the role of speciation should be considered.

*HOCl kinetics and calculation of scavenger concentration*

As mentioned before the formation of intrinsic HOCl should be taken into account in ClO<sub>2</sub> studies since HOCl can be reactive toward a variety of electron rich moieties [8]. In this regard, it is necessary to scavenge the HOCl with a selective scavenger such as glycine whenever we are monitoring the degradation of the model compound. The best strategy is to calculate how much glycine is needed to effectively scavenge most of HOCl (f=0.95 or more) according to Equation 1.

$$f_{\text{Glycine}} = \frac{[\text{Glycine}] \times k_{(\text{Glycine}+\text{HOCl})}}{[\text{Compound}] \times k_{(\text{compound}+\text{HOCl})} + [\text{Glycine}] \times k_{(\text{Glycine}+\text{HOCl})}} \quad \text{Equation 1}$$

*k* = Second order reaction rate

[X] = Concentration of X

f<sub>Glycine</sub> = the fraction of HOCl that reacts with glycine

To calculate glycine concentration according to Equation 1, the second-order reaction rate of HOCl with the compound is needed. If not available in the literature, the reaction rates should be either measured (e.g., by pseudo first-order kinetics or competitions kinetics) or derived from quantitative structural activity relationships (QSAR).

The reaction rate of pyrrole with HOCl is not available in the literature. Therefore, it was measured by competition kinetics with aniline. It is reported that aniline reacts with HOCl by a rate of  $5.9 \times 10^4$  [8]. Figure 3 shows the speciation and apparent reaction rate of HOCl and pyrrole, which correlates to a reaction rate of  $2 \times 10^4$ . Considering this rate and utilizing Equation 1, it was calculated that in a solution of  $10^{-4}$  M pyrrole with  $5 \times 10^{-3}$  M glycine, more than 95 percent of HOCl could be scavenged.

## Stoichiometry and chlorine balance

Stoichiometry of the reaction can be affected by the formation of intrinsic HOCl. For these studies, addition of different concentration of ClO<sub>2</sub> to a fixed concentration of the compound in the presence of glycine (calculated based on Equation 1) can be utilized. Monitoring the degradation of the compound in different ratios of ClO<sub>2</sub> to compound can show how many moles of ClO<sub>2</sub> is needed to completely degrade one mole of compound without any influence from HOCl. For the measurement of chlorine species and *N*-chloroglycine that is representing HOCl, in this experiment, the same method as the one mentioned for *Measurement of impurities* is used. This will allow simultaneous measurement of HOCl alongside chlorite, chloride, and chlorate. Figure 4 and 5 represent chlorine balance and stoichiometry of reaction between ClO<sub>2</sub> and pyrrole.

## Recoveries of *N*-chloroglycine

The formed *N*-chloroglycine is also a reactive and unstable species to some extent. Thus, it has to be corroborated that it remains stable until the experiment is performed and all samples measured. To make sure that there is no loss in the recovery of *N*-chloroglycine, *N*-chloroglycine should be spiked to the reaction solution with the exact same constituent of the previous step as the last step. Measurement of *N*-chloroglycine recovery exhibits recoveries around 100 percent.

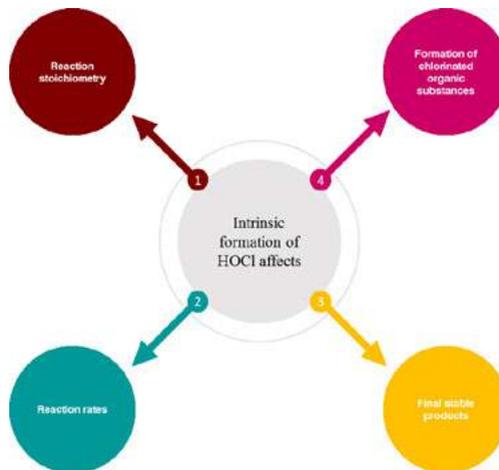


Figure 1: effects of intrinsic HOCl formation

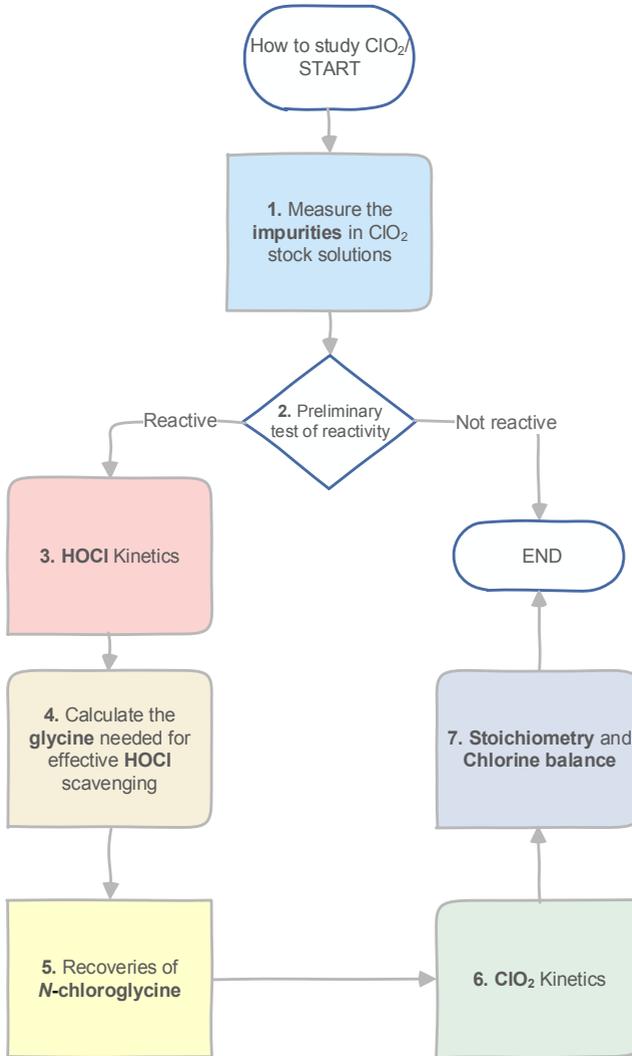


Figure 2: Methodology to investigate ClO<sub>2</sub> reactions

# Au 013

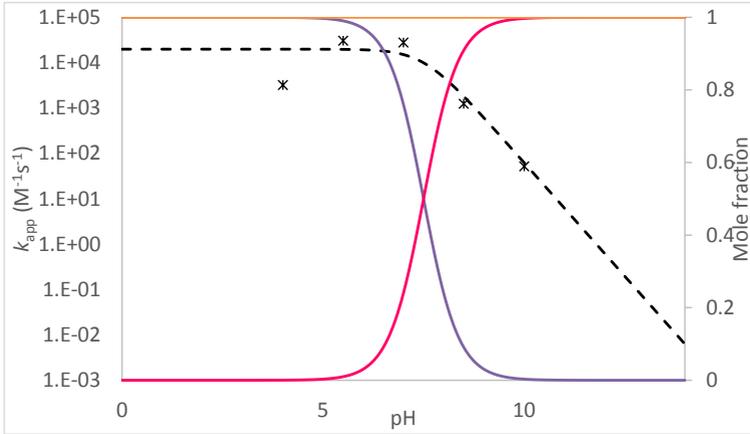


Figure 3: Apparent second order reaction rate of pyrrole and HOCl on the left axis. Speciation diagram of pyrrole and HOCl on the right axis. (orange = neutral pyrrole, purple = hypochlorous acid, pink = hypochlorite ion, dashed line = modeled  $k_{app}$ , stars = measured  $k_{app}$ ).

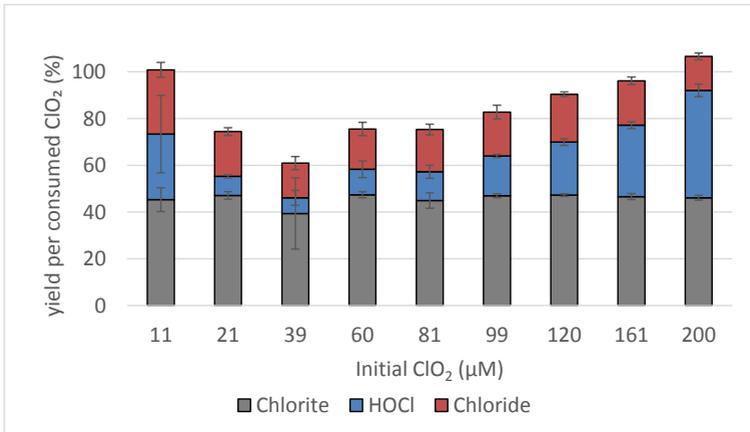


Figure 4: Chlorine species of the pyrrole and  $\text{ClO}_2$  reaction at pH 7. [pyrrole] =  $10^{-4}$  M, [glycine] =  $5 \times 10^{-3}$  M, [Phosphate buffer] =  $10^{-2}$  M in ultrapure water. Error bars = standard deviation of triplicate measurement.

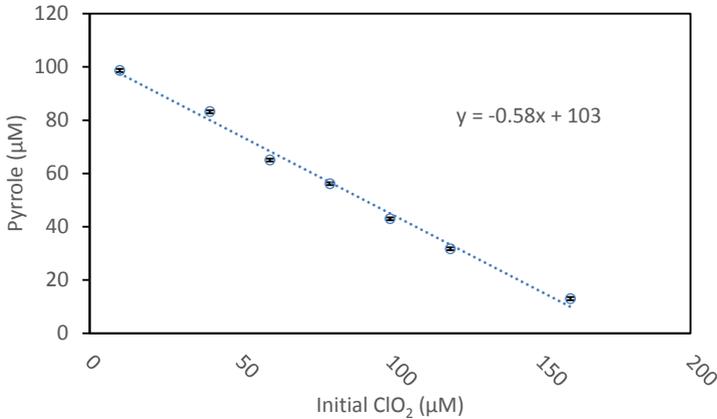


Figure 5: Degradation of pyrrole by different concentration of ClO<sub>2</sub> at pH 7 showing the stoichiometry of reaction. [pyrrole] = 10<sup>-4</sup> M, [glycine] = 5×10<sup>-3</sup> M, [Phosphate buffer] = 10<sup>-2</sup> M in ultrapure water. error bars = confidence intervals of triplicate measurement.

### References

- [1] Black & Veatch Corporation, "Chlorine Dioxide," in *White's Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants*, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2010, pp. 700–766.
- [2] D. J. Gates, G. Ziglio, and K. Ozekin, *State of the science of chlorine dioxide in drinking water*. Water Research Foundation/Fondazione AMGA, 2009.
- [3] G. Hey, R. Grabic, A. Ledin, J. la Cour Jansen, and H. R. Andersen, "Oxidation of pharmaceuticals by chlorine dioxide in biologically treated wastewater," *Chem. Eng. J.*, vol. 185–186, pp. 236–242, 2012.
- [4] M. M. Huber, S. Korhonen, T. A. Ternes, and U. von Gunten, "Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide," *Water Res.*, vol. 39, no. 15, pp. 3607–3617, Sep. 2005.
- [5] J. E. Wajon, D. H. Rosenblatt, and E. P. Burrows, "Oxidation of phenol and hydroquinone by chlorine dioxide," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 16, no. 7, pp. 396–402, Jul. 1982.
- [6] J. Terhalle *et al.*, "Chlorine Dioxide—Pollutant Transformation and Formation of Hypochlorous Acid as a Secondary Oxidant," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 52, no. 17, pp. 9964–9971, Sep. 2018.
- [7] V. Rougé, S. Allard, J.-P. Croué, and U. von Gunten, "In Situ Formation of Free Chlorine During ClO<sub>2</sub> Treatment: Implications on the Formation of Disinfection Byproducts," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 52, no. 22, pp. 13421–13429, Nov. 2018.
- [8] Y. Lee and U. von Gunten, "Oxidative transformation of micropollutants during municipal wastewater treatment: Comparison of kinetic aspects of selective (chlorine, chlorine dioxide, ferrateVI, and ozone) and non-selective oxidants (hydroxyl radical)," *Water Res.*, vol. 44, no. 2, pp. 555–566, 2010.

## **Modifiziertes Granuliertes Eisenhydroxid (GEH-PYR) für die reduktive Entfernung von Cr(VI)**

Massa, L., Berlin/D<sup>1</sup>, Rabe, L., Osnabrück/D<sup>2</sup>, Bahr, C., Osnabrück/D<sup>2</sup>, Ruhl, A.S., Berlin/D<sup>1</sup>, Jekel, M., Berlin/D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Technische Universität Berlin, Fachgebiet Wasserreinigung Sekr. KF.4, Straße des 17 Juni 135, 10623 Berlin; lukas.massa@tu-berlin.de

<sup>2</sup>GEH Wasserchemie GmbH & Co. KG, Adolf-Köhne-Straße 4, 49090 Osnabrück, luisa.rabe@geh-wasserchemie.de

### **Einleitung**

Chrom kann durch Witterungsprozesse oder anthropogene Einträge in die aquatische Umwelt gelangen und in stabiler dreiwertiger und sechswertiger Oxidationsstufe vorliegen [1, 2]. Während Cr(III) ein essenzielles Spurenelement für den Menschen ist, wird Cr(VI) schon in geringen Konzentrationen von 0,3 µg/L als Karzinogen der Klasse 1b (= wahrscheinlich krebserregend) eingestuft [3, 4] und ist in sauerstoffhaltigen Grundwässern die dominierende Spezies [5, 6, 7]. Cr(VI) ist in Deutschland flächendeckend im Grundwasser nachweisbar, wobei Konzentrationen von beispielsweise bis zu 3,1 µg/L (Bayern) gemessen werden [7, 8]. In der kürzlich überarbeiteten Trinkwasserverordnung wurde der Grenzwert von 50 µg/L Cr<sub>ges</sub> nicht angepasst, jedoch ist durch die aufgezeigte Relevanz eine zukünftige Verschärfung des Grenzwertes wahrscheinlich. In industriellen Abwässern können Cr(VI) Konzentrationen im mg L<sup>-1</sup>-Bereich auftreten [9], sodass eine gezielte Entfernung entsprechend geltender Grenzwerte der Abwasserverordnung (beispielsweise 100 µg/L Cr(VI) für Abwasser aus der stahlverarbeitenden Industrie) nötig ist.

Die Reduktion mit anschließender Fällung und Filtration (RCF) und der Einsatz von Ionenaustauschern oder Membranen sind die aktuell präferierten Verfahren zur Entfernung von Cr(VI). Der Einsatz von Chemikalien und die Entsorgung von Regenerat oder Konzentrat stellen jedoch Schwächen dieser Verfahren dar [10]. Granuliertes Eisenhydroxid (GEH) ist ein bewährtes Adsorbens für die Entfernung von Arsenat und weiteren anorganischen Stoffen [11, 12], jedoch unzureichend für die adsorptive Entfernung von Cr(VI). Die Idee der Integration von reduktiv wirkenden Mineralen in das GEH zur verbesserten Entfernung von Cr(VI) [13] wurde in dieser Arbeit aufgegriffen und fortgeführt. Das produzierte Filtermaterial (GEH-PYR) wurde zunächst mineralogisch untersucht und anschließend die Entfernungskapazität gegenüber Cr(VI) in Batchversuchen und Kleinfilterversuchen geprüft.

### **Material und Methoden**

Zur qualitativen Beurteilung des produzierten Filtermaterials wurden verschiedene mineralogische Analysen durchgeführt. Die Bestimmung des Pyritgehaltes erfolgte über eine Quantifizierung des Schwefelanteils mittels CNS-Analyse (Vario EL III Elementar). Zur Untersuchung der Verteilung des Pyrits im Filterkorn sowie möglicher chemischer Ver-

änderungen des GEH als Folge der Einbindung des Pyrits wurden XRD-Analysen (Bruker D2 Phaser) und elektronenmikroskopische Untersuchungen (REM) (Zeiss DSM 982 GEMINI) sowie ein elementspezifisches Mapping mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) (ZEISS GeminiSEM500 NanoVP, Bruker Quantax XFlash 6|60) durchgeführt.

Die Bestimmung der maximalen Cr(VI)-Entfernungskapazität des Filtermaterials (3 g GEH mit 8, 18, 35 und 40 % Pyrit, später als GEH-PYRxx bezeichnet) erfolgte mit einer Chromatlösung (5 mg/L in Berliner Trinkwasser) in Batchversuchen (750 mL). Über einen Versuchszeitraum von 75 Tagen wurde die Cr(VI)-Konzentration in 24 h-Intervallen an die Ausgangskonzentration angepasst, bis zur vollständigen Erschöpfung des Filtermaterials. Darüber hinaus wurde das Filtermaterial in Kleinfiltern (25 mm Innendurchmesser, 250 mm Länge, 100 mm Bethöhe, 49 mL Bettvolumen) mit einem Modellwasser (30 µg/L Cr(VI) in Berliner Trinkwasser) bei variierender Sauerstoffkonzentration (8,5, 4,5 und 0,0 mg/L O<sub>2</sub>) im Zulauf getestet. Die Chromatkonzentration wurde mittels Ionenchromatographie mit Nachsäulenderivatisierung (IC-PCR, Metrohm 930 Compact IC Flex) und die Sauerstoffkonzentration wurde optisch (PreSens Oxi-4-mini mit Durchflusszelle) bestimmt.

## Ergebnisse

Die mineralogischen Untersuchungen zeigen eine erfolgreiche Einbindung des Pyrits in das Ausgangsmaterial (GEH). Die mittels CNS-Analysen bestimmten Pyritanteile der einzelnen Kornfraktionen sind in Abbildung 1 dargestellt. Es wird deutlich, dass eine gleichmäßige Verteilung des Pyrits über alle Korngrößen erzielt wurde. Der daraus errechnete Gesamt-Pyritanteil des produzierten Filtermaterials entspricht dem angestrebten Mineralgehalt.

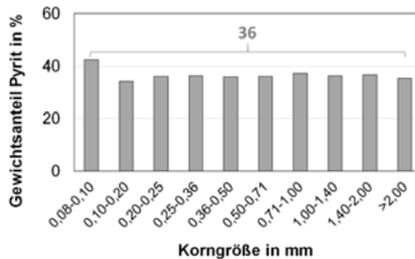


Abbildung 1: Aus CNS-Analysen berechnete Pyritanteile in den Kornfraktionen des entwickelten Filtermaterials (GEH-PYR mit 36 % Pyrit)

Im Vergleich zur homogenen Oberfläche des reinen GEH sind auf der elektronenmikroskopischen Querschliffaufnahme eines Filterkorns mit integriertem Pyrit (GEH-PYR) über den gesamten Partikelquerschnitt gleichmäßig verteilte Einschlüsse erkennbar (Abbildung 2a). Die Einschlüsse konnten mittels EDX eindeutig als Pyrit identifiziert werden (Abbildung 2c). Über einen Vergleich der XRD-Spektren von konventionellem GEH und GEH-PYR konnten die Unterschiede in der mineralogischen Zusammensetzung bestätigt und genauer charakterisiert werden (Abbildung 2b). Demnach wurde Akaganeit als mineralogischer Hauptbestandteil von konventionellem GEH bestimmt. Das Röntgendiffraktogramm des neuentwickelten Filtermaterials weist sowohl eine Pyrit- als auch eine

Akaganeit-Phase nach, wobei das Akaganeit auch nach der Einbindung des Pyrits chemisch unverändert vorliegt. Die chemische Übereinstimmung der Akaganeit-Phase deutet darauf hin, dass die grundlegenden adsorptiven Eigenschaften des GEH im GEH-PYR erhalten bleiben und zusätzlich um die reduktive Kapazität des Pyrits erweitert werden.

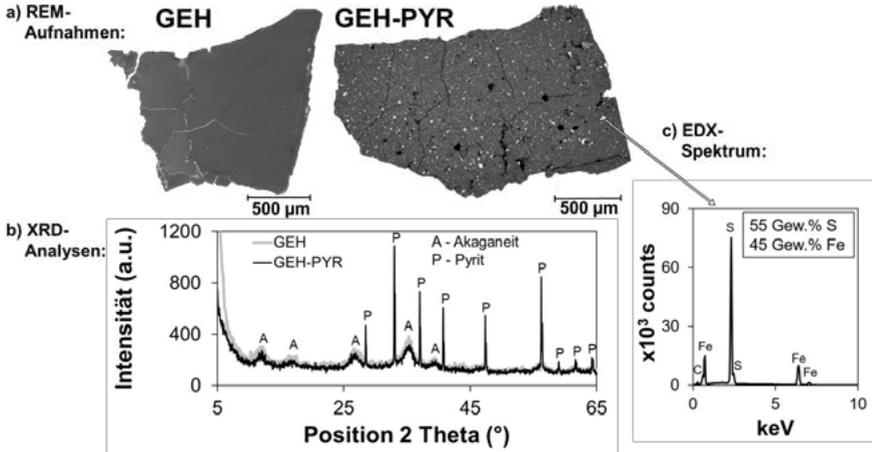


Abbildung 2: Elektronenmikroskopische Schliffaufnahmen (a) und XRD-Analysen (b) von GEH und GEH-PYR im Vergleich und Elementanalyse eines Pyrit-Einschlusses (c)

Die im Batchversuch ermittelte maximale Entfernungskapazität von konventionellem GEH liegt bei langer Kontaktzeit (24 h) und hoher Ausgangskonzentration des Cr(VI) (5 mg/L) bei 1 mg Cr(VI)/g GEH und ist damit für eine effiziente adsorptive Cr(VI)-Entfernung nicht geeignet. Die Integration von feinpartikulärem Pyrit in das konventionelle GEH steigerte die Cr(VI)-Entfernung auf bis zu 32 mg Cr(VI)/g GEH-PYR bei einem Pyritanteil von 40 % (Abbildung 3).

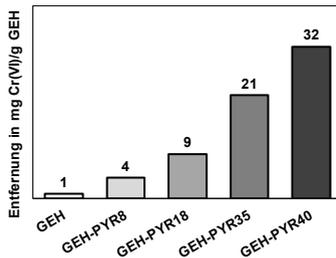
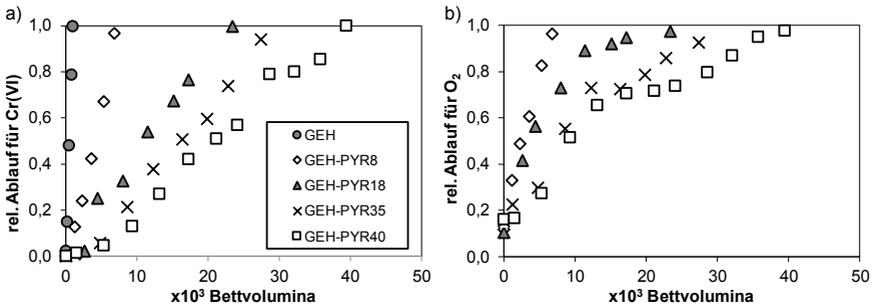


Abbildung 3: Maximale Entfernungskapazitäten des GEH und des entwickelten Materials GEH-PYR mit Pyritanteilen von 8, 18 35 und 40 % in Batchversuchen

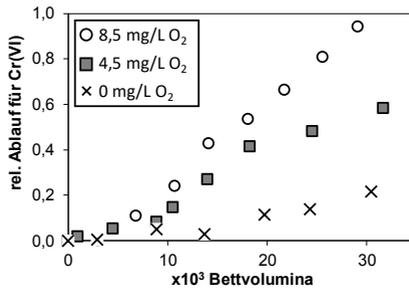
Mit Hilfe von Kleinfilterversuchen wurde der Cr(VI)-Durchbruch des reduktiv wirkenden GEH-PYR-Festbettadsorbers im Labormaßstab bei geringem Zeit- und Materialaufwand

simuliert. Wie in Abbildung 4a ersichtlich wird, führten zunehmende Pyritanteile im GEH zu verzögerten Durchbrüchen des Cr(VI). Die berechnete Beladung des Filtermaterials GEH-PYR40 betrug 0,9 mg Cr(VI)/g GEH-PYR und ist gegenüber der im Batch ermittelten maximalen Entfernung (Abbildung 3) deutlich geringer. Eine Leerbettverweilzeit von 5 min, ein ungünstiger Stofftransport durch die Ausbildung von Strömungskanälen im Festbett und die Limitierung durch die Korndiffusion, sowie eine deutlich geringere Cr(VI)-Zulaufkonzentration können für die Begründung der geringeren Beladung gegenüber der maximalen Entfernung herangezogen werden. Neben Cr(VI) bestätigt die Entfernung von Sauerstoff die reduktive Wirksamkeit des Festbettadsorbers. Durch Konzentrationen im  $\text{mg L}^{-1}$ -Bereich ist Sauerstoff ein bedeutender Konkurrenzstoff für den Verbrauch von reduktivem Pyrit (Abbildung 4b).



**Abbildung 4:** Durchbruchskurven von Cr(VI) (a) und Sauerstoff (b) mit den entwickelten Materialien und GEH im Vergleich. Zulaufkonzentrationen:  $\beta(\text{Cr(VI)}) = 30 \mu\text{g/L}$  und  $\beta(\text{O}_2) = 8,5 \text{ mg/L}$ .

In weiteren Kleinfilterversuchen wurde durch eine konstante Sauerstoffkonzentration (8,5, 4,5 und 0,0 mg/L) im Zulauf der konkurrierende Einfluss des Sauerstoffs auf die reduktive Cr(VI)-Entfernung bewertet (Abbildung 5). Während das Chrom im Filter mit einer Sauerstoffkonzentration von 8,5 mg/L bei 30.000 Bettvolumina vollständig durchbrach, wurde es in den anderen Filtern noch zu 50 % bzw. 80 % (4,5 bzw. 0,0 mg/L  $\text{O}_2$ ) zurückgehalten. Es ist davon auszugehen, dass das GEH-PYR besonders bei Grundwässern mit geringer Sauerstoffkonzentration als effizientes Festbettadsorbermaterial zur reduktiven Cr(VI)-Entfernung einsetzbar ist.



**Abbildung 5:** Durchbruchskurven von Cr(VI) mit GEH-PYR mit 35 % Pyritanteil bei variierender Sauerstoffkonzentration je Zulauf. Zulaufkonzentrationen:  $(\text{Cr(VI)}) = 30 \mu\text{g/L}$  und  $\beta(\text{O}_2) = 8,5, 4,5$  und  $0,0 \text{ mg/L}$ .

## Fazit und Ausblick

Die Produktentwicklung eines neuartigen Filtermaterials zur Entfernung von Cr(VI) konnte durch die Modifikation von konventionellem GEH mit reduktiv wirkendem Pyrit erfolgreich fortgeführt werden. Die mineralogischen Untersuchungen des neuentwickelten Materials GEH-PYR belegen, dass das Pyrit nach dem Herstellungsprozess gleichmäßig im gesamten Filtermaterial verteilt vorliegt und die angestrebten Mineralanteile erreicht werden konnten. Im Batchversuch wies das Material eine maximale Entfernungskapazität von bis zu 32 mg Cr(VI)/g GEH-PYR auf. Versuche mit Kleinfiltern konnten die maximale Entfernungskapazität nicht bestätigen, jedoch wurde ein deutlich verzögerter Rückhalt des Cr(VI) gegenüber konventionellem GEH beobachtet. Sauerstoff wurde als wichtiger Konkurrenzstoff identifiziert. Eine Verringerung der Sauerstoffkonzentration führt zu deutlich längeren Filterstandzeiten.

Nach Anpassung des Filtermaterials auf Basis der Kleinfilterexperimente und mineralogischen Untersuchungen wurde die Materialherstellung vom Labormaßstab erfolgreich auf eine Chargengröße von 80 kg erweitert und es wurden ausreichende Mengen für Pilotfilter der Projektpartner in den Bereichen Grundwasser- und Industrierwasseraufbereitung bereitgestellt.

## Danksagung

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Rahmen des Verbundprojektes „Entwicklung eines Filtermaterials zur selektiven Entfernung von Cr(VI) und Cr(gesamt) aus Grundwasser und industriellem Prozesswasser“ (AquaChromSorb) durchgeführt. Die Autoren bedanken sich beim BMBF für die Förderung, bei Anke Putschew, Jutta Jakobs, Paulina Eckardt, Laura Läuffer (TU Berlin) und Leon Litau (GEH Wasserchemie) für die Unterstützung im Labor, bei der ZELMI (TU Berlin) für REM- und EDX-Analysen, beim Fachgebiet Angewandte Geochemie (TU Berlin) für XRD-Analysen und beim Fachgebiet Bodenkunde (TU Berlin) für Elementanalysen.

## Referenzen:

**[1]** McNeill L. S., McLean J. E., Parks J. L., Edwards M. A., „Hexavalent Chromium Review, Part 2: Chemistry, Occurrence, and Treatment.“ Journal (American Water Works Association), Vol. 104, no. 7, 2012, pp. E395–E405. **[2]** Kimbrough D.E., Cohen Y., Winer A. M., Creelman L., Mabuni C., „Critical Assessment of Chromium in the Environment“, Critical Rev. Envir. Sci. & Technol. Vol. 29, Iss. 1, 1999. **[3]** McLean J. E., McNeill L. S., Edwards M. A., Parks J. L. „Hexavalent Chromium Review, Part 1: Health Effects, Regulations, and Analysis.“ Journal (American Water Works Association), vol. 104, no. 6, 2012, pp. E348–E357. **[4]** Roller, M., „Potentielle Schädlichkeit von Chrom im Trinkwasser – Einordnung der epidemiologischen Befunde zum Krebsrisiko nach Expositionen von Populationen gegenüber Chrom(VI) im Trinkwasser und Vorschlag zur Ableitung einer Expositions-Risikobeziehung.“ Bericht zum Sondervorhaben des Umweltbundesamtes FKZ 363 01 399, 2012. **[5]** Rai, D., Sass B. M., Moore D. A., „Chromium(III) hydrolysis constants and solubility of chromium(III)hydroxide.“ Inorganic chemistry. 26(3), 1987, 345-349. **[6]** Schmidt W., Rünel A., „Vorkommen und Bildung von Perchlorat bei der Aufbereitung von Trink- und Badebeckenwässern.“ DVGW energie | wasser-praxis Nr. 2/2017. **[7]** Mertineit S., Raue B., Thoma A., Sacher F. (2013) Studie zur Belastung

von Trinkwasser in Deutschland mit Chromat, Abschlussbericht zum DVGW-Forschungsvorhaben W 2/02/11 **[8]** Bayrisches Landesamt für Umwelt: [https://www.lfu.bayern.de/wasser/grundwasserbeschaffenheit/geogene\\_einfluesse/chrom/doc/grundwasser\\_chrom.pdf](https://www.lfu.bayern.de/wasser/grundwasserbeschaffenheit/geogene_einfluesse/chrom/doc/grundwasser_chrom.pdf), Zugriff am 27.09.19 **[9]** Patterson, J. W., E. Gasca, and Y. Wang. "Optimization for reduction/precipitation treatment of hexavalent chromium." *Water Science and Technology* 29.9 (1994): 275-284. **[10]** Sharma S. K., Petrusevski B., Amy G., „Chromium removal from water: a review.“ *Journal of water supply: Research and Technology-AQUA*, 2008, 541-553. **[11]** Driehaus, W., Jekel, M. and Hildebrandt, U., "Granular ferric hydroxide - a new adsorbent for the removal of arsenic from natural water." *Journal of Water Services Research and Technology-Aqua* 47(1), 1998, 30-35. **[12]** Sperlich, A., Werner, A., Genz, A., Amy, G., Worch, E. and Jekel, M., "Breakthrough behavior of granular ferric hydroxide (GFH) fixed-bed adsorption filters: modeling and experimental approaches." *Water Research* 39(6), 2005, 1190-1198. **[13]** Massa, L., Höhne, A., Bahr, C., Ruhl, A.S., Jekel, M. "Entwicklung neuer Filtermaterialien zur Entfernung von Chromat." *Vom Wasser* 116, (2018) 2, 56-60.

## **Investigation of the influence of flocculation process conditions and flocculant chemistry on the fouling behavior of ultrafiltration polyethersulfone membranes**

M. Koti, Mülheim Ruhr/D, A. Laumeyer, Bochum/D, I. ElSherbiny, Duisburg/D,  
S. Panglisch, Duisburg/D

Marcel Koti, Moritzstrasse 26, Mülheim Ruhr/D

### **Introduction**

Ultrafiltration (UF) and microfiltration (MF) membranes are among the expanding and promising technologies for water treatment. Membranes are applied in order to eliminate particulate substances from water and, currently, it is already widely common in numerous applications. Particles and colloids with bigger dimensions than the pore size of the membrane de facto can be fully eliminated. Nevertheless, dissolved organic water substances are usually challenging to be separated, or not more than a small share, even with using UF membranes, exhibiting much smaller nominal pore size than MF membranes (UF typically 10 – 50 nm; MF typically 50 nm - 10 µm). Instead, this task succeeds relatively well when such organic molecules are integrated in flocs before filtration through the membrane. Flocculation process is a chemical pretreatment process, which leads to a transfer of suspended and colloidal dissolved organic substances into separable aggregates or flocs that subsequently can be eliminated by a filtration step. In general, flocculation requires post-treatment for floc separation, such as sedimentation, flotation, sand filtration or finally, most effective and considered here, membrane filtration.

Part of critical water substances are suspended organic compounds including humic substances, particles and microorganisms, inorganic trace substances and phosphate. These compounds are occurring in considerable concentrations in all kinds of surface water. The most common application for a hybrid process of flocculation and membrane filtration is, therefore, the treatment of surface water or groundwater influenced by surface water as well as treatment of more challenging water types, such as water with high concentration of sludge or wastewater in advanced wastewater treatment for reuse purposes.

### **Research focus**

Several organic water compounds may contribute to membrane fouling. As a result, the process empirically suffers from an intense drop of membrane performance throughout operating period. The emergence and extent of fouling is affected by different physical and/or chemical parameters, e.g., composition of raw water, water matrix effects, type, chemical composition and concentration of the used coagulant, energy input, etc. The objective of this project is to examine the interaction between feed water properties,

flocculation conditions (physical and chemical), floc structure formation and its impact on the fouling behavior of ultrafiltration polyethersulfone (PES) membranes. The presented results are obtained as a part of the research project: ZIM AiF Floc-Mem, funded by German Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi).

### Results

The presented results comprise of the studies on fouling potential with flat sheet PES membranes using different water types with and without included flocculation process and changing boundary conditions. The investigation of the fouling potential was done by filtration of an organically loaded model water and subsequently the characterization of both, fouling behavior by evaluating permeability decline curves and characterization of floc formation by applying a specific particle dispersion analyzer with receiving a characteristic RMS/DC signal (examples in Picture 2, top left and right).

A further focus of this research work is the assessment of impact of the specific flocculation process on the membrane fouling behavior by applying a mathematical analysis of the occurring fouling mechanisms by using a particular membrane pore-blocking model. The interaction between the primary foulants, the membrane and the ambient medium is known as complex. In order to assess the predominant fouling mechanisms different models have been developed (Hermia 1982; Iritani and Katagiri 2016; BOLTON et al. 2006; Huang et al. 2008). The model from Hermia developed for description of membrane pore blocking (Hermia 1982), known as Pore Blocking Model, is one of the first models in this context and therefore the basis for some further developed considerations. 4 different fouling mechanisms are considered within this model (Picture 1, left side):

1. Complete Pore Blocking
2. Intermediate Pore Blocking
3. Standard Pore Blocking
4. Cake Layer Formation

Within this model the simplified consideration is applied, that all the membrane pores are oriented in parallel direction and that they have a constant diameter as well as constant length. (Iritani und Katagiri 2016).

The further developed model of Unified Membrane Fouling Index (UMFI) is based on Hermia. Herein Hermia was overworked by the integration of a condition for constant flux. Therefore UMFI model can be applied for processes with constant pressure as well as processes with constant flux.

Furthermore UMFI model is able to evaluate the fouling potential independent from the type of the membrane, from the properties of the feed suspension, the process parameters as well as the scale of the experimental setup.

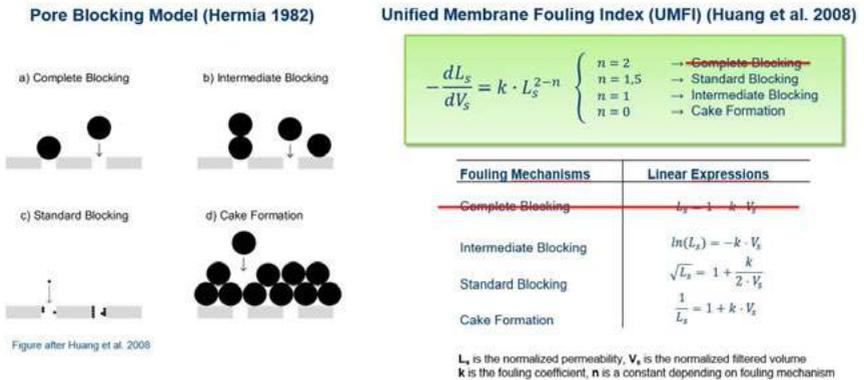
As a result of revising the Pore Blocking Model a characteristic equation for UMFI was developed, see equation (1).

$$-\frac{dL}{dV} = k \cdot (p \cdot A_{M,eff})^{1-n} \cdot L^{2-n} \tag{1}$$

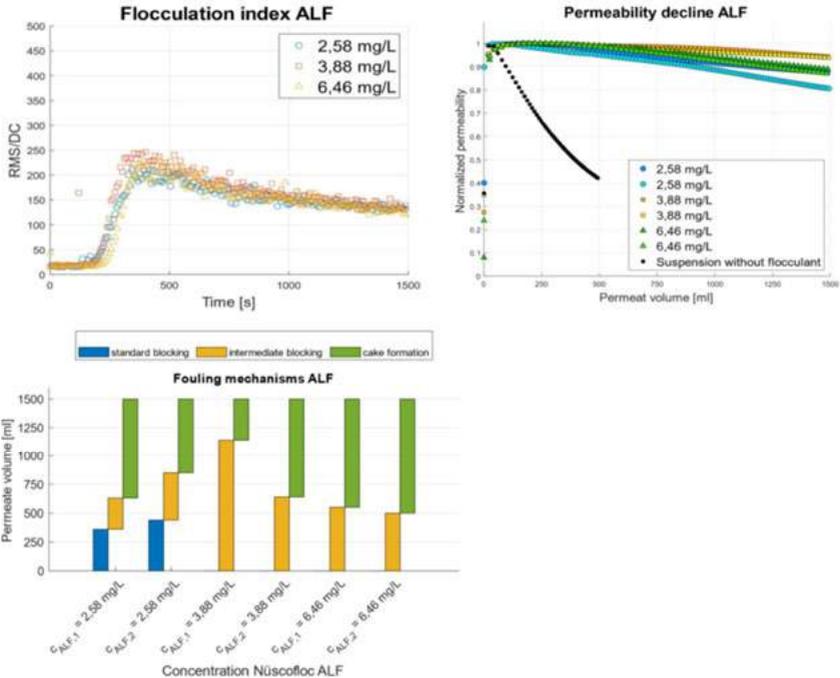
Herin  $L$  is the permeability (in  $l \cdot (m^2 \cdot s \cdot bar)^{-1}$ ),  $p$  the transmembrane pressure (TMP, in bar),  $A_{M,eff}$  the effective membrane surface (in  $m^2$ ).  $k$  is a dimensionless fouling coefficient and  $n$  a coefficient dependent on the predominant fouling mechanism according to Hermia's pore blocking model.

If  $L$  and  $V$  are replaced by normalized terms  $L_s$  and  $V_s$ , this leads to equation (2). This one is applicable for a system with both, filtration with constant pressure or filtration with constant flux. The fouling mechanism „Complete Blocking“ is then neglected due to the fact, that this is occurring only in the theoretical consideration and it is not verifiable by experiments. The application of UMF1 model leads to a result, that shows the proportions of each fouling mechanism that occurs in the respective filtration and fouling experiment (see Picture 2, diagram below).

$$-\frac{dL_s}{dV_s} = k \cdot L_s^{2-n} \tag{2}$$



**Picture 1: Applied pore blocking model for characterization of fouling mechanisms**



**Picture 2: Results of flocculation tests (inorganic flocculant „ALF“ based on mixture of Fe and Al salts) with its impact on fouling behaviour of a polyethersulfone ultrafiltration membrane**

**Literature**

Hermia, J. (1982): Constant pressure blocking filtration laws - application to power-law non-newtonian fluids. In: *Transactions of the Institution of Chemical Engineers* 60 (3), S. 183–187.

BOLTON, G.; LACASSE, D.; KURIYEL, R. (2006): Combined models of membrane fouling. Development and application to microfiltration and ultrafiltration of biological fluids. In: *Journal of Membrane Science* 277 (1-2), S. 75–84. DOI: 10.1016/j.memsci.2004.12.053.

Huang, Haiou; Young, Thayer A.; Jacangelo, Joseph G. (2008): Unified membrane fouling index for low pressure membrane filtration of natural waters. Principles and methodology. In: *Environmental science & technology* 42 (3), S. 714–720. DOI: 10.1021/es071043j.

Iritani, Eiji; Katagiri, Nobuyuki (2016): Developments of Blocking Filtration Model in Membrane Filtration. In: *KONA* 33 (0), S. 179–202. DOI: 10.14356/kona.2016024.

## **Amidosulfonat in Papiererzeugnissen – Längsbeprobung der Murg und Stoffmengenbilanzierung einer Kläranlage**

A. Sandholzer, Karlsruhe/D, K. Nödler, Karlsruhe/D, Finnian Freeling, Karlsruhe/D, M. Scheurer, Karlsruhe/D

Anna Sandholzer, TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruher Straße 84, 76139 Karlsruhe/D

### **Einleitung**

Als kleines, mobiles und persistentes Molekül gewann Amidosulfonat (AS), das Salz der Amidosulfonsäure, in den letzten Jahren vermehrt an Aufmerksamkeit. Positivbefunde im zweistelligen µg/L-Bereich wurden während eines umfassenden Messprogrammes in niedersächsischen Oberflächengewässern an nahezu jeder der 50 Probenahmestellen dokumentiert [1]. Weiterhin wies eine Studie an drei Kläranlagen nach, dass AS durch die Aufbereitung nicht entfernt wird und in Konzentrationen bis zu 2,3 mg/L mit dem Kläranlagenablauf in Fließgewässer gelangt [2].

In der EU gehört AS mit 1.000-100.000 t/a Produktions-, bzw. Importmenge [3] zu den sogenannten „high production volume chemicals“ [4]. In seiner Säureform wird AS hauptsächlich als Reiniger zur Entfernung diverser mineralischer Ablagerungen in Haushalten und in vielen verschiedenen Industriezweigen verwendet [5], was die hohen Konzentrationen in Abwässern erklären kann. Zusätzlich wird AS jedoch aufgrund ökonomisch und chemisch vorteilhafter Eigenschaften auch in vielen anderen Bereichen benutzt, z. B. als Katalysator in der organischen Chemie [6], als Desinfektionsmittel-Komponente in der Viehwirtschaft [7] oder als Synthesebaustein für künstliche Süßstoffe, welche AS auch bei Reaktion mit Ozon wieder bilden können [8]. Die Verwendung als Flammenschutzmittel für Holz- und Papierprodukte [9] diente als Ausgangspunkt für die vorliegende Studie, in der geprüft werden sollte, ob und in welchem Maße die Holz-, bzw. papierverarbeitende Industrie zur AS-Konzentration in der Umwelt beiträgt.

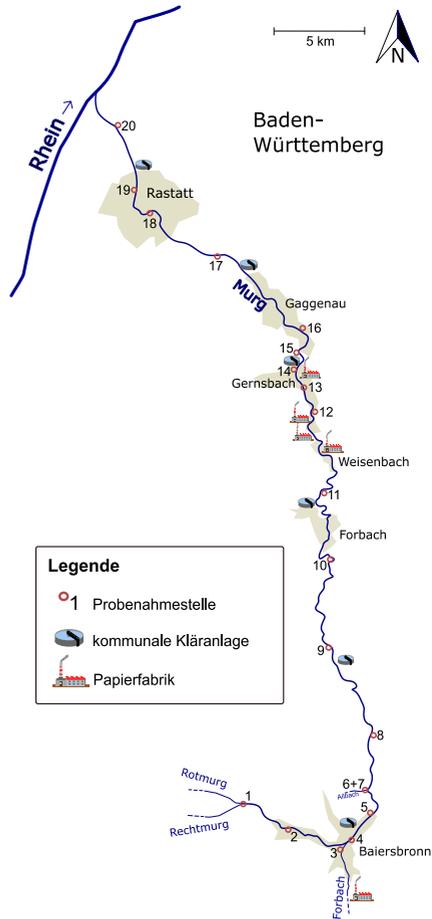
### **Methodik**

Zunächst wurde in Vorversuchen gezeigt, dass AS aus verschiedenen Papiererzeugnissen (Pappe, Toilettenpapier, Papierhandtücher) tatsächlich mittels Wasser eluiert werden kann. Daraufhin wurde ein Längsprofil der Murg (Schwarzwald) aufgenommen, um den Einfluss der dortigen fünf Papierfabriken auf die AS Konzentration im Vorfluter zu untersuchen (Abbildung 1). Zur Abgrenzung von AS-Zuflüssen aus kommunalen Kläranlagen und zur Kompensation von Verdünnungseffekten wurde zusätzlich Carbamazepin (CBZ) als konservativer Marker für kommunale Abwässer analysiert. Anhand von Luftbildern konnten bei vier

der fünf Papierfabriken kläranlagen-ähnliche Strukturen ausgemacht werden, die auf eine Direkteinleitung der anfallenden Abwässer schließen lassen.

Des Weiteren wurden im Labor Toilettenpapiere (ToiP) verschiedener Hersteller auf ihren AS-Gehalt untersucht, um evtl. Unterschiede zu quantifizieren und einordnen zu können. Dazu wurden 15 g Papier mit 150 g Reinstwasser für 67 h bei 130 U/min auf einem Horizontalschüttler ausgeschüttelt. Anschließend wurde ein Aliquot der Probe entnommen, zentrifugiert, 1:2 verdünnt und mittels LC-MS/MS analysiert. Zum Ausgleich von systemischen Schwankungen und Matrixeffekten wurde ein isoto-penmarkierter interner AS-Standard verwendet [10].

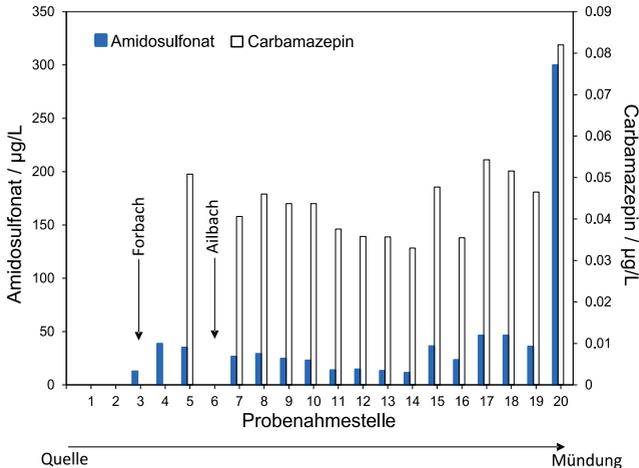
Um den Beitrag des toilettenpapierbürtigen AS im Abwasser zu quantifizieren, wurden fünf Tage lang (Mo bis Fr) an Zu- und Ablauf einer ausgewählten Kläranlage volumenäquivalente Tagesmischproben genommen. Die täglich behandelte Abwassermenge wurde mit der entsprechenden AS-Konzentration multipliziert, um die AS-Fracht pro Tag zu bestimmen. Zur Berechnung des potentiellen AS-Anteils aus Toilettenpapier wurde die Einwohnerzahl im Einzugsgebiet der Kläranlage (350.000 Personen) mit dem durchschnittlichen Toilettenpapierverbrauch (41 g pro Tag und Person) [11] und dem aus dem Eluatversuch erhaltenen Mittelwert multipliziert.



**Abbildung 1** Verlauf der Murg von Obertal (Messstelle 1) bis zur Mündung in den Rhein. Dargestellt sind die Messstellen und die Standorte der Papierfabriken und der kommunalen Kläranlagen. Weitere Zuflüsse wurden zwecks Übersichtlichkeit nicht eingezeichnet.

## Ergebnisse und Diskussion

In Abbildung 2 sind die Messergebnisse der Murg-Beprobung dargestellt. Wie erwartet zeigt die Murg im Bereich des Zusammenflusses der beiden Quellflüsse Rechtmurg und Rotmurg (Messstelle 1), die keinen Industrie- oder Siedlungskontakt haben, keine messbaren Signale von AS oder CBZ. Der Forbach (Messstelle 3), der in Baidersbrunn in die Murg mündet, weist eine AS-Konzentration von 39  $\mu\text{g/L}$  auf, jedoch kein CBZ. Da entlang des Forbaches keine



**Abbildung 2** Amidosulfonat- und Carbamazepin-Konzentrationen für die Messstellen der Murgbeprobung.

Einleitung einer kommunalen Kläranlage erfolgt und neben der Papierfabrik kein weiterer Industrieinfluss zu erkennen ist, hat besagte AS-Konzentration möglicherweise tatsächlich seinen Ursprung in der Einleitung durch die Papierfabrik. Kläranlagenähnliche Strukturen sind dort eindeutig zu erkennen. Durch den Zusammenfluss von Forbach und Murg (Messstelle 4) wird die AS-Konzentration auf 13  $\mu\text{g/L}$  verdünnt. Oberhalb von Messstelle 5 befindet sich die erste kommunale Kläranlage entlang der Murg. Ihr Einfluss schlägt sich in der nun messbaren CBZ-Konzentration von 0,05  $\mu\text{g/L}$  nieder. Im Ailbach (Messstelle 6) konnten beide Substanzen nicht nachgewiesen werden, was auf ein Gewässer ohne größere anthropogene Zuflüsse hindeutet. Diese Vermutung wird durch das Luftbild gestützt. Die Messstellen 7 bis 14 zeigen ein gleichbleibendes Verhältnis von AS und CBZ und leicht abnehmende Konzentrationen in Fließrichtung. Zur Bestätigung der These, dass speziell Papierfabriken AS-Emittenten sind, hätte hier ein deutlicher Anstieg des AS/CBZ-Verhältnisses stattfinden müssen, da sich entlang dieses Streckenabschnitts vier Standorte befinden, von

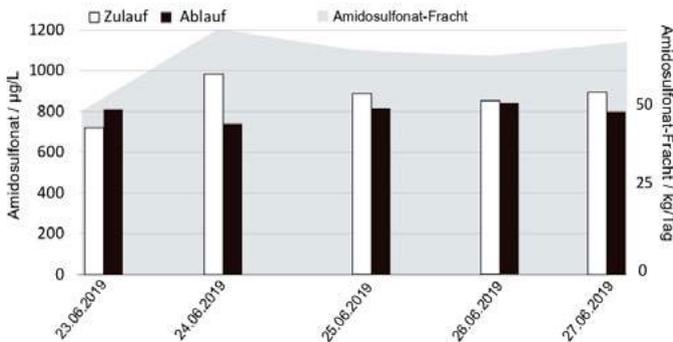
denen drei eigene Kläranlagen betreiben. Dies ist jedoch nicht der Fall, weshalb eine generelle und dauerhafte Emission von AS aus den Produktionsabläufen der Papierfabriken nicht nachgewiesen werden kann. Somit lässt sich auch nicht abschließend klären, ob die AS-Konzentrationen im Forbach speziell auf Prozesse der Papierproduktion zurückzuführen sind oder auf den industriellen Einsatz von AS zu anderen Zwecken. Der Anstieg von AS und CBZ zwischen den Messstellen 14 und 15, sowie 16 und 17 lässt sich höchstwahrscheinlich auf die beiden kommunalen Kläranlagen zurückführen, die sich jeweils zwischen den Probenahmestellen befinden. Die Einflüsse der Kläranlagen zwischen den Messstellen 8 und 9 und 10 und 11 zeigen keine Konzentrationsanstiege im Gewässer. Dies lässt sich durch ihre vergleichsweise geringen Ausbaugrößen [12] in Kombination mit der Verdünnung durch mehrere kleine Zuflüsse erklären. Die letzte Messstelle sticht besonders hervor, denn sie zeigt eine Verzehnfachung der AS-Konzentration bei einer gleichzeitigen Verdopplung der CBZ-Konzentration. Mangels weiterer Zuflussstrukturen auf dem betreffenden Streckenabschnitt wird das veränderte Verhältnis wahrscheinlich durch die flussaufwärts gelegene kommunale Kläranlage verursacht. Das gestiegene AS/CBZ-Verhältnis könnte auf einen oder mehrere industrielle Indirekteinleiter hindeuten, die Abwasser mit vergleichsweise hohen AS-Konzentrationen in die Kläranlage leiten.

Die Messergebnisse der ToiP-Eluate zeigen, dass AS generell in ToiP vorhanden ist, allerdings mit stark schwankenden Gehalten von 22 µg/kg bis 560 µg/kg (Tabelle 1). Eine Korrelation zwischen Qualität oder Recyclinganteil und den AS-Gehalten ist nicht erkennbar.

**Tabelle 1** Übersicht der untersuchten Toilettenpapiere (ToiP) mit dem vom Hersteller angegebenen Recyclinganteil, einer Einordnung der Herkunft des Papierses und der gemessenen Amidosulfonat-Konzentrationen.

Toilettenpapier	Recyclinganteil / %	Herkunft	AS-Konzentration / µg/kg
ToiP1	0	Drogeriemarkt (Eigenmarke)	550
ToiP2	33	Supermarkt (Eigenmarke)	40
ToiP3	100	Supermarkt (Eigenmarke)	350
ToiP4	100	Drogeriemarkt (Eigenmarke)	170
ToiP5	0	Discounter (Eigenmarke)	560
ToiP6	0	Supermarkt (Eigenmarke)	160
ToiP7	0	Großhandel	22
ToiP8	100	Drogeriemarkt (Eigenmarke)	200
ToiP9	20	Supermarkt (Eigenmarke)	70
ToiP10	100	Discounter (Eigenmarke)	280
ToiP11	0	Markenprodukt	100
ToiP12	0	Markenprodukt, parfümiert	19

Die in der untersuchten Kläranlage gemessenen AS-Konzentrationen liegen im Zulauf zwischen 720 µg/L und 990 µg/L (Abbildung 3). Verrechnet mit den behandelten Abwassermengen (70.000–80.000 m<sup>3</sup>/Tag) ergibt sich eine durchschnittliche AS-Fracht von 68 kg/Tag. Anhand der Abbildung wird auch deutlich, dass AS während der Abwasserbehandlung nicht signifikant abgebaut wird ( $\alpha = 0,05$ ). Das Produkt aus der täglich verwendeten Menge ToiP pro Person, dem Einwohnerwert und dem mittleren AS-Gehalt der ToiP (210 µg/kg) ergibt einen toilettenpapierbürtigen Anteil von 3 g AS pro Tag für die betrachtete Kläranlage. Bezogen auf die AS-Gesamtfracht von 68 kg/Tag entspricht dies nur einem Anteil von 0,004 % den aus Toilettenpapier gelöstes AS zur täglich anfallenden Fracht in der Abwasseraufbereitung beiträgt.



**Abbildung 3** Balkendiagramm der AS-Konzentration in Zu- und Ablauf der untersuchten Kläranlage. In grau ist die gesamte AS-Fracht, basierend auf den behandelten Abwassermengen, dargestellt.

## Fazit

Die eingangs formulierte Fragestellung, ob Papierprodukte, bzw. die Papierindustrie signifikant zu den hohen AS-Konzentrationen in der Umwelt beitragen, konnte mittels der Ergebnisse der durchgeführten Versuche verneint werden. Die Beprobung der Murg lässt jedoch die Annahme zu, dass einzelne, bis jetzt nicht weiter differenzierbare, Industriebetriebe zur AS-Fracht im Vorfluter beitragen.

## Danksagung

Wir danken den Betreibern der Kläranlage für das Bereitstellen der Abwasserproben und den Informationen zu den behandelten Abwassermengen.

## Literatur

- [1] K. Nödler, F. Freeling, A. Sandholzer, M. Schaffner, R. Schmid, M. Scheurer, *Untersuchungen zum „Vorkommen und Bildungspotential von Trifluoracetat (TFA) in niedersächsischen Oberflächengewässern“*. Landesweiter Überblick und Identifikation von Belastungsschwerpunkten, Bericht im Auftrag des NLWKN, **2019**.
- [2] S. Castronovo, A. Wick, M. Scheurer, K. Nödler, M. Schulz, T. A. Ternes, *Water Research*, **2017**, 110, 342.
- [3] ECHA, "Sulphamidic acid", zu finden unter <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/14842>. 2019. Zugegriffen: 14.10.2019
- [4] OECD, *The 2007 OECD list of high production volume chemicals*, **2009**.
- [5] K. Yoshikubo, M. Suzuki in *Encyclopedia of Chemical Technology* (Hrsg.: Kirk-Othmer), **2000**.
- [6] J. S. Yadav, P. Purushothama Rao, D. Sreenu, R. S. Rao, V. Naveen Kumar, K. Nagaiyah, A. R. Prasad, *Tetrahedron Letters*, **2005**, 46, 7249.
- [7] L. R. Hancox, M. Le Bon, C. E. R. Dodd, K. H. Mellits, *The Veterinary record*, **2013**, 173, 167.
- [8] M. Scheurer, M. Godejohann, A. Wick, O. Happel, T. A. Ternes, H.-J. Brauch, W. K. L. Ruck, F. T. Lange, *Environmental science and pollution research international* **2012**, 19, 1107.
- [9] P. G. Stecher, M. Windholz, D. S. Leahy (Hrsg.) *The Merck Index - an encyclopedia of chemicals and drugs*, Merck & Co Inc., Rahway, NJ, USA, **1968**.
- [10] F. Freeling, A. Wick, M. Schulz, M. Scheurer, A. Sandholzer, D. Armbruster, K. Nödler, T. A. Ternes, **in Vorbereitung**.
- [11] statista, zu finden unter <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/157665/umfrage/pro-kopf-verbrauch-von-toilettenpapier-in-deutschland-und-der-eu/>, **2019**. Zugegriffen: 15.10.2019.
- [12] EU-Kommunalabwasser-Richtlinie, zu finden unter <https://kommunales-abwasser.de/>, **2016**. Zugegriffen: 23.10.2019.

## **Statistischer Ansatz zur Ermittlung von Einflussfaktoren auf problematische Bakterienblüten in Trinkwasserressourcen**

I. Slavik, Siegburg/D, W. Uhl, Oslo/N

Dr.-Ing. Irene Slavik, 53721 Siegburg/D

### **Einleitung**

Neben Algenblüten verursachen Massenentwicklungen von Bakterien weltweit eine zunehmende Verschlechterung der Gewässerqualität. Dadurch sind nicht nur die Ökosysteme an sich bedroht. Die schädlichen Auswirkungen dieser Ereignisse stellen vor allem beim Management von Wasserressourcen, die der Trinkwasserproduktion, Bewässerung und Fischerei dienen, eine neue Herausforderung dar. Gefährdungen bei der Nutzung von Gewässern gehen dabei insbesondere von Massenentwicklungen Toxin bildender Cyanobakterien aus. Daneben stellen auch Phasen mit sehr hohen Konzentrationen an Coliformen Situationen dar, die für Wasserversorger mit erhöhter Aufmerksamkeit einhergehen. Als Ursache für die mit zunehmender Häufigkeit und Intensität auftretenden Massenentwicklungen gelten der sich beschleunigende Klimawandel und anthropogen verursachte wie auch natürliche Eutrophierungsprozesse, welche in der Literatur umfassend beschrieben sind (u. a. Wiener et al. 2007, Jöhnk et al. 2008, Paerl & Huisman 2009, Paerl et al. 2011, Kosten et al. 2012, O'Neil et al. 2012, Paerl & Paul 2012, Paerl & Otten 2013, Deng et al. 2014).

Um solche Massenentwicklungen und mögliche schädliche Auswirkungen bestmöglich vorhersagen und idealerweise verhindern zu können, bedarf es wirkungsvoller Methoden und Instrumente zur Ermittlung von Einflussfaktoren. Dafür sind umfassende Kenntnisse und ein gesichertes Verständnis über die Zusammenhänge und Wechselwirkungen in Gewässerökosystemen erforderlich, mit denen sich Massenentwicklungen erfassen, rechtzeitig identifizieren, bewerten und nach Möglichkeit auch vorhersagen lassen. In der Literatur finden sich zahlreiche Darstellungen und Erläuterungen zu Zusammenhängen und Wechselwirkungen, die neben Massenentwicklungen von Bakterien auch Algenblüten begünstigen (u. a. Kumagai et al. 2000, Liu et al. 2012, Dolman et al. 2012, Beversdorf et al. 2013, Paerl & Otten 2016, Yang et al. 2016, Huo et al. 2019). Darüber hinaus sind in der Literatur auch zahlreiche Modellansätze zur Berechnung möglicher Konzentrationen von Biomasse oder Algen beschrieben (u. a. Estrada et al. 2009, Carvalho et al. 2011, Beaulieu et al. 2013, Kim et al. 2017, Taranu et al. 2017, Janssen et al. 2018, Li et al. 2018, Fang et al. 2019). Eine große Schwäche sowohl der empirischen wie auch die prozessbasierten Modellansätze ist jedoch die geringe Genauigkeit der Vorhersagen. Sie resultiert daraus, dass die vorhandenen Modelle auf Erfahrungen und vorhandenen

Kenntnissen basieren und jeweils nur den bekannten sowie erklärbaren Teil der Systemzustände abbilden. Offensichtlich gibt es jedoch weitere Faktoren, die in den Modellen bislang unberücksichtigt sind.

Für praxistaugliche Lösungen ist es jedoch entscheidend, bislang unbekannte oder neu in Erscheinung tretende Einflussfaktoren identifizieren und bewerten zu können. Hierzu wurde in der hier vorgestellten Studie ein neuer Ansatz entwickelt. Durch die statistische Auswertung nach Klassifizierung reduzierter Datensätze können Zusammenhänge und Ursachen für die massenhafte Entwicklung von Bakterien erkannt werden. Überdies lassen sich außergewöhnliche und besondere Zustände auch in Bezug auf andere Einflussfaktoren und auf Kenngrößen der Wasserqualität erfassen, wodurch eine gezielte Ursachenforschung möglich wird. Darüber hinaus verfügt der Ansatz über das Potential, Eintrittswahrscheinlichkeiten von Zuständen und Ereignissen bestimmen zu können. Aus diesem Grund kann er als Basis für wirkungsvolle Maßnahmen und Entscheidungen in der Praxis genutzt werden. Von Vorteil ist außerdem, dass eine Erweiterung um beliebig viele Variablen, d. h. zu berücksichtigende Kenngrößen, möglich ist, ohne dass die Handhabung komplizierter wird. Weitere Vorteile der vorgestellten Vorgehensweise bestehen darin, dass sie sehr anwenderfreundlich ist, keine Spezialkenntnisse erfordert und grundsätzlich auf alle Gewässersysteme angewendet werden kann.

### Vorgehensweise

Der Ansatz wurde auf Basis eines umfangreichen Datensatzes getestet. Dieser beinhaltet Einflussfaktoren auf und Kenngrößen der Wasserqualität ausgewählter Trinkwassersertalsperren Deutschlands. Die Datenreihen umfassten den Zeitraum der Jahre 2000 bis 2016.

Die Bewertung von Zuständen, Ereignissen und Entwicklungen hinsichtlich Gewässerqualität funktioniert nach folgendem Grundprinzip:

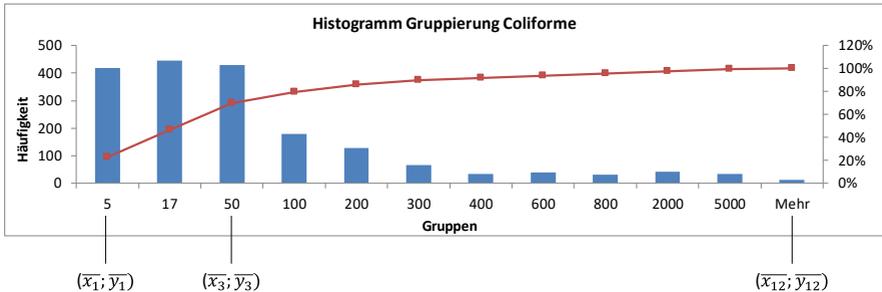
1. Die Daten werden in eine auswertbare Form gebracht und mittels statistischer Verfahren werden Ausreißer aus den Datenreihen eliminiert.
2. Die Datenreihen jeder Kenngröße bzw. jedes Parameters werden in sinnvolle Gruppen bzw. Kategorien eingeteilt.
3. Innerhalb einer Gruppe bzw. Kategorie erfolgt eine statistische Auswertung, die die Mittelwertbildung und die Bestimmung der 95 %-Konfidenzintervalle umfasst.
4. Die Gruppendatensätze werden durch Herstellung eines Bezugs zum Jahresverlauf sowie durch Korrelation der Kenngrößen untereinander ausgewertet.

In Abbildung 1 ist ein Teil dieser Vorgehensweise, nämlich die Gruppierung und die Mittelwertbildung innerhalb der Gruppen, exemplarisch für die Kenngröße „Coliforme Bakterien“ dargestellt. Zunächst wurden die Daten für die Anzahl an coliformen Bakterien in 12 Gruppen eingeteilt:

- Gruppe 1: Anzahl  $\leq 5$
- Gruppe 2: Anzahl  $\leq 17$

- Gruppe 3: Anzahl  $\leq 50$
- ...
- Gruppe 12: Anzahl  $> 5.000$

In Abbildung 1 entsprechen die Balken der Häufigkeit, d. h. der Anzahl an Daten, die der jeweiligen Gruppe zugeordnet sind.



**Abbildung 1** Gruppierung der Kenngröße „Coliforme“ und Ansatz für die statistische Auswertung.

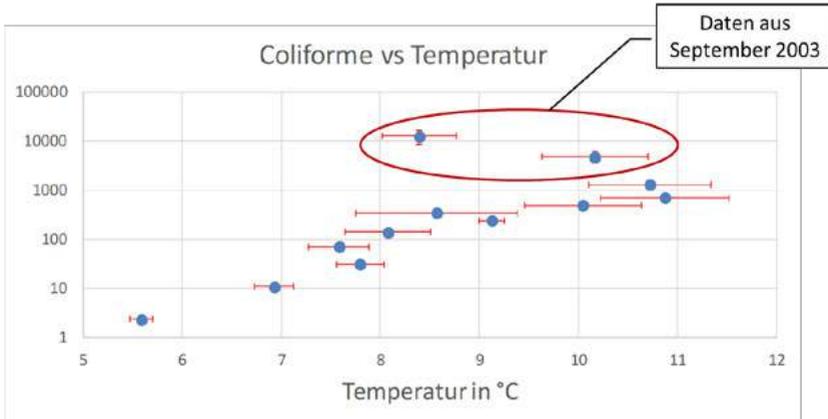
Für jede Wasserprobe sind neben der Kenngröße „Coliforme Bakterien“, der in Abbildung 1 die Variablen  $x$  zugewiesen wurde, auch andere Kenngrößen, wie z. B. Temperatur, Sauerstoffkonzentration, Ammoniumkonzentration, ermittelt worden. Dadurch sind Datensätze entstanden, deren Bezugspunkt der jeweilige Zeitpunkt der Probenahme ist, und zu dem die Werte aller analytisch bestimmten Kenngrößen gehören. Damit verfügt jeder Wert für die Kenngröße „Coliforme Bakterien“ ( $x_i$ ) über einen zugehörigen Wert einer anderen Kenngröße ( $y_i$ ). In jeder Gruppe befinden sich jetzt Wertepaare  $(x_i, y_i)$ , für die jeweils ein Mittelwert bestimmt werden kann. Das daraus resultierende Wertepaar  $(\bar{x}_i; \bar{y}_i)$  kann dann repräsentativ für die ganze Gruppe für die weitergehende Auswertung verwendet werden.

Die weitergehende Auswertung umfasst dabei die Bestimmung des 95 %-Konfidenzintervalls für die neuen Wertepaare  $(\bar{x}_i; \bar{y}_i)$ , die Herstellung eines Bezugs zum Jahresverlauf und die Korrelation zwischen Wertepaaren verschiedener Kenngrößen. Letzteres ist exemplarisch in Abbildung 2 dargestellt, die eine Korrelation zwischen neuen Wertepaaren  $(\bar{x}_i; \bar{y}_i)$  enthält, bei denen  $x$  der Kenngröße „Temperatur“ und  $y$  der Kenngröße „Coliforme Bakterien“ entspricht.

## Ergebnisse

Anhand der in Abbildung 2 veranschaulichten Korrelation lässt sich der erwartete Zusammenhang zwischen zunehmender Anzahl an Coliformen Bakterien mit steigender Temperatur gut beschreiben. Daneben sind jedoch auch zwei Datensätze zu erkennen, die diesem „normalen“ Verlauf nicht entsprechen und etwas herausfallen. Ohne die zwei Ausreißerdatensätze kann der Zusammenhang zwischen Temperatur und Anzahl an Coliformen Bakterien gut mathematisch beschrieben und folglich für Vorhersagen

genutzt werden. Eine Analyse der Ausreißerdatensätze hat gezeigt, dass es sich hierbei nahezu ausschließlich um Daten aus dem September 2003 handelt. Das belegt, dass der Ansatz geeignet ist, um bislang unbekannte Situationen und Zusammenhänge erfassen und analysieren zu können.



**Abbildung 2** Korrelation zwischen den neuen Wertepaaren „Coliforme Bakterien“ und „Temperatur“. Datenpunkte mit 95 %-Konfidenzintervall. Konfidenzintervalle für die Konzentration coliformer Bakterien entsprechen in etwa der Größe der Symbole.

In weitergehenden Untersuchungen soll geklärt werden, inwieweit Ursachen für ungewöhnliche Konstellationen erklärt und ggf. vorhergesagt werden können. Dafür sind Tests auf kausale Zusammenhänge zu einem Parameter angedacht, der die Stabilität der thermischen Schichtung eines Wasserkörpers beschreibt (Jin et al. 2019, Wetzel 2001). Außerdem ist die Beschreibung von Trends ebenso Gegenstand weitere Forschungstätigkeiten auf diesem Gebiet wie die Bestimmung von Eintrittswahrscheinlichkeiten bestimmter Zustände.

## Literatur

- Beaulieu, M., Pick, F., Gregory-Eaves, I., *Limnol. Oceanogr.* (2013) 58(5): 1736–1746.
- Beversdorf, L. J., Miller, T. R., McMahon, K. D., *PLoS ONE* (2013) 8(2): e56103.
- Carvalho, L., Miller, C. A. (nee Ferguson), Scott, E. M., Codd, G. A., Davies, P. S., Tyler, A. N., *Science of the Total Environment* 409 (2011) 5353–5358.
- Deng, J., Qin, B., Paerl, H. W., Zhang, Y., Ma, J., Chen, Y., *Freshwater Biology* (2014) 59: 1076–1085.
- Dolman, A. M., Rücker, J., Pick, F. R., Fastner, J., Rohrlack, T., Mischke, U., Wiedner, C., *PLoS ONE* (2012) 7(6): e38757.

- Estrada, V., Parodi, E. R., Diaz, M. S., *Computers and Chemical Engineering* (2009) 33: 2063–2074.
- Fang, S., Del Giudice, D., Scavia, D., Binding, C. E., Bridgeman, T. B., Chaffin, J. D., Evans, M. A., Guinness, J., Johengen, T. H., Obenour, D. R., *Science of the Total Environment* (2019) 695: 133776.
- Huo, S., He, Z., Ma, C., Zhang, H., Xi, B., Zhang, J., Li, X., Wu, F., Liu, H., *Journal of Hydrology* (2019) 572: 380–387.
- Janssen, A. B. G., Janse, J. H., Beusen, A. H. W., Chang, M., Harrison, J. A., Huttunen, I., Kong, X., Rost, J., Teurlincx, S., Troost, T. A., van Wijk, D., Mooij, W. M., *Current Opinion in Environmental Sustainability* (2019) 36: 1–10.
- Jin, J., Wells, S. A., Liu, D., Yang, G., *Water Supply* (2019) 9 (3): 918-925.
- Jöhnk, K., Huisman, J., Sharples, J., Sommeijer, B., Visser, P., Stroom, J. *Global Change Biology* (2008) 14: 495-512.
- Kim, J., Lee, T., Seo, D., *Ecological Modelling* (2017) 366: 27–36.
- Kosten, S., Huszar, V. L. M., Bécarea, E., Costa, L., van Donk, E., Hansson, L.-A., Jeppesen, E., Kruk, C., Lacerot, G., Mazzeo, N., De Meester, L., Moss, B., Lürling, M., Nöges, T., Romo, S., Scheffer, M., *Global Change Biology* (2012) 18 (1): 118-126.
- Kumagai, M., Nakano, S., Jiao, C., Hayakawa, K., Tsujimura, S., Nakajima, T., Frenette, J.-J., Quesada, A., *Limnology* (2000) 1:191–195.
- Li, J., Yang, W., Li, W., Mu, L., Jin, Z., *Ecological Engineering* (2018) 119: 97–108.
- Liu, L., Liu, D., Johnson, D. M., Yi, Z., Huang, Y., *Water Research* (2012) 46: 2121-2130.
- O’Neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A., Gobler, C. J., *Harmful Algae* (2012) 14: 313–334.
- Paerl, H., Huisman, J. *Environmental microbiology reports* (2009) 1: 27-37.
- Paerl, H. W., Hall, N. S., Calandrino, E. S., *Science of the Total Environment* (2011) 409: 1739–1745.
- Paerl, H. W., Paul, V. J., *Water Research* (2012) 46: 1349-1363.
- Paerl, H. W., Otten, T. G., *Science* (2013) 342: 433.
- Paerl, H. W., Otten, T. G., *Environmental Microbiology* (2016) 18(2): 316–324.
- Taranu, Z. E., Gregory-Eaves, I., Steele, R. J., Beaulieu, M., Legendre, P., *Global Ecol Biogeogr.* (2017) 26: 625–637.
- Wetzel, R. G. (2001): *Limnology: Lake and River Ecosystems*. Academic Press, ISBN-13: 978-0127447605.
- Wiedner, C., Rücker, J., Brüggemann, R., Nixdorf, B., *Oecologia* (2007) 152: 473.
- Yang, J., Lv, H., Yang, J., Liu, L., Yu, X., Chen, H., *Science of the Total Environment* (2016) 557–558: 445–452.

## **Chronoamperometrische Untersuchungen zum elektrochemischen Abbau von Perfluorooctansäure (PFOA) mit gepulsten bordotierten Diamantelektroden**

<sup>1</sup>K.Kerpen, Essen/D, <sup>1</sup>R.Marks, Essen/D, <sup>1</sup>D.Diesing/D, <sup>1,3</sup>U.Telgheder, Essen/D

<sup>1</sup> Fakultät für Chemie, Instrumentelle Analytische Chemie, Universität Duisburg-Essen, Universitätsstr. 5, 45141 Essen

<sup>2</sup> Fakultät für Chemie, Physikalische Chemie, Universität Duisburg-Essen, Universitätsstr. 5, 45141 Essen

<sup>3</sup> IWW Zentrum Wasser, Moritzstr. 26, 45476, Mülheim a. d. Ruhr

Dr. Klaus Kerpen, Universität Duisburg-Essen, Universitätsstr. 5, 45141 Essen/D

B.Sc. Robert Marks, Universität Duisburg-Essen, Universitätsstr. 5, 45141 Essen/D

### **Einleitung**

Aufgrund ihrer herausragenden Eigenschaften wie wasser-, fett- und schmutzabweisend sowie chemisch und thermisch stabil, sind per- und polyfluorierte Chemikalien (PFC) von besonderem Interesse für die Industrie. Typische Einsatzgebiete der PFC sind Produkte des täglichen Gebrauchs wie z.B. Textilien und Papier.<sup>[1-2]</sup> Des Weiteren finden sie Anwendung in Feuerlöschschäumen und bestimmten Baustoffen.<sup>[3]</sup>

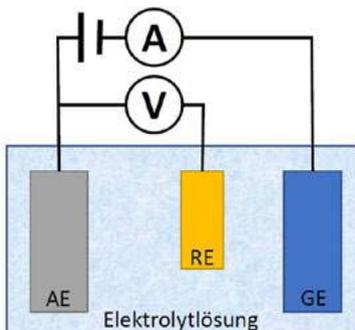
Die PFC stellen eine Gruppe anthropogener Stoffe dar, welche im Laufe des letzten Jahrzehnts weltweit in der aquatischen Umwelt, Tierwelt und im Menschen detektiert werden konnten. Sie zeigen aufgrund ihrer chemischen und physikalischen Stabilität persistente Eigenschaften und weisen nahezu kein biotisches oder abiotisches Abbauverhalten auf.<sup>[3]</sup> Toxikologische Untersuchungen weisen auf toxische Effekte hin.<sup>[4]</sup> Im Rahmen der nachhaltigen Reinigung und Aufbereitung von Grund- und insbesondere von industriellen Abwässern stellt die Entfernung von schwer abbaubaren anthropogenen Spurenstoffen wie z.B. PFC, eine besondere verfahrenstechnische Herausforderung dar. Die Relevanz, sich dieser Aufgabe zu stellen, wird auch durch die in der Oberflächengewässerverordnung sehr niedrigen UQN-Werte für PFOS von 0,65 ng/L (gilt für oberirdische Gewässer ohne Übergangsgewässer) und 0,15 ng/L (gilt für Übergangsgewässer und Küstengewässer nach §3 Nummer 2 des Wasserhaushaltsgesetzes) unterstrichen.<sup>[5]</sup>

Perfluorierte Kohlenwasserstoffe können bisher mit der konventionellen Abwasserbehandlung nur unvollständig entfernt werden<sup>[6,7]</sup>. Die elektrochemische Behandlung von verunreinigten Grund- und Oberflächenwässern mittels bordotierter Diamantelektroden (BDD) stellt einen vielversprechenden Ansatz für ein alternatives Reinigungsverfahren dar. In den Arbeiten von Wei et al.<sup>[7,8]</sup> wurde die elektrochemische Oxidation von Phenol, unter Verwendung von gepulsten BDD-Elektroden untersucht. Anhand der Ergebnisse wird erkennbar, dass die Pulsfrequenz (10-500 Hz) und das Tastverhältnis (duty cycle) des Rechteckpulses einen signifikanten Einfluss auf den Abbau von Phenol ausüben. Im Vergleich zur Verwendung von

Konstantstrombedingungen konnte durch das gepulste Verfahren der spezifische Energieverbrauch gesenkt werden. Diese Befunde lassen vermuten, dass die Kinetik des Phenolabbaus, im Gegensatz zur Wasserelektrolyse, durch die gepulste Spannung begünstigt wird. Durch diesen kinetischen Effekt könnte der Abbau von PFC (z. B. Perfluorooctansäure (PFOA)) erhöht und gleichzeitig die Wasserelektrolyse reduziert werden.

## Material und Methoden

Die Charakterisierung des elektrochemischen Verfahrens erfolgte in einer Drei-Elektrodenanordnung. Hierzu wurde jeweils eine BDD-Elektrode als Arbeits- und als Gegenelektrode genutzt. Als Referenzelektrode wurde eine Silber/Silberchlorid-Elektrode (Ag/AgCl-Elektrode, 3 M KCl) verwendet.



**Abbildung 1** Schematische Darstellung des Drei-Elektrodenaufbaus. Mit AE = Arbeitselektrode, GE = Gegenelektrode, RE = Referenzelektrode, A = Amperemeter und V = Voltmeter.

Für alle elektrochemischen Versuche wurde ein Elektrodenabstand von 15 mm gewählt. Der Messaufbau befindet sich in einer geerdeten Messkabine unter Inertgasatmosphäre (Stickstoff). Es wurde ein Probengefäß mit einem Volumen von ca. 30 mL verwendet. Die Datenaufnahme für die verschiedenen elektrochemischen Verfahren erfolgte mit Hilfe eines USB Multifunktions-Geräts und der dazugehörigen Software „MephistoLab“. Zur Aufnahme der Stromantwort auf den Potentialpuls wurde die Arbeitselektrode mit Hilfe eines Potentiostaten auf ein gewähltes Startpotential eingestellt. Durch manuelles Auslösen wurde das Potential sprunghaft auf ein eingestelltes Endpotential angehoben. Das Start- und Endpotential konnten unabhängig voneinander variiert werden. Der benötigte Strom, um das Endpotential zeitlich konstant zu halten, wurde aufgezeichnet. Hierbei ist besonders zu erwähnen, dass die Strommessung über 8 Zehnerpotenzen in einem Zeitbereich von  $10^{-6}$  bis  $10^2$  s aufgezeichnet wurde. Dies ermöglicht eine

Auswertung von elektrochemischen Vorgängen an der BDD-Elektrode von den ersten Mikrosekunden nach einem Potentialsprung bis hin zu Prozessen im Sekundenbereich.

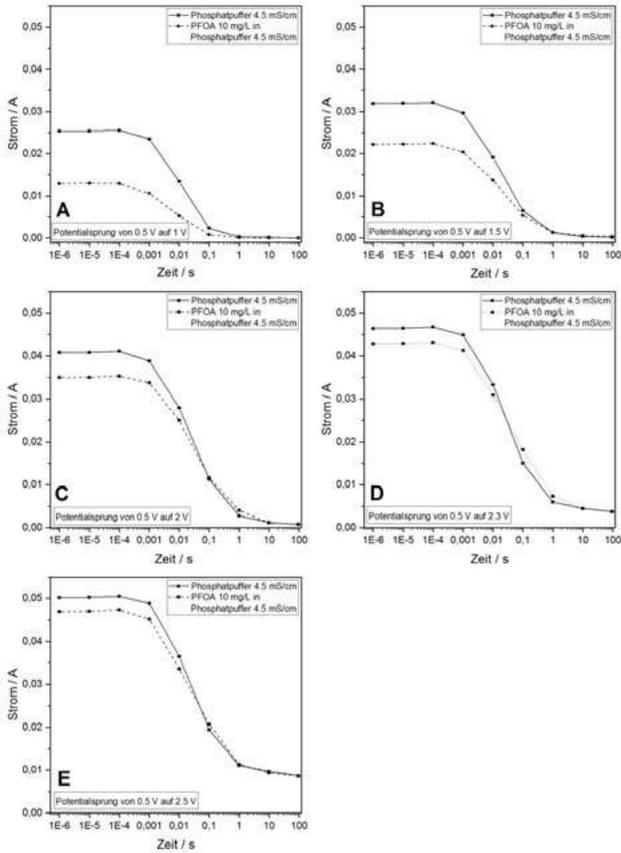
## Ergebnisse und Diskussion

Zur weiteren Charakterisierung der elektrochemischen Zelle wurde die Chronoamperometrie genutzt. Zum Vergleich wurde zunächst der Phosphatpuffer (25 mM,  $4.5 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) und nachfolgend eine PFOA-Lösung ( $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  in Phosphatpuffer, 25 mM,  $4.5 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) in einer Drei-Elektrodenanordnung analysiert. Das Startpotential wurde auf 0.5 V eingestellt und anschließend auf Werte bis 2.5 V angehoben.

Zum besseren Vergleich zwischen den Messergebnissen in reinem Phosphatpuffer und in der PFOA-Lösung wurden aus allen Messkurven die Stromwerte zu bestimmten Zeiten extrahiert. In Abbildung 2 sind die jeweiligen Chronoamperogramme des Phosphatpuffers und der PFOA-Lösung für verschiedene Potentialsprünge von 0.5 V auf 1.0-2.5 V gezeigt.

Auffällig ist die Stromdifferenz zwischen dem reinen Puffer und der PFOA-Lösung im Mikrosekundenbereich nach dem Potentialsprung. Diese Differenz ist bei Sprüngen auf niedrige Potentiale, bei denen davon ausgegangen werden kann, dass kein elektrochemischer Vorgang stattfindet, größer als bei Sprüngen auf hohe Potentiale. Dort nähern sich beide Stromwerte an. Ein möglicher Grund hierfür liegt in einer chemischen Koordination von PFOA an der Elektrodenoberfläche, wodurch die aktive Oberfläche blockiert und der Stromfluss dadurch verringert wird. Bei Sprüngen zu größeren Potentialen wird diese Koordination möglicherweise aufgebrochen oder es tritt eine Umkoordinierung ein.

Im Bereich des Wendepunkts der Stromkurven (0.01 bis 1 s) ist auffällig, dass der Absolutwert des Stroms für den reinen Phosphatpuffer bis zu einem Potential von 1.5 V oberhalb von dem der PFOA-Lösung liegt. Ab einem Potential von 2 V wird ein höherer Stromfluss für die PFOA-Lösung beobachtet. Besonders erkennbar wird dieser Effekt bei einem Potential von 2.3 V (siehe Abb 2 D). Der erhöhte Stromfluss in diesen Potentialbereich lässt sich auf einen elektrochemischen Umsatz von PFOA zurückführen.



**Abbildung 2** Vergleich der jeweiligen Chronoamperogramme des Phosphatpuffers (25 mM,  $4,5 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) und der PFOA-Lösung ( $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  in Phosphatpuffer 25 mM,  $4,5 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) für verschiedene Potentialsprünge. A: von 0,5 V auf 1,0 V, B: von 0,5 V auf 1,5 V, C: von 0,5 V auf 2,0 V, D: von 0,5 V auf 2,3 V, E: von 0,5 V auf 2,5 V. Gemessen gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode.

## Fazit

Die Auswertung der Potentialsprung Experimente liefert Hinweise auf ablaufende elektrochemische Prozesse bei einem Potential um 2.3 V (gemessen gegen eine Ag/AgCl-Referenzelektrode) in Anwesenheit von PFOA in der Elektrolytlösung. Diese Beobachtungen deuten auf ein Oxidationspotential von PFOA in diesem Potentialbereich hin. Der beobachtete, erhöhte Stromfluss bei einem Potential von 2.3 V lässt sich auf einen elektrochemischen Umsatz von PFOA zurückführen.

## Referenzen

- [1] Knepper, T.P., Lange, F.T., Polyfluorinated Chemicals and Transformation Products Vol. 17, Springer-Verlag, Heidelberg, **2012**.
- [2] Kissa, E., *Fluorinated Surfactants and Repellents*, 2 Aufl., Marcel Dekker, Inc., New York, **2001**.
- [3] Banzhaf, S., Filipovic, M., Lewis, J., Sparrenbom, C.J., Barthel, R., A review of contamination of surface-, ground-, and drinking water in Sweden by perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs), *Ambio* **2017**, *46*, 335-346.
- [4] Stahl, T., Mattem, D., Brunn, H., Toxicology of perfluorinated compounds *Environmental Sciences Europe* **2011**, *23*, 38.
- [5] OGEwV, Oberflächengewässerverordnung vom 20. Juni 2016 (BGBl. I S. 1373).
- [6] Vecitis, C.D., Park, H., Cheng, J., Mader, B.T., Hoffmann, M.R., Treatment technologies for aqueous perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA), *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China* **2009**, *3*, 129-151.
- [7] Schröder, H.F., Meesters, R.J.W., Stability of fluorinated surfactants in advanced oxidation processes—A follow up of degradation products using flow injection–mass spectrometry, liquid chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography– multiple stage mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* **2005**, *1082*, 110-119.
- [8] Wei, J., Zhu, X., Ni, J., Electrochemical oxidation of phenol at boron-doped diamond electrode in pulse current mode, *Electrochimica Acta* **2011**, *56*, 5310-5315.
- [9] Wei, J.-j., Gao, X.-h., Hei, L.-f., Askari, J., Li, C.-m., Energy consumption of electrooxidation systems with boron-doped diamond electrodes in the pulse current mode, *International Journal of Minerals, Metallurgy, and Materials* **2013**, *20*, 106-112.

## Österreichs Mineral- und Heilwässer

D. Elster, Wien/Ö, L. Fischer, Wien/Ö, S. Hann, Wien/Ö, J. Goldbrunner, Graz/Ö, G. Schubert, Wien/Ö, R. Berka Wien/Ö, G. Hobiger Wien/Ö, P. Legerer, Wien/Ö, R. Philippitsch, Wien/Ö, alle Wien/Ö

G. Hobiger, Geologische Bundesanstalt, Wien/Ö

### Einleitung

Natürliche Mineral- und Heilwässer sind Grundwässer mit besonderen chemisch-physikalischen Eigenschaften, die sich positiv auf den Organismus auswirken und bereits seit Jahrtausenden bekannt sind. Solche Wässer finden sowohl als wohltuende Getränke als auch in medizinischen Therapien breite Anwendung. Die besonderen Inhaltsstoffe sind von der Wechselwirkung des Wassers mit dem durchflossenen Gestein abhängig. Daraus ergeben sich einerseits die für die Balneologie erforderlichen Wirkungen und andererseits der spezielle Geschmack des Wassers.

Das Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus gab der Geologischen Bundesanstalt den Auftrag eine Zusammenschau von Informationen und Daten zu diesen speziellen Grundwässern zu erarbeiten. Das Gesamtwerk umfasst eine hydrogeologische Karte sowie einen umfassenden Erläuterungsband mit zahlreichen Detailinformationen.

Im Rahmen dieses Auftrages wurden von der Geologischen Bundesanstalt in Zusammenarbeit mit der Abteilung für Analytische Chemie der Universität für Bodenkultur (BOKU) sowie mit externen Fachinstitutionen die in Österreich bekannten Mineral- und Heilwässer erfasst und auch zum Teil hydrochemisch analysiert. Neu ist in diesem Werk, die Analytik von einigen Wässern auf Ultrapurenelemente, wie z.B. Seltene Erden und Platinelemente mittels eines hochauflösenden Sektorfeld ICP-MS.

Sämtliche Daten wurden in Form eines Erläuterungsbandes und einer Karte im Maßstab 1:500 000 publiziert. Als Kartengrundlage diente eine neu erstellte geologische Karte im selben Maßstab.

### Definition der Begriffe Natürliches Mineralwasser und Heilwasser sowie gesetzliche Grundlagen

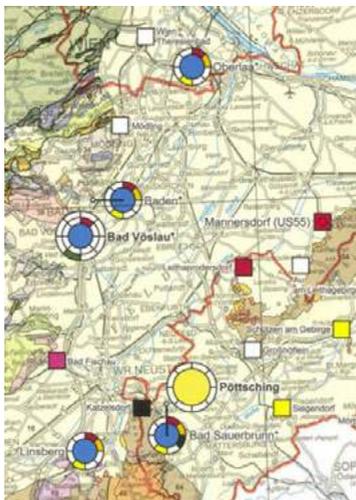
Bei der Anerkennung sowie Nutzung von natürlichen Mineralwässern und Heilwässern müssen verschiedene nationale und auch europäische Rechtsmaterien berücksichtigt werden. Da es sich bei den Wässern generell um Grundwasser im Sinne des Wasserrechtsgesetzes 1959 handelt, sind die in diesem Gesetz vorgegebenen Regelungen zu beachten. Die Nutzung von natürlichen Mineralwässern und Heilwässern stellt eine Erschließung bzw. Benutzung des Grundwassers dar, die der Bewilligung der Wasserrechtsbehörde bedarf. Natürliches Mineralwasser ist definitionsgemäß Wasser, das von ursprünglicher Reinheit ist, seinen Ursprung in einem unterirdischen, vor jeder Verunreinigung geschützten Wasservorkommen hat und aus einer oder mehreren natürlich oder künstlich

erschlossenen Quellen annähernd gleicher Charakteristik gewonnen wird. Seine Charakteristik ist vor allem durch den konstanten Gehalt an charakteristischen Bestandteilen gekennzeichnet und weist gegebenenfalls bestimmte ernährungsphysiologische Wirkungen auf. Es muss den in der Mineralwasser- und Quellwasserverordnung genannten mikrobiologischen Werten sowie den Grenzwerten natürlich vorkommender Bestandteile entsprechen. Zulässige Angaben und Kriterien für natürliche Mineralwasser werden ebenfalls angeführt.

Für die Anerkennung eines Natürlichen Mineralwassers ist das Bundesministerium für Arbeit, Soziales, Gesundheit und Konsumentenschutz zuständig. Nähere Bestimmungen für Natürliche Mineralwasser werden im Kapitel B 17 „Abgefüllte Wässer“ des Österreichischen Lebensmittelbuches (ÖLMB) definiert. Für die Anerkennung eines natürlich abgefüllten Heilwassers (Wasser einer Heilquelle) aus einem natürlichen Heilvorkommen ist das jeweilige Bundesland zuständig. Den Ländern obliegen die Erlassung und Vollziehung der Heilvorkommen- und Kurorte-/Kuranstaltengesetze. Diese beinhalten unter anderem folgende Regelungsinhalte: Begriffsbestimmungen, Anerkennung als Heilvorkommen, Nutzungsbewilligung, Bezeichnung, Anerkennung als Kurort, Analysen der Heilvorkommen und Indikationen. Alle Bundesländer bis auf Vorarlberg haben diesbezüglich Gesetze erlassen.

## Karte der Österreichischen Mineral- und Heilwässer 1:500 000

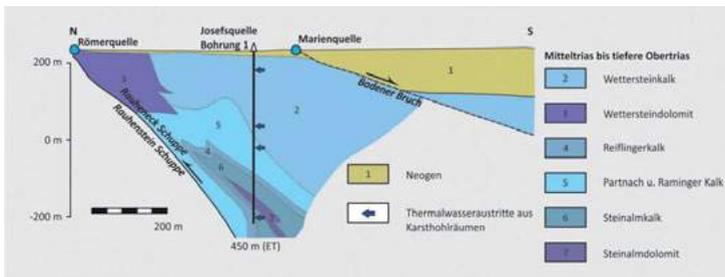
Als Grundlage der Karte dient eine geologische Karte von Österreich mit den geologischen Einheiten. In der Karte ist jedes Vorkommen eingezeichnet. Im Symbol des Vorkommens ist die Art des Vorkommens (natürliche Mineralwässer, Heilquellen, und ehemalige Heilquellen) und die besonderen chemisch-physikalischen Eigenschaften des Vorkommens gekennzeichnet. Die folgende Abbildung zeigt einen Ausschnitt der Karte des südlichen Wiener Beckens (Abbildung 1):



**Abbildung 1** Ausschnitt der Karte der Österreichischen Mineral- und Heilwässer.

## Erläuterungsband

Der Erläuterungsband umfasst 2 Teile. Im Ersten Teil wird neben allgemeinen Erläuterungen zu Mineral- und Heilwässern und deren Inhaltsstoffen jedes einzelne Vorkommen beschrieben. Die einzelnen Unterkapitel der Vorkommen beschreiben zunächst die Nutzung und Entwicklungsgeschichte und im Anschluss wird auf Hydrogeologie und Hydrochemie eingegangen. Zum besseren Verständnis sind bei jedem Vorkommen die geografische Lage in Form eines Kartenausschnittes und oft auch geologische Profile und Karten eingebettet. Als Beispiel ist das geologische Profil vom Vorkommen Baden gezeigt (Abbildung 2):



**Abbildung 2** Geologisches Profil von Baden bei Wien

Im zweiten Teil werden die Analysemethoden genau beschrieben. Den Abschluss des Erläuterungsbandes bildet ein Tabellenanhang mit hydrochemischen und Isotopenanalysen der einzelnen Vorkommen.

## Literatur

Elster, D., Fischer, L., Hann, S., Goldbrunner, J., Schubert, G., Berka, R., Hobiger, G., Legerer, P. & Philippitsch, R. (2018): Österreichs Mineral- und Heilwässer. – 448 S., Geologische Bundesanstalt, Wien.

## **Identifizierung von organischen, kationischen Spurenstoffen unter Einsatz von Priorisierungsmethoden auf Basis von Deuteriumoxid und Ionenaustauschern**

Köppe, T. Koblenz/D, Jewell, K. Koblenz/D, Ehlig, B. Koblenz/D, Wick, A. Koblenz/D, Ternes, T. A. Koblenz/D

Toni Köppe, Bundesanstalt für Gewässerkunde, Am Mainzer Tor 1, 56068 Koblenz

### **Einleitung**

Eine zentrale Herausforderung der Wasserwirtschaft ist die Belastung der aquatischen Umwelt mit organischen Spurenstoffen. Organische kationische Stoffe finden sowohl im täglichen Gebrauch, als auch in der Landwirtschaft und der Industrie Anwendung und gelangen punktuell über Kläranlagen, oder über diffuse Einleitung in die Umwelt. Beispielhaft hierfür stehen verschiedenste quartäre Ammoniumverbindungen, welche unter anderem als Biozide [1] oder kationische Tenside [2] Anwendung finden, oder organische Phosphoniumverbindungen, die Ausgangsstoffe bzw. Intermediate der chemischen Industrie darstellen und von Brand et. al. [3] im Rhein und in der Elbe nachgewiesen wurden. Bedingt durch ihre positive Ladung sind diese Verbindungen nicht nur in der Wasserphase, sondern auch im Sediment und Schwebstoff in hohen Konzentrationen detektiert worden. Deshalb eignen sich Sediment- und Schwebstoffproben für eine Suche nach kationischen, organischen Verbindungen. Hierbei hat sich die Nontarget Analytik unter Einsatz von hochauflösender Massenspektrometrie als eine leistungsfähige Methode zur Erfassung und Identifizierung bisher unbekannter kationischer, organischer Spurenstoffe erwiesen.

Vor diesem Hintergrund war es das Ziel dieser Studie Methoden zu entwickeln, um eine Priorisierung von organischen kationischen Verbindungen in Nontarget Daten zu erreichen. Weiterhin sollten diese Methoden auf Schwebstoffproben aus Rhein und Saar angewendet werden, um bisher unbekannte kationische Verbindungen zu identifizieren. Zur Priorisierung wurden zwei verschiedene Ansätze untersucht: i) Zum einen wurden Ionenaustausch SPE Versuche durchgeführt, um Verbindungen retrospektiv, durch Entfernung aus der Probe auf Grundlage ionischer Wechselwirkungen mit Ionenaustauschern, zu priorisieren. ii) Zum anderen wurden vergleichenden Messläufe mit Reinstwasser und Deuteriumoxid als Laufmittel in der Chromatographie getestet, um kationische Verbindungen zu priorisieren, die im Vergleich zu neutralen Substanzen keine Massenerhöhung in Folge der Ionisierung durch Deuteriumionen anstelle von Wasserstoffionen aufweisen sollten.

## Probenahme und Methodik

*Probenvorbereitung:* Für die Methodenentwicklung wurden Reinstwasser (Merck Millipore) und Deuteriumoxid mit 65 kationischen und 151 neutralen Verbindungen dotiert (2 µg/L).

*Ionenaustausch-SPE:* Für die Ionenaustausch SPE wurden MCX Plus Kartuschen der Firma Waters (Milford, MA, USA) verwendet. Die dotierten Reinstwasserproben wurden tropfenweise (ca. 1,5 ml/min) durch die Kartuschen gepresst und das Wassereluat aufgefangen (Eluat 1). Anschließend wurden die Kartuschen mit Methanol/Ammoniak (98/2, v/v) eluiert (Eluat 2) und beide Eluate (1 und 2) sowie die unbehandelte Ausgangsprobe mittels Nontarget Analyse untersucht.

*Nontarget Messung:* Für die chromatographische Trennung wurde eine Zorbax Eclipse Plus C18 Säule in der HPLC 1260 der Firma Agilent (Waldbronn, Deutschland) verwendet. Als Laufmittel dienten Reinstwasser (Phase A) und Acetonitril (Phase B), jeweils angesäuert mit 0,1% Ameisensäure. In weiteren Messungen wurde das Reinstwasser durch Deuteriumoxid ersetzt und deuterierte Ameisensäure verwendet. Die massenspektrometrische Analyse erfolgte mittels positiver Ionisierung mit einem SCIEX Hybrid Quadrupol Flugzeit Massenspektrometer (TripleToF 6600, Darmstadt, Deutschland), das mit einer IonDrive™ (ESI) Ionenquelle ausgestattet ist. Zur Reduzierung der *false positives* wurde zudem jede Probe als Triplikat gemessen.

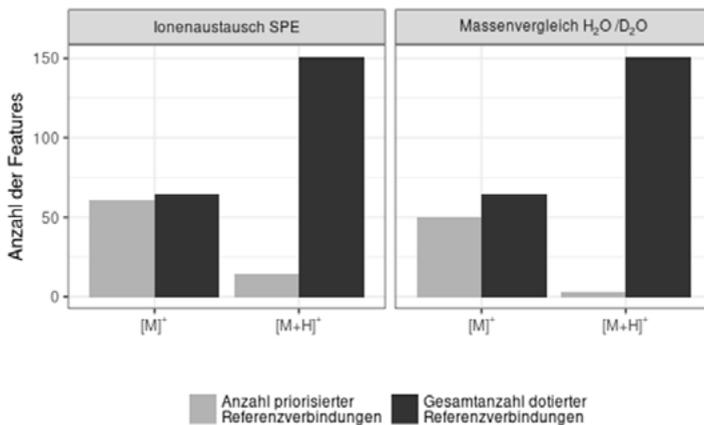
*Peakerkennung und Komponentisierung:* Die Messdaten wurden zunächst in das offene Format mzXML [4] konvertiert und das Erkennen von Peaks (Peakpicking) mit einem an der BfG entwickelten Algorithmus [5] in R durchgeführt. Die „Komponentisierung“, das Zusammenfassen von komplementären Features, wie Addukten, Isotopen und Quellfragmenten zu einer gemeinsamen Komponente, erfolgte ebenfalls nach einem selbst geschriebenen Algorithmus in R [6]. Im Folgenden wurden ein „Alignment“ (Zuordnung der Komponenten über alle Proben) und eine Blindwertkorrektur vorgenommen.

*Datenprozessierung:* Für die Priorisierung kationischer Verbindungen wurden zwei Ansätze verfolgt. Zum einen wurden die Daten der Proben, die nicht mittels Ionenaustauscher SPE behandelt wurden mit jenen Daten prozessiert, welche aus den Ionenaustausch SPE Eluaten gewonnen wurden. Dabei wurden Features priorisiert, die in den unbehandelten Proben, nicht aber in einem der Eluate detektiert wurden, da angenommen wurde, dass die negativ geladenen, neutralen und teilweise positiv geladenen Kationen vorwiegend in den Eluaten enthalten sein sollten, während die permanent kationischen Verbindungen aufgrund ihrer ionischen Wechselwirkung in den Kartuschen zurückgehalten werden.

Zum anderen wurden Daten der Proben, welche mit Reinstwasser und mit Deuteriumoxid als Laufmittel gemessen wurden, gemeinsam prozessiert und Features priorisiert, welche in beiden Datensätzen sowohl in ihrer hochaufgelösten Masse, als auch ihrer Retentionszeit übereinstimmten.

## Ergebnisse und Diskussion

In den Ionenaustausch SPE Versuchen, welche mit dotiertem Reinstwasser durchgeführt wurden, konnten in der anschließenden Auswertung 61 von 65 (94%) kationische Verbindungen detektiert werden, welche in den Kartuschen zurückgehalten wurden und somit weder in Eluat 1 noch in Eluat 2 detektiert werden konnten (Abbildung 1 links). Dem gegenüber stehen 14 von 151 (9%) neutrale Verbindungen, welche nach der SPE ebenfalls nicht in den Eluaten detektiert werden konnten und somit fälschlicherweise als mögliche kationische Verbindungen priorisiert wurden. Zusammenfassend können zurückgehaltene Verbindungen mit hoher Wahrscheinlichkeit als permanent kationisch bezeichnet werden, eine sichere Zuordnung ist jedoch nicht möglich.

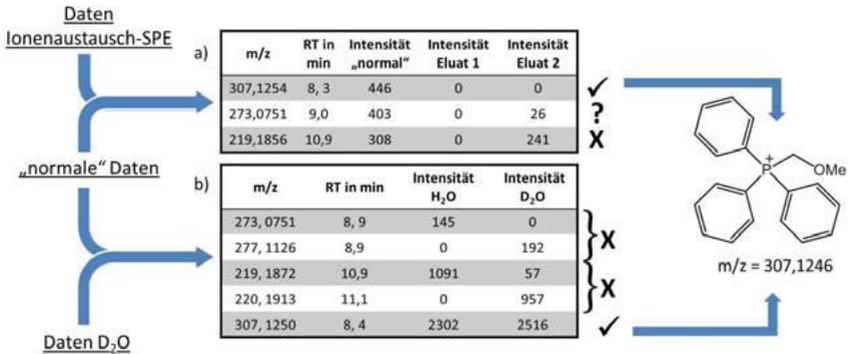


**Abbildung 1:** Anzahl der priorisierten kationischen ( $[M]^+$ ) und neutralen Referenzverbindungen ( $[M+H]^+$ ) nach Priorisierung durch Ionenaustausch SPE und Vergleichsmessungen  $H_2O/D_2O$  (graue Balken) im Vergleich zur Gesamtanzahl der dotierten Referenzverbindungen (schwarze Balken).

Die zweite getestete Methode beruht auf dem Prinzip, dass bei vergleichenden Messläufen mit Reinstwasser und Deuteriumoxid als Laufmittel in der Chromatographie die kationischen Verbindungen im Gegensatz zu den neutralen protonierbaren Verbindungen die gleichen hochaufgelösten Massen aufweisen sollten. Die Herausforderung bestand jedoch darin, dass es bei der Verwendung von Deuteriumoxid als Laufmittel im Vergleich zu Reinstwasser zu einer deutlichen Verschiebung der Retentionszeiten in Richtung späterer Elution kommt, was eine Zuordnung (Alignment) der Signale erschwert. Dabei ist die individuelle Größe der Verschiebung annähernd proportional zur Retentionszeit der jeweiligen Verbindung und liegt im Bereich von 0,3 min bis 7,3 min. Aufgrund dieser Proportionalität können die Retentionszeiten für Deuteriumoxid korrigiert und damit den Retentionszeiten in Reinstwasser, mit Hilfe der linearen Gleichung  $RT_{D_2O, \text{kor}} = RT_{D_2O} - (m \cdot RT_{D_2O}) + n$ , angeglichen werden. Auf Grundlage der korrigierten Retentionszeiten reduzieren sich die Verschiebungen auf maximal 1,7 min (Median von 0,3 min), wodurch ein effektives Alignment der Daten aus den Messläufen mit Reinstwasser und Deuteriumoxid ermöglicht wird. Von den 65 untersuchten kationischen Referenzverbindungen konnten durch den Vergleich der hochaufgelösten Massen 50 (77%) Substanzen aufgrund gleicher Masse in den Messungen mit Reinstwasser und Deuteriumoxid identifiziert werden (Abbildung 1 rechts). Weiterhin konnten 8 (12%) kationische Referenzverbindungen mit austauschbaren Protonen durch das Addieren von einem Neutron für Hydroxy- und Carboxyfunktionen, beziehungsweise zwei Neutronen für Aminogruppen identifiziert werden. Fälschlicherweise wurden 3 (2%) neutrale Verbindungen mit erfasst, was auf eventuelle Wasserrückstände zurückzuführen sein kann. Abschließend ist mit dieser Methode eine zuverlässige Priorisierung von organischen Kationen möglich.

Bei der Methodenentwicklung dieser Studie hat sich gezeigt, dass beide untersuchten Methoden grundsätzlich für eine Priorisierung von kationischen Verbindungen geeignet sind. Eine Priorisierung auf der Grundlage von Vergleichsmessungen mit Wasser und Deuteriumoxid als Laufmittel unterliegt allerdings der Limitierung, dass kationische Verbindungen mit austauschbaren Wasserstoffatomen trotz positiver Ladung einem Massenshift unterliegen können, was dazu führt, dass diese Verbindungen entweder nicht als kationisch priorisiert werden, oder weitere Prozessierungsschritte nötig sind. Möglich wäre ein tolerierter Massenshift, zum Beispiel von 2,0126 (2D), was jedoch mit einer steigenden Anzahl von fälschlicherweise priorisierten neutralen Verbindungen einhergehen würde. Durch eine kombinatorische Anwendung beider Priorisierungsmethoden können jedoch falsche Zuordnungen noch weiter vermieden werden. Beispielsweise war anhand der Auswertung der Ionenaustausch SPE Daten nicht sicher zu ermitteln, ob es sich bei dem Feature mit der m/z von 273,0751 um das Signal einer kationischen Verbindung handelt.

Unter Einbeziehung der vergleichenden Messung mit Reinstwasser und Deuteriumoxid (Abbildung 2), die einen Masseanstieg von 4,0375 (4D) ergab, konnte die detektierte Verbindung jedoch korrekterweise als nicht kationisch eingestuft werden.



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung der Datenprozessierung zur Priorisierung von kationischen Verbindungen durch die Berücksichtigung von Vergleichsdaten von; a) Eluaten der Ionenaustausch SPE mit unbehandelten Proben und b) Messungen von Proben mit Reinstwasser und Deuteriumoxid als Laufmittel

## Fazit und Ausblick

Die entwickelten Methoden zur Priorisierung kationischer Substanzen konnten bei der Nontarget Analyse der Referenzverbindungen sowohl eigenständig, als auch in Kombination beider Methoden zur Überprüfung der Zuordnung vielversprechende Ergebnisse liefern.

Im nächsten Schritt erfolgt die Anwendung der zwei Priorisierungsmethoden auf Extrakte von Schwebstoffproben, welche zum einen mittels Ionenaustausch SPE vorbereitet, beziehungsweise mit Reinstwasser und Deuteriumoxid als Laufmittel gemessen werden. Weiterhin soll die kombinierte Anwendung beider Priorisierungsmethoden erprobt werden. Im letzten Schritt ist die Identifizierung unbekannter, kationischer Verbindungen auf Basis der priorisierten Daten geplant.

## Danksagung

Die Autoren danken dem Bundesministerium für Verkehr und digitale Infrastruktur [Projekt Non-Target-Analyse Sedimente] für die finanzielle Unterstützung.

## Literatur

- [1] Buser, A.M. and L.S. Morf, *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung*, **2008**, 21, 27-35.
- [2] Sanchez Leal J., et al., *Acta hydrochim. hydrobiol.*, **1994**, 22,
- [3] Brand, S., et al., *Water Res*, **2018**, 136, 207-219.
- [4] Kessner, D., et al., *Bioinformatics*, **2008**, 24, 2534-6.
- [5] Dietrich, C., et al., In preparation.
- [6] Köppe, T., et al., *Water Res*, submitted.

## **Multi-residue determination of pharmaceuticals and their metabolites in fish from German rivers**

Lise Boulard, Koblenz/D, Pia Parrhysius, Koblenz/D, Georg Dierkes, Koblenz/D, Jan Koschorreck, Dessau/D, Arne Hein, Dessau/D, Anette Küster, Dessau/D, Arne Wick, Koblenz/D and Thomas A. Ternes Koblenz/D

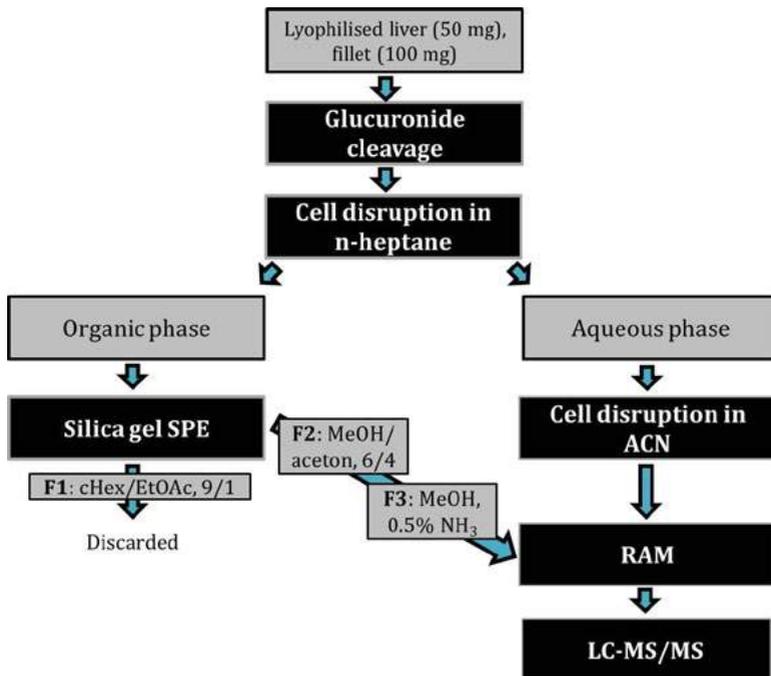
### **Introduction**

Pseudo-persistent micropollutants such as pharmaceuticals and personal care products are continuously introduced into the water bodies via wastewater treatment plant (WWTP) effluents [1, 2]. Their growing consumption [3] and effect-designed structure raised numerous concerns about their environmental impact. In the aquatic environment, biota is exposed to these micropollutants. They can be accumulated in fish through the gills during respiratory process, via dermal absorption and via diet by the ingestion of contaminated suspended particulate matter, micro- or macro-organisms. Micropollutants are only partly metabolized in fish and thus are excreted [4]. Recent studies have shown that certain pharmaceuticals, in particular selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) can alter fish physiological functions at concentrations found in the effluents of WWTPs and in surface water [5, 6]. Moreover, due to the high number of pharmaceuticals present in the environment, synergistic effects cannot be excluded [7].

In the last years, a few multi-residue methods have been developed for the analysis of polar micropollutants and in particular of micropollutants in fish via LC-MS/MS [8-10]. However, these methods included only a limited number of metabolites and did not consider microbial transformation products (TPs) such as gabapentin lactam. In this study, we developed a sensitive analytical method for the quantification of 39 pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), 27 metabolites and 5 TPs in fish fillet and liver via LC-MS/MS. This method was applied to the measurement of fish fillet and liver taken from German rivers such as Nidda, Saar, Rhine and from the Teltow canal in Berlin. In particular, for the sampling location of Rehlingen, time trends of the pharmaceuticals concentrations from 2005 to 2015 was evaluated.

## Material and methods

The developed analytical method is schematically illustrated in Figure 1. Briefly, homogenized lyophilized fish tissue (50 mg for fish liver or 100 mg for fish fillet) was weighted into a 15 mL Falcon tube. Glucuronide cleavage was performed by enzymatic lysis. Subsequently, the samples were extracted with 2 x 5 mL n-heptane and 2 x 5 mL acetonitrile by cell disruption at 4 m/s for 40 s in a in a FastPrep-24TM 5G (MP Biomedicals). The lipophilic matrix was separated from the n-heptane extract by silica gel chromatography with three elution fractions. The first fraction was eluted with 3 x 2 mL ethyl acetate/cyclohexane (1/9, v/v) and was discarded. The second fraction was eluted with 3 x 2 mL methanol/acetone (4/6, v/v) and the third with 3 x 2 mL methanol, 0.5 %v NH<sub>3</sub> (fraction 3). Fraction 2, 3 and the acetonitrile extract from the aqueous phase were combined and purified by restricted access media (RAM) chromatography with a Lichrospher RP-8ADS (25 µm, 20 x 4 mm) column. Afterwards, the collected fractions were evaporated to 1 mL prior to LC-MS/MS measurement by a Sciex Qtrap 6500 instrument according to the detection method of Hermes et al. [11].



**Figure 1:** Sample preparation schema. MeOH: methanol, ACN: acetonitrile, cHex: cyclohexane, EtOAc: ethylacetate.

For the determination of environmental concentrations in fish, breams were sampled at two sampling locations at the Rhine: Koblenz, Rhine km 590, Bimmen, km 863 and one location on the Saar, Rehlingen, km 54. These samples were kindly provided by the German Environmental Specimen Bank located in Schmallenberg, Germany.

Shortly, sampling was performed after the spawning period (from mid July to the end of October). At least 20 eight to twelve years old breams were captured at each sampling location. The breams were dissected and liver and fillet were immediately frozen in liquid nitrogen. The organs of the different individuals were pooled together prior to cryo-milling. Afterward, the samples were conserved for long term over liquid nitrogen [12].

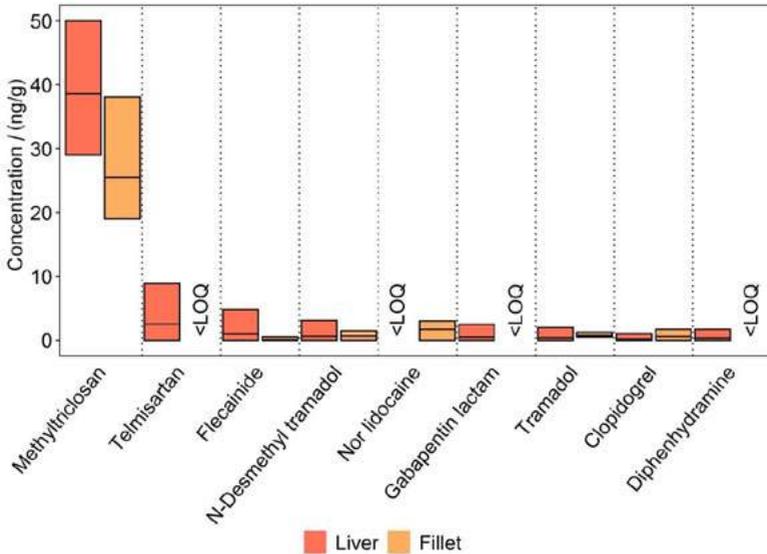
### Results

In the analyzed fillet and liver samples 9 of 71 analytes were detected. The number of PPCPs detected and their concentrations increased with the wastewater proportion at the sampling sites. Consequently in Rehlingen (Saar) up to 6 PPCPs could be quantified in fillet, while only 4 PPCPs were identified in the fish tissue from breams caught at Koblenz (Rhine).

Maximum concentrations were measured for methyltriclosan, a TP of the biocide triclosan [13], with  $38.1 \pm 0.8$  ng/g d.w. in fillet (Rehlingen) and  $50 \pm 4$  ng/g d.w. in liver (Koblenz 2015) (Figure 2). The analyte with the second highest concentrations was telmisartan which was measured at  $8.9 \pm 0.8$  ng/g d.w. in liver from Rehlingen. All other compounds showed concentrations lower than 5 ng/g d.w. These concentration levels were consistent with previous European studies [8, 13-15].

Four analytes (flecainide, gabapentin lactam, norlidocaine and N-desmethyl tramadol) were identified in fish for the first time. Flecainide is a rather polar ( $\log D$  at pH 7: 0.66) and positively charged antiarrhythmic agent. It was detected in fish fillet from Rehlingen at  $0.52 \pm 0.06$  ng/g d.w. and in liver at  $4.8 \pm 0.7$  ng/g d.w. (average calculated over three replicates).

Gabapentin lactam, a TP of the antiepileptic drug gabapentin [16], was also detected for the first time in fish. Concentration of 2.5 ng/g d.w. were quantified in fish fillet from Rehlingen in 2015, while it was not present in bream liver from Koblenz (2015, 2016) and Bimmen (2015). Henning et al. [14] reported that gabapentin lactam is present with concentrations ranging from 160 to 1540 ng/L in WWTP effluent and ranging from 34 to 700 ng/L in surface water. Moreover, it has been shown to be more stable than gabapentin with regard to biotic as well as abiotic degradation.



**Figure 2:** Minimal, mean and maximal concentrations of PPCPs in surface water. Concentrations are given in ng/g dry weight.

Norlidocaine, a human metabolite of the local anesthetic lidocaine, was detected in river bream fillets from Koblenz, Bimmen and Rehlingen at concentrations up to  $3.0 \pm 0.9$  ng/g d.w., while the parent compound lidocaine was not found in fish from Rehlingen above LOQ.

N-Desmethyl tramadol is a human metabolite of the analgesic tramadol. In bream, it was detected at concentrations up to  $1.5 \pm 0.5$  ng/g d.w. in fillet and up to  $3.1 \pm 0.4$  ng/g d.w. in liver. In the same samples, tramadol concentrations ranged up to  $1.26 \pm 0.06$  in fillet and to  $2.0 \pm 0.8$  ng/g d.w. in liver. These two examples highlight the importance of considering the human metabolites in fish tissue analysis. They were frequently detected at higher concentrations than their parent pharmaceuticals. For both tramadol and lidocaine the reverse trend is observed in the water phase [11]. One reasonable explanation is that the human metabolites norlidocaine and N-desmethyl tramadol are also formed by the metabolism of the parent pharmaceuticals in fish bodies.

However, no dependency was found for the polarity of the compound and the occurrence in fish tissue. For example, carbamazepine was not detected in breams from Koblenz, although an annual average water concentration of 40 ng/L were present. Whereas the more polar and positively charged compound norlidocaine was detected with a concentration of 2 ng/g d.w., its water concentrations were not higher than 9 ng/L (internal data). Hence, it can be assumed that the metabolization in fish plays a crucial role for the concentrations detected in fish tissue.

## Conclusion and outlook

This study reveals that even polar micropollutants such as pharmaceuticals and their human metabolites are ubiquitously present in fish from German rivers. Detection frequency and concentrations depended on wastewater proportion at the sampling sites, which is consistent with the knowledge about WWTPs being the main source of pharmaceuticals and personal care products. In particular cases, the human metabolites of pharmaceuticals showed higher concentrations than the original compounds. To which extent these metabolites are formed by metabolism in the fish need to be investigated further. However, human metabolites should be considered in monitoring campaigns to receive a comprehensive overview. Furthermore, the intake route — accumulation from the water phase or magnification by digestion — should be investigated in further studies. Since fish concentrations showed no correlation with polarity and water concentrations of the pharmaceuticals the biomagnification through the food web might to be more relevant as discussed in a previous study [14].

## Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the German Environment Agency (UBA) for the funding of the project: FKZ 3715 67 413 and FKZ 3717 64 413. Furthermore, we thank the German Environmental Specimen Bank and especially Dr. Heinz Rüdell for providing fish samples.

## Literature

- [1] C. Daughton, T. Ternes, Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?, *Environ. Health Perspect.*, 107 (1999) 907-938.
- [2] B. Petrie, R. Barden, B. Kasprzyk-Hordern, A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring, *Water Res.*, 72 (2015) 3-27.
- [3] T.P. Van Boeckel, S. Gandra, A. Ashok, Q. Caudron, B.T. Grenfell, S.A. Levin, R.J.T.L.I.D. Laxminarayan, Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data, 14 (2014) 742-750.
- [4] J.A. Arnot, F.A.P.C. Gobas, A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms, *Environ. Rev.*, 14 (2006) 257-297.
- [5] J. Corcoran, M.J. Winter, C.R. Tyler, Pharmaceuticals in the aquatic environment: a critical review of the evidence for health effects in fish, *Crit. Rev. Toxicol.*, 40 (2010) 287-304.

- [6] T. Brodin, J. Fick, M. Jonsson, J.J.S. Klaminder, Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations, 339 (2013) 814-815.
- [7] M.I. Vasquez, A. Lambrianides, M. Schneider, K. Kümmerer, D.J.J.o.H.M. Fatta-Kassinos, Environmental side effects of pharmaceutical cocktails: what we know and what we should know, 279 (2014) 169-189.
- [8] K. Grabicova, A.V. Staňová, O.K. Uzun, A. Borik, T. Randak, R.J.A.c.a. Grabic, Development of a robust extraction procedure for the HPLC-ESI-HRPS determination of multi-residual pharmaceuticals in biota samples, 1022 (2018) 53-60.
- [9] R. Tanoue, K. Nomiyama, H. Nakamura, T. Hayashi, J.W. Kim, T. Isobe, R. Shinohara, S. Tanabe, Simultaneous determination of polar pharmaceuticals and personal care products in biological organs and tissues, J. Chromatogr. A, 1355 (2014) 193-205.
- [10] M.E. Dasenaki, N.S. Thomaidis, Multi-residue determination of 115 veterinary drugs and pharmaceutical residues in milk powder, butter, fish tissue and eggs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Anal. Chim. Acta, 880 (2015) 103-121.
- [11] N. Hermes, K.S. Jewell, A. Wick, T.A. Ternes, Quantification of more than 150 micropollutants including transformation products in aqueous samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using scheduled multiple reaction monitoring, J. Chromatogr. A, 1531 (2018) 64-73.
- [12] R.P. Klein, M.; Tarricone, K.; Teubner, D., Guideline for Sampling and Sample Processing Bream (*Abramis brama*), (2018).
- [13] H. Rüdél, W. Böhmer, M. Müller, A. Fließner, M. Ricking, D. Teubner, C.J.C. Schröter-Kermani, Retrospective study of triclosan and methyl-triclosan residues in fish and suspended particulate matter: Results from the German Environmental Specimen Bank, 91 (2013) 1517-1524.
- [14] K. Grabicova, R. Grabic, G. Fedorova, J. Fick, D. Cerveny, J. Kolarova, J. Turek, V. Zlabek, T.J.W.r. Randak, Bioaccumulation of psychoactive pharmaceuticals in fish in an effluent dominated stream, 124 (2017) 654-662.
- [15] B. Huerta, A. Jakimska, M. Gros, S. Rodriguez-Mozaz, D. Barcelo, Analysis of multi-class pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A, 1288 (2013) 63-72.
- [16] N. Henning, U. Kunkel, A. Wick, T.A. Ternes, Biotransformation of gabapentin in surface water matrices under different redox conditions and the occurrence of one major TP in the aquatic environment, Water Res., 137 (2018) 290-300.

## Bestimmung des ökotoxikologischen Potenzials von Antibiotika und ihren photoinduzierten Abbauprodukten mittels MHKs, IC<sub>50</sub> und QSAR-Analyse

M. Voigt, Krefeld/D., I. Bartels, Krefeld/D., A. Nickisch-Hartfiel, Krefeld/D., M. Jäger, Krefeld/D

Dr. Melanie Voigt, Hochschule Niederrhein, Frankenring 20, 47798 Krefeld

### Einleitung

Antibiotika können in herkömmlichen Kläranlagen nicht vollständig aus dem Abwasser eliminiert werden und gelangen somit direkt in Oberflächengewässer, wo sie ein hohes Gefährdungspotential für die aquatische Umwelt darstellen [1,2]. Deswegen werden aktuell verschiedene erweiterte Verfahren für Kläranlagen vorgeschlagen, wie zum Beispiel die erfolversprechenden Advanced Oxidation Processes, wobei Hydroxylradikale entstehen, die nicht nur den Abbau der aktiven Substanz bewirken, sondern auch zu potentiell ökotoxischen Transformationsprodukten führen [3]. Um dies genauer zu untersuchen werden in dieser Studie verschiedene Methoden zur Bewertung der Ökotoxizität dargestellt.

Hierbei werden photoinduzierte Abbauprozesse unter Verwendung von UVC-Strahlung auf ausgewählte Fluorchinolone, Tetracycline, Makrolide und Sulfonamide angewendet. Die MHK- und IC<sub>50</sub>-Werte der Ausgangssubstanzen und ihrer Abbauprodukte werden an dem Gram-negativen *Pseudomonas fluorescens* und dem Gram-positiven *Bacillus subtilis* untersucht, um die Ökotoxizität zu bewerten. Der Fokus hierbei liegt auf der Beziehung zwischen den ermittelten Geschwindigkeitskonstanten des photoinduzierten Abbaus und den korrespondierenden Hemmkonzentrationen. Zusätzlich werden die Geschwindigkeitskonstanten verwendet, um die Bestrahlungszeit vorherzusagen, die für die Deaktivierung gegenüber den beiden Bakterienstämmen erforderlich ist. Darüber hinaus wird eine QSAR-Analyse durchgeführt, um identifizierte Abbauprodukte hinsichtlich ihrer Ökotoxizität zu bewerten.

### Materialien und Methoden

Photoinduzierte Abbauprozesse wurden in einem 1-L-Batch-Photoreaktor (Peschl Ultraviolett, Mainz, Deutschland) durchgeführt, der mit Aluminiumfolie umwickelt und mit einer Niederdruckquecksilberlampe (TNN 15/32, 15 W, Heraeus, Hagen, Deutschland) ausgestattet war. Die Lampe emittierte Wellenlängen von 185, 254, 313, 365, 405, 437, 547, 578 und 580 nm. Die Ferrioxalat-Aktinometrie ergab eine Photonenflussrate von 2.03 mmol min<sup>-1</sup> [4,5]. Das Auftreten von Hydroxylradikalen durch UVC-Bestrahlung wurde durch Elektronenspinresonanzspektroskopie unter Verwendung von Spin-Traps nachgewiesen [6].

Die Antibiotika wurden in Milli-Q-Wasser in Konzentrationen von 10 bis 20 mg L<sup>-1</sup> gelöst und in den Photoreaktor überführt. Der Prozess wurde bei Umgebungstemperatur ohne

zusätzliche Kühlung durchgeführt. Die Homogenisierung wurde durch Rühren der Lösung mit etwa 500 Umdrehungen pro Minute sichergestellt. Die Temperatur wurde konstant bei  $22 \pm 2$  °C gehalten. Der pH-Wert lag zwischen 4 und 6. Die Lösungen wurden nicht gepuffert, um die nachfolgenden Bakterienassays nicht zu beeinflussen. Für HPLC-ESI-IT-MS-Experimente wurde während der ersten fünf Minuten in Intervallen von 30 Sekunden eine Probe der Lösung entnommen, gefolgt von Intervallen von einer Minute bis zu 10 Minuten. Zwischen 10 und 20 Minuten wurden alle zwei Minuten Proben entnommen. Schließlich betrug die Probenraten bis zum Ende des Abbaus 2.5 Minuten, was insgesamt 25 Proben ergab. Für die MIC-Bestimmung wurden zehn Proben jeder Serie verwendet, die zu den Zeitpunkten 0, 1, 2,5, 3,5, 5, 7, 10, 14, 18 und 30 Minuten genommen wurden.

Die MHKs wurden gemäß ISO 20776-1: 2007 (EUCAST 2007) bestimmt. Zur Prüfung der antimikrobiellen Aktivität der Antibiotika vor und nach UV-Bestrahlung wurden *P. fluorescens* (DSM-Nr. 50090) und *B. subtilis* (DSM-Nr. 10) eingesetzt. Die Methode folgte dem Protokoll von Wiegand, Hilpert und Hancock [7]. Eine 96-Well-Platte, die bereits 100 µL Organismen enthielt, wurde für eine Dreifachbestimmung der MHKs mit 100 µL Nährmedium mit  $10^6$  koloniebildenden Einheiten, bestehend aus 8 g/L Nutrient Broth (Carl Roth GmbH & Co. KG, Deutschland) mit 2 % Agar-Agar (BioScience, granuliert, Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) befüllt. Hinzu kam dann die jeweilige Probe mit unterschiedlichen Bestrahlungszeiten. Danach wurde die Platte für 24 h bei 30 °C für *Pseudomonas fluorescens* und bei 35 °C für *Bacillus subtilis* inkubiert. Die optische Dichte wurde stündlich in einem Zeitraum von einem Tag mit Mikroplatten-Reader bestimmt. Die relative Standardabweichung der aufgezeichneten Kurven lag zwischen 2% und 3%. Der  $IC_{50}$ -Wert wurde aus der Auftragung des Bakterienwachstums gegen die Verbindungskonzentration berechnet.

Für die QSAR-Analyse wurde die Software QSAR Toolbox v.4 verwendet. Als Indikatoren wurden Fathead Minnow und Actinopterygii  $LC_{50}$  (96 h) als Zielorganismen und Mortalität  $LC_{50}$  (48 h) von Brachiopoda für nicht spezifizierte Testorganismen ausgewählt.

### Ergebnisse und Diskussion

Eine Übersicht über die ermittelten Geschwindigkeitskonstanten, Halbwertszeiten, Quanteneffizienzen und die Bestrahlungszeit, die für die Deaktivierung gegenüber den beiden Bakterienstämmen erforderlich ist, ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 Geschwindigkeitskonstanten  $k$ , Halbwertszeiten  $t_{1/2}$ , Quanteneffizienzen  $\Phi_{254}$  und Bestrahlungszeit  $t_{act}$  für den Verlust der Wirksamkeit von Arzneimittelverbindungen in UVC-bestrahlter Lösung, erhalten aus HPLC-ESI-IT-MS-Daten und unter Verwendung eines kinetischen Modells erster Ordnung [8]

Substanz	$k$ /min <sup>-1</sup>	$t_{1/2}$ /min	$\Phi_{254}$	$t_{act}$ <i>B. subtilis</i> /min	$t_{act}$ <i>P. fluorescens</i> /min
Ciprofloxacin (CIP)	0.57	1.22	1.50E-02	9.30	9.30
Enoxacin (ENO)	0.72	0.96	1.54E-02	6.26	5.02
Levofloxacin (LEV)	0.38	1.81	8.83E-03	13.94	12.12
Lomefloxacin (LOM)	1.12	0.62	2.23E-02	4.26	2.75
Norfloxacin (NOR)	0.69	1.00	2.63E-02	5.71	5.60
Tylosin A (TYL A)	0.69	1.00	1.50E-01	4.01	-
Tylosin B (TYL B)	0.89	0.78	1.94E-01	3.11	-
Sulfamethoxazol (SMX)	0.23	3.01	1.36E-02	4.95	-
Tetracyclin (TET)	0.30	2.28	2.06E-02	6.59	11.47

Die Antibiotika weisen Geschwindigkeitskonstanten zwischen 0.2 und 1.2 min<sup>-1</sup> auf und können während einer Bestrahlungsdauer von 20 min aus dem Wasser eliminiert werden. Aufgrund der beobachteten Geschwindigkeitskonstanten konnten keine Schlussfolgerungen gezogen werden, dass eine bestimmte Klasse von Antibiotika durch UVC-Bestrahlung schneller abgebaut wird als eine andere.

Bei der Betrachtung von  $t_{act}$  fällt auf, dass eine Bestrahlungszeit von 14 Minuten ausreicht, um die Aktivität und damit die potentielle Ökotoxizität jedes Antibiotikums zu verringern, da bei den beiden Mikroorganismen *B. subtilis* und *P. fluorescens* keine hemmende Wirkung mehr beobachtet werden kann.

Mittels HPLC-MS-Messungen konnten Hauptabbau- bzw. Transformationsprodukte identifiziert werden. Diese sind in Abb.1 dargestellt. Diese Abbauprodukte wurden für die QSAR-Analyse verwendet. Da der ermittelte MHK-Wert für die bestrahlten Lösungen einen Summenparameter darstellt, sollen die dargestellten Strukturen eine Vorstellung von potenziell ökotoxikologisch aktiven Bestandteilen vermitteln. Während des Abbauprozesses können sich auch andere Produkte gebildet haben. Da ihre Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze blieb, konnten diese Substanzen nicht identifiziert werden und blieben hinsichtlich strukturbasierter Vorhersagen von Ökotoxizitätsuntersuchungen ausgeschlossen. Die Bestimmung der MHK-Werte während der UV-Bestrahlung wird jedoch ein ganzheitlicheres Bild liefern und dazu beitragen, die Ökotoxizität zu bewerten.

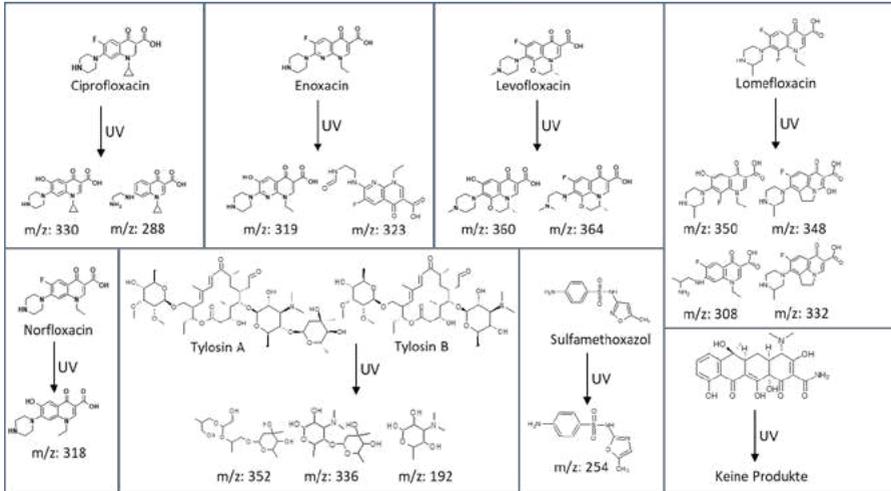


Abb. 1 identifizierte photoinduzierte Abbau- bzw. Transformationsprodukte [7]

Um zu prüfen, ob Photoabbau- oder Transformationsprodukte der derzeit untersuchten Antibiotika toxischer sind als ihre Ausgangsverbindungen, werden die MHK-Werte von Lösungen gegen *P. fluorescens* und *B. subtilis* bestimmt. Die Lösungen wurden verschiedenen Bestrahlungszeiten ausgesetzt und der entsprechende MHK-Wert in Tabelle 2 zusammengefasst. Die beobachteten MHK-Werte geben die antibiotische Gesamtaktivität aller Abbauprodukte und der Stammverbindung in Lösung wieder.

Tabelle 2 MHK-Werte von wässrigen Lösungen von CIP, ENO, LEV, LOM, NOR, TYL, SMX und TET, gegen *P. fluorescens* und *B. subtilis* bei zunehmenden Bestrahlungszeiten [8]

Sub- stanz	Mikroorganismus	MHK in mg L <sup>-1</sup> nach aufsteigender Bestrahlungszeit t /min					
		0	1	2.5	3.5	5	7
CIP	<i>P. fluorescens</i>	0.16	0.16	0.64	0.64	> 0.64	> 0.64
	<i>B. subtilis</i>	0.08	0.16	0.64	0.64	> 0.64	> 0.64
ENO	<i>P. fluorescens</i>	0.64	1.27	2.55	5.1	5.1	> 5.10
	<i>B. subtilis</i>	0.32	1.27	2.55	2.55	> 2.55	> 2.55
LEV	<i>P. fluorescens</i>	0.37	0.37	0.74	0.74	> 0.74	> 0.74
	<i>B. subtilis</i>	< 0.05	0.09	0.09	0.09	0.37	0.74
LOM	<i>P. fluorescens</i>	< 0.55	1.11	4.44	8.88	> 8.88	> 8.88
	<i>B. subtilis</i>	0.28	0.55	2.22	> 2.22	> 2.22	> 2.22
NOR	<i>P. fluorescens</i>	0.65	1.3	2.6	5.2	> 5.20	> 5.20
	<i>B. subtilis</i>	0.65	0.65	2.6	5.2	> 5.20	> 5.20
TYL <sup>a)</sup>	<i>B. subtilis</i>	1.05	2.1	4.2	> 8.41	> 8.41	> 8.41
SMX	<i>P. fluorescens</i>	36.53	36.53	> 73.06	> 73.06	> 73.06	> 73.06
	<i>B. subtilis</i>	18.26	18.26	36.53	36.53	73.06	> 73.06

TET	<i>P. fluorescens</i>	0.58	1.15	1.15	2.3	2.3	4.61
	<i>B. subtilis</i>	2.3	2.3	4.61	4.61	9.22	> 9.22

a) *P. fluorescens* wurde wegen fehlender Aktivität nicht untersucht

Eine Bestrahlungszeit von 5 Minuten mit UVC-Licht reicht aus, um die pharmazeutische Aktivität gegen die beiden Mikroorganismen *P. fluorescens* und *B. subtilis* zu verringern. Dies ist daran zu erkennen, dass die MHK-Werte der Lösung den MHK-Wert des Wirkstoffs überschreiten. Da der MHK-Wert einen Summenparameter darstellt, kann gesagt werden, dass keines der unter diesen Versuchsbedingungen gebildeten Abbauprodukte oder Phototransformationsprodukte die antibakterielle Aktivität des Ausgangsarzneimittels übertraf.

Die Ergebnisse der QSAR-Analyse sind in Tabelle 3 dargestellt. Im Vergleich zu der Ausgangsverbindung wurde bei fast allen Produkten eine geringere Ökotoxizität für Fathead minnow, Actinopterygii und Branchiopoda vorhergesagt. Eine Ausnahme wurde nur für ein Abbauprodukt von ENO gefunden. Das Photoprodukt wurde gegenüber Actinopterygii als toxischer beurteilt als ENO selbst.

Table 3 QSAR-Analyse von Photodegradationsprodukten mit Fathead minnow, Actinopterygii und Branchiopoda als Zielspezies. Angezeigt werden sicherere (kursiv) und gefährlichere (fettgedruckt) Produkte [8].

Compound	Fathead minnow LC <sub>50</sub> (96 h) /mg/L	Actinopterygii LC <sub>50</sub> (96 h) /mg/L	Branchiopoda LC <sub>50</sub> (48 h) /mg/L
CIP	5.22E2	1.13E4	1.24E3
330.14	1.51E3	3.65E4	3.18E3
288.16	-	-	-
ENO	5.99E2	2.26E7	1.61E3
319.14	1.83E3	1.59E8	4.13E3
323.12	-	<b>9.87E6</b>	-
LEV	7.31E2	2.48E7	1.79E3
360.16	2.95E3	5.63E8	7.93E3
364.13	9.53E2	5.85E7	2.66E3
LOM	3.15E2	8.70E3	8.52E2
350.15	-	2.42E4	2.19E3
348.16	-	6.73E4	5.63E3
332.16	5.00E2	1.07E7	1.14E3
308.10	1.54E3	1.15E8	3.46E3
NOR	7.85E2	2.02E4	1.84E3
318.14	1.81E3	5.62E4	4.73E3

TYL A	7.19E2	7.41E2	4.26E2
TYL B	4.99E2	4.75E2	2.64E2
352.20	4.39E4	2.24E5	-
336.20	2.69E5	5.74E4	-
192.12	1.58E5	2.46E4	1.78E3
SMX	2.61E2	9.24E2	2.05E3
254.06	2.61E2	9.24E2	2.05E3
TET	4.43E3	1.32E4	1.06E3

## Zusammenfassung

Wie in dieser Studie dargestellt, können Antibiotika wie CIP, ENO, LEV, LOM, NOR, TYL, SMX und TET durch UVC-Bestrahlung abgebaut werden. Anhand der QSAR-Analyse wurde gezeigt, dass die identifizierten Transformations- bzw. Abbauprodukte eine geringere antibakterielle Aktivität besitzen als ihre Ausgangssubstanz. Darüber hinaus konnte eine Kombination der Geschwindigkeitskonstanten mit den MHK-Werten gegen *P. fluorescens* und *B. subtilis* gezeigt werden, dass eine Bestrahlungszeit von ca. 14 min ausreicht, um die Aktivität der Antibiotika gegen die beiden Mikroorganismen zu eliminieren. Auch die MHK-Bestimmung der bestrahlten Lösungen zeigte, dass Aktivität nach 7 Minuten Bestrahlung ausgeschlossen werden kann. Für eine mögliche zusätzliche Reinigungsstufe eignet sich die UVC-Bestrahlung zur Eliminierung Pharmazeutika. Eine Toxizität konnte durch dieses Verfahren nicht nachgewiesen werden.

## Referenzen

- [1] Voigt M., Gold A., Blaesing C., Hoelscher T., Jaeger M. *Anal Sci* **2017**;49:36–41.
- [2] Kümmerer K. *Chemosphere* **2009**;75:417–34.
- [3] Fatta-Kassinos D, Vasquez MI, Kümmerer K. *Chemosphere* **2011**;85:693–709.
- [4] Hatchard, C. G., Parker C. **1956**;235:518–536.
- [5] Voigt, M., Jaeger, M. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* **2017**;5: 131–140.
- [6] Kochany, J., Bolton, J.R. *The Journal of Physical Chemistry* **1991**;95:5116–5120.
- [7] Wiegand, I., K. Hilpert, and R. E. Hancock. *Nature Protocols* **2008**;3:163–175.
- [8] Voigt M., Bartels I., Nickisch-Hartfiel A., Jaeger M. *Toxicological & Environmental Chemistry* **2019**, in press

## **Experimentelle Bestimmung und Modellierung von passivem, membranbasiertem Sauerstoff- und Ozonintrag in eine Grundwasserströmung zur in-situ Sanierung**

E. Bein\*, München/D, J. E. Drewes\*, München/D, U. Hübner\*, München/D

\*Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft, Technische Universität München,  
Am Coulombwall 3, 85748 Garching/D, Email: [emil.bein@tum.de](mailto:emil.bein@tum.de)

### **Einleitung**

Die Kontamination von Grundwasser stellt in vielen Ländern – trotz langjähriger Bekanntheit der Problematik und einiger Sanierungsbemühungen – weiterhin eine große Gefahr für die Umwelt und die Zukunftssicherheit der Wasserversorgung dar. Eine der am häufigsten vorgefundenen Schadstoffgruppen sind die monozyklischen, aromatischen BTEX (Benzol, Toluol, Ethylbenzol, o-, m- und p-Xylol), die hochgradig toxisch sind und neben Tankstellenleckage auch durch „Fracking“ (Hydraulic Fracturing), eine neuartige Öl- und Gasförderungsmethode, in die Umwelt gelangen <sup>[1]</sup>. Im Superfund Remedy Report 2017 der US-amerikanischen Umweltbehörde (USEPA) wurden BTEX bei 38% der insgesamt 1056 Schadensfälle vorgefunden <sup>[2]</sup>. Auf der Prioritätenliste der USEPA aus dem Jahre 2010 sind 59% der gelisteten Standorte mit Benzol und 60% mit Toluol belastet <sup>[3]</sup>. Auch in Deutschland gibt es zahlreiche dokumentierte Schadensfälle <sup>[4]</sup>. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, effektive und kostengünstige Sanierungsstrategien weiterzuentwickeln.

Der direkte Eintrag von Elektronenakzeptoren zur chemischen Oxidation in den Grundwasserleiter stellt dabei eine vielversprechende Gruppe von Behandlungsmethoden dar. Ein Oxidationsmittel, das explizit zur Entfernung von BTEX verwendet wird, ist Ozon <sup>[5]</sup>. Die aromatischen Ringe werden durch Hydroxyl-Radikale, die sich aus der Reaktion von Ozon mit Hydroxid-Anionen oder anderen Inhaltsstoffen des Wassers oder Bodens bilden, aufgebrochen und die entstehenden aliphatischen Produkte, z.B. Carbonsäuren, können anschließend biologisch abgebaut werden. Da Ozon sehr reaktiv ist und daher schnell in der gesättigten Zone gezehrt wird, ist eine effektive Verteilung des Gases über den kontaminierten Querschnitt ein kritischer Faktor für den Erfolg der Behandlung. Alternativ zu den Blasendiffusoren, die standardmäßig eingesetzt werden, stellt der Einsatz von hydrophoben gaspermeablen und porösen Membranen für den Gaseintrag eine vielversprechende Alternative dar, die bereits für Sauerstoff <sup>[6]</sup> und Wasserstoff <sup>[7]</sup> im Feld getestet wurde. Die Grundlagen des blasenlosen Ozonintrages sind Gegenstand einiger Studien, die verschiedene Aufgabenstellungen

der Wasser- und Abwasserbehandlung abdecken [8]. Die Anwendung für die in-situ Grundwassersanierung wurde bislang jedoch nicht thematisiert.

Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung eines Verfahrens zur in-situ Behandlung von BTEX Schadensfällen mittels Eintrag von Ozon über gaspermeable Membranen. In diesem Beitrag werden erste Messungen des Ozon- und Sauerstoffeintrags in Grundwasser über dünnwandige Silikonmembranen und deren Modellierung vorgestellt. Auf Basis bestehender Massentransfermodelle ist zu erwarten, dass der Massentransfer von Ozon und Sauerstoff bei kriechendem Wasserfluss zwar sehr ähnlich ist, jedoch müssen bei der Auslegung eines realen Sanierungssystems beide Gase sehr unterschiedlich gehandhabt werden.

## Material und Methoden

### *Theoretischer Ansatz zur Beschreibung des Massentransfers*

Der Transfer eines Gases durch eine Membran in eine Flüssigphase wird in der Regel durch das Konzept des Massentransfers beschrieben, bei dem sich der Fluss durch die Membran in  $\text{mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  berechnet zu

$$J = K \cdot \Delta c \quad 1$$

mit dem Massentransferkoeffizienten  $K$  in  $\text{m}/\text{s}$ , und der charakteristischen Konzentrationsdifferenz  $\Delta c$  in  $\text{mg}/\text{m}^3$ . Diese kann als logarithmisches Mittel wie folgt beschrieben werden [9]:

$$\Delta c = \frac{c_{\text{sat},\text{in}} - c_{\text{sat},\text{out}}}{\ln\left(\frac{c_{\text{sat},\text{in}} - c_l}{c_{\text{sat},\text{out}} - c_l}\right)} \quad 2$$

Der Ansatz beinhaltet die Sättigungskonzentration des Gases in der Flüssigphase am Gaseinfluss  $c_{\text{sat},\text{in}}$ , am Gasausfluss  $c_{\text{sat},\text{out}}$ , die Konzentration in der durchmischten Flüssigphase  $c_l$  (hier der Mittelwert der gelösten Gaskonzentration am Ein- und Auslass  $c_{l,\text{in}}$  und  $c_{l,\text{out}}$ ) und ist für den Fall einer Querströmung durch einen Kontaktbereich mit der Membran angepasst. In einem Laborversuch mit Durchflussreaktor lassen sich verschiedene Massenbilanzen bilden, die kombiniert eine präzise Ermittlung des tatsächlichen Massentransfers ermöglichen und kürzlich von Orgill et al. (2019) vorgeschlagen wurden [9]:

$$V_l \cdot \frac{dc}{dt} = Q_l \cdot c_{l,\text{in}} - Q_l \cdot c_{l,\text{out}} + K \cdot A_{\text{mem}} \cdot \Delta c \quad 3$$

$$V_l \cdot \frac{dc}{dt} = Q_g \cdot c_{g,in} - Q_g \cdot c_{g,out} - Q_l \cdot (c_{l,out} - c_{l,in}) \quad 4$$

$$V_l \cdot \frac{dc}{dt} = Q_g \cdot c_{g,in} - Q_g \cdot c_{g,out} - K \cdot A_{mem} \cdot \Delta c \quad 5$$

Die Gleichungen beinhalten das Reaktorvolumen  $V_l$ , den Durchfluss der Flüssigkeit  $Q_l$ , die Gaskonzentration in der Gasphase  $c_{g,in}$  und  $c_{g,out}$ , der Gasflussrate  $Q_g$  sowie der Membranoberfläche  $A_{mem}$ . Bei stationären Bedingungen entfällt der Term auf der linken Seite, da  $\frac{dc}{dt} = 0$  gilt. Dieser modifizierte Ansatz berücksichtigt die Variation der Konzentration und ist daher für reale Anwendungen der Membran-Ozonierung, bei denen eine Konzentrationsdifferenz auf der Gas-Seite nicht vernachlässigt werden kann, gut geeignet.

*Experimentelle Bestimmung des Massentransfers*

Der Versuchsaufbau zur Bestimmung des Massentransfers ist in Abbildung 1 dargestellt. Der Gaseintrag wird mit einer PDMS-Membran (ID = 2 mm, AD = 3,2 mm, l = 1,5 m, Dow Silastic) getestet, die in ein Edelmetallgitter in den Reaktor gewoben wurde.

Der Massentransferkoeffizient wird jeweils in einem Durchflussexperiment bei niedrigen Fließgeschwindigkeiten des Wassers ( $Re < 1$ ) bestimmt. Die  $O_2$ -Konzentration wird in der Flüssigphase, Ozon zusätzlich in der Gasphase gemessen. Nachdem sich ein stabiler Wert (Abweichungen kleiner als 10%) eingestellt hat, wird die Konzentration des in Flüssigkeit gelösten Gases über fünf Minuten minütlich gemessen und zur weiteren

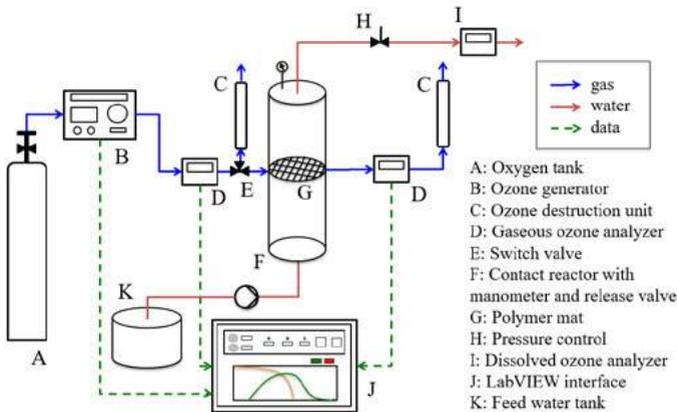


Abbildung 1: Experimenteller Aufbau

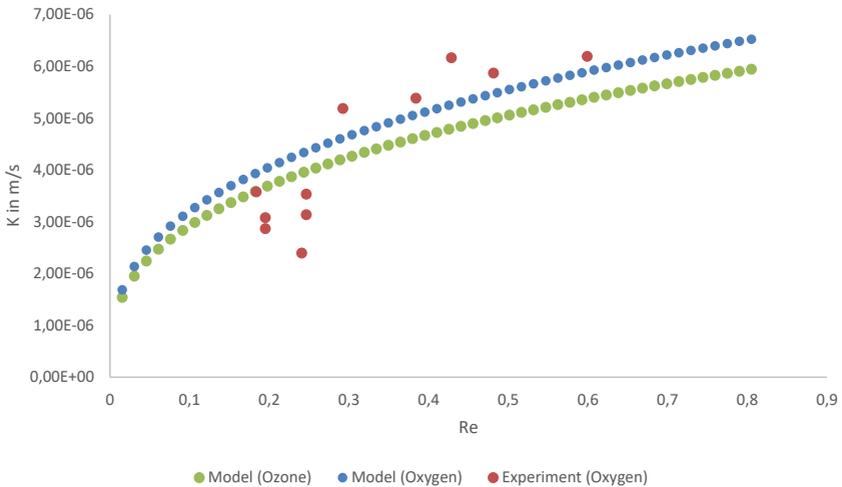
Berechnung gemittelt. Der gelöste Sauerstoff wird mit mobilen Messgeräten (Fibox 4 trace, PreSens GmbH, Deutschland) gemessen, während die gelöste Ozonkonzentration über die Indigo-Methode ermittelt wird <sup>[10]</sup>. Der Durchfluss  $Q_l$  wird volumetrisch in einem Messzylinder und der Gasfluss  $Q_g$  kalorimetrisch über den Ozogenerator gemessen.  $c_{g,out}$  und somit auch  $c_{sat,out}$  können mit den gemessenen  $c_{l,in}$  und  $c_{l,out}$  durch Gleichung 4 bestimmt werden. Damit ergibt sich der exakte Massentransferkoeffizient mithilfe von Gleichung 3. Bei Ozon erfolgt eine zusätzliche Validierung über die gemessenen Gaskonzentrationen und Gleichung 5. Die Temperatur des Wassers wird nach jedem Experiment bestimmt. Die gemessenen Daten werden mit der dimensionslosen Korrelation aus der Literatur verglichen (Gleichung 6) <sup>[11]</sup>:

$$Sh = 1,38Re^{0,34}Sc^{0,33} \quad 6$$

Dabei ist die Sherwood-Zahl das Produkt aus Massentransferkoeffizient und äußerem Durchmesser des Membranschlauches, geteilt durch den Diffusionskoeffizienten des Gases im Wasser, die Reynolds-Zahl das Produkt von Schlauchdurchmesser und Fließgeschwindigkeit, geteilt durch die kinematische Viskosität und die Schmidt-Zahl ist der Quotient von kinematischer Viskosität und Diffusionskoeffizient des Gases im Wasser (in diesem Fall konstant). Mit den gegebenen Daten kann der Massentransferkoeffizient aus der Korrelation berechnet werden.

## Ergebnisse

Die gemessenen Massentransferkoeffizienten für den Sauerstofftransport reichen von  $2,39 - 6,19 \cdot 10^{-5}$  m/s bei einer Reynolds-Zahl von  $0,19 - 0,6$ . Erste Ergebnisse der Vorversuche mit Sauerstoff zeigen, dass der Massentransferkoeffizient mit steigender Fließgeschwindigkeit größer wird (Abbildung 2). Dies ist der Fall, obwohl die Reynolds-Zahl in diesem begrenzten Datensatz vergleichsweise wenig variiert wurde und ist im Einklang mit vorherigen Studien <sup>[12]</sup>. Fang et al. (2002) konnten zeigen, dass sich diese Abhängigkeit für deutlich langsamere Fließgeschwindigkeiten bei Reynolds-Zahlen von  $4 \cdot 10^{-4} - 6 \cdot 10^{-1}$  ebenfalls herstellen lässt <sup>[13]</sup>. Die hier gewählte Modellkorrelation wurde in Abbildung 2 für Sauerstoff und auch zum Vergleich für Ozon dargestellt. Der Unterschied ergibt sich maßgeblich durch eine niedrigere Wasserlöslichkeit und Diffusion des Ozons. Nichtsdestotrotz liegen beide Modellreihen dicht beieinander. Obwohl die verwendete Korrelation für andere Fließgeschwindigkeiten (ca.  $0,5 < Re < 1000$ ) und mit porösen PP Hohlfasermembranen erstellt wurde, befinden sich die Ergebnisse in derselben Größenordnung. Dies zeigt, dass der Transfer an der Gas-Flüssig-Grenzschicht der limitierende Faktor bei niedrigen Fließgeschwindigkeiten ist.



**Abbildung 2: Experimenteller Massentransfer von Sauerstoff durch Silikon in Wasser in Abhängigkeit von der Reynolds-Zahl, verglichen mit einer dimensionslosen Modellkorrelation aus Yang und Cussler (1986)**

### Zusammenfassung und Ausblick

Ein verbessertes Verfahren zur Bestimmung des Massentransferkoeffizienten als Design-Parameter wurde vorgestellt und mit Sauerstofftransport durch eine PDMS-Membran demonstriert. Dies kann als Grundlage für die Charakterisierung von Ozon-Massentransfer bei niedrigen Fließgeschwindigkeiten dienen. Dabei müssen jedoch weitere wichtige Parameter, unter anderem bestimmte Aspekte der Wasserzusammensetzung, berücksichtigt werden, da diese enorme Auswirkungen auf den Massentransfer haben können [14].

### Anmerkungen

Die vorgestellten Untersuchungen sind Bestandteil des Projektes „ISCO“ („In-situ Chemical Oxidation (ISCO) by Passive Dissolution of Ozone Gas Using Gas-Permeable Membranes for Remediation of Petroleum-Contaminated Groundwater“), das im Rahmen der Deutsch-israelischen Wassertechnologie-Kooperation vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert wird.

### Literatur

- [1] S. A. Gross, H. J. Avens, A. M. Banducci, J. Sahmel, J. M. Panko, B. E. Tvermoes, Journal of the Air & Waste Management Association 2013, 63, S. 424–432.

- [2] United States Environmental Protection Agency, Superfund Remedy Report. 15th Edition, 2017.
- [3] R. L. Siegrist, M. Crimi, T. J. Simpkin, In Situ Chemical Oxidation for Groundwater Remediation, Springer Science+Business Media LLC, New York, NY, 2011.
- [4] Staatliches Amt für Landwirtschaft und Umwelt Vorpommern, "Sanierungsmaßnahmen für Altlaststandorte", zu finden unter <http://www.stalunv.de/vp/Themen/Wasser-und-Boden/Sanierungsma%C3%9Fnahmen-f%C3%BCr-Altlaststandorte/>, 2019, zugegriffen: 26. November 2019.
- [5] M. A. Nimmer, B. D. Wayner, A. Allen Morr, Environmental Progress 2000, 19, S. 183–196.
- [6] T. L. Gibson, A. S. Abdul, P. D. Chalmer, Groundwater Monitoring & Remediation 1998, 18, S. 93–104.
- [7] B. P. Chaplin, M. R. Schnobrich, M. A. Widdowson, M. J. Semmens, P. J. Novak, J. Environ. Eng. 2009, 135, S. 666–676.
- [8] a) S. K. Stylianou, I. A. Katsoyiannis, M. Mitrakas, A. I. Zouboulis, Journal of Hazardous Materials 2018, 358, S. 129–135; b) J. Phattaranawik, T. Leiknes, W. Pronk, Journal of Membrane Science 2005, 247, S. 153–167; c) G. Zoumpouli, R. Baker, C. Taylor, M. Chippendale, C. Smithers, S. Xian, D. Mattia, Y. Chew, J. Wenk, Water 2018, 10, S. 1416; d) M. Kukuzaki, K. Fujimoto, S. Kai, K. Ohe, T. Oshima, Y. Baba, Separation and Purification Technology 2010, 72, S. 347–356.
- [9] J. J. Orgill, M. C. Abboud, H. K. Atiyeh, M. Devarapalli, X. Sun, R. S. Lewis, Bioresource technology 2019, 276, S. 1–7.
- [10] H. Bader, Ozone: Science & Engineering 1982, 4, S. 169–176.
- [11] M.-C. Yang, E. L. Cussler, AIChE J. 1986, 32, S. 1910–1916.
- [12] P. Côté, J.-L. Bersillon, A. Huyard, Journal of Membrane Science 1989, 47, S. 91–106.
- [13] Y. Fang, R. M. Hozalski, L. W. Clapp, P. J. Novak, M. J. Semmens, Water research 2002, 36, S. 3533–3542.
- [14] T. Leiknes, J. Phattaranawik, M. Boller, U. V. Gunten, W. Pronk, Chemical Engineering Journal 2005, 111, S. 53–61.

## Mobilität natürlicher Toxine – das komplexe Zusammenspiel von Interaktionen in der Sorption multifunktionaler, ionisierbarer organischer Chemikalien

C. D. Schönsee, Zürich/CH, T. D. Bucheli, Zürich/CH

Carina D. Schönsee, Agroscope, Umweltanalytik, Reckenholzstrasse 191, Zürich/CH

### Einführung

Eine stets steigende Zahl anthropogener Chemikalien mit Relevanz für Wasserqualität liegen unter Umweltbedingungen ionisiert vor.<sup>[1,2]</sup> Das Hauptkriterium für Mobilität ist ein Verteilungskoeffizient zwischen organischen Kohlenstoff und Wasser ( $K_{oc}$ , pH abhängig  $D_{oc}$ ) kleiner als vier ( $\log K_{oc}/D_{oc} < 4$ ).<sup>[1]</sup> Eine bisher im Bezug auf Wasserqualität grösstenteils vernachlässigte Gruppe organischer Substanzen sind natürliche Toxine, wie beispielsweise von Pflanzen produzierte toxische Sekundärmetabolite (Phytotoxine).<sup>[3]</sup> Basierend auf *in silico* Vorhersagen von Substanzeigenschaften erfüllen mehr als ein Drittel aller Phytotoxine die Kriterien für Persistenz und Mobilität in der aquatischen Umwelt und stellen somit eine grosse, hoch diverse Gruppe von potentiellen Spurenstoffen mit negativem Einfluss auf Wasserqualität dar.<sup>[4,1]</sup> Strukturell handelt es sich bei Phytotoxinen um oftmals multifunktionale, ionisierbare Substanzen deren spezifisches Sorptionsverhalten allgemein von wachsendem Interesse ist. Insbesondere da beispielsweise Pestizide, Antibiotika oder Pharmazeutika diese Eigenschaften ebenfalls aufweisen. Die Aufklärung des Sorptionsmechanismus solcher Substanzen ist essentiell für zuverlässige Umweltverträglichkeitsbewertung. Denn traditionell verwendete Sorptionsmodelle zur Evaluierung von  $\log K_{oc}/D_{oc}$ , wie zum Beispiel KOCWIN in EPISUITE, zeigen grosse Einschränkungen in der Anwendung für strukturell komplexe, ionisierbare Chemikalien. Spezifische polare und ionische Wechselwirkungen werden oft vernachlässigt und das Wechselspiel verschiedener Interaktionen sowie die Konkurrenz um Sorptionsstellen durch anorganische Ionen häufig vollständig ignoriert.<sup>[4,2]</sup> Aus diesem Grund ist die experimentelle Bestimmung von Sorptionskoeffizienten, wie  $\log K_{oc}/D_{oc}$  als primären Mobilitätsparameter, ein kritischer Schritt in der Abschätzung von Exposition und Risiko von natürlichen Toxinen und anderen ionisierbaren Chemikalien in der aquatischen Umwelt. Experimentelle Daten können zunächst für die direkte Abschätzung von Mobilität genutzt werden, zusätzlich aber auch um verbesserte Modelle für das Sorptionsverhalten multifunktionaler, ionisierbarer Chemikalien zu entwickeln.

### Methodik

Miniaturisierte Säulensorptionsversuche stellen eine vielversprechende Alternative zu traditionellen Batch Sorptionsversuchen dar, insbesondere zur Untersuchung des Sorptionsverhalten grosser, diverser Substanzsets unter wechselnden experimentellen Bedingungen.<sup>[5,6]</sup> Zur Bestimmung von  $K_{oc}/D_{oc}$  wurde in dieser Studie daher eine in der Literatur beschriebene Methode zum Packen von Säulen adaptiert.<sup>[6]</sup> Leere HPLC Säulen wurden mit einem Mix aus Pahokee Peat (PP) als organischem Referenzmaterial und Siliciumcarbid (SiC) als inertem Trägermaterial in verschiedenen Verhältnissen (1 - 10% PP) gepackt. Alle Analysen wurden mit einem HPLC System mit DAD Detektor bei einer Flussrate von 0.1 mL/min unter voll wässrigen Bedingungen durchgeführt. Die Methode wurde bezüglich ihrer Anwendbarkeit systematisch evaluiert und sodann

genutzt, um das Sorptionsverhalten natürlicher Toxine quantitativ unter dem wechselnden Einfluss verschiedener Faktoren zu evaluieren. Die Zusammensetzung der mobilen Phase wurde bezüglich pH (pH 3, 4.5 und 6), Ionentyp ( $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Na}^+$ ) und Ionenstärke (1, 15, 100 mM) variiert, um detaillierte mechanistische Einsichten in die Sorptionsprozesse multifunktionaler Substanzen zu gewinnen. Das untersuchte Set natürlicher Toxine umfasste bereits untersuchte Schimmelpilzgifte (Mykotoxine) als Referenzsubstanzen<sup>[5]</sup> sowie über 90 repräsentative Toxine der von Günthardt *et al.* priorisierten Phytotoxinklassen.<sup>[4]</sup>

### Ergebnisse & Diskussion

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass miniaturisierte Säulensorptionsversuche zuverlässige, reproduzierbare Ergebnisse liefern. Die Packprozedur führt zu stabilen Säulen (> 1000 Injektionen) mit unter gleichen Analysebedingungen reproduzierbaren Peakformen und Retentionszeiten sowie quantitativer Wiederfindung (86-112%). Damit weisen  $\log K_{oc}/D_{oc}$  Werte im Vergleich zwischen verschiedenen Säulen einen mittleren Unterschied von < 3% auf und Literaturwerte für Mykotoxine können mit < 5% Abweichung reproduziert werden. Durch zuvor festgesetzte Qualitätskriterien bezüglich Retention eines Analyten im Vergleich zum nicht retardierten Tracer oder der jeweiligen Signalthöhe, ergibt sich ein allgemeiner quantitativer Anwendungsbereich von  $0.7 < \log K_{oc}/D_{oc} < 4$ . Die Gesamtanalysezeiten variieren von 10 Minuten für Analyten mit  $\log K_{oc}/D_{oc} < 1$  bis maximal 90 Minuten für die am stärksten sorbierenden Substanzen.

Am Beispiel von zwei Phytotoxinen der Alkaloid Klasse, dem Pyrrolizidinalkaloid Seneciocin (SEN) und dem Indolalkaloid Yohimbin (YOH), werden erste Effekte des komplexen Zusammenspiels verschiedener Interaktionen bei der Sorption multifunktionaler Chemikalien verdeutlicht (Abbildung 1). Generell sind für beide polaren Phytotoxine van der Waals Wechselwirkungen zwischen den unpolaren Untereinheiten des Moleküls und des Sorbens sowie Wasserstoffbrückenbildung über die Hydroxylgruppen mit einem  $\text{pK}_a > 9$  zu erwarten. Solche Wechselwirkungen treten für alle polaren Sorbate auf und werden allgemein als Typ I Interaktionen eingestuft.<sup>[2]</sup> Beide Analyten liegen zudem unter allen Analysebedingungen nahezu vollständig protoniert vor, während PP als Sorbens mit steigendem pH durch die Deprotonierung von funktionellen Gruppen eine immer grössere negative Ladung aufweist. Demnach wäre anzunehmen, dass die Kationenaustauschkapazität mit steigendem pH ebenfalls grösser wird und die Sorption kationischer Analyten demnach aufgrund elektrostatischer Wechselwirkung verstärkt bei höheren pH auftritt. Da jedoch  $\text{Ca}^{2+}$  eine sehr hohe Affinität zu organischem Material aufweist,<sup>[7]</sup> schirmt das anorganische Kation zum einen die geladenen Sorptionsstellen ab, zum anderen aber auch die Oberfläche im Allgemeinen. Bei kleineren pH-Werten ist dieser Effekt kleiner, da aufgrund geringerer negativer Ladung der Oberfläche weniger  $\text{Ca}^{2+}$  mit dem Sorbens assoziiert vorliegt. Für den Grossteil der natürlichen Toxine fällt daher die Sorptionsaffinität, ausgedrückt durch den  $D_{oc}$ , zunächst mit steigendem pH ab, wie zu sehen für SEN (Abbildung 1). Ausnahmen wie YOH zeigen aber signifikant verstärkte Sorption bei pH 6 was dem zuvor beschriebenen Abschirmungseffekt durch  $\text{Ca}^{2+}$  widerspricht (Abbildung 1).

Eine Erhöhung der Ionenstärke des Eluenten von 15 auf 100 mM  $\text{Ca}^{2+}$  bei konstantem pH führt für beide Analyten zu einer deutlichen Verringerung des  $D_{oc}$  (Abbildung 1). Das deutet darauf hin, dass elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den protonierten Aminogruppen der Analyten und deprotonierten Oberflächengruppen des organischen

Materials trotz allem treibende Kraft bei der Sorption sind. Jedoch werden diese durch weitere Wechselwirkungen beeinflusst wie bereits der pH Effekt andeutet. Wird  $\text{Ca}^{2+}$  durch  $\text{Na}^+$  in Lösung ausgetauscht, sorbiert SEN verstärkt und YOH erfährt eine deutliche Verringerung der Sorptionsaffinität (Abbildung 1). Da  $\text{Na}^+$  im Vergleich zu  $\text{Ca}^{2+}$  eine geringere Affinität zu organischem Material aufweist,<sup>[7]</sup> kann  $\text{Na}^+$  einfacher durch die kationischen Analyten ausgetauscht werden. Ein von Kationenaustausch dominiertes Sorbat wie SEN zeigt dann höhere  $D_{oc}$  Werte. Das konträre Verhalten von YOH kann auf das Zusammenspiel verschiedener Interaktionen zurückgeführt werden. Über als Liganden dienende Hydroxyl- und Estergruppen kann YOH direkte oder ternäre Oberflächenkomplexe (Sorbit- $\text{Ca}^{2+}$ -Sorbens) in Anwesenheit von divalenten Kationen wie  $\text{Ca}^{2+}$  ausbilden. Molekulare Modellierungen weisen darauf hin, dass solche Komplexe möglicherweise durch die Anwesenheit aromatischer Untereinheiten im Sorbat über  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen mit aromatischen Untereinheiten des Sorbens stabilisiert werden können.<sup>[8]</sup> Zusätzlich bewirken diese relativ grossen unpolaren Einheiten des Moleküls, dass dessen Ausschluss aus der wässrigen Phase bevorzugt wird.<sup>[2]</sup> Somit werden für Substanzen wie YOH die höchsten  $D_{oc}$  Werte bei pH 6 und in Anwesenheit von  $\text{Ca}^{2+}$  verzeichnet. Mehr als ein Viertel aller analysierten Phytotoxine zeigen dieses spezifische Verhalten. Die Stabilisierung über aromatische Untereinheiten erklärt, warum der Effekt jedoch nicht bei SEN auftritt, obwohl das Molekül ebenfalls ähnliche funktionelle Gruppen aufweist. Elektrostatische Wechselwirkungen wie Kationenaustausch sowie Oberflächenkomplexierung sind zusätzlich zu substanzspezifischen Faktoren auch direkt abhängig von den Eigenschaften des Sorbens und der Zusammensetzung der wässrigen Umgebungslösung und spielen als Typ II Interaktionen eine dominierende Rolle in der Sorption ionisierter Sorbate.

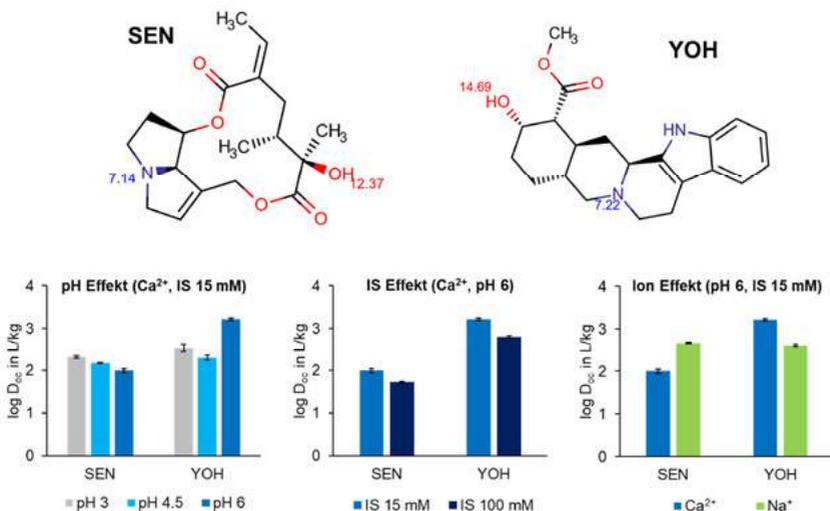


Abbildung 1: Veranschaulichung des Effektes von pH, Ionenstärke (IS) und Ionentyp auf die Sorption der Alkaloide Senecionin (SEN) und Yohimbin (YOH). Für beide Phytotoxine sind pK<sub>a</sub> Werte neben den entsprechenden ionisierbaren Gruppen angegeben. Für die tertiären Aminogruppen gilt der pK<sub>a</sub> für die jeweilige korrespondierende protonierte Form.

Das Zusammenspiel von Typ I und II Interaktionen ist besonders ausgeprägt für unter Umweltbedingungen kationischen Sorbaten und wird aufgrund der Komplexität und Variabilität in Verhaltensmodellen solcher Chemikalien bisher nur unzureichend adressiert.<sup>[2]</sup> Für solche Substanzen vorhergesagte  $K_{oc}$  Werte können selbst nach Korrektur mit Lösungs-pH und  $pK_a$  des jeweiligen Sorbats, deren Verhalten nicht erklären. EPISuite's KOCWIN beispielsweise ist nahezu blind für den Grossteil basischer ionisierbarer Substanzen (KOCWIN  $\log D_{oc} = 0$ , Abbildung 2). Daher wird das ausgedehnte Datenset zum Sorptionsverhalten von über 90 multifunktionalen Phytotoxinen zusammen mit Literaturwerten für anthropogene Chemikalien aktuell zum Aufbau neuer Modelle basierend auf quantitativen Struktur-Wirkungs-Beziehungen (QSAR) genutzt. Das komplexe Zusammenspiel von Interaktionen wird dabei durch Korrekturfaktoren berücksichtigt um das Umweltverhalten realistischer beschreiben zu können.

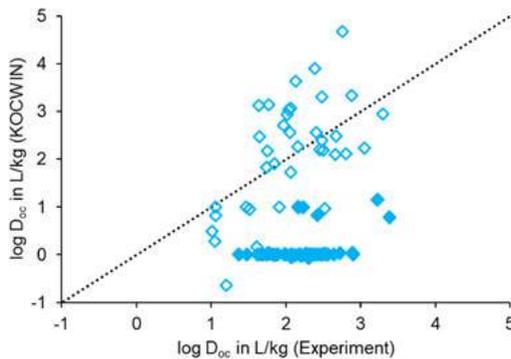


Abbildung 2: Direkte Korrelation von modellierten und experimentellen  $D_{oc}$  Werten für natürliche Toxine. Modellierte  $K_{oc}$  Werte wurden mit dem experimentellen pH von 4.5 und dem  $pK_a$  des jeweiligen Analyten korrigiert. Ausgefüllte Rhomben symbolisieren unter experimentellen Bedingungen protonierte Analyten. Die dargestellte 1:1 Linie symbolisiert Übereinstimmung zwischen Modell und Experiment.

### Schlussfolgerungen

Das aufgeführte Beispiel der natürlichen Toxine zeigt, dass Säulenchromatographie eine zuverlässige Methode für die quantitative Analyse von Sorptionsverhalten multifunktionaler, ionisierbarer Substanzen ist. Die relativ kurze Analysezeit und geringen Materialmengen erlauben systematische Studien verschiedener Einflüsse auf die Sorption. So können detaillierte mechanistische Erkenntnisse gewonnen werden, die eine wichtige Rolle im Verständnis von Transportprozessen dieser Chemikalien in der Umwelt spielen. Die Applikation der Methodik auf andere Sorbentien (z.B. Tonminerale, Aktivkohle) wird zukünftig erlauben, den individuellen Beitrag zur Gesamtmobilität natürlicher Toxine auf dem Weg von der Quelle bis hin zu Wasserressourcen und letztlich zum Konsumenten zu erfassen. Insbesondere Minerale dürften nochmals verstärkt zu Typ II Interaktionen beitragen und somit beispielsweise die Immobilisierung protonierter Substanzen erwirken und zu einer gesteigerten Akkumulation der Substanzen im Boden

führen. Das Zusammenspiel der verschiedenen Interaktionstypen und Sorbens- sowie Lösungseigenschaften dient zudem als Basis für die Entwicklung verbesserter *in silico* Modelle basierend auf strukturellen Eigenschaften von Sorbaten und Sorbentien. Natürliche Toxine können so als Modellsubstanzen für multifunktionale, ionisierbare anthropogene Chemikalien dienen, da sie nicht nur strukturelle Ähnlichkeiten aufweisen, sondern auch eine vergleichbare Mobilität aufweisen (Abbildung 3). Daher können sowohl die experimentelle Methode zur Quantifizierung von  $\log K_{oc}/D_{oc}$  als auch darauf aufbauende verbesserte Modelle zukünftig im Mobilitäts-Screening jeglicher multifunktionaler, ionisierbarer Chemikalien eingesetzt werden und die oftmals gänzlich fehlenden zuverlässigen Daten zur Risikoabschätzung liefern.

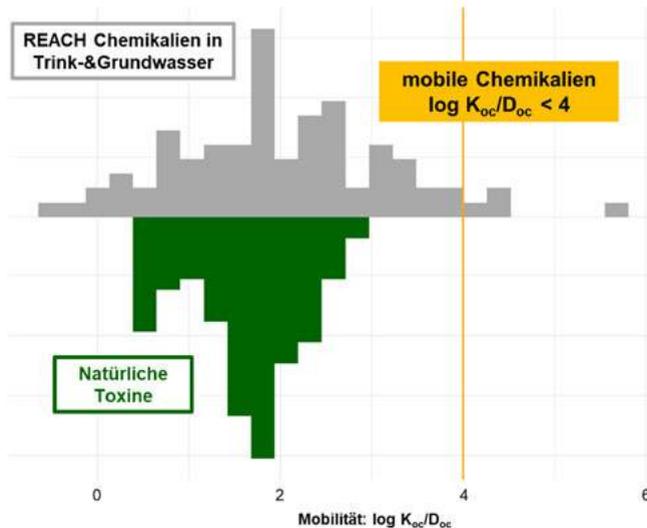


Abbildung 3: Mobilität von in Trink- oder Grundwasser detektierten REACH registrierten Chemikalien (oben) im Vergleich zu natürlichen Toxinen (unten). Mobilität ist charakterisiert durch den kleinsten  $\log K_{oc}/D_{oc}$  im pH Bereich von pH 4-9. Je kleiner  $\log K_{oc}/D_{oc}$  desto mobiler eine Chemikalie. Daten für REACH Chemikalien sind dem Bericht des Umweltbundesamts entnommen,<sup>[1]</sup>  $\log K_{oc}/D_{oc}$  Daten für natürliche Toxine wurden in dieser Studie generiert.

## Literatur

- [1] Neumann, M. und Schliebner, I.; Protecting the sources of our drinking water - A revised proposal for implementing criteria and an assessment procedure to identify Persistent, Mobile and Toxic (PMT) and very Persistent, very Mobile (vPvM) substances registered under REACH. **2017**, Dessau, Deutschland: Umweltbundesamt.
- [2] MacKay, A. A. und Vasudevan, D.; Polyfunctional Ionogenic Compound Sorption: Challenges and New Approaches to Advance Predictive Models. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, **46**, 9209-9223.

- [3] Bucheli, T.D.; 2014. Phytotoxins: environmental micropollutants of concern? *Environ. Sci. Technol.* **2014**, **48**, 13027-33.
- [4] Günthardt, B.F., Hollender, J., Hungerbühler, K., Scheringer, M., Bucheli, T.D.; Comprehensive Toxic Plants-Phytotoxins Database and Its Application in Assessing Aquatic Micropollution Potential. *J. Agric. Food. Chem.* **2018**, **66**, 7577-7588.
- [5] Schenzel, J., Goss, K.U., Schwarzenbach, R.P., Bucheli, T.D., Droge, S.T.; Experimentally determined soil organic matter-water sorption coefficients for different classes of natural toxins and comparison with estimated numbers. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, **46**, 6118-26.
- [6] Metzelder, F. und Schmidt, T.C.; Environmental Conditions Influencing Sorption of Inorganic Anions to Multiwalled Carbon Nanotubes Studied by Column Chromatography. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, **51**, 4928-4935.
- [7] Kalinichev, A.G. und Kirkpatrick, R.J.; Molecular dynamics simulation of cationic complexation with natural organic matter. *Eur. J. Soil Sci.* **2007**, **58**, 909-917.
- [8] Aristilde, L. und Sposito, G.; Complexes of the Antimicrobial Ciproflaxin with Soil, Peat, and Aquatic Humic Substances. *Environ. Toxicol. Chem.* **2013**, **32**, 1467-1478.

**Danksagung** – Dieses Projekt ist Teil des Innovativen Training Netzwerkes (ITN) "Natural Toxins and Drinking Water Quality - From Source to Tap" (NaToxAq) und wird durch die Europäische Union im Rahmen des Forschungs- und Innovationsprogrammes Horizon 2020 unter der Marie Skłodowska-Curie Zuwendungsvereinbarung Nr. 722493 finanziert.

## Natürliche Toxine in Trinkwasserressourcen – neue Erkenntnisse aus dem MSCA ITN NaToxAq

C. D. Schönsee, Zürich/CH, B. Kubíčková, Brno/CZ, M. Schneider, Brno/CZ,  
H.C. Bruun-Hansen, Kopenhagen/DK, T. D. Bucheli, Zürich/CH

Carina D. Schönsee, Agroscope, Umweltanalytik, Reckenholzstrasse 191, Zürich/CH

### Einleitung

Seit 2010 ist der Zugang zu sicherem Trinkwasser ein Menschenrecht.<sup>[1]</sup> Weltweit ist jedoch eine Abnahme der Qualität von Trinkwasserressourcen zu verzeichnen, hervorgerufen durch die zunehmende Präsenz einer komplexen Mischung anthropogener und natürlicher Chemikalien in Spurenkonzentrationen.<sup>[2]</sup> Während das Vorkommen und Verhalten von synthetischen Chemikalien wie Pestiziden und Pharmazeutika im Wasserversorgungskreislauf mehr und mehr untersucht ist, besteht eine grosse Wissenslücke im Bezug auf die hoch diverse Gruppe natürlich toxischer Substanzen.<sup>[3]</sup> Natürliche Toxine umfassen alle von Natur aus toxischen Substanzen die unter anderem von Pflanzen und Cyanobakterien (ugs. auch als Blaualgen bekannt) produziert werden. Es handelt sich hierbei um eine strukturell extrem diverse Gruppe von Chemikalien, die zum Beispiel cyanogene Glycoside, nichtribosomale Peptide, oberflächenaktive Saponine und Alkaloide beinhaltet. Diese Substanzklassen weisen stark variierende physikalisch-chemische Eigenschaften und Toxizitätsprofile auf.<sup>[4-7]</sup> Natürliche Toxine werden grösstenteils noch nicht als Umweltschadstoffe mit negativem Einfluss auf die Wasserqualität angesehen. Da jedoch Studien zu Vorkommen und Verhalten in der Umwelt bisher nur auf wenige Beispiele beschränkt sind (z.B. Formononetin aus Rotklee, Ptaquilosid aus Adlerfarn, Microcystin aus Cyanobakterien), ist eine effektive Risikobewertung schwierig und das Ausmass der durch natürliche Toxine hervorgerufenen Hintergrundtoxizität in aquatischen Ökosystemen noch unbekannt.<sup>[3]</sup>

Das Projekt NaToxAq (<http://natoxaq.eu>) zielt nun darauf ab, einen ganzheitlichen Einblick in die Welt der natürlichen Toxine und deren Rolle als potentielle Spurenschadstoffe in der Umwelt zu gewinnen, um so zum Schutz von Trinkwasserressourcen beizutragen. Zu diesem Zweck kommen in NaToxAq Experten aus Feldern wie chemischer Analytik, Umwelverhalten, Modellierung, Toxikologie und Risikobewertung zusammen. Das multidisziplinäre Konsortium erstreckt sich über 22 Forschungsgruppen von führenden Universitäten, Forschungsinstituten und Wasserversorgern aus sieben europäischen Ländern und den USA.

### Methodik

Die Forschung im Rahmen von NaToxAq ist in vier Bereiche mit unterschiedlichem Fokus unterteilt:

- 1) Neu auftretende natürliche Toxine mit potentielltem Effekt auf die Trinkwasserqualität (Modellierung, Suspect- und Non-Target Screening)
- 2) Emission und Vorkommen von natürlichen Toxinen in Trinkwasserressourcen (Target-/Suspect-Screening, Monitoring)

- 3) Verhalten und Transport von natürlichen Toxinen in aquatischen und terrestrischen Systemen (Sorption, biotische und abiotische Abbauprozesse, Transportmodellierung)

- 4) Trinkwassersicherheit (Toxizität, Risikobewertung, Wasseraufbereitung)

Allen Forschungsbereichen liegen neu entwickelte Methoden zur Probenaufbereitung und Analyse von polaren Substanzen zu Grunde, die durch Modelle unterstützt werden, um die immense Vielfalt natürlicher Toxine abzudecken. Die Effekte von verstärkten Regenfällen, Ausbreitung (toxischer) invasiver Pflanzenarten oder häufigerem Auftreten von Cyanobakterien, allesamt hervorgerufen oder verstärkt durch die globale Klimaveränderung, werden in regelmässigen europaweiten Monitoring Programmen erfasst. *In vitro* Toxizitätstest liefern neue Erkenntnisse zur Relevanz von ausgewählten Toxinklassen. Ziel ist es basierend auf neu gewonnenen Erkenntnissen, Europa bezüglich des Vorkommens von natürlichen Toxinen in Gewässern zu kartieren und Risiken für Einzugsgebiete effizient abzuschätzen. Letztlich fließen alle Ergebnisse in frei zugängliche Datenbanken mit Information zu Vorkommen, Eigenschaften<sup>[6]</sup> und Analytik (z.B. MassBank) natürlicher Toxine ein, um so mit Hilfe von integralem Risikomanagement zum ganzheitlichen Schutz von Trinkwasserressourcen beizutragen.

### Ergebnisse & Diskussion

Eine erste Priorisierung basierend auf modellierten Substanzeigenschaften bezüglich Persistenz und Mobilität terrestrischer natürlicher Toxine (Pflanzentoxine) wurde durchgeführt. Es hat sich herausgestellt, dass vor allem Alkaloide das Potential aufweisen in Gewässern aufzutreten.<sup>[7]</sup> Mehrere Monitoring Studien in NaToxAq haben diese Einschätzung bestätigt: Alkaloide verschiedener Substanzklassen wurden regelmässig in Gewässern in Dänemark, Deutschland, der Schweiz und Spanien detektiert (Abbildung 1).

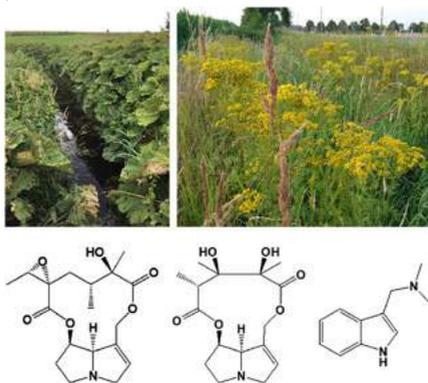


Abbildung 1: Strukturen von neu in Gewässern detektierten Alkaloiden (von links nach rechts): die Pyrrolizidinalkaloide (PA) Jacobin und Monocrotalin sowie das Indolalkaloid Gramin. PAs werden unter anderem von Pestwurz (oben links) und Kreuzkraut (oben rechts) produziert, Gramin von verschiedenen Gräsern sowie Gerste.<sup>[8]</sup>

Die höchsten Konzentrationen wurden in allen Fällen für Pyrrolizidinalkaloide (PA) gemessen, bei welchen es sich um hepatotoxische, potenziell karzinogene Substanzen handelt die bereits als Lebensmittelkontaminanten gut untersucht sind.<sup>[9]</sup> In kleinen

Fließgewässern in Dänemark wurden nach Regenfällen Konzentrationen von über 0.5 µg/L für die Summe von neun PAs gefunden. Selbst in niedrigen Grundwasserbrunnen (~2 m Tiefe) wurden Konzentrationen von bis zu 0.25 µg/L erfasst. In beiden Fällen wuchs in direkter Umgebung Pestwurz (*Petasites hybridus*, Abbildung 1). In anderen Hotspots in denen Kreuzkraut (*Senecio jacobeeae*, Abbildung 1) wuchs, wurden bis zu 11 verschiedene PA in einer Probe mit einer maximalen Konzentration von 270 µg/L für eine Einzelsubstanz (Jacobin, Abbildung 1) nachgewiesen.<sup>[10]</sup> Vorkommen und Konzentration dieser Toxine in Gewässern folgte zum einen saisonal bedingtem Pflanzenwachstum, zum anderen dem Auftreten und der Intensität von Niederschlägen. Modellen zufolge, welche für Ptaquilosid aus Adlferarn kalibriert wurden, können Toxinfrachten in Hotspots nach Starkregenfällen Maximalwerte von bis zu 120 mg/m<sup>2</sup> erreichen, was mittleren Applikationsmengen von konventionellen Pestiziden in Deutschland nahe kommt.<sup>[11]</sup> Im Kontrast zu Pestiziden können diese Frachten jedoch mehrfach regeneriert werden und bei erneuten Niederschlägen wieder und wieder in Böden gelangen und folgend in Gewässer ausgeschwemmt werden. Auch Cyanotoxine wurden regelmässig in Gewässern detektiert mit Konzentrationen die für Microcystin-LR, einem der bekanntesten Cyanotoxine, in jedem Fall unter dem von der WHO festgesetzten Limit von 1 µg/L lagen.<sup>[1]</sup> Jedoch wurden in all diesen Fällen in einem Gewässer mehrere verschiedene Cyanotoxine, auch in Mischung mit Pflanzentoxinen, gefunden, was die Relevanz von bisher noch recht wenig erforschten Mischungseffekten herausstellt. Im Rahmen des Projekts laufende Toxizitätstests sollen erste Erkenntnisse im Hinblick auf Risiken für die Gesundheit des Menschen liefern. Für Einzelsubstanzen durchgeführte Tests zeigen, dass beispielsweise das Cyanotoxin Cylindrospermopsin schon bei umweltrelevanten Konzentrationen toxische Effekte auf Atemwegsepithelzellen aufweist (Abbildung 2)<sup>[12]</sup> oder Retinsäure die Entwicklung von Nervenzellen beeinflusst.

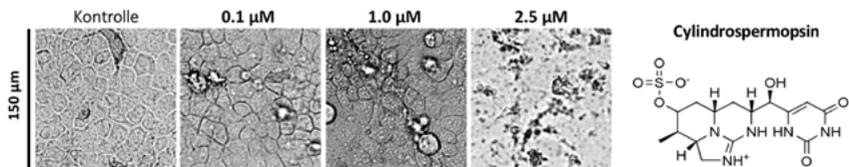


Abbildung 2: Veranschaulichung des dosisabhängigen Effekts von Cylindrospermopsin auf die Entwicklung von Atemwegsepithelzellen in *in-vitro* Tests. Cylindrospermopsin wird durch Cyanobakterien produziert.<sup>[12]</sup>

## Schlussfolgerungen

Erste Ergebnisse des NaToxAq Projektes zeigen, dass natürliche Toxine in Gewässern vorkommen und mehr Substanzen auffindbar sind als die bereits zuvor regelmässig detektierten Beispiele Ptaquilosid, Formononetin und Microcystin. Frachten und Gewässerkonzentrationen von Pflanzentoxinen in Hotspots toxischer Pflanzen können beispielsweise diejenigen von anthropogenen Chemikalien wie Pestiziden und Pharmazeutika überschreiten. Zudem tragen natürliche Toxine zu den immer komplexeren Mischungen toxischer Chemikalien in aquatischen Systemen bei, deren Effekte auf das Ökosystem oder den Menschen noch unzureichend untersucht sind. Dies ist besonders kritisch, da natürliche und synthetische Stoffe nicht oder nur selten in den selben Studien adressiert werden. Das Auftreten von toxischen Cyanobakterienblüten

und die Verbreitung von invasiven Pflanzen wird zudem durch Klimaveränderung aber auch durch menschliches Einwirken begünstigt (z.B. intensivierte Landnutzung, Monokulturen, Eutrophierung von Gewässern). Insgesamt zeigen die ersten Erkenntnisse, dass natürliche Toxine im Gewässermonitoring nicht übergangen werden sollten, da sie für eine potentielle, bisher unerklärliche Hintergrundtoxizität verantwortlich sein könnten und zudem in Hotspots die Gewässerqualität kritisch beeinflussen könnten.

## Literatur

- [1] WHO; Guideline for drinking-water quality: Fourth edition incorporating the first addendum; World Health Organization: Geneva. **2017**, 631 Seiten.
- [2] Schwarzenbach, R.P., Escher, B.I., Fenner, K., Hofstetter, T.B., Johnson, C.A., von Gunten, U., Wehli, B.; The challenge of micropollutants in aquatic systems; *Science* **2006**, **313**, 1072-1077.
- [3] Bucheli, T.D.; Phytotoxins: environmental micropollutants of concern?; *Environ. Sci. Technol.* **2014**, **48**, 13027-13033.
- [4] E.M.-L. Janssen; Cyanobacterial peptides beyond microcystins – A review on co-occurrence, toxicity, and challenges for risk assessment; *Water Res.*, **2019**, **151**, 488-499.
- [5] Picardo, M., Filatova, D., Núñez, Ó., Farré, M.; Recent advances in the detection of natural toxins in freshwater environments; *Trends Anal. Chem.*, **2019**, **112**, 75-86.
- [6] Kubičková, B., Babica, P., Hilscherová, K., Šindlerová, L.; Effects of cyanobacterial toxins on the human gastrointestinal tract and the mucosal innate immune system; *ESEU*, **2019**, **31**.
- [7] Günthardt, B.F., Hollender, J., Hungerbühler, K., Scheringer, M., Bucheli, T.D.; Comprehensive Toxic Plants-Phytotoxins Database and Its Application in Assessing Aquatic Micropollution Potential; *J. Agric. Food. Chem.* **2018**, **66**, 7577-7588.; Datenbank <https://www.agroscope.admin.ch/agroscope/de/home/publikationen/apps/tppt.html>.
- [8] Günthardt, B.F., Schönsee, C.D., Hollender, J., Hungerbühler, K., Scheringer, M., Bucheli, T.D.; «Is there anybody else out there?» - First insights from a suspect screening for phytotoxins in surface water; *Chimia*, eingereicht.
- [9] Mulder, P.P.J., López Sánchez, P., These, A., Preiss-Weigert, A., Castellari, M.; Occurrence of Pyrrolizidine Alkaloids in food, EFSA supporting publication 2015:EN-859; European Food Safety Authority, **2015**, 116 Seiten.
- [10] Hama, J.R. und Strobel, B.W.; Pyrrolizidine alkaloids quantified in soil and water using UPLC-MS/MS; *RSC Adv.*, **2019**, **9**, 30350-30357.
- [11] Umweltbundesamt, Pflanzenschutzmittelverwendung in der Landwirtschaft, <https://www.umweltbundesamt.de/daten/land-forstwirtschaft/pflanzenschutzmittelverwendung-in-der#textpart-2>, zuletzt aufgerufen am 26.11.2019.
- [12] Kubičková, B., Laboha, P., Hildebrandt, J.P., Hilscherová, K., Babica, P.; Effects of cylindrospermopsin on cultured immortalized human airway epithelial cells; *Chemosphere*, **2019**, **220**, 620-628.

**Danksagung** – Das Innovative Training Netzwerk (ITN) "Natural Toxins and Drinking Water Quality - From Source to Tap" (NaToxAq) wird durch die Europäische Union im Rahmen des Forschungs- und Innovationsprogrammes Horizon 2020 unter der Marie Skłodowska-Curie Zuwendungsvereinbarung Nr. 722493 finanziert. Präsentierte Ergebnisse repräsentieren Highlights der bisherigen Ergebnisse aus Arbeiten mehrerer Konsortiummitglieder und spiegeln nicht zwangsläufig die Haltung der europäischen Research Executive Agency (REA) wider.

## Arzneimittel und Pestizide in der Münsterschen Aa – Abhängigkeit der Stoffeinträge von jahreszeitlichen Abflussschwankungen

J. Buss, Münster/D, C. Achten, Münster/D

Johanna Buss, Universität Münster, Institut für Geologie und Paläontologie –  
Angewandte Geologie, Corrensstraße 24, 48149 Münster/D  
E-Mail: johannabuss@uni-muenster.de

### 1. Einleitung

Die Münstersche Aa zählt mit ihrem Einzugsgebiet (EZG) von 172 km<sup>2</sup> zu den erheblich veränderten Fließgewässern (HMBW) und erreicht, wie viele Tieflandbäche in NRW, nicht das „gute ökologische Potenzial“, welches in der Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) gefordert wird <sup>[1]</sup>. Kennzeichnend für das EZG ist der heterogene Verlauf der Münsterschen Aa mit gering durchlässigem Untergrund (Grundmoräne) und einem stark landwirtschaftlich geprägten Oberlauf, in dem auch viele private Kleinkläranlagen liegen, einem Staubereich (Aasee), einer stark urban geprägten Fließstrecke (Stadtgebiet) sowie einem durch geklärtes Abwasser aus der Hauptkläranlage Münster beeinflussten Unterlauf (Rieselfelder, gut durchlässiger, sandiger Untergrund). Diese Charakteristik bietet eine Vielzahl von Eintragsmöglichkeiten für anthropogene Spurenstoffe, wie Pestizide, Biozide und Arzneimittel. Die Auswirkungen der Spurenstoffe auf aquatische Organismen sind dabei durch die Vielzahl von Einzelsubstanzen sehr komplex und bisher nur wenig erforscht <sup>[2]</sup>, <sup>[3]</sup>. Derzeit werden durch die WRRL Pestizide und Biozide reguliert, während Arzneimittel, die in herkömmlichen Kläranlagen meist nur unzureichend entfernt werden, keinem Monitoring zugrunde liegen <sup>[4]</sup>.

Übergeordnete Ziele des Projektes sind die Ableitung eines Entscheidungsunterstützungssystems für die Umsetzungspraxis der WRRL und die Entwicklung eines passgenauen Monitoringsystems für Trends in der Gewässerentwicklung von erheblich veränderten Tieflandgewässern. Ein weiteres Ziel ist die Identifizierung von möglichen Zusammenhängen zwischen stofflichen und ökologischen Parametern bei detaillierten Vor-Ort-Kenntnissen. Hierfür wird eine räumlich und zeitlich hoch aufgelöste Charakterisierung von anorganischen und organischen Stoffen im EZG der Münsterschen Aa durchgeführt. Stichtagsprobenahmen im gesamten EZG sowie Wochenmischproben aus dem oberen und unteren EZG werden über einen Zeitraum von mehreren Jahren inklusive der saisonalen hydrologischen Abflussschwankungen untersucht. In einem weiteren Teilprojekt werden ergänzende ökologische Untersuchungen der Fischbestände und des Makrozoobenthos durchgeführt.



**Abbildung 1:** Einzugsbiet der Münsterschen Aa mit der Lage der automatisierten Probensammler (Sterne) im oberen und unteren Einzugsgebiet (Mündung)

## 2. Methode

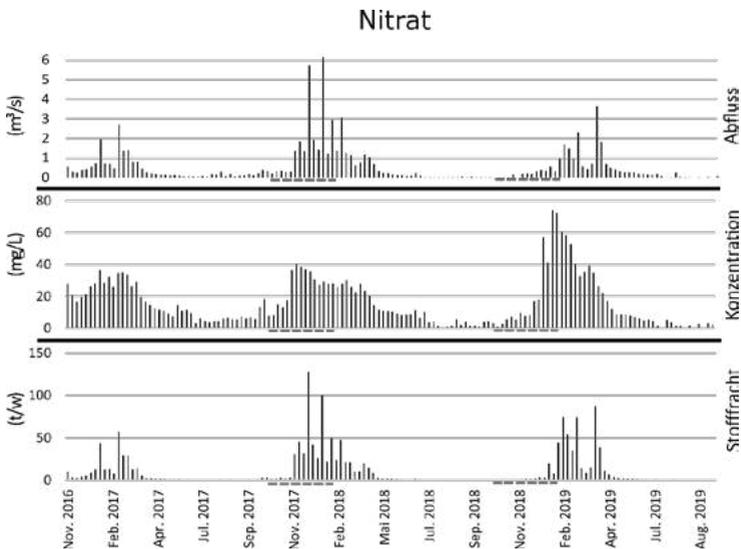
Mittels zwei automatisierten Probensammlern werden im oberen EZG (seit April 2016, Edmund Bühler) und an der Mündung (seit Oktober 2018, WaterSam) durch die Entnahme von stündlich 20 mL Oberflächenwasser Wochenmischproben hergestellt. Außerdem zeichnet eine Drucksonde 30-minütlich die Wassertemperatur und den Wasserstand auf.

Die Wochenmischproben wurden im Labor hinsichtlich Anionen (Ionenchromatografie, Metrohm) und Kationen (ICP-OES, Spektro) analysiert. Darüber hinaus wurden die Proben mithilfe von HPLC-HRMS (Maxis, Bruker) auf organische Spurenstoffe untersucht. Die Analyse der Wasserproben erfolgte durch Direktinjektion (490 µL). Die Stichtagsbeprobungen im gesamten EZG erfolgten Ende Mai 2018, Ende Mai 2019 und Mitte Juli 2019 an jeweils 33 Probenahmestellen, die sowohl den Hauptfluss der Münsterschen Aa, als auch ihre Zuflüsse umfassten. Vor-Ort-Parameter wurden mittels Feldsonden (Multi 3430, WTW) aufgezeichnet. Anionen, Kationen und organische Spurenstoffe wurden analog zu den Wochenmischproben gemessen. Für die organischen Spurenstoffe wurde eine Target-Analyse (32 Stoffe quantitativ, 162 Stoffe qualitativ), eine Suspected-Target-Analyse sowie eine Non-Target-Analyse durchgeführt. Die Non-Target-Auswertung erfolgt derzeit mithilfe der Software MZmine2 [5].

### 3. Ergebnisse und Diskussion

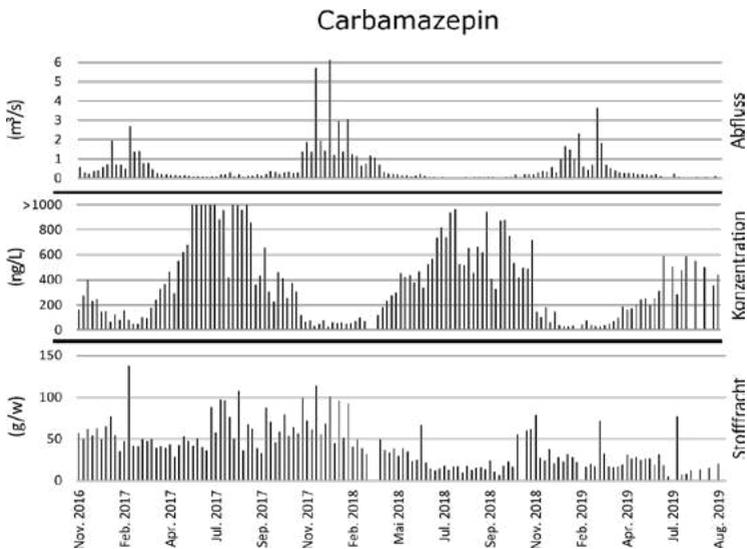
Im jahreszeitlichen Verlauf sind klare Zusammenhänge zwischen dem Abfluss der Münsterschen Aa, der maßgeblich durch den Niederschlag beeinflusst wird und der auftretenden Stoffe sowie deren Konzentrationen und Frachten an den Probensammlern erkennbar. Die Art der Zusammenhänge variiert jedoch bei den untersuchten Stoffen. Mit den Ergebnissen der Proben aus dem Probensammler im oberen Einzugsgebiet konnten die Stoffeinträge im jahreszeitlichen Verlauf bisher in drei Klassen unterteilt werden:

Zunächst gibt es Stoffe, deren Auftreten und Konzentration an den Abfluss gebunden ist. Dazu zählt zum Beispiel Nitrat, welches zu Zeiten hohen Abflusses, vornehmlich in den Wintermonaten, in erhöhten Konzentrationen im Gewässer nachgewiesen werden kann. Die Stoffdynamik des Nitrats deutet auf eine Auswaschung unter anderem von landwirtschaftlichen Flächen zu Zeiten mit starken Niederschlägen hin (Abbildung 2). Dabei fallen die Zeiten mit den höchsten Frachten im Falle des Nitrats auch mit Sperrzeiten für die Ausbringung von nitrathaltigem Dünger zusammen (Abbildung 2). Besonders im Winter 2018/2019 nach einer langen Trockenphase überschritten die Konzentrationen, die in den Wochenmischproben gemessen wurden, die Grenzwerte der Oberflächengewässerverordnung von 50 mg/L <sup>[6]</sup>.



**Abbildung 2:** Jahreszeitlicher Verlauf der Nitratkonzentration und der Nitratfracht in Abhängigkeit vom Abfluss am Sammler im oberen EZG von April 2016 bis Oktober 2019; Sperrzeiten für Ausbringung von nitrathaltigem Dünger (graue Balken)

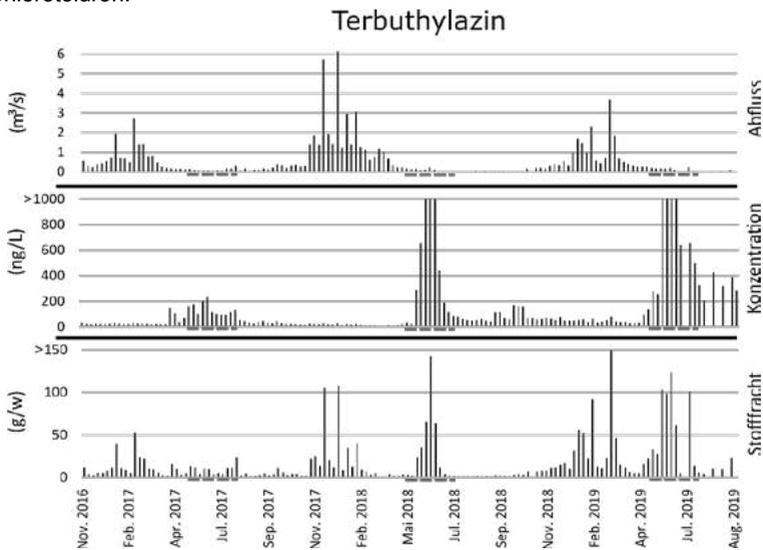
Im Kontrast zu den Stoffen, die mit erhöhten Konzentrationen bei erhöhtem Abfluss durch Niederschlag auftreten (Nitrat, Phosphat und Sulfat), wurden andere Verbindungen vor allem in Phasen ohne oder mit geringem Niederschlag bzw. geringem Abfluss nachgewiesen. Dazu zählen vor allem Arzneimittel, wie Carbamazepin, welche quasi kontinuierlich durch den Zulauf von geklärtem Abwasser in das Gewässersystem der Münsterschen Aa eingetragen werden. Dies wird auch bei der Betrachtung der Stofffrachten deutlich, die zwar über den Zeitraum seit 2016 sinken, aber dennoch keine deutlichen jahreszeitlichen Schwankungen zeigen. (Abbildung 3) Während die Konzentrationen in den Sommermonaten vorgeschlagene Umweltqualitätsnormen überschreiten, sind die Konzentrationen in den Wintermonaten bei hohem Abfluss um ein Vielfaches niedriger (Abbildung 3). Hier zeigt sich ein deutlicher Verdünnungseffekt. Zu Zeiten mit geringen Niederschlagsmengen und damit geringem Abfluss, bei denen hohe Klarwasseranteile vorliegen, steigt die Konzentration von abwasserbürtigen Stoffen an. Weitere nachgewiesene abwasserbürtige Stoffe dieser Gruppe sind zum Beispiel Metoprolol, Phenazon und Sulfamethoxazol.



**Abbildung 3:** Jahreszeitlicher Verlauf der Carbamazepin-Konzentration und der Carbamazepin-Fracht in Abhängigkeit vom Abfluss am Sammler im oberen EZG von November 2016 bis August 2019

Als dritte Gruppe sind die Stoffe zu nennen, die im Zusammenhang mit ihrer Nutzungs- bzw. Ausbringzeit im Gewässer detektiert wurden. Dazu zählen beispielsweise Pflanzenschutzmittel, wie das Maisherbizid Terbutylazin, welches in der Ausbringzeit von Mai – Juli in Konzentrationen von  $>1 \mu\text{g/L}$  in der Münsterschen Aa auftrat (Abbildung 4). Allerdings wird bei Betrachtung der Frachten deutlich, dass der Eintrag von Terbutylazin auch in den Wintermonaten bei hohen Abflüssen eine Rolle spielt und sich in der gleichen Größenordnung wie die Frachten während der Ausbringzeiten bewegt. Ein ähnliches Verhalten dieses Maisherbizids konnte auch in der Stever beobachtet werden<sup>[7]</sup>.

Weitere nachgewiesene Stoffe dieser Gruppe sind beispielsweise Mecoprop-P, MCPA und Chlorotoluron.



**Abbildung 4:** Jahreszeitlicher Verlauf der Terbutylazinkonzentration und der Terbutylazinfracht in Abhängigkeit vom Abfluss am Sammler oberes EZG von November 2016 bis August 2019; Ausbringzeit Terbutylazin (graue Balken)

Eine genauere Charakterisierung der Spurenstoffe des Gewässers soll zudem durch Suspected- und Non-Target-Auswertung der bisherigen Messergebnisse erreicht werden. Schließlich sollen Unterschiede und Gemeinsamkeiten zwischen verschiedenen Probenahmepunkten auch hinsichtlich der Ergebnisse der Fischzönosen sowie des Makrozoobenthos und der Strukturgüte, sowie der Einfluss durch geklärtes Abwasser betrachtet werden. Ergebnisse zu diesen laufenden Arbeiten werden präsentiert.

## 4. Fazit und Ausblick

Die bisherigen Ergebnisse des Projekts geben einen guten Einblick in die Hydrochemie des Einzugsgebiets der Münsterschen Aa und erlauben Rückschlüsse auf jahreszeitliche Einflüsse durch Niederschlag und den damit verbundenen Abfluss. Außerdem lassen sich verschiedene Stofftypen hinsichtlich ihres Auftretens im Gewässer charakterisieren.

Aktuell werden die Daten der Stichtagsbeprobungen sowie die Daten der automatisierten Probensammler mittels Non-Target Analyse ausgewertet, um weitere Rückschlüsse zur Gewässerbelastung durch organische Spurenstoffe und Hinweise auf die Stoffdynamik im Gewässer zu erhalten.

Darüber hinaus ist die hydrochemische Begleitung kleinerer Maßnahmen gemäß WRRL (z. B. Totholzeinbau, Gewässerrandstreifen) geplant. Die hydrochemischen Ergebnisse sollen anschließend mit gewässerökologischen Ergebnissen verknüpft werden.

## 5. Literatur

- [1] Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MKULNV NRW), *Steckbriefe der Planungseinheiten in den nordrhein-westfälischen Anteilen von Rhein, Weser, Ems und Maas. Bewirtschaftungsplan 2016-2021. Oberflächengewässer und Grundwasser Teileinzugsgebiet Ems/Ems NRW. 2015*
- [2] T. Heberer. *Toxicology Letters. 2002, 131, 5-17*
- [3] T. Polard et al., *Aquatic Toxicology. 2011, 101, 126-134*
- [4] EG – EUROPÄISCHE GEMEINSCHAFTEN, *Richtlinie 2000/60/EG des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik. 2014*
- [5] T. Pluskal et al., *BMC Bioinformatics. 2010, 11:395*
- [6] OBERFLÄCHENGEWÄSSERVERORDNUNG vom 20. Juni **2016** (BGBl. I S. 1373)
- [7] Landwirtschaftskammer NRW – Kreisstelle Coesfeld/Recklinghausen, *Kooperation Landwirtschaft und Wasserwirtschaft im Einzugsgebiet der Stevertalsperre – Ein Bericht über die Ergebnisse der Beratung. 2018*

## The role and relevance of “long-lived” photooxidants in aquatic organic photochemistry

S. Remke, Dübendorf/CH, U. von Gunten, Dübendorf/CH, and S. Canonica, Dübendorf/CH

Stephanie Remke, Eawag, Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, Überlandstrasse 133, CH-8600 Dübendorf, Switzerland and School of Architecture, Civil and Environmental Engineering (ENAC), Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), GC A2 454, Station 18, CH-1015 Lausanne, Switzerland

### Introduction

The ubiquitous chromophoric dissolved organic matter (CDOM) is the main absorber of sunlight in surface waters and may induce the indirect phototransformation of a variety of organic compounds [1]. These transformations are initiated by photochemically produced reactive intermediates (PPRIs), which comprise singlet oxygen, the hydroxyl radical and excited triplet states of CDOM ( $^3\text{CDOM}^*$ ).  $^3\text{CDOM}^*$  are important short-lived PPRIs that are able to initiate the transformation of electron-rich phenols, phenolic phytoestrogens, *N*-substituted anilines, phenylurea, bisphenol A and sulfonamides [2]. Besides  $^3\text{CDOM}^*$ , other still unidentified CDOM-derived PPRIs were detected that are particularly effective in the transformation of electron-rich phenols at sub-micromolar concentrations [3, 4, 5]. Based on kinetic arguments, these PPRIs were termed as long-lived photooxidants (LLPOs) and estimated to have lifetimes in the order of  $> \approx 100 \mu\text{s}$ , in contrast to short-lived photooxidants (such as  $^3\text{CDOM}^*$ ) exhibiting lifetimes of only a few microseconds. In the present study we further characterized the chemical nature of these LLPOs and identified organic compounds that are particularly susceptible to transformation by LLPOs.

Compounds of classes susceptible to the transformation by  $^3\text{CDOM}^*$  were chosen as target compounds for a screening study on the importance of LLPOs. The kinetics of CDOM-induced transformation of phenols, anilines and phenylurea were measured at the two endpoints of 0.1  $\mu\text{M}$  and 5.0  $\mu\text{M}$  initial concentrations of target compound. At the higher endpoint of initial target compound concentration, short-lived CDOM-derived PPRIs were assumed to dominate the transformation of the compound, while at the lower endpoint both short- and long-lived PPRIs were assumed to contribute to the transformation of the compound. The sources of CDOM were extracts of aquatic humic substances obtained from the International Humic Substances Society, and CDOM was employed at a typical concentration of 2.5  $\text{mg}_\text{C}\text{L}^{-1}$ .

Photosensitizers in combination with electron-deficient phenols were also used as CDOM model systems with the goal of photogenerating phenoxyl radicals, which were utilized LLPOs surrogates. As photosensitizers, 2-acetophenone and 2-naphthaldehyde were employed due to the high efficiency of formation of their excited triplet states, which are well known as powerful oxidants. Electron poor phenols, such as 4-hydroxybenzoic acid, 3,5-dichlorophenol, 4-hydroxyacetophenone and 4-cyanophenol, were used as precursors for the phenoxyl radicals.

The experimental irradiation conditions were chosen to mimic environmental conditions and to minimize the effect of direct photochemistry. Irradiations were performed in a merry-go-around photoreactor using a medium-pressure mercury lamp. A filter solution enabled the use of wavelengths  $>320$  nm.

## Results

Throughout the analysed compound classes, the more electron-rich compounds showed an enhancement in observed pseudo-first-order reaction rate constant at the low endpoint of initial target compound concentration compared to the high endpoint. The less electron-rich compounds did not show a significant change in observed pseudo-first order reaction rate constant, when the two endpoints were compared.

At the high endpoint of initial target compound concentration, the pseudo-first-order rate constants for the PPRI induced transformation varied in the range of  $(3.1 - 15.1) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  for the electron-rich phenols, 2,4,6-trimethylphenol, trolox and 3,4-dimethoxyphenol, and  $(2.2 - 8.0) \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  for phenol and 4-methylphenol. Upon lowering the initial target compound concentration from  $5.0 \mu\text{M}$  to  $0.1 \mu\text{M}$ , a 6 – 16 fold increase in pseudo-first order rate constants was observed for the more electron-rich phenols, while no significant change in pseudo-first-order rate constants was observed for phenol and 4-methylphenol.

For anilines at the high endpoint, the pseudo-first-order rate constant varied between  $(0.1 - 1.1) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ . The increase in reaction rate constant, for lowering the initial compound concentration, was 2.4 – 2.5 fold for the electron-rich anilines, aniline and 4-methylaniline, whereas no enhancement was observed for the electron poor anilines, *N,N*-dimethyl-4-cyanoaniline and 4-cyanoaniline.

The phenylurea diuron and isoproturon showed rate constants in the range of  $0.8 - 6.1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ , independent of their initial concentration. For the electron-rich 3(2,5-dimethoxyphenyl)-1,1-dimethylurea a rate constant of  $2.2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  was observed at the high endpoint of initial compound concentration and an increase of 2.4 in rate constant at the low initial concentration endpoint.

The ratio of pseudo-first-order rate constants at the low ( $0.1 \mu\text{M}$ ) versus the high ( $5.0 \mu\text{M}$ ) endpoint of initial concentration was taken as an indicator for the relative increase in rate constant to be attributed to LLPOs. Therefore, LLPOs were found to dominate the photosensitized transformation of the more electron-rich compounds at low initial concentration, but to negligibly contribute to the photosensitized transformation of the less electron-rich compounds. The most pronounced enhancement effect in rate constants was observed for phenols, followed by anilines and phenylureas. Considering the oxidation potentials of the studied phenols and anilines, from the aforementioned observations we propose a one-electron reduction potential of  $<1.3 \text{ V}$  vs. standard hydrogen electrode (SHE) for the LLPOs.

For a few model systems with CDOM surrogates, the pseudo-first-order rate constants of the photosensitized transformation of the organic compound 3,4-dimethoxyphenol were also found to be enhanced at the low compared to the high endpoint of initial compound concentration, confirming that such surrogates are able to mimic the kinetic effect attributed to LLPOs. Interestingly, this enhancement effect was higher, the higher the content in deprotonated model phenols in solution. To sum up, electron poor, photochemically produced phenoxyl radicals are suggested as suitable LLPO model substances.

In summary, the observed trends in pseudo-first-order rate constants support the hypothesis of target compound transformation induced by photooxidants of different lifetimes produced by irradiation of CDOM. Long-lived photooxidants can enhance the transformation of certain pollutants at sub-micromolar concentration in sunlit surface waters, compared to transformations by short-lived photooxidants only. Organic compounds to be transformed by LLPOs include phenols, anilines and phenylurea. The one-electron reduction potential of LLPOs is estimated to be  $E_{red}^0$  (LLPO)  $\sim$  1.3 V. Moreover, photochemically produced phenoxy radicals were able to mimic the enhancement effect of LLPOs.

### Literature

- [1] R. G. Zepp, G. L. Baughman, & P. F. Schlotzhauer, *Chemosphere* **1981**, 10(1), 109-117
- [2] K. McNeill, S. Canonica, *Environmental Science: Processes & Impacts* **2016**, 18(11), 1381-1399
- [3] H. Kawaguchi, *Chemosphere* **1993**, 27(11), 2177-2182
- [4] S. Canonica, J. Hoigné, *Chemosphere* **1995**, 30(12), 2365-2374
- [5] S. Canonica, M. Freiburghaus, *Environmental Science & Technology* **2001**, 35(4), 690-695

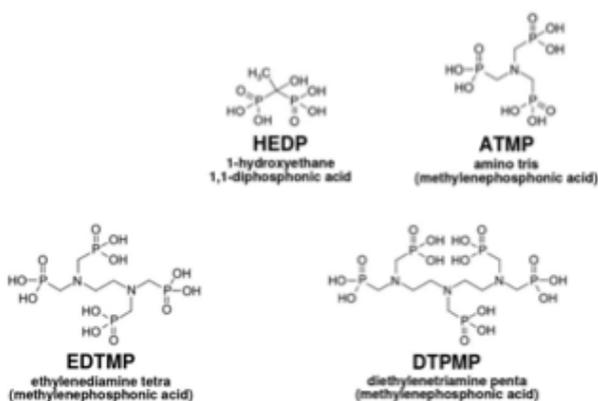
## Mangankatalysierte Oxidation von Aminopolyphosphonaten – Einblick in die Reaktionswege mittels substanzspezifischer Kohlenstoffisotopenanalyse

P. R. Martin, Tübingen/D, D. Buchner, Tübingen/D, M. A. Jochmann, Essen/D,  
S. B. Haderlein, Tübingen/D

Philipp R. Martin, Eberhard Karls Universität Tübingen, Hölderlinstr. 12, Tübingen/D

### Einleitung

Polyphosphonsäuren, wie Aminotrimethylenphosphonsäure (ATMP, siehe **Abbildung 1**), sind starke Chelatbildner für di- und trivalente Kationen, z.B.  $\text{Ca}^{2+}$  oder  $\text{Fe}^{3+}$  [1]. Seit einigen Jahren gewinnen diese Stoffe auf Grund ihres Einsatzes in Haushaltsprodukten (z.B. als Weichmacher in Waschmittel) sowie in großtechnischen Anwendungen (z.B. als Antifällungsmittel in Prozesswässern und in der Membranfiltration) zunehmend an Bedeutung [2].



**Abbildung 1** Strukturformeln vier häufig genutzter Polyphosphonsäuren, modifiziert nach [2]

Aufgrund der starken Affinität von Polyphosphonaten zu Mineraloberflächen wird angenommen, dass diese hauptsächlich durch Sorption, vor allem an amorphe Eisen(hydr)oxide, aus der wässrigen Phase entfernt werden [3]. Daneben ist ein abiotischer Abbau von Polyphosphonaten über verschiedene Reaktionen möglich, beispielsweise die mangankatalysierte Oxidation durch molekularen Sauerstoff [4, 5]. Die Relevanz dieser Reaktion in natürlichen Systemen und somit für die Elimination von

Polyphosphonaten aus der Umwelt ist bislang nur unzureichend erforscht. Auch der zugrundeliegende Reaktionsmechanismus ist bis dato nicht vollständig aufgeklärt.

Die substanzspezifische Isotopenanalytik (engl. compound specific isotope analysis, CSIA) bietet Potential für die Bearbeitung dieser Fragen. Diese Technik erlaubt die Bestimmung stabiler Isotopenverhältnisse (z.B.  $R_C = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$  für Kohlenstoff) von Einzelsubstanzen aus komplexen Gemischen. CSIA wurde bereits erfolgreich für die Zuordnung von Schadstoffquellen, den Nachweis von Schadstoffabbau, sowie die Identifizierung des zugrundeliegenden Reaktionsmechanismus genutzt [6-8]. Sie basiert auf der Variabilität des Isotopenverhältnisses einer Substanz aufgrund (i) der Ausgangsstoffe, (ii) des Synthesewegs, sowie (iii) eines kinetischen Isotopeneffekts bei Abbaureaktionen. Die Kopplung zwischen Flüssigkeitschromatographie und Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (engl. liquid chromatography/ isotope ratio mass spectrometry, LC-IRMS) ermöglicht seit Kurzem auch die Bestimmung von  $\delta^{13}\text{C}$ -Signaturen (Kohlenstoff-CSIA) polarer, nicht-flüchtiger Substanzen wie den Polyphosphonaten.

In dieser Studie untersuchen wir den mangankatalysierten Polyphosphonatabbau mittels Kohlenstoff-CSIA. In Batchversuchen wurde die Reaktion der Modellschubstanz ATMP mit molekularem Sauerstoff in Anwesenheit unterschiedlicher Mangankonzentrationen untersucht, um den Einfluss verschiedener  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP}$ -Verhältnisse auf die Abbaukinetik, sowie die Kohlenstoffisotopenfraktionierung zu evaluieren.

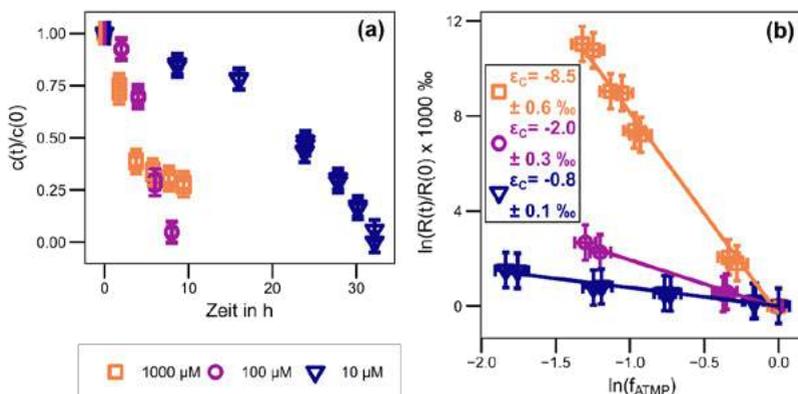
### Ergebnisse

Die Ergebnisse des Abbaus von ATMP bei pH 6,8 und unterschiedlichen Mangankonzentrationen (10  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$  und 1000  $\mu\text{M}$   $\text{Mn}^{2+}$ , entsprechend anfänglicher  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP}$ -Verhältnisse von 1:100, 1:10 und 1:1) sind in **Abbildung 2** dargestellt. Generell waren Unterschiede im Abbauverhalten in Abhängigkeit vom initialen Mangan/ ATMP-Verhältnis zu beobachten. Bei einem initialen Mangan/ ATMP-Verhältnis von eins ( $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP} = 1:1$ ) folgte der Abbau (pseudo-) 1. Ordnung, wohingegen die Reaktionsraten in den Versuchen mit  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP} = 1:10$  und  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP} = 1:100$  über die Zeit in ein Maximum liefen (siehe **Abbildung 2(a)**). In allen drei Versuchen wurde eine signifikante Änderung der Kohlenstoffisotopensignatur hin zu positiveren Werten beobachtet. Die Daten konnten mit Hilfe des Rayleigh-Destillationsmodells beschrieben werden (siehe **Gleichung 1**), was darauf schließen ließ, dass die untersuchte Reaktion mit einem normalen kinetischen Isotopeneffekt assoziiert ist (schnellerer Abbau der leichten Isotopologe mit  ${}^{12}\text{C}$  am reaktiven Zentrum, im Vergleich zu schweren,  ${}^{13}\text{C}$ -substituierten, Isotopologen) [9].

$$\ln\left(\frac{\delta^{13}\text{C}(t) + 1}{\delta^{13}\text{C}(0) + 1}\right) = \epsilon_c \times \ln\left(\frac{c(t)}{c(0)}\right) \quad (1)$$

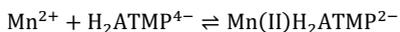
Mit der Isotopensignatur  $\delta^{13}\text{C}$  und der Konzentration  $c$  zum Zeitpunkt  $t$  und zu Beginn des Experiments und dem Kohlenstoff-Anreicherungsfaktor  $\epsilon_c$ .

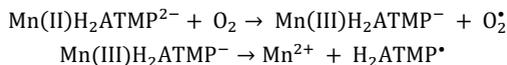
Auch für die Isotopenfraktionierung von ATMP wurde eine Abhängigkeit vom initialen  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP}$ -Verhältnis beobachtet. So zeigte der Versuch mit  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP} = 1:1$  einen Anreicherungsfaktor von  $-8,5 \pm 0,6 \text{ ‰}$  (95% Vertrauensbereich), der mit geringeren  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP}$ -Verhältnis sukzessive abnahm ( $-2,0 \pm 0,3 \text{ ‰}$  für  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP} = 1:10$  und  $-0,8 \pm 0,1 \text{ ‰}$  für  $\text{Mn}^{2+}/\text{ATMP} = 1:10$ , siehe **Abbildung 2(b)**).



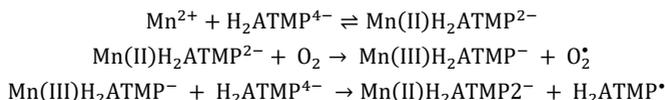
**Abbildung 2** (a) Normierte Konzentration von ATMP über die Zeit während der Oxidation durch molekularen Sauerstoff bei  $\text{pH } 6,8 \pm 0,1$  in Anwesenheit von  $\text{Mn}^{2+}$  mit variierender Konzentration und (b) das resultierende normierte Kohlenstoffisotopenverhältnis über die relative Konzentration von ATMP (doppellogarithmische Rayleigh-Darstellung). Zusätzlich angegeben sind die Kohlenstoff-Anreicherungsfaktoren (bestimmt nach **Gleichung 1**), inklusive der 95% Vertrauensbereiche

ATMP wird mit einem initialen Mangan/ ATMP-Verhältnis von 1:10 und 1:100 komplett abgebaut, in Abwesenheit von gelöstem  $\text{Mn}^{2+}$  fand jedoch keine Transformation statt. Dies bestätigt die Hypothese, dass Mangan im untersuchten System als Katalysator wirkt [4]. Da ATMP bei einem Mangan/ ATMP-Verhältnis von 1:10 schneller abgebaut wird als bei einem 1:1 Verhältnis von Mangan/ ATMP, wurde die Hypothese verworfen, dass die Bildungen eines Mangan-ATMP-Komplexes ratenbestimmend für Reaktion durch intramolekularen Elektrontransfer von ATMP zu Mangan innerhalb des Komplexes ist [4]:





Gleichgewichtsberechnungen zur Spezifizierung ergaben, dass bei einem Mangan/ ATMP-Verhältnis von 1:1 über 80% des ATMPs komplexiert mit Mangan vorliegen, bei einem Mangan/ ATMP-Verhältnis von 1:10 jedoch lediglich 10%. Wäre die Bildung eines Mangan-ATMP-Komplexes ratenbestimmend, sollten höhere Mangan/ ATMP-Verhältnisse den Abbau beschleunigen. Aufgrund unserer abweichenden Beobachtungen postulieren wir als weiteren Abbauweg einen intermolekularen Elektronentransfer zwischen einem Mangan-ATMP-Komplex und einem freiem ATMP:



Ein solcher Mechanismus wurde bereits für die Reaktion des Aminopolycarboxylates Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) mit  $\text{Mn}^{3+}$  beschrieben. Übereinstimmend mit unseren Beobachtungen konnte für das EDTA-Mangan-System gezeigt werden, dass der intermolekulare Elektronentransfer signifikant schneller als der intramolekulare Elektronentransfer innerhalb des Mangan-EDTA-Komplexes ist [10].

Die beobachtete Kohlenstoffisotopenfraktionierung stützt ebenfalls die Hypothese, dass ATMP abhängig vom initialen Mangan/ ATMP-Verhältnis über zwei verschiedene Wege abgebaut wird. So legen die Daten nahe, dass der intramolekulare Elektronentransfer (bei hoher Mangankonzentration) mit einem starken Isotopeneffekt assoziiert ist, wohingegen der intermolekulare Elektronentransfer (niedrige Mangankonzentration) lediglich eine schwache Fraktionierung im Kohlenstoff zur Folge hat. Dies spiegelt sich in den signifikant unterschiedlichen Anreicherungsfaktoren von  $-0,8 \pm 0,1 \text{ ‰}$  bei einem Mangan/ ATMP-Verhältnis von 1:100 (1% des ATMPs komplexiert) und  $-8,5 \pm 0,6 \text{ ‰}$  bei einem Mangan/ ATMP-Verhältnis von 1:1 (82% des ATMPs komplexiert) wieder. Der Anreicherungsfaktor für ein Mangan/ ATMP-Verhältnis von 1:10 (10% des ATMPs komplexiert) von  $-2,0 \pm 0,3 \text{ ‰}$  liegt zwischen diesen beiden Extremen und zeigt folglich den Beitrag der beiden Mechanismen.

Die vorgestellten ersten Ergebnisse zeigen das Potenzial der substanzspezifischen Kohlenstoffisotopenanalyse zur Aufklärung der Reaktionswege des Polyphosphonatabbaus. Die für den mangankatalysierten Abbau von ATMP durch molekularen Sauerstoff ermittelten kinetischen Isotopeneffekte deuten auf zwei verschiedene Reaktionsmechanismen (intra-, sowie intermolekularen Elektronentransfer) hin. Momentan werden weitere Versuche bei unterschiedlichen pH-Werten und extremeren  $\text{Mn}^{2+}$ / ATMP-Verhältnissen durchgeführt, um die zwei postulierten Mechanismen isoliert zu untersuchen und deren Anreicherungsfaktoren zu quantifizieren.

## Literatur

- [1] B. Nowack, *Water Res.* **2003**, 37(11), 2533-2546
- [2] E. Rott, H. Steinmetz und J.W. Metzger, *Sci. Total Environ.* **2018**, 615, 1176-1191
- [3] B. Nowack, *Water Res.* **2002**, 36(18), 4636-4642
- [4] B. Nowack und A.T. Stone, *Environ. Sci. Technol.* **2000**, 34(22), 4759-4765
- [5] B. Nowack und A.T. Stone, *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106(24), 6227-6233
- [6] M. Elsner, L. Zwank, D. Hunkeler und R.P. Schwarzenbach, *Environ. Sci. Technol.* **2005**, 39(18), 6896-6916
- [7] T.C. Schmidt, L. Zwank, M. Elsner, M. Berg, R.U. Meckenstock und S.B. Haderlein, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, 378(2), 283-300
- [8] M. Thullner, F. Centler, H.H. Richnow und A. Fischer, *Org. Geochem.* **2012**, 42(12), 1440-1460
- [9] M. Elsner, *J. Environ. Monit.* **2010**, 12, 2005-2031
- [10] J.K. Klewicki und J.J. Morgan, *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32(19), 2916-2922

## **Spurenanalytische Untersuchungen von Zentratwasser einer kommunalen Kläranlage zur Identifizierung des Behandlungsbedarfs für eine nachfolgende landwirtschaftliche Wiederverwendung**

P. Genz, Leipzig/D, T. Reemtsma, Leipzig/D,

M.Sc. Paul Genz, Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung, Department Analytik,  
Permoserstr. 15, Leipzig/D

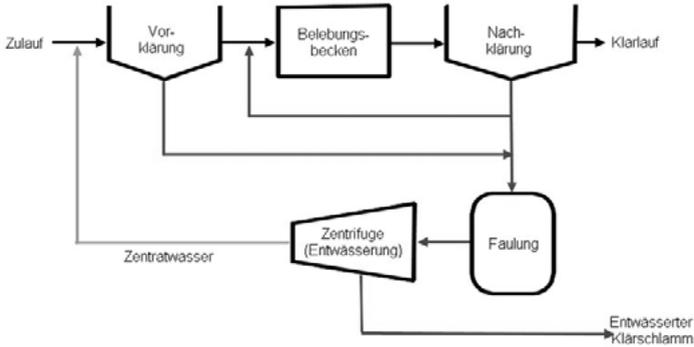
### **Einleitung**

Obwohl die Abwasserwiederverwendung zur landwirtschaftlichen Nutzung auf europäischer Ebene erst in diesen Monaten auf ein gesetzliches Fundament gestellt wird, so wird sie vor allem im Mittelmeerraum zur Schonung knapper Wasserressourcen bereits seit vielen Jahren praktiziert [1]. Zusätzlich zur Verringerung des Frischwassereinsatzes kann durch die im Abwasser enthaltenen Nährstoffe auch der Einsatz von Düngemitteln reduziert werden. Jedoch müssen beim Recycling von Abwasser – ganz besonders zur Nahrungsmittelproduktion – bekannte biologische und chemische Risiken beachtet werden. Eine interessante Option stellt hierbei die Nutzung des sogenannten Zentratwassers dar, welches bei der Entwässerung des ausgefaulten Klärschlammes anfällt. Das Zentratwasser wird üblicherweise in den Zulauf der Kläranlage rezirkuliert und trägt dort trotz seines geringen Zulaufvolumenstromanteils von 1 % aufgrund seiner hohen Stickstoffkonzentration mit bis zu 15 % zur Gesamt-N-Fracht der Kläranlage bei [3,4]. Während deshalb bereits eine Vielzahl von Studien zur Reduktion der N-Fracht durchgeführt worden sind [5,6], ist das veröffentlichte Wissen insbesondere in Bezug auf die Anwesenheit und das Verhalten organischer und anorganischer Spurenstoffe im Zentratwasser begrenzt [7].

Die Entwicklung angepasster Behandlungsverfahren für Zentratwasser vor einer landwirtschaftlichen Wiederverwendung erfordern bessere Kenntnisse zum Auftreten organischer und anorganischer Spurenstoffe im Zentratwasser. Aus diesem Grund wurde im Rahmen der vorliegenden Studie auf einer kommunalen Kläranlage (500.000 EW) im Zeitraum Dezember 2019 bis Januar 2020 eine Probenahmekampagne durchgeführt. Als Vergleichswerte hierzu dienen Stichprobenmessungen aus vier Zentratwässern in Nordrhein-Westfalen. Die Messungen dienten sowohl zur Identifizierung relevanter Konzentrationsbereiche für einzelne Analyten als auch zur Untersuchung der zeitlichen Variabilität der Spurenstoffgehalte im Zentratwasser in Abhängigkeit des Zulaufes der Kläranlage. Zur Bestimmung relevanter organischer Analyten kamen dabei für Target-Analysen ein LC-QqQ-MS System zum Einsatz. Die Auswahl relevanter Analyten vollzog sich vor allem vor dem Hintergrund der potenziellen späteren Nutzung des Zentratwassers als Düngemittel zur Nahrungsmittelproduktion. Zur weitergehenden Charakterisierung des Zentratwassers wurden zusätzlich auch Non-Target-Analysen mit LC-ToF-MS durchgeführt. Für die Bestimmung der anorganischen Spurenstoffe wurden die Zentratwässer an einer ICP-MS analysiert.

## Ergebnisse

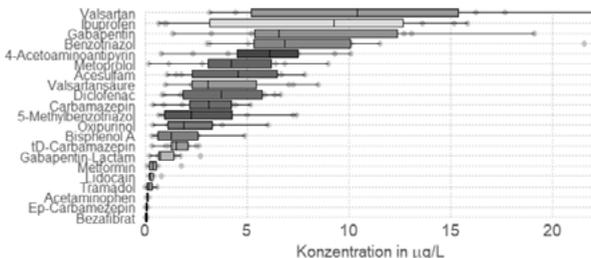
Da der Ursprung der Zentratwässer des ausgefaulten Überschussschlammes im Wesentlichen im Nachklärbecken liegt (vgl. Abbildung 1), ist besonders der Vergleich mit dem Ablauf der Kläranlage interessant, da dieser ggf. Rückschlüsse auf die Wirkung der Faulung bzw. Entwässerung zulässt.



**Abbildung 1** Vereinfachtes Fließschema eines konventionellen dreistufigen Kläranlagenprozesses mit Schlammbehandlungspfad

Der Vergleich vorläufiger Analyseergebnisse von Zentratwässern verschiedener Kläranlagen in Nordrhein-Westfalen mit Literaturwerten von Ablaufkonzentrationen (vgl. Abbildung 2) zeigt, dass die Konzentrationen einer Vielzahl der analysierten organischen Spurenstoffe tatsächlich vergleichbar mit den Konzentrationen im Kläranlagenablauf sind. Jedoch ließen sich für einige Spurenstoffe Abweichungen zu üblicherweise in Abläufen messbaren Konzentrationen aufzeigen.

So scheinen einige Spurenstoffe, bspw. Ibuprofen, die üblicherweise nahezu vollständig aus dem Ablauf entfernt werden [8], in relativ hohen Konzentrationen im Zentratwasser auffindbar zu sein.



**Abbildung 2** Ergebnisse der Untersuchung organischer Spurenstoffe im Zentratwasser zusammengefasst für vier unterschiedlichen Schlammmentwässerungsanlagen in Nordrhein-Westfalen

Daneben zeigen sowohl einige Spurenstoffe, die im Ablauf in hohen Konzentrationen nachgewiesen werden, wie bspw. Valsartan [8], oder solche, die nur in geringen Konzentrationen vorliegen, wie bspw. Bezafibrat, eine vergleichbare Konzentration auch im Zentratwasser.

Für anorganische Spurenstoffe wie z.B. Schwermetalle, die sich üblicherweise im Klärschlamm anreichern [9], zeigen sich in den analysierten Zentratwässern in den vorläufigen Ergebnissen einzig für Nickel und Zink leicht erhöhte Konzentrationen im Vergleich zur Literatur.

### Ausblick

Die Untersuchungen im Dezember 2019 und Januar 2020 auf der kommunalen Kläranlage werden dazu beitragen, das Verhalten von Spurenstoffen im Kläranlagenprozess besser zu verstehen. Für die nachfolgende landwirtschaftliche Wiederverwendung bilden die Ergebnisse die erforderliche Grundlage Entwicklung des Behandlungsprozesses. Besonders wichtig erscheint dies in Bezug auf die zu erwartenden Konzentrationsbereiche und die zeitliche Variabilität, die nach Erhebung ebenfalls vorgestellt werden sollen.

### Danksagung

Die Probenahme und Analyse der Zentratwässer aus Nordrhein-Westfalen wurden im Rahmen des Projektes SUSKULT (Förderkennzeichen: 031B0423) durchgeführt, welches vom Bundesministerium für Bildung und Forschung finanziert wird.

### Literatur

- [1] S. Lavrnjic, *Water Air Soil Pollut.* **2017**, 228, 883
- [2] T.A. Constantine, *Proc Water Environ Fed.* **2006**, 7, 5271–5281
- [3] H.M. Janus, *Water Sci Technol* **1997**, 35, 27-34
- [4] S.F. Kosari, *Environ Technol* **2017**, **35**, 1110–1120.
- [5] S. Barua, *Chem Eng J* **2019**, 361, 256–265
- [6] S. Deshayes, *TSM Eau & Santé* **2018**, 113, 33–43
- [7] R. Loos, *Wat. Research* **2013**, 47, 6475–6487
- [8] R.Gurke, *Sci Total Environ* **2015**, 532, 762–770.
- [9] H. Yoshida, *Chemosphere* **2015**, 138, 874–882.

## **Weitergehende Grundwasserüberwachung einer Karstquelle mittels Nontarget-Analytik**

G. Nürnberg, Karlsruhe/D, K. Nödler, Karlsruhe/D, M. Scheurer, Karlsruhe/D

Gudrun Nürnberg, TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruher Straße 84, Karlsruhe/D

### **Einleitung**

Karstgrundwasserleiter haben einen bedeutenden Anteil an der weltweiten Trinkwassergewinnung und daher ist die Überwachung ihrer Wasserqualität wichtig [1]. Ihre (anthropogene) Belastung ist auf Grund ihrer Vulnerabilität gegenüber Kontaminationsereignissen im Einzugsgebiet einer hohen Dynamik unterworfen [2,3]. Dies führt dazu, dass diese Dynamik auch die mögliche Zusammensetzung von Stoffgemischen sowie die Konzentrationen individueller Spurenstoffe beeinflusst. Stichtagsmessungen können diese hohe Variabilität nicht abbilden, weshalb ereignisbezogene Probenahmen unerlässlich sind. Darüber hinaus kann die herkömmliche Target-Analytik das vorhandene Stoffspektrum oftmals nicht ausreichend abbilden und mögliche Belastungsquellen bleiben unentdeckt – dies trifft vor allem in den Fällen zu, in denen eine bislang nichtberücksichtigte Eintragsquelle im Einzugsgebiet plötzlich an Relevanz gewinnt und/oder das Einzugsgebiet generell nicht ausreichend gut hinsichtlich der Landnutzungsformen charakterisiert ist.

Der Einsatz der Nontarget-Analytik zur Überwachung von Oberflächengewässern [4] und Aufbereitungsprozessen für Trinkwasser [5] und Abwasser [6] wurde bereits realisiert. In diesem Beitrag wird die Anwendung der Nontarget-Analytik mittels hochauflösender Massenspektrometrie als mögliche Erweiterung der Grundwasserüberwachung vorgestellt. Anhand ausgewählter Proben einer Karstquelle (KQ), wird der Einfluss von zwei verschiedenen Kontaminationsereignissen auf die Grundbelastung (Basisablauf bei Trockenwetter, KQ1) untersucht. Das erste Ereignis wurde durch einen leck geschlagenen Vorratsbehälter mit Gärresten auf einer landwirtschaftlich genutzten Fläche im Einzugsgebiet (KQ2 bis KQ4) hervorgerufen, das zweite war die Folge eines Starkregenereignisses (KQ5). Die Ergebnisse der Nontarget-Analytik wurden den Ergebnissen des begleitenden Monitorings ausgewählter Spurenstoffe (Target-Analytik) bzw. anderer Standardsummenparameter (z. B. TOC) gegenübergestellt.

## Methodik

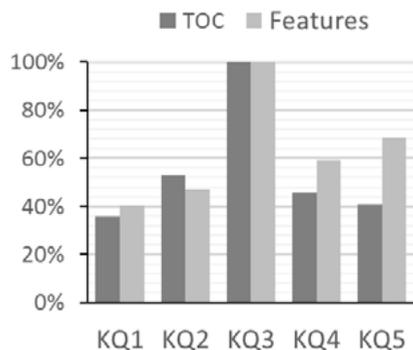
Die Karstquellenproben (KQ1-KQ5) wurden ohne vorherige Probenvorbereitung per Direktinjektion (100 µL) mit der in Nürnberg et al. [7] beschriebenen generischen LC-HRMS-Methode als Triplikate vermessen. Die Methode basierte auf hochauflösender LC-ESI-HRMS (AB Sciex 6600 QTOF) mit einer sauren Umkehrphasenchromatographie (Agilent Zorbax Eclipse Plus C18; 2,1 mm x150 mm; 3,5 µm). Zusätzlich wurde eine Reinstwasserprobe als System-Blindprobe analysiert. Zur Messdaten-Aufbereitung wurden die Softwarepakete SciexOS und MarkerView (alle AB Sciex) sowie Microsoft Excel verwendet. Die hier dargestellten Ergebnisse beziehen sich nur auf Messdaten, die im positiven Ionisierungsmodus gewonnen wurden.

## Ergebnisse

Eine unmittelbare Auswertestrategie mittels Nontarget-Analytik ist die Betrachtung der Gesamtanzahl an extrahierbaren Features der einzelnen Proben. Diese zeigt für die fünf verschiedenen Karstquellenproben (Abbildung 1), dass sich die Proben der Ereignisse (KQ2-KQ5) bereits auf Grund ihrer Gesamtanzahl von der Grundbelastung (KQ1) unterscheiden. Die höchste Anzahl wurde in Probe KQ3 gefunden. Die Anzahl der beiden anderen dazugehörigen Proben KQ2 und KQ4 von Ereignis 1 sind relativ gesehen näher an dem Wert der Grundbelastung KQ1. Sie markieren einen Zeitpunkt zu Beginn dieses Ereignisses bzw. bei dessen Abklingen. Die Anzahl an extrahierbaren Features der Probe KQ5 des Starkregenereignisses ist geringer im Vergleich zu denen von KQ3, aber höher als die der anderen Proben.

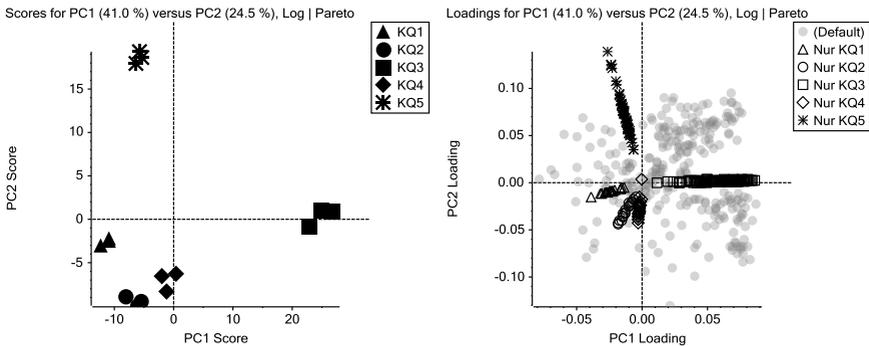
Diese relativen Ergebnisse wurden nur bedingt von anderen Messgrößen, die üblicherweise für ein Online-Monitoring verwendet werden, abgebildet. Die elektrische Leitfähigkeit reagierte kaum, während Trübung und  $SAK_{254}$  zumindest anzeigen, dass sich die Wasserqualität bei Ereignis 1 verändert. Der TOC als ein messbarer Indikator für die Trübung (Abbildung 1) zeigte einen ähnlichen Trend wie die Nontarget-Analytik für das erste Ereignis, bei welchem bereits eine sichtbare Trübung bei der Probenahme erkennbar war. Im Fall des Starkregenereignisses blieb der TOC aber unauffällig.

Spezifischere Aussagen hinsichtlich der Unterschiede in den Proben lassen sich bei der Nontarget-Analytik über multivariante Statistik-Methoden ableiten. Eine gängige Methode ist dabei die Hauptkomponentenanalyse (PCA). Diese



**Abbildung 1** Trends in TOC und Feature-Gesamtanzahl normiert auf Probe KQ3.

wird verwendet, um Unterschiede verschiedener Proben basierend auf den Features zu verdeutlichen. Der Vorteil dieser Methode ist, dass auch Intensitätsunterschiede in die Analyse eingehen und nicht nur das bloße Auftreten eines Features. Der Score-Plot (Abbildung 2) zeigt, wie sich die Proben anhand zweier berechneter Komponenten (PC1 (41,0 %) und PC2 (24,5 %)) auftrennen. Je größer der Abstand zweier Proben voneinander sowie der Prozentzahlen hinter einer Komponente (z. B. PC1 (41,0 %)), desto stärker unterscheiden sich die miteinander verglichenen Proben. Bei Anwendung dieser Methodik wurde deutlich, dass KQ3 (Ereignis 1) die größten Unterschiede zu den restlichen Proben aufweist. Diese Beobachtung ist plausibel, da bei der Kontamination mit Gärresten sehr wahrscheinlich tatsächlich Stoffe in den Grundwasserleiter eingetragen wurden, die bislang untypisch für das untersuchte System sind, während beim Starkregenereignis mehr oder minder einzugsgebietstypische Stoffe lediglich verstärkt eingetragen wurden. Dennoch grenzt sich auch KQ5 (Ereignis 2) deutlich von der Grundbelastung sowie den Proben des ersten Ereignisses ab. Die weiteren Proben KQ2 und KQ4 des Ereignisses 1 zeigen durch die Lage im Score-Plot, dass sie deutlich stärker der Referenzprobe KQ1 ähneln als KQ3. Das weist wiederherum darauf hin, dass ihre Probenahme am Anfang bzw. am Ende des Ereignisses erfolgten.



**Abbildung 2** Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse; Score-Plot (links): jeder Punkt kennzeichnet eine Probe (Dreifachbestimmung jeder Probe), Loading-Plot (rechts): jeder Punkt entspricht einem Feature, „Nur KQx“: Features, die nur in der jeweiligen Probe gefunden wurden.

Der dazugehörige sog. Loading-Plot (Abbildung 2) zeigt, welche Features für die Unterschiede zwischen den Proben verantwortlich sind. Markiert wurden Features, die nur in der jeweiligen Probe gefunden wurden (nur KQ x, mit x: 1–5). Auch daraus ergibt sich, dass die Kontamination mit Gärresten sowie das Starkregenereignis die Karstquelle deutlich mit einer Vielzahl neuer Substanzen beeinflusst hat. Es wird auch ersichtlich, dass es eine Überlappung von Features (51) zwischen den beiden Ereignissen gibt, welche in der Grundbelastung nicht detektiert worden sind.

Beim begleitenden Monitoring von 185 ausgewählten Spurenstoffen (Target-Analytik) blieben die Gehalte der Hälfte der 18 nachgewiesenen Spurenstoffe von den Ereignissen unbeeinflusst, z. B. Acesulfam oder zwei nachgewiesene Pestizid-Transformationsprodukte (Chlorthalonil-R417888 und Dimethachlor-CGA 354742). Bisphenol A wurde in der Grundbelastungsprobe nicht nachgewiesen, wohl aber in den Proben beider Ereignisse. Der Kontaminationsfall mit Gärresten (KQ2-KQ4) führte zu höheren Gehalten langkettiger perfluorierte Carbonsäuren und Oxipurinol. Die erhaltenen Trends wiesen auch die höchste Belastung bei Probe KQ3 auf. Saccharin, als weiterer Süßstoff neben Acesulfam, wurde erst in der vom Starkregenereignis beeinflussten Probe (KQ5) detektiert. Im Gegensatz zu den Features der Nontarget-Analytik, weisen nur wenige Spurenstoffe auf eines der beiden Ereignisse hin. Daher wird die Änderung der Substanzzusammensetzung eines dieser Ereignisse deutlicher mittels Nontarget-Analytik hervorgehoben als anhand der ausgewählten Spurenstoffe der Target-Analytik. So kann eine Änderung der Wasserqualität leicht übersehen werden, weil auch andere Standardsummenparameter diese nicht immer abbilden.

### Fazit

Die hier am konkreten Beispiel der untersuchten Karstquelle gezeigten Ergebnisse verdeutlichen, dass Veränderungen der Wasserqualität bereits mittels alleiniger Auswertung von Auftreten und Intensität der spezifischen Messsignale hervorragend abgebildet und erkannt werden können und eine Kenntnis der Identität der für die Messsignale verantwortlichen Stoffe für diesen Zweck nicht erforderlich ist. Mittels der gewählten statistischen Auswerteverfahren konnten die unterschiedlichen Kontaminationsereignisse klar, sowohl voneinander als auch insgesamt, von der Referenzprobe (d. h. dem Basisablauf der Karstquelle) abgegrenzt werden. Daher stellt die Nontarget-Analytik eine gute Erweiterung zur Grundwasserüberwachung dar.

### Danksagung

Der Dank gilt dem BMBF (Bundesministerium für Bildung und Forschung) für die finanzielle Unterstützung des Projektes GW-Analytik (02WGW1460).

### Literatur

- [1] D. Ford, *Karst Hydrology and Geomorphology*, Wiley, Chichester, **2007**.
- [2] O. Hillebrand, *Water Res.* **2012**, *46*, 395-402.
- [3] T. Geyer, *Ground Water* **2007**, *45*, 36-45.
- [4] M. Schlüsener, *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49*, 14282-14291.
- [5] A. Müller, *Chemosphere* **2011**, *85*, 1211-1219.
- [6] G. Nürnberg, *Water Res.* **2019**, *163*, 114842.
- [7] G. Nürnberg, *J. Chromatogr. A* **2015**, *1426*, 77-90.

## Degradation of nitrogen-containing micropollutants with chlorine dioxide in surface water

M. Jütte, Essen/DE, M.S. Abdighahroudi, Essen/DE, H.V. Lutze, Essen/DE,  
T. C. Schmidt, Essen/DE.

Mischa Jütte, Universität Duisburg-Essen, Campus Essen, Fakultät für Chemie,  
Instrumentelle Analytische Chemie, Universitätsstr. 5, 45141, Essen/DE

### Introduction

Several oxidants are used as a barrier to remove micropollutants (e.g. pharmaceuticals, personal care products, steroid hormones, industrial chemicals, pesticides,... [1]) in drinking water treatment. One example is chlorine dioxide ( $\text{ClO}_2$ ), which is used to remove some micropollutants during pre-oxidation in different countries. [2, 3]  $\text{ClO}_2$  is highly reactive towards electron-rich moieties such as activated aromatic systems and tertiary amine groups. [3] Additionally, in case of amines and phenols, the reaction kinetics strongly depends on the species and thus is strongly pH-dependent. [3]

The advantage of  $\text{ClO}_2$  compared with stronger oxidants such as ozone ( $\text{O}_3$ ) is the higher selectivity in different water matrices. This results in better efficiency in transforming phenolic compounds. [4] Additionally, the formation of cancerogenic bromate ( $\text{BrO}_3^-$ ) is inhibited due to the low reactivity towards bromide ( $\text{Br}^-$ ). [5] The main disinfection byproducts (DBPs) of  $\text{ClO}_2$  are chlorite ( $\text{ClO}_2^-$ ) and chlorate ( $\text{ClO}_3^-$ ). [6, 7] It is known for a long time that these DBPs show adverse toxicological effects [8, 9] and thus are regulated in drinking water. However, the limit can vary between  $0.2 \text{ mg L}^{-1}$  in Germany [10] to  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  in the USA. [11] Therefore, the use of  $\text{ClO}_2$  is limited by the formation of these DBPs. Moreover, the formation of hypochlorous acid ( $\text{HOCl}$ ) as a secondary oxidant in reactions of  $\text{ClO}_2$  was postulated by Wajon et al. 1982 [12] and proven recently. [13, 14]  $\text{HOCl}$  formation can be important for both degradation of pollutants and formation of chlorinated by-products. How  $\text{HOCl}$  is formed is not yet fully understood. Mechanistic information is also lacking in the reactions of  $\text{ClO}_2$  with micropollutants.

This study aims to extend the knowledge on the reaction of amines with  $\text{ClO}_2$  and address the possible formation of  $\text{HOCl}$  as a secondary oxidant. For this purpose, the reaction of 2-Methylpiperidine (MPP) and ritalinic acid with  $\text{ClO}_2$  was investigated. Thereby, MPP serves as a surrogate for the potential reactive moiety in ritalinic acid. Ritalinic acid is the metabolite of Ritalin® and is detected in the environment as micropollutant. Comparison of the behavior of ritalinic acid and MPP helps to determine whether other parts of ritalinic acid are involved in the reaction. Furthermore, the efficiency of  $\text{ClO}_2$  based degradation of amine-containing micropollutants in surface water was investigated (ritalinic acid and cetrizine).

### Material and Methods

#### *Kinetics of the reactions between MPP and ritalinic acid with $\text{ClO}_2$ and $\text{HOCl}$*

To determine the second-order rate constant of the compounds and  $\text{ClO}_2$ , the pseudo first-order approach was used. In a stopped-flow system the compound was added to  $\text{ClO}_2$  in a ten-fold excess and the degradation of  $\text{ClO}_2$  was monitored at 359 nm wavelength. The

natural logarithm of absorption of  $\text{ClO}_2$  was plotted over time and the slope was used to calculate the second-order rate constant. This measurement was carried out at different pH-values between 4 and 11.

If HOCl is formed and not sufficiently scavenged, the system reaction under study will be undefined. [15] For scavenging HOCl, it is necessary to know the reaction rate of HOCl and the compounds. For this purpose, the competition kinetics was used with phenol and sulfamethoxazole (SMX) as competitors.

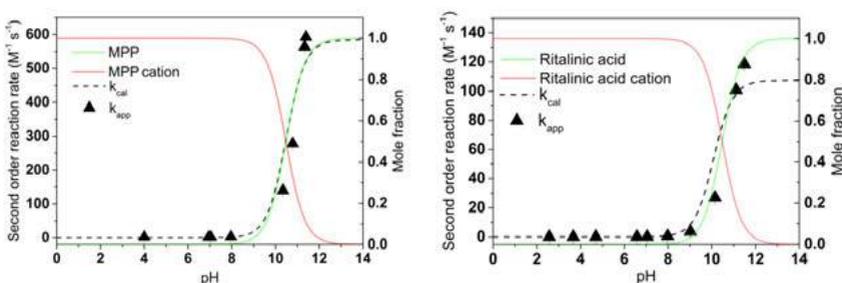
In the next step, the stoichiometry and the chlorine balance for the reaction of both compounds were investigated. The degradation of compounds in different  $\text{ClO}_2$  to compound ratios was monitored using HPLC-UV, and chlorine balance was measured via anion-IC coupled with conductivity detection, post-column reaction, and UV-detection.

### *$\text{ClO}_2$ exposure in surface water*

In this experiment, the degradability of ritalinic acid and cetirizine was measured in surface water and the formation of  $\text{ClO}_2^-$  over time was monitored. Surface water was spiked with a micropollutant and  $\text{ClO}_2$  was added in concentrations of 100, 200, and 400  $\mu\text{M}$ . The depletion of  $\text{ClO}_2$  was measured with the indigo method [16] and the formation of  $\text{ClO}_2^-$  was monitored by anion-IC. The measured  $\text{ClO}_2^-$  was corrected by the formed  $\text{ClO}_2^-$  in the reaction of  $\text{ClO}_2$  and indigo-trisulfonate (60 %). [17] Additionally, to gain information about the degradation behavior of both compounds in surface water, their degradation was measured and calculated. To calculate the degradation, the pH-dependent second-order reaction rate was used and multiplied with the measured exposure at a specific time.

## Results and Discussion

Figure 1 shows the second-order reaction rate for MPP and ritalinic acid.



**Figure 1: Second-order rate constant and speciation diagrams as a function of pH-values. 2-Methylpiperidine (MPP) (left) and ritalinic acid (right). Both compound solutions were buffered by 10 mM phosphate buffer and mixed in a 10 fold excess with  $\text{ClO}_2$ . The measured reaction rates  $k_{\text{app}}$  at specific pH-values are shown as triangles and the modeled function  $k_{\text{cat}}$  by MATLAB is shown in a dashed line.**

Both compounds show an increasing trend with increasing pH-value. This is expected since the neutral species react faster compared to the positively charged amine species. [3] Table 1 compares the product formation, stoichiometry, and reaction kinetics of MPP and ritalinic acid.

**Table 1: Formation of chlorine species, stoichiometry and reaction kinetics of the neutral species, reaction rates in parenthesis: calculated for pH 8. The yield of different chlorine species in the reaction between different concentrations of  $\text{ClO}_2$  and [MPP] = 0.1 mM and [ritalinic acid] = 0.1 mM was measured at pH 9 in the presence of [Glycine] = 5 mM and [Phosphate buffer] = 10 mM in ultrapure water.**

Compound (strongest basic $\text{pK}_a$ )	$\text{ClO}_2^-$	$\text{Cl}^-$	$\text{ClO}_3^-$	HOCl	total	Stoichiometry	$k \text{ ClO}_2$ ( $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	$k \text{ HOCl}$ ( $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ )
2-Methylpiperidin (10.48)	$85 \pm 1$	$4 \pm 2$	$1 \pm 0.6$	$5 \pm 0.3$	95%	5:1	107.3 (10)	$6.3 \times 10^5$ ( $5.8 \times 10^2$ )
Ritalinic acid (10.08)	$68 \pm 5$	$5 \pm 2$	$2 \pm 1$	$10 \pm 1$	85%	5:1	537.4 (50)	$5.3 \times 10^5$ ( $1.1 \times 10^3$ )
Cetirizine <sup>1</sup> (7.74)	$91 \pm 2$	$6 \pm 4$	-	-	100%	4:1	380 (132)	$8.2 \times 10^2$ ( $7.4 \times 10^1$ )

1: Wasser 2019 [18]

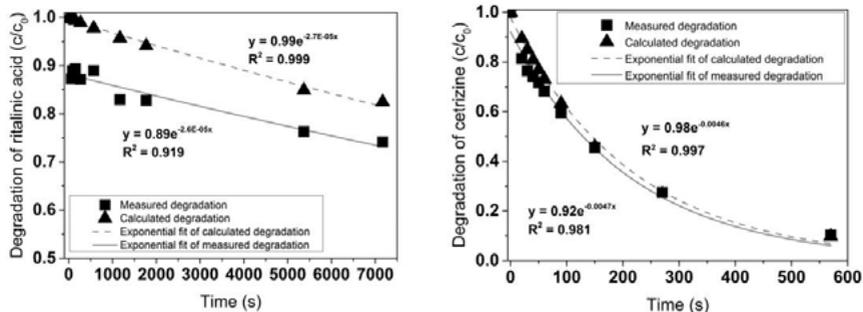
5 equivalents  $\text{ClO}_2$  were consumed per degraded MPP and ritalinic equivalent, indicating a rather complex multi-step reaction mechanism. Thereby chlorite is the main product. This indicates that  $\text{ClO}_2$  mainly reacts by electron transfer. However, differences can be observed regarding reaction kinetics, i.e., ritalinic acid reacts about five times slower than MPP. This can be explained by differences in the electron density of the amine. In case of MPP, the methyl group at the  $\alpha$ -carbon slightly activates the amine while the carboxylic group slightly deactivates the amine in case of ritalinic acid. The incomplete mass balance for ritalinic acid indicates the formation of halogenated organic products.

The degradation of cetirizine and ritalinic acid in surface water was calculated using equation 1.

$$\ln\left(\frac{c}{c_0}\right) = -k * \int [Ox] dt \quad \text{Equation 1}$$

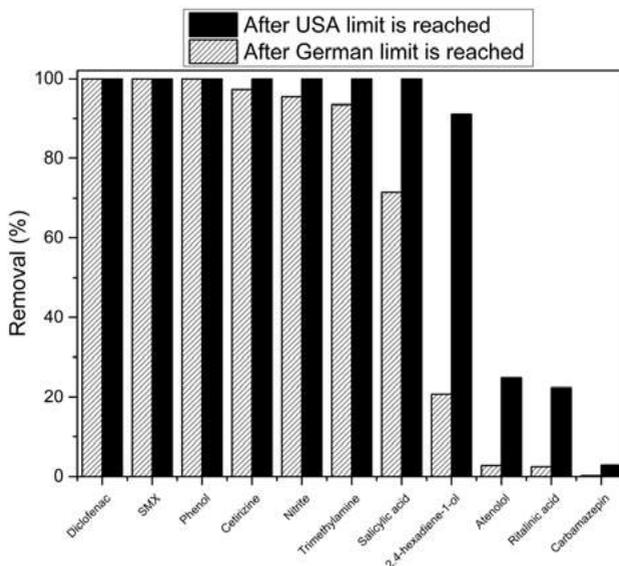
The degradation of trace compounds can be calculated using the second-order reaction rate multiplied by the oxidant exposure (time integral of oxidant concentration) arriving at the observed first-order degradation. [19] This approach was also applied for calculating the degradation of ritalinic acid and MPP in surface water. Figure 2 compares the measured degradation of these compounds with the calculated values confirming the reaction rate constants determined in pure water. It is noteworthy that also the stoichiometries (Table 1) were included in the calculation, corroborating that also at real case scenarios, 5 equivalents of  $\text{ClO}_2$  were consumed per degraded equivalent of ritalinic acid and 4 in the case of cetirizine.

In the initial phase of pollutant degradation, MPP and ritalinic acid show a sharp drop in concentration. This can be explained by an instant formation of free chlorine in the reaction of  $\text{ClO}_2$  with organic matter [17], which may act as a secondary oxidant. Indeed, HOCl shows a fast reaction with both compounds at pH 8. However, this hypothesis needs further experimental proof.



**Figure 2: Calculated (triangle) and measured (square) degradation of ritalinic acid (left) and cetirizine (right) in the surface water matrix by adding 100  $\mu\text{M}$   $\text{ClO}_2$ .**

Since the degradation of micropollutants can be well modeled based on reaction rate constants, degradation of other pollutants (with known reaction rate constants) can be predicted at different exposures. The maximal  $\text{ClO}_2$  exposure is limited by the amount of formed chlorite (Maximum exposure based on German standard: 0.027 M s; USA standard: 0.285 M s): At these exposures the degradation of different micropollutants was calculated (figure 3.). Reaction rates were taken from the literature [3, 20]. The results show that  $\text{ClO}_2$  can be used for the abatement of different micropollutants without exceeding  $\text{ClO}_2^-$  drinking water standards, especially, in case of micropollutants that have electron-rich moieties such as SMX. However, it may not have a broad band effect as other water treatment options to abate pollutants such as ozonation, which would rapidly degrade compounds such as carbamazepine ( $k(\text{O}_3 + \text{Carbamazepine}) = 3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). [20]



**Figure 3: Calculated relative degradation of different micropollutants within the contact time until  $\text{ClO}_2^-$  formation is as high as German (stripped) or US-EPA drinking water standard contamination limit (black) using the second-order reaction rate and the observed exposure for  $100 \mu\text{M}$   $\text{ClO}_2$  dosage.**

## Conclusion

The study has shown that MPP and ritalinic acid react similarly with  $\text{ClO}_2$ . This also indicates that simple model compounds may be usable for a complementary study on more complex pollutants.

Furthermore, the reaction kinetics of  $\text{ClO}_2$  reactions with micropollutants can be applied to real water scenarios, which can be used as a quick assessment of pollutant degradation by  $\text{ClO}_2$  treatment. The real water experiments indicated that  $\text{ClO}_2$  could be applied as a pollutant control option in water treatment for a particular set of pollutants, which contain electron-rich moieties without exceeding the chlorite drinking water standard.

## References

1. Luo, Y., W. Guo, H.H. Ngo, L.D. Nghiem, F.I. Hai, J. Zhang, S. Liang, and X.C. Wang, *A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment*. Science of the total environment, 2014. **473**: p. 619-641.
2. Gates, D.J., G. Ziglio, and K. Ozekin, *State of the Science of Chlorine Dioxide in Drinking Water*. 2009: Water Research Foundation/Fondazione AMGA.

3. Hoigné, J. and H. Bader, *Kinetics of reactions of chlorine dioxide (OCIO) in water—I. Rate constants for inorganic and organic compounds*. Water Research, 1994. **28**(1): p. 45-55.
4. Lee, Y. and U. von Gunten, *Oxidative transformation of micropollutants during municipal wastewater treatment: Comparison of kinetic aspects of selective (chlorine, chlorine dioxide, ferrateVI, and ozone) and non-selective oxidants (hydroxyl radical)*. Water research, 2010. **44**(2): p. 555-566.
5. Neta, P., R.E. Huie, and A.B. Ross, *Rate constants for reactions of inorganic radicals in aqueous solution*. Journal of Physical and Chemical Reference Data, 1988. **17**(3): p. 1027-1284.
6. Werdehoff, K.S. and P.C. Singer, *Chlorine Dioxide Effects on THMFP, TOXFP, and the Formation of Inorganic By-products*. Journal-American Water Works Association, 1987. **79**(9): p. 107-113.
7. Korn, C., R.C. Andrews, and M.D. Escobar, *Development of chlorine dioxide-related by-product models for drinking water treatment*. Water Research, 2002. **36**(1): p. 330-342.
8. van Wijk, D.J., S.G. Kroon, and I.C. Garttner-Arends, *Toxicity of chlorate and chlorite to selected species of algae, bacteria, and fungi*. Ecotoxicology and environmental safety, 1998. **40**(3): p. 206-211.
9. Couri, D., M.S. Abdel-Rahman, and R.J. Bull, *Toxicological effects of chlorine dioxide, chlorite and chlorate*. Environmental Health Perspectives, 1982. **46**: p. 13-17.
10. Umweltbundesamt, *Bekanntmachung der Liste der Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren gemäß §11 der Trinkwasserverordnung*. Trinkwasserverordnung, 2012.
11. *Public health statement Chlorine Dioxide and Chlorite*. Agency for toxic substances and disease registry, 2004.
12. Wajon, J.E., D.H. Rosenblatt, and E.P. Burrows, *Oxidation of phenol and hydroquinone by chlorine dioxide*. Environmental science & technology, 1982. **16**(7): p. 396-402.
13. Terhalle, J., P. Kaiser, M. Jütte, J. Buss, S. Yasar, R. Marks, H. Uhlmann, T.C. Schmidt, and H.V. Lutze, *Chlorine Dioxide—Pollutant Transformation and Formation of Hypochlorous Acid as a Secondary Oxidant*. Environmental science & technology, 2018. **52**(17): p. 9964-9971.
14. Rougé, V., S.b. Allard, J.-P. Croué, and U. von Gunten, *In Situ Formation of Free Chlorine During ClO2 Treatment: Implications on the Formation of Disinfection Byproducts*. Environmental science & technology, 2018. **52**(22): p. 13421-13429.
15. Gordon, G., R.G. Kieffer, and D.H. Rosenblatt, *The chemistry of chlorine dioxide*. Progress in inorganic chemistry, 1972. **15**: p. 201-286.
16. Hoigné, J. and H. Bader, *Bestimmung von ozon und chlordioxid in wasser mit der indigo-methode*. vom Wasser, 1980. **55**: p. 261.
17. H.V. Lutze, K.H., T.C. Schmidt, *Reaction of chlorine dioxide with organic matter - Formation of inorganic products*. Wasser 2019 Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft, 2019: p. 310-315.
18. X. Mutke, M.S.A., H.V. Lutze, T.C. Schmidt, *Reactions of saturated heterocyclic amines with chlorine dioxide*. Wasser 2019 Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft, 2019: p. 437-442.
19. Von Gunten, U., *Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation*. Water research, 2003. **37**(7): p. 1443-1467.
20. Lee, Y. and U. Von Gunten, *Quantitative structure–activity relationships (QSARs) for the transformation of organic micropollutants during oxidative water treatment*. water research, 2012. **46**(19): p. 6177-6195.

## Centrifugal Field-Flow Fractionation coupled with Multi Angle Light Scattering and Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry for size-resolved assessment of elements in suspended particulate matter from Lake Taihu

<sup>1</sup>M. Dinkel, <sup>1</sup>R. Drexel, <sup>1</sup>V. Sogne, <sup>2</sup>A. Wilhelms, <sup>3</sup>J. Yang, <sup>4</sup>V. Nischwitz, <sup>1</sup>Florian Meier

<sup>1</sup>Postnova Analytics GmbH, Landsberg/D

<sup>2</sup>Institute of Applied Geosciences, KIT - Karlsruhe Institute of Technology, Karlsruhe/D

<sup>3</sup>Center for Separation and Purification Materials & Technologies, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou/CN

<sup>4</sup>Central Institute for Engineering, Electronics and Analytics, Analytics (ZEA-3), Forschungszentrum Juelich, Juelich/D

### Introduction

Assessing the size and mass distribution as well as the size-resolved elemental composition of suspended particulate matter in environmental water samples is a challenging task [1]. In order to properly address such complex samples, a respective analytical methodology has to cover a broad range of size and mass distributions along with the capability to quantify various elements at significantly different concentration levels. In addition, this methodology should be able to analyze such samples with no or only minor sample preparation requirements, ideally in one single measurement run. With a separation range from roughly 10 nm to 50  $\mu\text{m}$  depending of the density of the sample components, Centrifugal Field-Flow Fractionation (CF3, **Figure 1**) is able to cover such broad particle size and mass ranges. Hyphenation with Multi Angle Light Scattering (MALS) and Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) additionally enables the determination of size (radius of gyration  $R_g$ ) [2] and elemental distributions [3] across the fractionated sample.

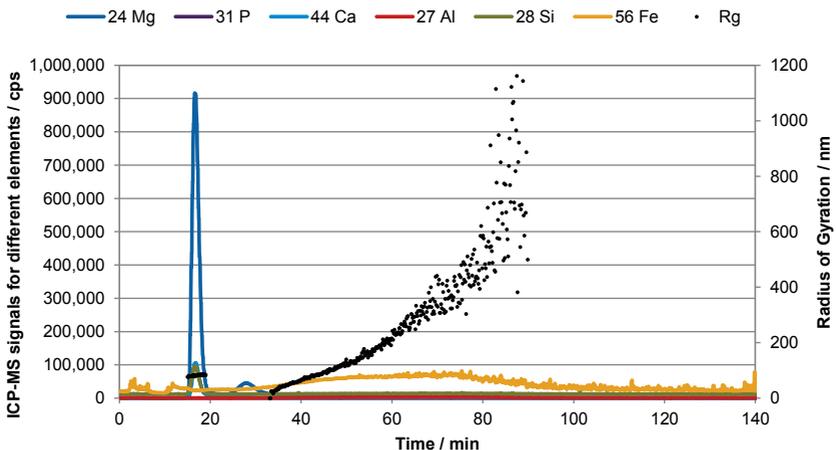


**Figure 1** Separation principle of Centrifugal Field-Flow Fractionation (CF3).

This hyphenated setup (CF3-MALS-ICP-MS) was applied to investigate samples of suspended particulate matter that were collected during a sampling campaign at Lake Taihu in 2019 in the frame of the SIGN2 project (<http://water-sign.de/>) Sampling was performed at a water depth of 80-100 cm by the KIT Institute of Applied Geosciences using the BIOLIFT multi-sensor system (<https://www.agw.kit.edu/english/10494.php>). Aim of this study was the size-resolved quantification of multiple elements across the whole size range of suspended particulate matter. Main focus was on the quantification of particulate Phosphorous as one of the main nutrients and responsible for the proliferous growth of algal blooms in Lake Taihu thereby potentially threatening the drinking water quality of millions of residents in that region.

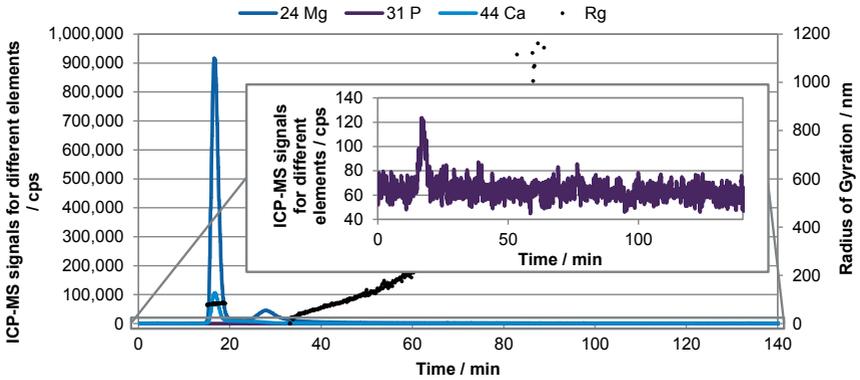
## Results

The received Lake Taihu samples were analyzed without any further pretreatment step except for manually shaking before injection. While CF3 indicated two major size fractions in the sample, MALS was able to size both fractions and ICP-MS simultaneously enabled access to the size resolved distribution of elements such as e.g. Magnesium, Calcium, Aluminum, Iron or Phosphorus (**Figure 2**).

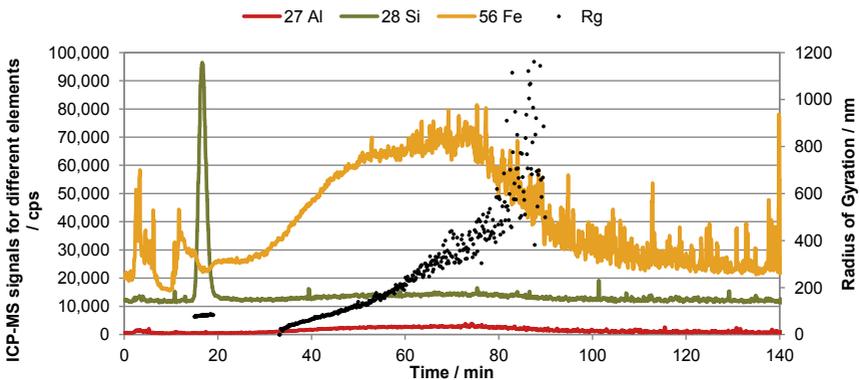


**Figure 2:** Exemplary CF3-MALS-ICP-MS fractogram enabling a correlation of the elemental composition across the size and mass distribution of suspended particulate matter in a respective Lake Taihu sample.

# Ge/Sp 017



**Figure 3:** Zoom into the fractogram CF3-MALS-ICP-MS Figure 2 showing the elements of the low density fraction.



**Figure 4:** Zoom into the fractogram CF3-MALS-ICP-MS Figure 2 showing the elements of the high density fraction.

Obtained results indicate that the sample is composed of a fraction of lower density and a size distribution of approx. 80-100 nm  $R_g$  that elutes first and that contains significant amounts of Mg and Ca and minor traces of elemental Phosphorous close to or below the limit of detection of the ICP-MS (**Figure 3**). This fraction can most likely be correlated with natural organic matter such as humic or fulvic acids. The second fraction shows a significantly higher density than the first fraction with a size distribution of approx. 130-400 nm  $R_g$  dominated by elements such as Si, Al and Fe indicating significant amounts of suspended inorganic sediment particles (**Figure 4**).

## Conclusion

The hyphenation of CF3 with MALS and ICP-MS is a powerful tool for the separation and characterization of suspended particulate matter in environmental water samples over a broad size range. Analysis can be performed with virtually no sample preparation that may compromise the initial state of the sample.

However, quantification of particulate Phosphorous and thus monitoring the nutrient distribution in the water column remains a challenging task due to the comparably low sensitivity of the ICP-MS towards elemental Phosphorous.

## Literature

- [1] J. Yang, P. Tan, T. Huang, V. Nischwitz, *Analytica Chimica Acta*, **2020**, 1093, 16-27.
- [2] V. Sogne, F. Meier, T. Klein, C. Contado, *Journal of Chromatography A*, **2017**, 1515, 196-208.
- [3] F. Dutschke, J. Irrgeher, D. Pröfrock, *Analytical Methods*, **2017**, 9(24), 3626-3635.

## Acknowledgements

Financial support by the BMBF in the frame of the Sino-German Water Supply Network project SIGN2 (BMBF Grant No. 02WCL1471K) is gratefully acknowledged.

## **Organische Spurenstoffe im Bodensee und seinen baden-württembergischen Zuflüssen**

Dr. K. Härtl-Brandl, Langenargen/D, Dr. A. Noffke, Langenargen/D

### **Einleitung**

Der Bodensee ist mit 536 km<sup>2</sup> der zweitgrößte Alpensee Europas. Mit Deutschland, der Schweiz und Österreich grenzen drei Staaten an den See. 1959 wurde die Internationale Gewässerschutzkommission für den Bodensee (IGKB) gegründet, deren Mitglieder die Anrainerstaaten am See und das Fürstentum Liechtenstein sind, um sich um den ganzheitlichen Zustand des Sees zu kümmern. Rund fünf Millionen Menschen beziehen ihr Trinkwasser aus dem Bodensee (Abbildung 1) [1].

Seit der Mitte des vorherigen Jahrhunderts haben sich die Herausforderungen des Gewässerschutzes am Bodensee geändert. Während damals die zunehmende Eutrophierung und das Ziel die erfolgreiche Reoligothrophierung im Vordergrund des Gewässerschutzes stand, sind heute Themen wie die Auswirkungen des Klimawandels, strukturelle Defizite im Uferbereich, Neozoen und anthropogene Spurenstoffe im Fokus der Gewässerschutzler. Der vorliegende Beitrag stellt die Untersuchungsergebnisse der IGKB und der Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg zu anthropogenen Spurenstoffen seit 2008 im Bodensee und seinen baden-württembergischen Zuflüssen (Nummer 5-10 in Abbildung 1) zusammen.

### **Untersuchungsprogramme**

Die hier vorliegenden Ergebnisse stammen aus verschiedenen Untersuchungsprogrammen. 2008 wurden im Auftrag der IGKB eine umfassende Bestandsaufnahme im See und 2009 in seinen Zuflüsse durchgeführt. Dabei wurden am 14.08.2008 im See an vier Messstellen 18 Wasserproben in unterschiedlichen Seetiefen genommen und auf ca. 600 Einzelstoffe untersucht. Neben wenigen Metallen wurden v.a. anthropogene organische Spurenstoffe, wie Arzneimittel, Pflanzenschutzmittel und Metabolite, perfluorierte Tenside, endokrine Disruptoren, leichtflüchtige Kohlenwasserstoffe, halogenorganische Verbindungen sowie sonstige Industriechemikalien analysiert. Die Zuflussuntersuchungen 2009 fanden an drei Terminen im April, August und September statt. Dabei wurden auf 70 Einzelstoffe der oben genannten Stoffgruppen untersucht. 2015 und 2019 fand jeweils eine Neuauflage dieser Untersuchungen in geringerem Umfang statt. Analysiert wurde dabei auf 35 Stoffe, die sich 2008 bzw. 2009 als relevant herausstellten.

Weitere Ergebnisse stammen aus dem Pestizidmessprogramm des Instituts für Seenforschung der Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg, das dreimal jährlich Proben aus dem Bodensee (Seemitte), und seinen baden-württembergischen Zuflüssen untersucht. Seit 2016 werden im Zuge dessen neben Pflanzenschutzmitteln auch ausgewählte Arzneimittel analysiert (insgesamt ca. 120 Einzelstoffe).

Schließlich flossen in den vorliegenden Beitrag Ergebnisse ein, die im Rahmen der Messprogramme zur Überwachung von prioritären Stoffen und flussgebietspezifischen Schadstoffe nach der Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer erhoben wurden. Die Wasserproben wurden hierfür 2017 an zwei Terminen (Frühjahr und Herbst) aus unterschiedlichen Tiefen an der Seemittestation sowie aus dem Zellersee entnommen.

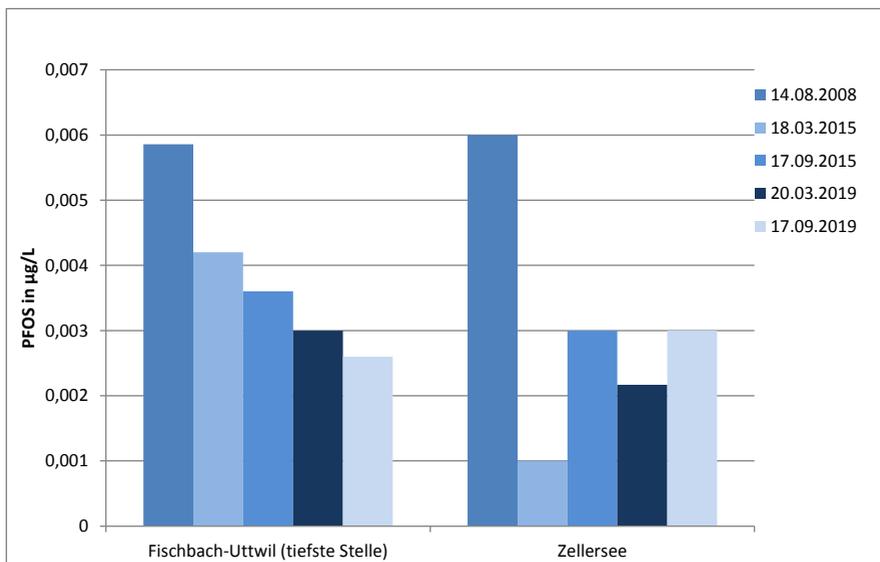


**Abbildung 1** Bodensee [1]

## Ergebnisse

Im Bodensee und seinen Zuflüssen liegen die Konzentrationen an anthropogenen Spurenstoffen im vergleichbar niedrigen Konzentrationsbereich. Aufgrund Verdünnungseffekte sind die Konzentrationen im Freiwasser geringer als in seinen Zuflüssen. Abhängig von Stoffgruppen und Einzelstoffen sind unterschiedliche Trends feststellbar. Bei den allermeisten Stoffen werden geltende nationale und internationale Normen eingehalten. Trotz der sehr geringen gemessenen Konzentrationen an perfluorierten Tensiden im wenigen ng/L-Bereich wurden geltende Umweltqualitätsnormen bezüglich PFOS überschritten, allerdings ist hier ein Trend zur Abnahme erkennbar.

**Abbildung 2** PFOS-Konzentration im Bodensee 2008, 2015 und 2019 aus dem IGKB-Messprogramm



## Literatur

[1] [www.igkb.org](http://www.igkb.org)

## **Mathematical-Numerical Assessment of Lighter Than Water [LNAPL] Subsurface Migration as a Source of Groundwater Contamination**

C. Onaa, Freiberg/D, M. Amro, Freiberg/D

M.Sc. Chukwuemeka Onaa, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Institut für Bohrtechnik und Fluidbergbau, Agricolastr. 22, Freiberg/D

Once released, an oil migration incident within the subsurface, might have some degree of impact on the immediate environment. Soil-oil-water interactions can have widespread consequences for soil [1] [2] and groundwater resource [3], including impact on groundwater safety [4]. Thus, an enhanced knowledge of the fluids behaviour is key to understanding the consequences and prospects for remedy. In search of solutions to the problems associated with these interactions, previous research efforts identified LNAPL physical properties, its chemical composition [5] [6], and characterization [7], as essential to the prediction and selection of remediation strategies. Sets of laboratory experiments, simulating LNAPL migration through model-sand, are currently on-going. Although, it mimics hydrocarbon spillages occurring within the subsurface, the designed novel approach conceptualizes LNAPL upwards distribution towards the groundwater table. The goal of the study is to propose a predictive method which describes fluids propagation dynamics in the vicinity of groundwater system, and its governing parameters. Historically, NAPL could be predicted through typical non-hysteric relationships between soil [8], its physical properties [9] [10], and mathematical computations [11]. Degradation, volatilization, sorption, advection, dispersion, multiphase partitioning [12] [13], and transport parameters including density, viscosity, capillary pressure, relative permeability, and the chemical constituents of LNAPL are main processes known to influence NAPL fate and rate of subsurface mobility. Like remediation strategies, the prediction of LNAPL subsurface migration is also very crucial in accurately deploying techniques and appropriate materials for the effective containment of NAPL spread [14] [15]. Our experimental model show, as suggested by [14], that LNAPL retention on sand material – especially crude-oil, is significantly a measure of NAPL-partitioning, into heavier and lighter phases. Thus, the heavier component settles near-surface while the lighter phase constitutes the advancing LNAPL front. We simulated this behaviour, as shown in Fig.1, by mixing sand with different soil materials – clay and carbonate - and it yielded consistent result, which validated our conceptual model. Compared to sand-carbonate mixture, the sand-clay mixture showed better permeability to LNAPL migration. It infers that sand-clay mixture

favours quicker subsurface LNAPL distribution while sand-carbonate mixture, offering stronger constraints to fluids mobility, possess a better sealing property. This phenomenon informs our recommendation for the containment of subsurface LNAPL leakages, and the decontamination of groundwater resource. This study agrees with [1], [16], [17] and [18] that subsurface distribution of small amount of LNAPL is restricted only to the vadose zone while larger amounts mostly propel lateral and deeper migration - often breaking through the capillary fringe. We establish that this LNAPL behaviour is hugely influenced by diffusivity, but also capillary pressure, source and temperature gradients, and pre-existing geologic structures. Depending on the location-depth of LNAPL source, temperature gradient in the subsurface will favour a decrease in LNAPL viscosity and density, thereby driving a faster LNAPL migration rate. From our mathematical model, it is observed that sand permeability to LNAPL, is more developed in the vertical direction than in the horizontal. By accurately describing the physics for the above scenario, our numerical model with COMSOL yielded a matching prediction of the LNAPL migration rate, and the penetration-depth of the advancing lighter-phase front.

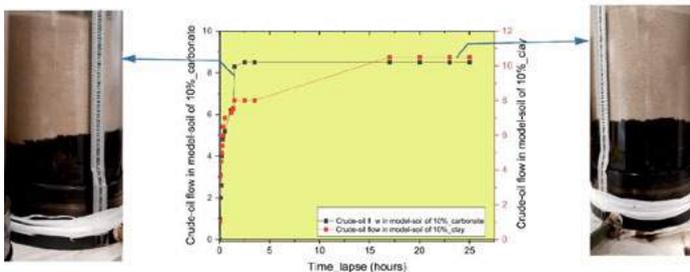


Figure 1: Schematic depicting crude-oil subsurface migration through a mixture of two different soil materials.

The environmental significance of the study is the estimation of the effect of LNAPLs, as toxic fluids, on groundwater system. The research result can be implemented in solving problems relating to LNAPLs-induced contaminations as a result of, among others, leakages from wellheads and reservoirs, fuel stations, industrial liquid wastes, and from underground storage tanks.

## Literature

[1] Tomlinson, D.W., Rivett, M.O., Wealthall, G.P., and Sweeney, R.E.H., (2017). Understanding complex LNAPL sites: Illustrated handbook of LNAPL transport and fate in the subsurface. J. Environmental Management vol. 204, 748-756pp.

- [2] Testa, S.M., and Jacobs, J.A., (2013). Oil Spills and Gas Leaks: Environmental Response, Prevention and Cost Recovery.
- [3] Lee, J-Y., Cheon, J-Y., Lee, K-K., Lee, S-K., and Lee, M-H., (2001). Factors affecting the distribution of hydrocarbon contaminants and hydrogeochemical parameters in a shallow sand aquifer. *J. Contaminant Hydrology*, vol 50, 139-158pp.
- [4] Dobson R., Schroth M.H., Zeyer, J., (2007). Effect of water-table fluctuation on dissolution and biodegradation of a multi-component, light nonaqueous-phase liquid. *Journal of Contaminant Hydrology*. Vol 94, 3–4, 235-248pp.
- [5] Mathew, M., and Kumar, M.S.M., (2003). Effect of capillarity and heterogeneity in the numerical modelling of multiphase flow of fluids in unsaturated porous medium. In: *Computational Fluid and Solid Mechanics*. Bathe. K.J (Editor), Elsevier Sci. Ltd, 1442-1446pp.
- [6] Lari, K.S., Rayner, R.L., and Davis, G.B., (2018). Towards characterizing LNAPL remediation endpoints. *J. Environmental Management* vol. 224, 97-105pp.
- [7] Deeds, N.E., McKinney, D.C, and Pope, G.A., (2000). Laboratory characterization of non-aqueous phase liquid/tracer interaction in support of a vadose zone partitioning interwell tracer test. *J. Contaminant Hydrology*, vol. 41, 193-204pp.
- [8] Lari, K.S., Davis, G.B., and Johnston, C.D., (2016). Incorporating hysteresis in a multi-phase multi-component NAPL modelling framework; a multi-component LNAPL gasoline example. *Advances in Water Resources*, vol 96, 190-201pp.
- [9] Cary, J.W., Simmons, C.S. and McBride, J.F., (1989). Predicting oil infiltration and redistribution in unsaturated soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, vol 53, 335-342pp.
- [10] Abdul, A.S., (1988). Migration of petroleum products through sandy hydrogeologic systems. *Ground Water Monit. Rev.*, vol 8, 73-81pp.
- [11] Pantazidou, M. and Sitar, N., (1993). Emplacement of nonaqueous liquids in the vadose zone. *Water Resour. Res.*, 29, 705-722pp.
- [12] Amro, M., M. S. Benzagouta, M.S. and Karnanda, W., (2011). Investigation on crude oil penetration depth into soils. *Arabian Journal of Geosciences*.
- [13] Charbeneau, R.J., Weaver, J.W., Lien, B.K., Robert, S.K., (1995). The hydrocarbon spill screening model (HSSM). Theoretical background and source codes, EPA/600r-94r039b, US EPA, vol 2, 259 pp.

- [14] Schroth, M.H., Istok, J.D., Aheam, S.J., and Selker, J.S. (1995). Geometry and position of light nonaqueous-phase liquid lenses in water-wetted porous media. *J. Contaminant Hydrology*, vol 19, 269-287pp.
- [15] Catalan, L.J.J., and Dullien, F.A.L., (1995). Application of gravity drainage to the recovery of residual LNAPL in homogeneous and lensed sand packs. *J. Contaminant Hydrology*, vol. 18, 279–306pp.
- [16] CL: AIRE, (2014). An illustrated handbook of LNAPL transport and fate in the subsurface. *Contaminated Land: Applications in Real Environments*, London, UK.
- [17] Mercer, W.J. and Cohen, R.M. (1990). A review of immiscible fluids in the subsurface: properties, models, characterization and remediation. *J. Contaminant Hydrology*, vol 6, 107-163pp.
- [18] Schwille, F., (1988). *Dense Chlorinated Solvents in Porous and Fractured Media Model Experiments*. Lewis Publishers, Chelsea, MI.

## Entfernung persistenter und mobiler Spurenstoffe durch Aktivkohle

P. Schumann, Berlin/D, M. Muschket, Leipzig/D, T. Reemtsma, Leipzig/D, M. Jekel, Berlin/D, A. S. Ruhl, Berlin/D

Umweltbundesamt, Fachgebiet II 3.1, Schichauweg 58, 12307 Berlin, Deutschland

### Einleitung

Persistente und mobile Spurenstoffe (PM-Stoffe) sind in den letzten Jahren durch ihr Potential, sich im Wasserkreislauf anzureichern und bis ins Trinkwasser vorzudringen, zunehmend in den Fokus von Wissenschaft und Behörden gelangt (Neumann und Schliebner 2017; Reemtsma et al. 2016). Ermöglicht wurde die Identifikation von PM-Stoffen und die Untersuchung deren Verhaltens in der Umwelt durch die Weiterentwicklung analytischer Methoden, die das Spektrum der mit Flüssigchromatographie und Massenspektrometrie erfassten Stoffe auf polare bis sehr polare Stoffe erweitert (Reemtsma et al. 2016). Durch Anwendung von auf sehr polare Stoffe zugeschnittenen Methoden konnten bereits viele neue Stoffe im Wasserkreislauf identifiziert werden (Zahn et al. 2019; Schulze et al. 2019). Durch die Lücken in Analytik und Monitoring ist über die Entfernung von PM-Stoffen in etablierten Verfahren zur Spurenstoffentfernung – Adsorption an Aktivkohle und Ozonung – bisher wenig bekannt bzw. keine Beurteilung möglich (Reemtsma et al., 2016).

Zur Abgrenzung von PM-Stoffen gegenüber anderen Spurenstoffen werden Verteilungskoeffizienten zwischen organischem Kohlenstoff im Boden und Wasser –  $\log K_{OC}$  – für die Mobilität, und die Abbau-Halbwertszeit in der Umwelt für die Einordnung der Persistenz herangezogen. Oft wird für die Einschätzung der Mobilität aufgrund unzureichender Datenlage auf den pH-abhängigen Verteilungskoeffizienten zwischen Oktanol und Wasser ( $\log D$ ) zurückgegriffen.

Adsorption an Aktivkohle ist ein Verfahren, das auf Sorption eines gelösten Adsorptivs an Aktivkohle beruht. Aufgrund der hohen Polarität und Wasserlöslichkeit von PM-Stoffen wird daher angenommen, dass sich das für Spurenstoffe etablierte Behandlungsverfahren in Trink- und Abwasserreinigung wenig eignet. Die Affinität eines Adsorptivs an Aktivkohle hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab, unter anderem der Polarität, der Molekülgröße, dem aromatischen Kohlenstoffgehalt und der Ladung bei entsprechendem pH-Wert.

Um das Potential von Aktivkohle für die Entfernung für PM-Stoffe zu untersuchen, wurden die Entfernungen von 20 PM-Stoffen mit unterschiedlichen Eigenschaften, darunter aromatische und aliphatische Substanzen, im neutralen Milieu negativ und positiv geladene Moleküle sowie Substanzen mit log D Werten zwischen -3,37 und 2,44 (bei pH 8,3) in Batch-Versuchen analysiert.

### Methoden

Die kommerziell erhältliche granuliert Aktivkohle (GAK - Hydrffin CC, Donaucarbon) wurde mit einer Kugelmühle (CryoMill, Retsch) pulverisiert (30 s, 30 Hz), zwei Stammsuspensionen (2 g/L und 10 g/L) in Reinstwasser angesetzt und unter Vakuum entgast. 50 mL Leitungswasser (DOC = 5,1 mg/L, pH = 8,3) wurden mit je 10 µg/L der 20 PM-Stoffe dotiert, mit Aktivkohledosen von 2, 10 und 50 mg/L versetzt und 48 h auf einem Horizontalschüttler agitiert (Verdünnung der Adsorptionslösung durch Stammsuspension  $\leq 1\%$ ). Alle Proben wurden anschließend filtriert (0,45 µm), durch azeotrope Verdampfung (XcelVap, Biotage, 21 mL Acetonitril, 4 mL Probe) bis zur Trockene eingedampft und in 200 µL 90:10 Acetonitril zu Reinstwasser rückgelöst und zentrifugiert (Eppendorf, Centrifuge 5804 R, 20 min bei 11.000 rpm und 5°C). Die quantitative Analyse erfolgte mittels überkritischer Fluidchromatographie gekoppelter hochauflösender Massenspektrometrie (supercritical fluid chromatography high resolution mass spectrometry - SFC-HRMS; Waters Acquity UPC2 BEH 3.0 x 100 mm, 1,7 µm; Waters Acquity UPC2 System). Die Auswertung wurde mit Hilfe der Peakflächen unter Annahme eines linearen Zusammenhangs zwischen Konzentration der Analyten und Peakfläche durchgeführt.

### Ergebnisse und Diskussion

Die untersuchten PM-Stoffe zeigen ein breites Spektrum an Adsorbierbarkeit auf (ausgewählte Stoffe gezeigt in Abbildung 1). Bereits sehr niedrige Dosen von 2 mg/L reichen aus, um Oxipurinol (OXP) und 1,3-Di-o-tolyguanidin (DIOTOG) um knapp 70 % bzw. gut 90 % zu entfernen. Um gute Entfernungen von Melamin und Valsartansäure zu erreichen sind dagegen sehr hohe Aktivkohledosen von 50 mg/L notwendig. 2-Methyl-2-propen-1-sulfonsäure und Trifluormethansulfonsäure können selbst durch hohe Dosen kaum durch Aktivkohle entfernt werden.

Anhand ihrer Entfernung bei einer realitätsnahen Aktivkohledosis von 10 mg/L wurden die untersuchten PM-Stoffe in gut bis sehr gut adsorbierbar (80 - 100 %), mittel gut adsorbierbar (60 – 80 %), schlecht adsorbierbar (20 – 60 %) und nicht bzw. kaum adsorbierbar (unter 20 %) unterteilt sowie auf eine Abhängigkeit der Entfernung durch Adsorption an Aktivkohle vom log D untersucht (vgl. Abbildung 2). Die Hälfte der Stoffe

wurde schlecht bzw. nicht entfernt. Die geringsten Entfernungen wurden für Trifluormethansulfonsäure (TFMSA; log D = -1,23), 2-Methyl-2-propen-1-sulfonsäure (MPSA; log D = -2,21), 4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6,-tetramethylpiperidin (HHTMP; log D = -1,42), Amidotrizoessäure (DZA; log D = -0,63) und Natrium-2-acrylamino-2-methylpropansulfonate (AAMPS; log D = -2,71) erzielt. Bis auf DZA sind ihnen die aliphatische Struktur, die relativ geringe Molekülgröße (150 - 230 g/mol) sowie der niedrige log D gemein, die für eine geringe Affinität zu Aktivkohle sprechen.

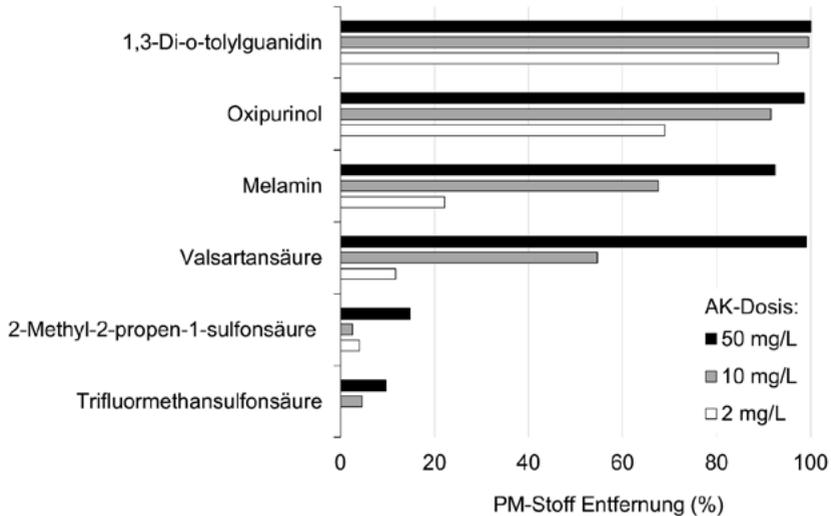


Abbildung 1: Entfernung ausgewählter PM-Stoffe in Schüttelversuchen mit Aktivkohledosen von 2 mg/L, 10 mg/L und 50 mg/L.

Fünf Stoffe zeigten gute bis sehr gute Entfernungen bei Zugabe von 10 mg/L Aktivkohle, darunter N-(3-(dimethylamino)-propyl)methacrylamide (MAPMA; log D = -0,61), OXP (log D = -3,37) und DIOTOG (log D = 2,44). OXP ist ein aromatisches, bei pH 8,3 negativ geladenes und relativ kleines (152 g/mol) Molekül. Da Aktivkohle bei neutralen pH-Werten im Allgemeinen negativ geladen vorliegt, sind die theoretischen Voraussetzungen für die Adsorption von OXP denkbar schlecht. Andere Faktoren, wie die Interaktion mit Kationen und organischen Bestandteilen der Matrix, tragen vermutlich zu der sehr guten Entfernungsleistung durch Aktivkohle bei. Die hohe Affinität zu Aktivkohle von OXP trotz seines niedrigen log D wurde bereits von Sperlich et al. (2017) in GAK-Festbettfiltern in ähnlicher Matrix beobachtet.

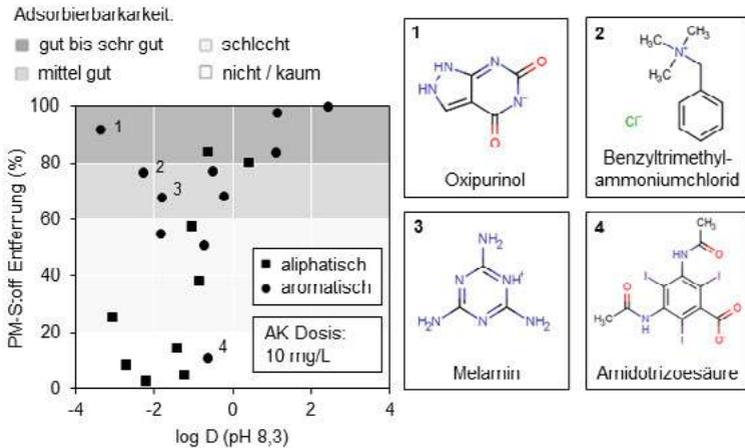


Abbildung 2: Entfernung aller untersuchten PM-Stoffe (unterschieden nach aromatischer und aliphatischer Struktur) bei einer Aktivkohledosis von 10 mg/L in Abhängigkeit vom  $\log D$  (pH 8,3) und Unterteilung nach Adsorbierbarkeit.

Es ist kein klarer Zusammenhang zwischen  $\log D$  und Entfernung der untersuchten PM-Stoffe (vgl. Abbildung 2) erkennbar. Dies wurde durch Piai et al. (2019) in Adsorptionsversuchen mit zehn hydrophilen Spurenstoffen in Reinstwasser berichtet. Ridder et al. (2010) wiesen dagegen einen deutlichen Trend zwischen der Zunahme der Affinität von organischen Spurenstoffen zu Aktivkohle mit zunehmendem  $\log D$  in einer Matrix ohne Hintergrundorganik nach. Konkurrenz und Wechselwirkungen mit Hintergrundorganik sowie andere Moleküleigenschaften tragen maßgeblich zur Entfernung der untersuchten PM-Stoffe bei, sodass eine Vorhersage der Entfernbarkeit anhand des  $\log D$  nicht möglich ist.

## Literaturverzeichnis

Neumann, Michael; Schliebner, Ivo (2017): Protecting the sources of our drinking water from mobile chemicals. A revised proposal for implementing criteria and an assessment procedure to identify Persistent, Mobile and Toxic (PMT) and very Persistent, very Mobile (vPvM) substances registered under REACH. Hg. v. Umweltbundesamt.

Piai, Laura; Dykstra, Jouke E.; Adishakti, Mahesa G.; Blokland, Marco; Langenhoff, Alette A. M.; van der Wal, Albert (2019): Diffusion of hydrophilic organic micropollutants in granular activated carbon with different pore sizes. In: *Water research* 162, S. 518–527.

Reemtsma, Thorsten; Berger, Urs; Arp, Hans Peter H.; Gallard, Hervé; Knepper, Thomas P.; Neumann, Michael et al. (2016): Mind the Gap: Persistent and Mobile Organic Compounds-Water Contaminants That Slip Through. In: *Environmental science & technology* 50 (19), S. 10308–10315.

Ridder, D. J. de; Villacorte, L.; Verliefde, A. R. D.; Verberk, J. Q. J. C.; Heijman, S. G. J.; Amy, G. L.; van Dijk, J. C. (2010): Modeling equilibrium adsorption of organic micropollutants onto activated carbon. In: *Water research* 44 (10), S. 3077–3086.

Schulze, Stefanie; Zahn, Daniel; Montes, Rosa; Rodil, Rosario; Quintana, José Benito; Knepper, Thomas P. et al. (2019): Occurrence of emerging persistent and mobile organic contaminants in European water samples. In: *Water research* 153, S. 80–90.

Sperlich, Alexander; Harder, Mareike; Zietzschmann, Frederik; Gnirss, Regina (2017): Fate of Trace Organic Compounds in Granular Activated Carbon (GAC) Adsorbers for Drinking Water Treatment. In: *Water* (9, 7).

Zahn, D.; Mucha, P.; Zilles, V.; Touffet, A.; Gallard, H.; Knepper, T. P.; Frömel, T. (2019): Identification of potentially mobile and persistent transformation products of REACH-registered chemicals and their occurrence in surface waters. In: *Water research* 150, S. 86–96.

## **Rückhalt von Mikro- und Sub $\mu$ -Plastik in der biologischen Abwasserbehandlung - systematische Untersuchung in Laborkläranlagen -**

M. Kunaschk, Wielenbach/D, S. Renner, Wielenbach/D, O. Knoop, Garching/D,  
K.P. Freier, Wielenbach/D

Marco Kunaschk, Bayerisches Landesamt für Umwelt, Demollstr. 31, Wielenbach/D

### **Einleitung**

Mikroplastik gelangt auf verschiedenen Pfaden in die Umwelt. Dabei geraten Kläranlagen als Punktquellen immer wieder in den Fokus. Es gibt nur wenige systematische Aussagen zum Rückhalt von Mikroplastik in Kläranlagen aus Studien, die auf die Beprobung mehrerer Anlagen oder über längere Zeiträume zurückgreifen [1–4]. Dabei zeigen sich starke Schwankungen je nach Einzugsgebiet, Jahres- und Tageszeit sowie eingesetzten Behandlungsstufen. Unterschiede ergeben sich auch in den gefundenen Polymeren, Formen und Größen sowie deren Konzentrationen. Auch die ermittelten Entfernungsraten zeigen in den Studien große Unterschiede. Beispielsweise schwankt die Angabe der Entfernung in der biologischen Stufe zwischen 20 und 80 Prozent [5, 6].

Aufwendige Studien mit hunderten von Proben, die die Dynamik und Entfernungsraten von Mikroplastik in Kläranlagen befriedigend klären könnten, sind bei gegenwärtigem Stand der Technik schwer machbar. Das liegt an den Wasservolumina von mehreren Kubikmetern, die vollständig filtriert werden müssen, um repräsentative Stichproben zu erhalten. Außerdem sind Probenaufbereitung und -messung sehr zeitaufwendig: Mit nasschemischen Verfahren müssen im Filtrat alle Stoffe eliminiert werden, die die Messungen stören, beispielsweise Lignin, Chitin oder Cellulose. Die anschließende Messung einer einzigen Probe mittels rasterbasierter Infrarotspektroskopie ( $\mu$ FT-IR) nimmt zusätzlich zwischen 8 und 10 Stunden in Anspruch. Die halbautomatisierte Auswertung der spektroskopischen Aufnahmen dauert erneut etwa einen Tag.

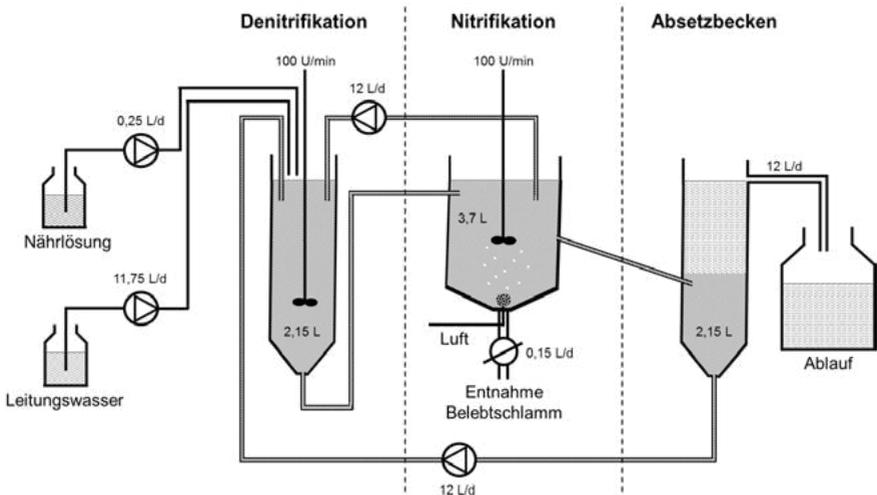
Um mit den aktuell verfügbaren Messmethoden dennoch valide Aussagen zum Verhalten von Mikroplastik in Kläranlagen zu generieren, nutzt die vorliegende Studie kontrollierte Experimente in Laborkläranlagen (LKA). Die Dosierung des Mikroplastiks im Zulauf kann dabei gesteuert werden, die Austräge werden engmaschig überwacht. So kann der Verbleib der Mikroplastikpartikel für die jeweilig betrachtete Stufe systematisch aufgeklärt werden. Innerhalb der durchgeführten Versuche wurde die Verteilung von Mikro- und Sub $\mu$ -Plastikpartikeln verschiedener Polymere (Polystyrol (PS), Polyethylen (PE), Polyvinylchlorid (PVC), Polymethylmethacrylat (PMMA), Polyethylenterephthalat (PET)), Formen (Fragmente, Kugeln), Größen (0,1 bis 250  $\mu$ m) und Konzentrationen zwischen Belebtschlamm und LKA-Ablauf untersucht, um daraus Entfernungs- und Verteilungsraten für verschiedene Mikroplastikpartikel in der biologischen Abwasserbehandlung ableiten zu können.

## Methoden

Die Untersuchungen erfolgten in sechs Laborkläranlagen, deren Schema in Abbildung 1 dargestellt ist, nach DIN EN ISO 11733. In einer Anlage von etwa 8 L Volumen, bestehend aus Denitrifikation, Nitrifikation und Absetzbecken, werden pro Tag 12 L synthetisches Abwasser behandelt. Nach Versuchsende werden die LKA komplett entleert und mit frischem Belebtschlamm aus einer nahegelegenen Kläranlage unter Berücksichtigung der Einlaufphase neu gestartet. Die Dosierung einer Partikelsorte je Versuch erfolgte als Stoßdosierung in das Denitrifikationsbecken. Über drei bis vier Wochen wurden Proben zur Untersuchung der Verteilung der Mikroplastikpartikel in Kläranlagenablauf und Belebtschlamm entnommen.

Alle Versuche wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Die Hintergrundbelastung der Laborkläranlagen liegt bei max. 25 Mikroplastikpartikeln ( $>20\ \mu\text{m}$ ) pro Becken, vorwiegend aus PE.

Die Proben (Ablauf: ca. 5 L, Belebtschlamm: ca. 100 mL) wurden filtriert und der Filtrerrückstand mit Hilfe eines Fenton-Aufschlusses ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 30%; 0,05 M  $\text{FeSO}_4$ ) unter Kühlung weitestgehend von organischen Rückstände befreit. Die Analytik erfolgte für Kugeln ( $>20\ \mu\text{m}$ ) visuell mit Hilfe eines Lichtmikroskops mit 4x-Objektiv und sowohl für Blindwertbestimmungen als auch Fragmente  $>20\ \mu\text{m}$  mittels FPA- $\mu$ -FT-IR (Bruker Hyperion 3000). Zur Untersuchung kleinerer Mikro- sowie Sub $\mu$ -Plastikpartikel (0,4 bis  $20\ \mu\text{m}$ ) wurden fluoreszenzmarkierte Materialien eingesetzt und mittels Fluoreszenzmikroskop (Zeiss ApoTome.2) analysiert.



**Abbildung 1** Aufbau und Betriebsbedingungen ( $T = 293 \pm 1\ \text{K}$ ,  $\text{pH} = 7,2 \pm 0,2$ ,  $\beta(\text{TS}) = 2,8 \pm 0,3\ \text{g/L}$ ,  $\beta(\text{O}_2) = 2,5 \pm 0,5\ \text{g/L}$ ) der Laborkläranlagen

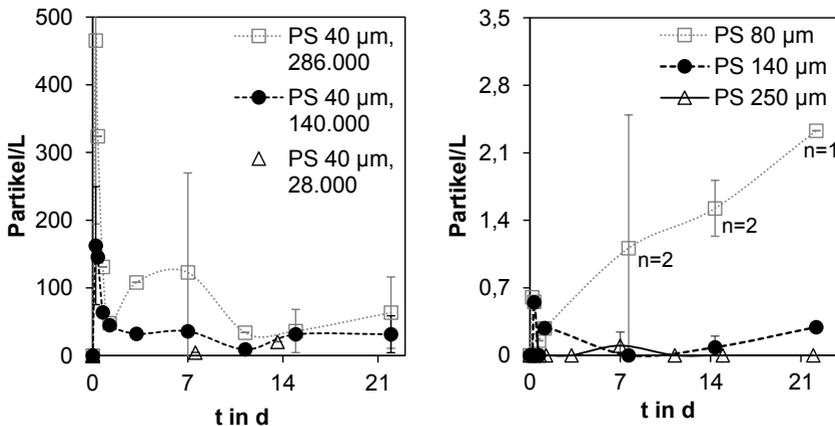
**Ergebnisse**

Die Dosierung der unterschiedlichen Mikro- und Subµ-Plastikpartikel führten zu keinen signifikanten Veränderungen in den Abbauleistungen der LKA von z. B. DOC und Ammonium im Vergleich zu den parallellaufenden Blindwertanlagen. Ein negativer Einfluss von unbehandeltem Mikroplastik (PS, HDPE, PET, PVC) auf die Belebtschlammstufen von Kläranlagen ist damit unwahrscheinlich.

Vergleicht man das Verhalten der dosierten 40 µm großen, sphärischen PS-Partikel in unterschiedlicher Konzentration (Abbildung 2, links), so steigt die Konzentration der Partikel im LKA-Ablauf mit steigender dosierter Menge. Dabei stellt sich jeweils ein Rückhalt der Partikel im Belebtschlamm von etwa 90 bis 95% über den Versuchszeitraum ein.

Anders verhält es sich bei der Betrachtung verschiedener Größen sphärischer PS-Partikel (Abbildung 2, rechts). Mit sinkendem Partikeldurchmesser steigt der Anteil im LKA-Ablauf nachweisbarer Partikel. Während bei den 250 µm- und 140 µm-Partikeln nur vereinzelt je 1 Partikel im LKA-Ablauf gefunden wurde, finden sich bei 80 µm Durchmesser 1 bis 2 Partikel/L. Dies entspricht einem Rückhalt in der LKA von etwa 99%, während der Rückhalt bei den kleineren 40 µm-Partikeln mit 90 bis 95% weiter sinkt. Vorversuche zeigen, dass sich dieser Trend auch bei 10 µm-Partikeln fortsetzt. Zudem zeigt sich bei den Partikeln <100 µm, dass deren Austrag über den Ablauf mit steigender Menge abfiltrierbarer Stoffe steigt.

Diese Ergebnisse unterscheiden sich von Kalcikova et al. [7], die bei Laborkläranlagen mit Überläufen zwischen den einzelnen Becken ein Davonschwimmen von PE-Partikeln >70 µm an der Oberfläche in den LKA-Ablauf beobachteten. Ob der Rückhalt der großen Partikel im hier durchgeführten Versuch tatsächlich über den Belebtschlamm erfolgt, wird die Untersuchung der Rückstellproben zeigen.



**Abbildung 2** Konzentration sphärischer PS-Partikel im Ablauf der LKA in Abhängigkeit von Partikeldosis (links; d(PS) = 40 µm) und Partikelgröße (rechts; n(PS) = 35.000)

## Ausblick

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen erfolgen Aufschluss und Analytik der Belebtschlammrückstellproben zur Absicherung der vorgestellten Ergebnisse. Zudem wird die Partikelverteilung zwischen Belebtschlamm und LKA-Ablauf für weitere Polymere unterschiedlicher Dichte (PE, PET, PMMA, PVC) und Partikelgrößen (0,1 bis 10 µm) betrachtet. Auch die Untersuchung der Auswirkung der Partikelform (Fragmente, Kugeln) und der (künstlichen) Alterung der Partikeloberfläche auf deren Verteilung und Rückhalt ist angedacht.

## Danksagung

Die Untersuchungen wurden im Rahmen des BMBF-Verbundvorhabens „SubµTrack: Tracking von (Sub)Mikroplastik unterschiedlicher Identität – Innovative Analysetools für die toxikologische und prozesstechnische Bewertung“ (FKZ: 02WPL1443C) im Zuge der Fördermaßnahme „Plastik in der Umwelt“ durchgeführt. Die Autoren danken dem BMBF und dem Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz für die finanzielle Unterstützung.

Besonderer Dank gilt BS-Partikel GmbH für die Bereitstellung der Referenzpartikel, sowie Fritz, Maria und Katharina für die Unterstützung im Labor.

## Literatur

- [1] A. Lusher, R. Hurley, C. Vogelsang, L. Nizzetto, M. Olsen, *Mapping microplastics in sludge* **2017**.
- [2] M. Simon, N. van Alst, J. Vollertsen, *Water research* **2018**, *142*, 1.
- [3] S. Gündoğdu, C. Çevik, E. Güzel, S. Kilercioğlu, *Environmental monitoring and assessment* **2018**, *190*, 626.
- [4] R. M. Blair, S. Waldron, C. Gauchotte-Lindsay, *Water research* **2019**, *163*, 114909.
- [5] L. Cabernard, E. Durisch-Kaiser, J.-C. Vogel, D. Rensch, P. Niederhauser, *Aqua et Gas* **2016**, 78.
- [6] F. Murphy, C. Ewins, F. Carbonnier, B. Quinn, *Environmental science & technology* **2016**, *50*, 5800.
- [7] G. Kalčíková, B. Alič, T. Skalar, M. Bundschuh, A. Ž. Gotvajn, *Chemosphere* **2017**, *188*, 25.

## **Analyse von Mikroplastik in Mineral- und Leitungswasser mittels Mikro-Raman-Spektroskopie**

J. Kerpen, Rüsselsheim/D, A. Giese, Rüsselsheim/D, R. Langer, Rüsselsheim/D,  
J. Prediger, Rüsselsheim/D, S. Wolff, Rüsselsheim/D, F. Weber, Rüsselsheim/D

Prof. Dr. Jutta Kerpen, Hochschule RheinMain, Am Brückweg 26, 65428 Rüsselsheim/D

### **Einleitung**

Der Gebrauch von Kunststoffverpackungen in Deutschland steigt stetig an, von 1642 kt/a in 1991 auf 3098 kt/a in 2016. Ein Großteil dieser Verpackungen wird für Lebensmittel eingesetzt [1]. Mikroplastikpartikel (MPP) wurden bereits in verschiedenen Lebensmitteln nachgewiesen, u.a. in Meeresfrüchten [2] und Salz [3]. Ob die MPP in den Lebensmitteln enthalten sind, bevor sie verpackt werden oder die Verpackung die Quelle ist, ist nicht geklärt. Auch in abgepacktem Wasser (Einweg-, Mehrweg-, Kunststoff- und Glasflaschen) wurden MPP nachgewiesen [4,5,6,7]. Das Verschlusssystem von Getränkeflaschen wurde als mögliche Quelle für MPP identifiziert [7].

MPP wurden in deutschen Oberflächengewässern, bspw. dem Rhein, die der Trinkwassergewinnung dienen, identifiziert [8]. Studien zeigen, dass die weitgehende Elimination von MPP in der Trinkwasseraufbereitung möglich ist [9,10]. In Trinkwasser aus Grundwasserbrunnen in Deutschland konnten MPP an der Nachweisgrenze nachgewiesen werden ( $0,7 \text{ MPP m}^{-3}$ ) [11].

Bislang sind die Exposition und Effekte von MPP auf den Menschen nicht ausreichend untersucht [12]. Durch den Nachweis von MPP in Fäzes ist eine Inkorporation nachgewiesen [13]. In Kunststoff verpackte Lebensmittel stellen einen wahrscheinlichen Pfad der Inkorporation dar.

Diese Untersuchung geht der Frage nach, welchen Einfluss das Verschlusssystem von Kunststoffmineralwasserflaschen auf die MPP-Konzentration im Trinkwasser hat. Weiterhin wird die MPP-Konzentration im Leitungswasser einer mittelgroßen deutschen Stadt bestimmt.

## Methode

### Kontaminationsvermeidung

Die Probenaufbereitung wurde in einer Clean Bench durchgeführt. Es wurden Baumwollkleidung und in der Clean Bench gelagerte Nitrilhandschuhe getragen. Alle eingesetzten Chemikalien und Spülwasser wurden filtriert (Porenweite 0,6 µm). Gerätschaften wurden mit Reinigungsmittel, Leitungswasser und Reinstwasser gereinigt. Außerhalb der Clean Bench wurden alle Gerätschaften mit Aluminiumfolie abgedeckt. Mit Ausnahme von Polytetrafluorethylen (PTFE) und Silikon als Dichtungsmaterial sowie Spritzflaschen aus Polyflouralkoxy-Polymer (PFA) wurden keine Kunststoffe bei Probenahme und -aufbereitung verwendet. Diese Polymere wurden in der Analyse nicht betrachtet.

### Mineralwasser aus Mehrweg-Kunststoffflaschen

Kunststoffmineralwasserflaschen (1 l) der Genossenschaft Deutscher Brunnen wurden untersucht. Der Flaschenkörper besteht aus Polyethylenterephthalat (PET), der Deckel aus Polypropylen (PP), die innenliegende Dichtung aus Polyethylen (PE). Je drei Flaschen derselben Charge wurden einmal bzw. elfmal geöffnet und geschlossen. Der Deckel wurde mit 1,5 Nm geschlossen [14]. Als erstes Verschließen wurde das werkseitige Verschließen betrachtet. Die Gewinde der Flaschen wiesen sichtbare Beschädigungen auf. Zwei Flaschen einer anderen Charge, deren Gewinde keine sichtbaren Beschädigungen aufwiesen, wurden einmal



Abb. 1 Unbeschädigtes Flaschengewinde (oben), beschädigtes Flaschengewinde (unten)

geöffnet (siehe Abb. 1). Um die Konzentration MPP vor dem ersten Öffnen zu ermitteln, wurde ein Loch als Ausgussöffnung in den Flaschenkörper (Bestimmung von PE, PP) bzw. in den Deckel (Bestimmung von PET) geschmolzen. Der Flascheninhalt wurde jeweils durch einen Glastrichter und einen Edelstahltrichter auf einem Siliziumfilter (Porenweite 10 µm) mit einem Filterkuchendurchmesser von 5 mm aufkonzentriert (siehe Abb. 2). Flasche, Deckel und Gewinde wurden mit Reinstwasser über dem Trichter gespült. Die Analyse erfolgte mittels Mikro-Raman-Spektroskopie. Alle Partikel auf dem Siliziumfilter wurden analysiert. Die Größe der MPP wurde mikroskopisch bestimmt. Es wurde eine fünffache Verfahrensblindwertbestimmung durchgeführt.

### Leitungswasser

Acht Proben wurden an vier Hausanschluss-Probenahmestellen (je Doppelbestimmung) eines kommunalen Wasserversorgers, eine am Zapfhahn in der Hochschule RheinMain (HSRM) genommen. Das Probenvolumen betrug 250 – 500 l. Das Leitungswasser

wurde durch eine Probenahmeapparatur über einen Edelstahlfilter (Porenweite 10 µm) filtriert. Im Labor wurden Partikel durch Behandlung im Ultraschallbad und Spülen mit Reinstwasser vom Filter gelöst. Der pH-Wert der Suspension wurde für 24 h auf 1,3 bis 1,5 abgesenkt, um zu verhindern, dass Kalk und andere mineralische Stoffe bei der Aufkonzentrierung der Probe auf dem Siliziumfilter ausfallen. Die Aufkonzentrierung auf den Siliziumfilter erfolgte mit der in Abb. 2 dargestellten Apparatur. Die Analyse erfolgte mittels Mikro-Raman-Spektroskopie. 50 % der Filterfläche wurden analysiert. Der Verfahrensblindwert wurde dreifach bestimmt.



Abb. 2 Apparatur zur Überführung von Flüssigproben auf Siliziumfilter

## Ergebnisse und Diskussion

### Mineralwasser

Abb. 3 zeigt die durchschnittliche MPP-Konzentration in einer Flasche nach einmaligem Schließen und Öffnen bei unbeschädigtem und beschädigtem Gewinde sowie bei elfmaligem Schließen und Öffnen bei beschädigtem Gewinde. Nach elfmaligem Schließen und Öffnen wird im Mittel eine höhere MPP-Konzentration ( $242 \pm 91$  MPP l<sup>-1</sup>) als nach einmaligem Schließen und Öffnen ( $137 \pm 26$  MPP l<sup>-1</sup>) gemessen. Die Zunahme ist nicht linear. Es wird vermutet, dass die meisten MPP beim ersten Schließen und Öffnen emittiert werden. Es wird kein Unterschied zwischen beschädigtem und unbeschädigtem Gewinde festgestellt. Der häufigste Kunststoff ist PP (Deckelmaterial). Der Verfahrensblindwert beträgt  $2 \pm 2$  MPP l<sup>-1</sup>. Die Messergebnisse in Abb. 3 sind signifikant höher als der Verfahrensblindwert. Vor dem ersten Öffnen werden  $4 \pm 3$  PP-,  $5 \pm 2$  PET- und  $1 \pm 1$  PE-Partikel l<sup>-1</sup> identifiziert. Es kann gefolgert werden, dass die MPP in Testreihen 1 bis 3 durch das Öffnen und anschließendes Verschließen in das Mineralwasser eingetragen werden.

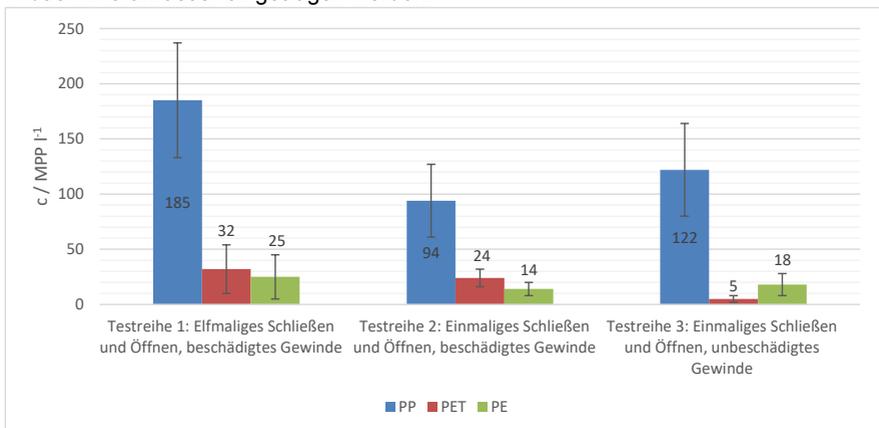


Abb. 3 Durchschnittliche MPP-Konzentration bei einmaligem bzw. elfmaligem Öffnen und Schließen

Abb. 4 zeigt die Größenverteilung der MPP in den Testreihen 1 bis 3. Die meisten MPP sind < 30 µm. Dieses Ergebnis korreliert mit den Ergebnissen anderer Studien [1,2].

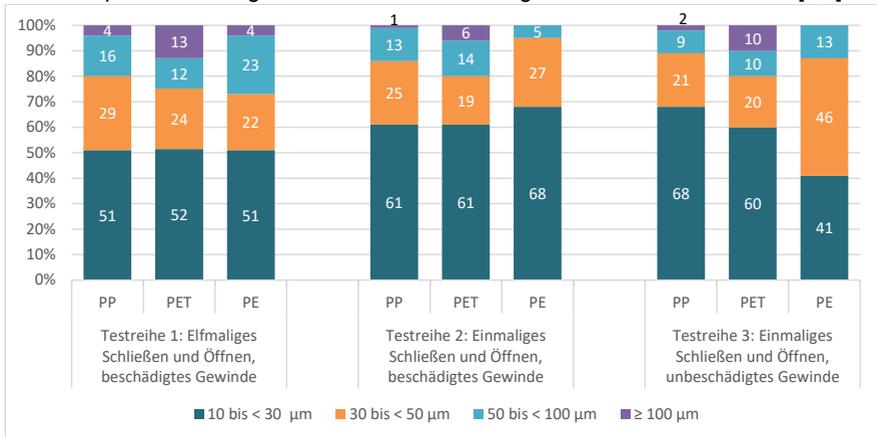


Abb. 4 Größenverteilung der MPP in Mineralwasserflaschen

## Leitungswasser

In den Leitungswasserproben werden mit einer Ausnahme keine MPP und Farbstoffpartikel signifikant über dem Verfahrensblindwert nachgewiesen. Der Blindwert beträgt  $1,3 \pm 1,2$  MPP und  $3 \pm 1,7$  Pigmentpartikel. Ob es sich bei den Pigmentpartikeln um den reinen Farbstoff oder beispielsweise um MPP mit hohem Farbstoffanteil handelt, kann nicht bestimmt werden. Die Ausnahme stellt die Konzentration von Kupferphthalocyaninpartikeln in der Probe vom Zapfhahn an der HSRM dar. In den analysierten 50 % der Probe werden 49 Kupferphthalocyaninpartikel gemessen. Dieser Wert liegt signifikant über dem Blindwert. Eine Hochrechnung ergibt 196 Kupferphthalocyaninpartikel  $m^{-3}$ . In Materialstichproben aus Rohrleitungen, die in der Trinkwasserversorgung eingesetzt werden, wird mittels Mikro-Raman-Spektroskopie Kupferphthalocyanin nachgewiesen. In den Proben, die an den Probenahmestellen des Wasserversorgers genommen wurden, können somit keine MPP > 10 µm nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis korreliert mit [11].

## Literatur

- [1] K. Schüler, Aufkommen und Verwertung von Verpackungsabfällen in Deutschland im Jahr 2016, Dessau-Roßlau, 2016.
- [2] A. Karami, A. Golieskardi, C.K. Choo, V. Larat, S. Karbalaeei, B. Salamatinia, Microplastic and mesoplastic contamination in canned sardines and sprats, *The Science of the total environment* 612 (2018) 1380–1386.
- [3] M. Kosuth, S.A. Mason, E.V. Wattenberg, Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt, *PloS one* 13 (2018) 1-18.
- [4] S.A. Mason, V.G. Welch, J. Neratko, Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water, *Frontiers in chemistry* 6 (2018) 407.
- [5] D. Schymanski, C. Goldbeck, H.-U. Humpf, P. Fürst, Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water, *Water research* 129 (2018) 154–162.
- [6] B.E. Oßmann, G. Sarau, H. Holtmannspötter, M. Pischetsrieder, S.H. Christiansen, W. Dicke, Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled mineral water, *Water research* 141 (2018) 307–316.
- [7] A. Winkler, N. Santo, M. A. Ortenzi, E. Bolzoni, R. Bacchetta, Does mechanical stress cause microplastic release from plastic water bottles?, 2019.
- [8] M. Heß (LANUV), Dr. P. Diehl (LfU RLP), Dr. J. Mayer (HLNUG), Dr. H. Rahm (LANUV), Dr. W. Reifenhäuser (LfU), J. Stark (LUBW), Dr. J. Schwaiger (LfU), Mikroplastik in Binnengewässern Süd- und Westdeutschlands, 2018.
- [9] Z. Wang, T. Lin, W. Chen, Occurrence and removal of microplastics in an advanced drinking water treatment plant (ADWTP), *The Science of the total environment* 700 (2019) 134520.
- [10] M. Pivokonsky, L. Cermakova, K. Novotna, P. Peer, T. Cajthaml, V. Janda, Occurrence of microplastics in raw and treated drinking water, *The Science of the total environment* 643 (2018) 1644–1651.
- [11] S.M. Mintenig, M.G.J. Löder, S. Primpke, G. Gerdt, Low numbers of microplastics detected in drinking water from ground water sources, *The Science of the total environment* 648 (2019) 631–635.
- [12] WHO, Microplastics in drinking-water, World Health Organization, Geneva, 2019.

- [13] P. Schwabl, B. Liebmann, S. Köppel, P. Königshofer, T. Bucsics, T. Reiberger, Assessment of microplastic concentrations in human stool - final results of a prospective study, Unpublished, 2018.
- [14] DIN Deutsches Institut für Normung e.V. Packmittel - Spezielle Technische Liefer- und Bezugs- sowie Verwendungsbedingungen für ein- bzw. zweiteilige 28-mm-Schraubverschlüsse aus Polyethylen (PE) bzw. aus Polypropylen (PP) und 28-mm-Anrollverschlüsse aus Aluminium (Al), 2015, Beuth Verlag GmbH, Berlin.

## Vergleich zweier thermoanalytischer Methoden für die Mikroplastikanalytik

### Pyrolyse-GC-MS vs TED-GC-MS

M. Funck, Duisburg/D, A. Yildirim Duisburg/D, C. Nickel Duisburg/D, T. C. Schmidt Essen/D, J. Türk, Duisburg/D

M. Funck, Institut für Energie- und Umwelttechnik e.V. (IUTA),  
Bliersheimer Straße 58 – 60, 47229 Duisburg/D

#### Einleitung

Bei der Mikroplastikanalytik werden neben spektroskopischen Analysemethoden unterschiedliche thermoanalytische Untersuchungsverfahren eingesetzt. Ein Vorteil der thermoanalytischen Methoden ist die einfache und vergleichsweise schnelle Analytik, welche einen geringeren Aufwand bei der Probenvorbereitung benötigen als die spektroskopischen Verfahren. Die genutzten Hauptverfahren in der Thermoanalytik sind die Pyrolyse GC-MS (Py-GC-MS) mit ihren verschiedenen Ausführungen und die 2014 vorgestellte TED-GC-MS (Thermo-Extraktion-Desorption-Gas-Chromatographie-Massen-Spektrometrie). Ein direkter Vergleich zwischen beiden Geräten wird vorgestellt.

Mit der Einführung der TED-GC-MS 2014 [1] wurde ein neues thermoanalytisches Gerät vorgestellt, welches die Möglichkeit zur Mikroplastikanalytik bietet. Ihr gegenüber stehen verschiedenen Py-GC-MS-Systeme. Es wird unterschieden zwischen Ofen- und Curie-Punkt Pyrolysen. Bei Ofen-Pyrolysen wird die Probe direkt in einen Pyrolyse-Ofen gegeben und pyrolysiert. Curie-Punkt Pyrolysen pyrolysieren ihre Proben direkt oder indirekt mittels eines Filaments. Der in der Literatur erwähnte Nachteil beider Py-GC-MS-Systeme ist eine schlechte Reproduzierbarkeit, welche aufgrund ungenauer Temperaturen in den verschiedenen Pyrolysen [2] zustande kommt. Ein hoher Wartungsaufwand ist ein weiterer negativer Aspekt der Py-GC-MS [3]. Dieser Aufwand entsteht durch die direkte Injektion der Pyrolyse-Gase in das GC-MS-System. Hier kann es zu einer Überladung der Säule und einem höheren Reinigungsaufwand beim MS kommen.

Bei der TED-GC-MS erfolgt dagegen nur eine indirekte Überführung der Pyrolyse-Produkte in das MS. Bei der TED-GC-MS werden die Pyrolyse-Gase zunächst auf einem

Polydimethylsiloxan (PDMS) Material sorbiert [1] und anschließend in das MS-System überführt, was eine Überladung der Säule verhindert. Dieser Ansatz wurde stetig weiterentwickelt, sodass mittlerweile ein automatisiertes und gut beschriebenes System zur Verfügung steht [4].

Die unterschiedlichen Arbeitsweisen und analytische Kenndaten für die Bestimmung von Polystyrol (PS) und Polyethylen (PE) wurden in diesem Beitrag verglichen.

### Material und Methoden

Das Py-GC-MS System besteht aus einem von der Fa. Axel Semrau vertriebenen Pyrola 2000 (Pyrol AB, Lund, Schweden) Pyrolysator, der „online“ mit dem „split / splitless“ Injektor eines ISQ-GC-MS (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) gekoppelt ist. Zur chromatografischen Trennung der Pyrolyseprodukte wurde eine OPTIMA 1 MS Kapillarsäule (MACHEREY-NAGEL GmbH & CO. KG, Düren, Germany) mit einer Filmdicke von 0,25 µm, einem I.D. von 0,25 mm und einer Länge von 30 m verwendet.

Die Pyrolyse wurde für 2 s bei 600 °C durchgeführt. 600 °C wurden innerhalb von 1,8 ms erreicht. Die Temperatur wird mittels zweier Sensoren über den Filament-Widerstand und dessen Lichtemission genau ermittelt. Ein Split von 1:10 bei einem Splitfluss von 10 mL min<sup>-1</sup> wurde am Injektor verwendet.

Das Platin-Filament, welches in den Pyrolyse-Kopf eingebaut ist, hat die Dimensionen 20 mm x 0.5 mm. Die geringe Fläche stellt eine Herausforderung für die Probenapplikation dar. Um PS und PE in der Py-GC-MS analysieren zu können, wurden Dispersionen mit einer Mischung aus PS (d<sub>50</sub> von 504 nm) (BS-Partikel GmbH; Mainz, Deutschland) und PE (d<sub>50</sub> von 25 µm) (Celanese Services Germany GmbH; Sulzbach, Deutschland) in Ethanol hergestellt. Jeder Dispersion wurde der interne Standard Styrol-D<sub>8</sub> mit 98% Reinheit (Sigma-Aldrich Chemie GmbH; Taufkirchen, Deutschland) zugegeben.

Das TED-GC-MS System besteht aus einer TGA 2-Thermogravimetrie (Mettler Toledo, Gießen, Deutschland) mit einer TGA-TDU-Kopplung (Gerstel GmbH & Co. KG, Mülheim an der Ruhr; Deutschland). An der TGA-TDU-Kopplung befindet sich eine TDU 3.5+Thermodesorption (Gerstel GmbH & Co. KG, Mülheim an der Ruhr; Deutschland). Die Pyrolyseprodukte aus der TGA werden an einen Twister 2,0 cm x 0,5 cm (Gerstel GmbH & Co. KG, Mülheim an der Ruhr; Deutschland) sorbiert. Über eine

zweite TDU 3.5+Thermodesorption werden die sorbierten Pyrolyseprodukte über eine CIS4-Cryofokussierung (Gerstel GmbH & Co. KG; Mülheim an der Ruhr; Deutschland) in das GC-MS-System überführt. Das GC-MS-System besteht aus einem Agilent 7890b GC und einem MSD 5977b (Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, USA). Es wurde eine HP-5MS UI Kapillarsäule (Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, USA) mit einer Filmdicke von 0,25  $\mu\text{m}$ , einem I.D. von 0,25 mm und einer Länge von 30 m verwendet.

Das Heizprogramm der TGA sah zunächst eine 3-minütige Haltezeit bei 25 °C mit einem Zellgasfluss von 20 mL  $\text{min}^{-1}$   $\text{N}_2$  vor. Hiernach wurde die Temperatur mit einer Heizrate von 10 °C  $\text{min}^{-1}$  bis auf 600 °C erhöht, mit einer Haltezeit von 4 min und einem Zellgasfluss von 50 mL  $\text{min}^{-1}$   $\text{N}_2$ .

Die Proben können in die TGA einfach und sehr exakt bis zu einem Gewicht von einem Gramm eingewogen werden. Der interne Standard Styrol- $\text{D}_8$  wird bei Analysen der TED-GC-MS verwendet.

### Ergebnisse und Diskussion

Aufgrund der kleinen Applikationsfläche des Platin-Filaments der Py-GC-MS sind direkte Probeeinwaagen, wie es die TED-GC-MS in Tiegeln erlaubt, nicht möglich. Daher werden bei der Pyrolyse in Ethanol dispergierte Proben bis maximal 400  $\mu\text{g}$  appliziert.

Bei der Mikroplastikanalytik müssen Blindwerte und Systemverschleppungen besonders beachtet werden. Untersuchungen der Laborluft konnten kein Mikroplastik nachweisen. Die Py-GC-MS ist so aufgebaut, dass kritische Systemkomponenten, wie z. B. das Platin-Filament ausgebrannt werden können, weshalb hier keine Verschleppungen der Polymere PS und PE nachgewiesen werden konnten. Bei der TED-GC-MS kommt es zur Verschleppung des Styrol-Trimers (2,4,6-Triphenyl-1-hexen). Diese stammt vermutlich aus der TGA-TDU-Kopplung des Gerätes und konnte bisher noch nicht ausreichend verhindert werden. Daher kann 2,4,6-Triphenyl-1-hexen für die quantitative Analyse bei der TED-GC-MS nicht verwendet werden. Hier erfolgt die PS-Identifizierung über das Verhältnis von Styrol und dem Styrol-Dimer 2,4-Diphenyl-1-buten. Bei PE gab es an beiden Systemen keine Verschleppungen. Für beide Geräte konnten die gleichen charakteristischen Pyrolyse-Produkte identifiziert werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

**Tabelle 1: Ermittelte Bestimmungsgrenzen (BG) aus einem Signal-zu-Rausch-Verhältnis von 10:1 für die charakteristischen Pyrolyse-Produkte von PS und PE. Bei der Py-GC-MS wurden 0,1 µg PS und 1 µg PE und bei der TED-GC-MS wurden 7 µg PS und 2 µg PE absolut aufgegeben.**

Bestimmung von Polystyrol (PS)		Bestimmung von Polyethylen (PE)	
Spezifische Pyrolyse-Produkte	BG (c / µg)	Spezifische Pyrolyse-Produkte	BG (c / µg)
<b><u>Pyrolyse-GC-MS</u></b>			
Styrol	0,001	1,12-Tridecadien	1,2
2,4-Diphenyl-1-buten	0,03	1,13-Tetradecadien	1,0
2,4,6-Triphenyl-1-hexen	0,03	1,14-Pentadecadien	1,1
<b><u>TED-GC-MS</u></b>			
Styrol	0,80	1,12-Tridecadien	2,0
2,4-Diphenyl-1-buten	0,40	1,13-Tetradecadien	2,2
2,4,6-Triphenyl-1-hexen	n.a.*	1,14-Pentadecadien	3,2

\*n.a.: nicht analysierbar wg. Verschleppung

Bei den Bestimmungsgrenzen scheint die Pyrolyse-GC-MS insgesamt empfindlicher zu sein, wobei sich diese Ergebnisse auf die absolute Polymermenge beziehen. Erste Realmessungen mit Kläranlagenabläufen haben die Eignung beider Systeme gezeigt für diese Matrix gezeigt. Probenahmen an zwei Kläranlagen wurden mittels einer Mikroplastik-Kaskadenfiltration durchgeführt. In der ersten Kläranlage wurde PS mittels Py-GC-MS mit  $0,072 \text{ mg m}^{-3}$  quantifiziert. In der zweiten Kläranlage wurde PE mit  $0,041 \text{ mg m}^{-3}$  quantifiziert.

Für weitere Vergleichsexperimente der beiden Geräte werden daher in Zukunft Realproben untersucht, sodass das der Umgang mit, sowie der Einfluss von unterschiedlichen Matrices (Boden, Wasser) verglichen werden kann. Darüber hinaus sind vergleichende Messungen mittels Raman und FT-IR geplant, so dass neben der Mikroplastikmasse auch Aussagen zur Partikelgrößenverteilung in realen Systemen getroffen werden können.

## Literatur

- [1] Dümichen, E., Braun, U., Senz, R., Fabian, G., Sturm, H. (2014). Assessment of a new method for the analysis of decomposition gases of polymers by a combining thermogravimetric solid-phase extraction and thermal desorption gas chromatography mass spectrometry. *Journal of chromatography. A* **1354**, 117–128.
- [2] Robards, K., Jackson, P. E., Haddad, P. A. (2012). *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*. Elsevier Science.
- [3] Wampler, T. P. (2007). *Applied pyrolysis handbook*, 2. Aufl. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton.
- [4] Dümichen, E., Eisentraut, P., Celina, M., Braun, U. (2019). Automated thermal extraction-desorption gas chromatography mass spectrometry: A multifunctional tool for comprehensive characterization of polymers and their degradation products. *Journal of chromatography. A* **1592**, 133–142.

## Förderung

Die vorgestellten Ergebnisse wurden durch das Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Vorhaben: „Plastik - -Verbundprojekt SubµTrack: Tracking von (Sub)Mikroplastik unterschiedlicher Identität – Innovative Analysetools für die toxikologische und prozesstechnische Bewertung, Teilprojekt 5“, Förderkennzeichen 02WPL1443E sowie aus Zuwendung des Landes Nordrhein-Westfalen unter Einsatz von Mitteln aus dem Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (EFRE) 2014-2020 „Investition in Wachstum und Beschäftigung“ für das Forschungsvorhaben „Untersuchung des Einflusses von Polymeren auf ein terrestrisches Ökosystem am Beispiel von in der Landwirtschaft eingesetzten Mulchfolien – iMulch“, Förderkennzeichen EFRE-0801177, gefördert.

## **Mikroplastik in sächsischen Gewässersedimenten - Projekt VEMIWA**

Y. Adomat<sup>1</sup>, Dresden/D, S. Frenzel<sup>1</sup>, Dresden/D, T. Grischek<sup>1</sup>, Dresden/D, K. Harre<sup>1</sup>,  
Dresden/D, R. Bauer<sup>1</sup>, Dresden/D, F. Simon<sup>2</sup>, Dresden/D

<sup>1</sup>Hochschule für Technik und Wirtschaft, Friedrich-List-Platz 1, 01069 Dresden/D

<sup>2</sup>Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e. V., Hohe Straße 6, 01069 Dresden/D

### **Ausgangslage und Projektziele**

Die Problematik der Kunststoffbelastung in marinen Ökosystemen und Auswirkungen auf die Fischbestände ist hinreichend bekannt, spielt jedoch in vielen anderen Ökosystemen eine bislang eher unterschätzte Rolle [1]. Die Folgen des Eintrags von Mikroplastik in die aquatische Umwelt sind seit einigen Jahren Gegenstand wissenschaftlicher Forschungen und eines sich daraus entwickelnden öffentlichen Interesses. Da angenommen wird, dass Mikroplastik schädigend auf Ökosysteme wirkt, werden legislative Maßnahmen und Regularien zur Eintragsminderung initiativrechtlich diskutiert [2]. Allerdings fehlen immer noch belastbare Daten zur Art und Quantität von Mikroplastik in Ökosystemen und Methoden, die ein Monitoring der Mikroplastikbelastung mit vertretbarem Aufwand ermöglichen [3].

Ziel des Projekts VEMIWA (Start 2020) ist die Untersuchung des Vorkommens und Verhaltens von Mikroplastik in sächsischen Gewässern. Schwerpunkte sind die Untersuchung der Sohlsedimente von Grenzflüssen, wie Elbe und Neiße, sowie der Transport der Partikel im Gewässer. Für die Quantifizierung und Charakterisierung von Mikroplastikpartikeln werden eine Methode der Probenaufbereitung unter Nutzung der elektrostatischen Sortierung weiterentwickelt und eine kalorimetrische Analysenmethode für den Praxiseinsatz angepasst und kalibriert. Der Zeitaufwand für die Untersuchung einer Feststoffprobe soll damit so weit sinken, dass eine zweistellige Anzahl an Proben pro Tag analysiert und ausgewertet werden kann.

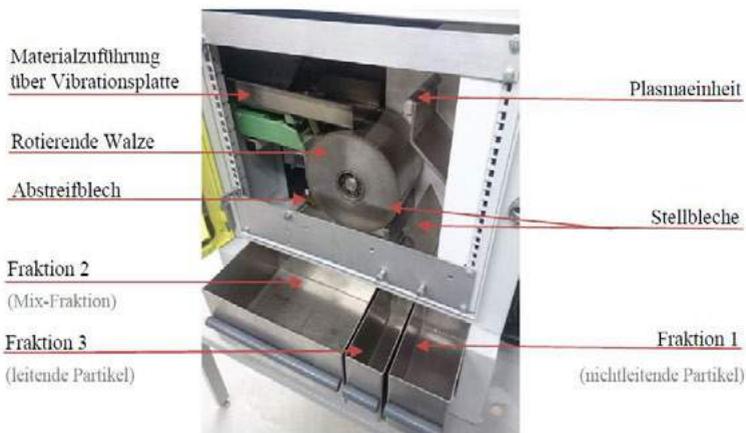
### **Vorkommen und Transport von Mikroplastik**

Als Grundlage für die Quantifizierung und Charakterisierung von Mikroplastikpartikeln ist eine kontaminationsfreie Probennahmetechnik für Sohlsedimente zu entwickeln. Dazu werden das Vorkommen und Verhalten von Mikroplastik in sächsischen Gewässern und die Installation und Auswertung von Sedimentfallen recherchiert, insbesondere zur Bewertung des Eintrags von Mikroplastik über Mischwasserentlastungen der Kanalisation bei Starkregen. Es sollen Bohrkernsondierungen in Gewässersohlen, Schurfe in Regenversickerungsbecken sowie Laborversuche zum Verhalten (Sedimentation, Sorption) in Gewässerkompartimenten und Gerinne- und Säulenversuchen zur Einlagerung

von Mikroplastik bei der Infiltration und zur Remobilisierung durchgeführt werden. Ziel der Arbeiten ist es, Erkenntnisse zu Eintragspfaden und zum Verbleib von Mikroplastik in Binnengewässern zu gewinnen.

## Anreicherung und Separation von Mikroplastik aus Umweltproben

Für die Analytik von Mikroplastik ist eine Trennung und Anreicherung der Partikel aus den Sedimentproben notwendig. Die Separation aus anorganischem und organischem Material wird bisher größtenteils über die Dichtesortierung erreicht, die Trennleistung wird jedoch durch Biofilmbildung auf den Mikroplastikpartikeln negativ beeinflusst [4]. Ein Lösungsansatz ist über eine elektrostatische Sortierung unter Ausnutzung der Auflade- und Entladeeigenschaften von Polymeren und Kunststoffen realisierbar. Das bereits in der Recyclingindustrie genutzte Verfahren ist speziell für die Trennung für Kunststoffsorten aus fremden Werkstoffen geeignet, wobei die Kunststoffe durch das Anlegen eines Koronafeldes aufgeladen werden [5]. Aufgrund der verschiedenen Auflade- und Entladeeigenschaften der Polymere, können diese so zerstörungsfrei und ohne zeitintensive Extraktionsprozesse separiert werden.



**Abbildung 2** Prinzipieller Aufbau eines Elektroseparators [4,6]

Erste Vorversuche mit Polyamid (PA) - und Polypropylen (PP) - Sand-Gemischen bewiesen, dass sich die Elektroseparation für Stoffgemische aus Kunststoff und anderen Materialien eignet (Tabelle 1).

**Tabelle 1** Massen der Fraktionen 1, 2 und 3 elektroseparierter Polymer-Sand-Gemische, Analyse mittels dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) [4,6]

Probenbezeichnung	Einwaage Sand	Einwaage Polymer	Fraktion1	Fraktion 2	Fraktion 3
PA-Sand-Gemisch	73,66 g	3,46 g	70,67 g	1,93 g	4,21 g
PP-Sand-Gemisch	90,5 g	4,34 g	86,73 g	2,69 g	5,01 g
Anteil PA in Ma % ( $\Delta H_m$ )				1,0	93,6
Anteil PP in Ma% ( $\Delta H_c$ )				3,2	96,4
Anteil PA in Ma % ( $\Delta H_m$ )				3,1	90,6
Anteil PP in Ma% ( $\Delta H_c$ )				3,9	94,9

Das Verfahren soll anlagen- und prozesstechnisch weiterentwickelt werden. Die Untersuchungen des mechanischen Verhaltens und des elektrostatischen Verhaltens der Partikel- und Stoffgemische sollen zudem zur Untersetzung der Anforderungen und Gestaltung der Probenaufbereitung dienen und mit der Kenntnis der technisch-physikalischen Zusammenhänge eine Optimierung der Anlagentechnik und gezielte Einflussnahme auf die Prozessführung ermöglichen. Um den Anforderungen eines möglichst einfachen und effektiven Gesamtprozesses zu entsprechen, wird unter Berücksichtigung aus anderen Anwendungen bekannter Technikmodule eine spezielle Entwicklung für einen Separator für Analytiklabore angestrebt.

### Analytik

Für die Etablierung einer Methode zur Mikroplastikanalytik ist die Analyse auf Basis thermodynamischer Fingerprints unter Einbeziehung der Methoden der Thermoanalyse, Differentialkalorimetrie, Spektroskopie und Pyrolyse-GC-MS vorgesehen. Erste Ergebnisse zur Methodenentwicklung zur Bestimmung von Mikroplastikpartikeln in limnischen Gewässern wurden in Rahmen einer Masterarbeit erzielt [4]. Die Umsetzung erfolgte dabei mittels DSC und Pyrolyse-GC/MS. Dabei bestätigte sich, dass sich beide Verfahren für die Identifizierung und Quantifizierung von Mikroplastik eignen. Für eine Umsetzung in ein Monitoring taugliches System erweist sich die DSC bisher jedoch als geeignetere Methode, da sie im Vergleich zur Pyrolyse-GC/MS gegenüber organischen Bestandteilen relativ robust und zudem kostengünstiger ist.

Eine Kombination aus DSC und Pyrolyse-GC/MS wäre denkbar. Die Ergebnisse im Rahmen bisheriger Vorversuche zeigen zudem, dass bis zu vier Polymere in einem Sand-Gemisch eindeutig voneinander unterschieden und quantifiziert werden können.

Im Rahmen des Projekts VEMIWA ist die Entwicklung von Standard-Kalibrierproben als Grundlage für Separations-, Identifizierungs- und Quantifizierungsverfahren sowie die Quantifizierung des Einflusses von Probenvorbehandlung, Probenmenge, Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung auf die Bestimmungs- und Nachweisgrenzen vorgesehen. Zudem sollen die statistische Absicherung der Messergebnisse sowie die Nachweisbarkeit ähnlicher Polymere durch spezielle Vorbehandlungsmethoden, Messverfahren und Methodenkopplungen optimiert werden.

## **Tribochemie – Veränderung von Mikroplastik in der Umwelt**

Für ein besseres Verständnis des Verhaltens von Mikroplastik in der aquatischen Umwelt müssen die Einflussgrößen bezüglich der Veränderung von Mikroplastik (Partikelgrößen, Agglomeration, Biofilmbewuchs, Bindung an mineralische Bestandteile) in der Umwelt untersucht werden. Durch Abriebtrommelversuche (Waschtrommel in Anlehnung an Erosionsversuche im Wasserbau) soll der Grad des mechanischen Abriebs von Mikroplastik quantitativ und qualitativ erfasst werden. Außerdem werden Veränderungen an standardisierten Mikroplastikpartikeln und Fasern, wie Alterung (UV-Strahlung u.a.), Adhäsion und Sorption, Einlagerung in Biomasse/organische Flocken über definierte Zeiträume *in vitro* bzw. *in vivo* untersucht.

## **Danksagung**

Die Autoren danken dem ESF für die Förderung des Projekts VEMIWA ab Januar 2020.

## **Literatur**

[1] Mani, T., Hauk, A., Walter, U., Burkhardt-Holm, P., *Scientific Reports* 5 **2015**, 17988.  
[2] Huppertsberg, S., Knepper, T.P., *Analytical Bioanalytical Chemistry* 410(25) **2018**, 6343-6352. [3] Braun, U., Jekel, M., Gerds, G., Ivleva, N.P., Reiber, J., *BMBF-Bericht* **2018**. [4] Weise, M., Masterarbeit, HTW Dresden 2018. [5] Martens, H., *Recyclingtechnik Fachbuch für Lehre und Praxis*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 2011. [6] Simon, F., *Vorversuche zur Trennung von Polymer-Sand-Gemischen am Leibniz Institut für Polymerforschung*, 2018.

## Eine 'infinite sink' Methode zur Untersuchung der Freisetzung von Phthalaten aus Polyvinylchlorid in wässrigen Medien

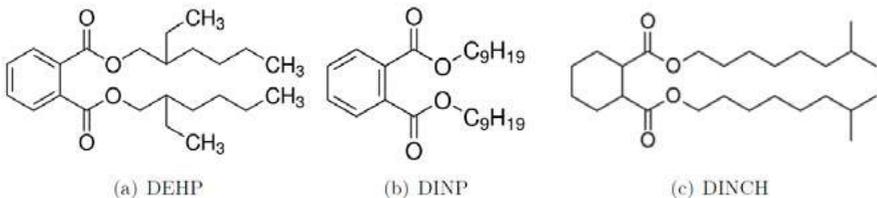
C. Henkel, Wien/ A, T. Hüffer, Wien/ A, T. Hofmann, Wien/ A

C. Henkel, Universität Wien, Althanstr. 14, Wien/ A

### Einleitung

Kunststoffe haben einen sehr vielseitigen Einsatzbereich und bieten hervorragende Materialeigenschaften, wodurch bei zunehmender Nachfrage die Kunststoffproduktion von 50 Mt im Jahr 1976 auf 348 Mt im Jahr 2017 anstieg [1].

Durch unsachgemäße Entsorgung gelangen Kunststoffe in die Umwelt, wo sie wegen ihrer niedrigen Abbaurate akkumulieren [2, 3]. Neben Polyethylen (PE) und Polypropylen (PP) ist Polyvinylchlorid (PVC) auf Platz drei der am meisten verarbeiteten Polymere in der Europäischen Union (+NO/CH) und findet in diversen Bereichen des täglichen Lebens Verwendung, beispielsweise im Bausektor, in der Verpackungs- und Automobilindustrie [1]. Unter den verbreitetsten Polymeren besitzt PVC den höchsten Gehalt an Additiven, insbesondere an Weichmachern wie Phthalsäureestern (Phthalate, Abbildung 1) [4].



**Abbildung 1** Chemische Struktur dreier gebräuchlicher Phthalate: (a) Bis(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP), (b) Diisononylphthalat (DINP) und (c) 1,2-Cyclohexanedicarboxsäurediisononylester (DINCH).

Additive gehen keine chemische Bindung mit dem Polymer ein und können innerhalb der Lebensdauer des Kunststoffs in angrenzende Medien wie Wasser, Luft oder Boden gelangen [3, 5, 6]. Die Freisetzung (engl. *leaching*) von Phthalaten aus Kunststoffen verändert dessen mechanische Eigenschaften und führt zu einer Versprödung und anschließenden Fragmentierung von größeren Kunststoffteilen (Makroplastik) zu Mikroplastik (< 1000 µm) [6, 7, 8]. Phthalate wie Bis(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) stellen

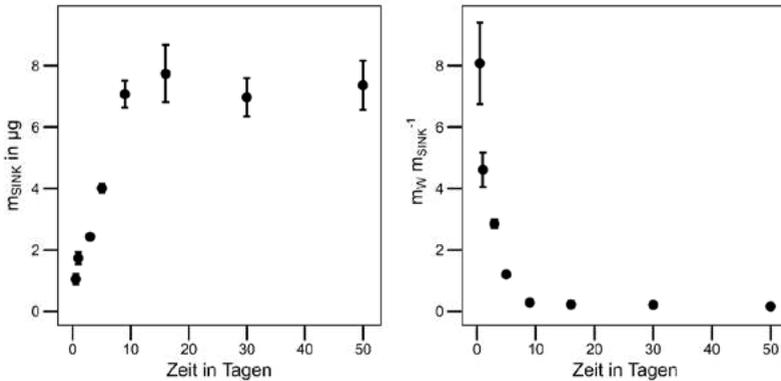
wegen ihrer hormonellen Wirkung ein Gesundheitsrisiko dar und sind auf der US EPA Liste für prioritäre Schadstoffe gelistet [9, 10]. Für eine Umweltrisikobewertung einerseits und für die Modellierung der Transportprozesse von Kunststoff und in Kunststoffprodukten enthaltenen Additiven andererseits ist ein grundlegendes Verständnis der Kinetik der Freisetzung von Additiven aus Kunststoff in wässrige Medien erforderlich. Bis dato sind keine Methoden zur Untersuchung der Freisetzungsprozesse verfügbar. Phthalate haben eine geringe Wasserlöslichkeit und sind stark hydrophob mit Verteilungskoeffizienten von  $\log K_{ow} > 7$  (für Phthalate mit einem Molekulargewicht von  $> 390 \text{ g mol}^{-1}$ ) – zwei Eigenschaften, die zahlreiche Herausforderungen für die Untersuchung der Freisetzung von Phthalaten in wässrigen Medien mittels Batch-Experimenten mit sich bringen [11, 12]. Die Einführung einer dritten Phase, die als nicht limitierte Senke (engl. *infinite sink*) für die freigesetzte Substanz fungiert, bietet einen vielversprechenden, alternativen Ansatz. Materialien zur Verwendung als infinite sinks müssen eine große Oberfläche und hohe Affinität für die zu sorbierende Substanz besitzen, um große Mengen dieser Substanz binden und deren wässrige Konzentration weit unter deren Löslichkeitsgrenze halten zu können. Im Rahmen dieser Arbeit haben wir eine infinite sink Methode zur Untersuchung der Freisetzung von Phthalaten aus PVC-Mikroplastik in wässrigen Medien entwickelt. Der Hauptbestandteil dieser infinite sink ist Aktivkohlepulver. Batch-Experimente unter Verwendung von DEHP als Modell-Phthalat wurden für die Bewertung und Validierung der entwickelten infinite sink Methode durchgeführt.

### Materialien und Methoden

Der Hauptbestandteil der infinite sink ist Aktivkohlepulver, umgeben von Grad 50 Filterpapier und stabilisiert durch einen Kupferdraht. Für die *Spiking*-Experimente wurden ein DEHP-Standard in 2-Propanol in eine KCl Lösung mit der infinite sink injiziert. Für die *Leaching*-Experimente wurden anstelle des DEHP-Standards eine definierte Menge an PVC-Mikroplastikpellets mit einem DEHP-Gehalt von 35 % verwendet. Nach ausgewählten Zeitpunkten wurden die infinite sink und die PVC-Pellets aus den Probengefäß entnommen. Die Quantifizierung von DEHP über die Zeit in der wässrigen Phase und in der infinite sink erfolgte mittels eines internen DEHP-d4 Standards. Die Extraktion von DEHP aus der wässrigen Phase erfolgte mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion, die Extraktion von DEHP aus der infinite sink mittels beschleunigter Lösemittelextraktion (engl. *Accelerated Solvent Extraction, ASE*). Für beide Extraktionen wurde n-Hexan als Lösungsmittel verwendet. Die n-Hexanextrakte wurden eingeeengt und die DEHP Konzentration mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie bestimmt.

### Ergebnisse und Diskussion

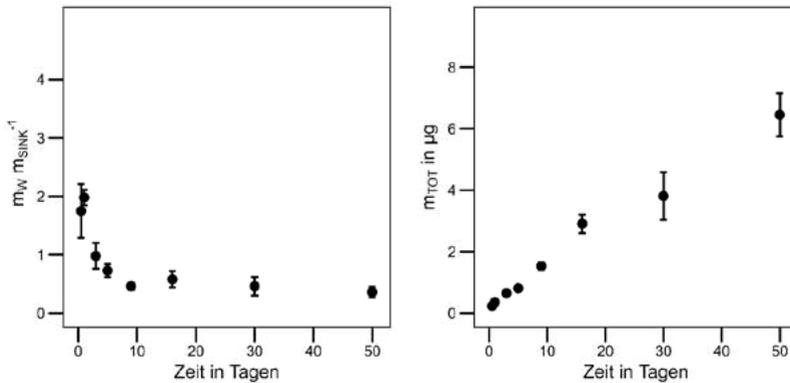
Die Umsetzung der beschriebenen Methode lieferte zum einen die Masse von DEHP in der wässrigen Phase ( $m_w$ ) und zum anderen die Masse von DEHP in der infinite sink ( $m_{\text{SINK}}$ ). Die Aufnahme von DEHP durch die infinite sink  $m_{\text{SINK}}$  zu jedem Probenahmezeitpunkt ist in Abbildung 2 gezeigt.



**Abbildung 2** Ergebnisse des Spiking-Experiments (die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung,  $n=3$ ). Die linke Graphik zeigt die von der infinite sink sorbierte Masse von DEHP  $m_{\text{SINK}}$  gegen die Probenahmezeit in Tagen. Die rechte Graphik veranschaulicht das Verhältnis der Masse von DEHP im Wasser und in der infinite sink  $m_{\text{W}} / m_{\text{SINK}}^{-1}$  aufgetragen gegen die Probenahmezeit in Tagen [13].

Das Verhältnis von  $m_{\text{W}} / m_{\text{SINK}}^{-1}$  für die Spiking- bzw. für die Leaching-Experimente sinkt mit der Zeit bis zur Einstellung eines Gleichgewichts. Die zunehmende Masse an DEHP in der infinite sink und das abnehmende Verhältnis  $m_{\text{W}} / m_{\text{SINK}}^{-1}$  belegen eine effektive Entfernung von DEHP aus der wässrigen Phase durch die infinite sink (Abbildung 2 und 3). Somit konnte die wässrige Konzentration von DEHP erfolgreich unterhalb der Löslichkeitsgrenze gehalten werden.

Im Leaching-Experiment entspricht die Masse  $m_{\text{TOT}}$  der Menge an DEHP, die aus dem PVC Mikroplastik freigesetzt wurde. Die graphische Darstellung von  $m_{\text{TOT}}$  aufgetragen gegen die entsprechende Probenahmezeit liefert eine zeitabhängige Leaching-Kurve, deren Erfassung ein Ziel dieser Arbeit war.



**Abbildung 3** Ergebnisse des Leaching-Experiments (die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung, n=3). Die linke Graphik veranschaulicht das Verhältnis der Masse DEHP im Wasser zu der in der infinite sink  $m_W m_{SINK}^{-1}$ , aufgetragen gegen die Probenahmezeit in Tagen. Die rechte Graphik zeigt die gesamte Masse an DEHP  $m_{TOT}$ , die aus dem PVC-Mikroplastik freigesetzt wurde aufgetragen gegen die Probenahmezeit in Tagen [13].

### Fazit und Ausblick

Die vorgestellte infinite sink Methode bietet einen neuen Ansatz die Freisetzung von Phthalaten aus PVC zu untersuchen und Freisetzungsprozesse aufzuklären, beispielsweise den Einfluss von Alterung, mechanischer Beanspruchung oder der Wechselwirkung mit organischer Substanz. Sie erlaubt die Erfassung der Kinetik der Freisetzung von Phthalaten aus PVC in wässrige Lösungen. Diese Methode stellt eine ökonomische und einfache Methode zur Untersuchung von Additiven aus Kunststoffen dar. Im Weiteren wird die entwickelte Methode angewendet, um das Freisetzungsverhalten verschiedener Phthalate wie DEHP, Diisononylphthalat (DINP) sowie 1,2-Cyclohexandicarbon-säurediisononylester (DINCH) aus PVC zu vergleichen. Zudem wird der Einfluss verschiedener Phthalatgehalte auf das Freisetzungsverhalten untersucht.

### Danksagung

Dieses Projekt wurde von der Universität Wien durch die Forschungsplattform Plastics in the Environment and Society – PLENTY gefördert.

### Literatur

[1] PlasticsEurope, Plastics- the Facts 2018, **2018**, 1-60.

- [2] J.N. Hahladakis, C.A. Velis, R. Weber, E. Iacovidou, P. Purnell, J. Hazad. Mater. **2018**, 344, 179 – 199.
- [3] A. Paluselli, V. Fauvelle, N. Schmidt, F. Galgani, S. Net, R. Sempéré, Sci. Total Environ. **2018**, 621, 578-587
- [4] E. Hansen, N. Nilsson, D. Lithner, and C. Lassen, Hazardous substances in plastic materials, zu finden unter [http://www.byggemiljo.no/wp-content/uploads/2014/10/72\\_ta3017.pdf](http://www.byggemiljo.no/wp-content/uploads/2014/10/72_ta3017.pdf), **2013**, 148, 1-151 zugegriffen: 5.11.2019.
- [5] S. Net, R. Sempéré, A. Delmont, A. Paluselli, B. Ouddane, Environ. Sci. Technol. **2015**, 49, 7, 4019-4035.
- [6] T. Stark, H. Choi, P. W. Diebel, Geosynth. Int. **2015**, 12(2), 99–110.
- [7] J. G. B. Derraik, Mar. Pollut. Bull. **2002**, 44, 842-852.
- [8] GESAMP, Rep. Stud. **2015** GESAMP No. 90, 1-96.
- [9] J. H. Kim, S. Kim, C. Lee, J.W. Nah, A. Hahn, Bull. Korean Chem. Soc. **2003**, 24(3), 345–349.
- [10] United States Environmental Protection Agency, Priority Pollutant List zu finden unter <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/priority-pollutant-list-epa.pdf>, **2014**, zugegriffen: 5.11.2019.
- [11] PubChem, Compound Summary for CID 8343 – Bis(2-ethylhexyl)phthalate, zu finden unter [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bis\\_2-ethylhexyl\\_-phthalate](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bis_2-ethylhexyl_-phthalate) , **2019** zugegriffen: 5.11.2019.
- [12] I. Cousins, D. Mackay, Chemosphere **2000**, 41, 1389-1399.
- [13] C. Henkel, T. Hüffer, T. Hofmann, MethodsX **2019**, 6, 2729-2734.

## 1,2,3... Alternative zum Auszählen - Die qNMR-Spektroskopie in der Mikroplastik-Welt -

N. Peez, Koblenz/D, W. Imhof, Koblenz/D

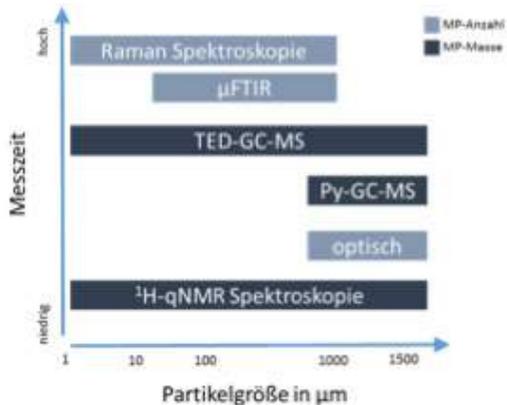
Nadine Peez M.Sc., Universität Koblenz-Landau, Universitätsstr. 1, Koblenz/D

### Einleitung

Das Problem Plastikmüll und damit einhergehend auch das Thema Mikroplastik rückt immer mehr in den Fokus der Öffentlichkeit. Plastikmüll zersetzt sich oftmals nur sehr langsam und zerfällt durch mechanische, chemische, photochemischer oder biologische Prozesse in immer kleinere Partikel, wobei die Plastik-Partikel ab einer Größe von  $< 5\text{mm}$  als Mikroplastik (MP) eingestuft werden. Beispielsweise kann eine Plastik-Flasche in bis zu 10,000 MP-Partikel zerfallen [1]. Die Vielfalt von MP ist abhängig von der Verteilung des Plastikverbrauchs und dem Eintrag des Plastiks in die Umwelt. In Deutschland (2017) betrug der Anteil der wichtigsten Kunststofftypen (LDPE, HDPE, PP, PVC, PET und PS) insgesamt 69 %, während sich 31 % auf andere Kunststoffe (u.a. PC, PA, PMMA, PUR, ABS...) verteilen [3]. Diese Vielfalt erschwert unter anderem die MP-Analytik, besonders die Probenvorbereitung, da sich die Polymertypen bezüglich Dichte und Chemikalienbeständigkeit unterscheiden. In der MP-Analytik wird hauptsächlich die Dichteseperation kombiniert mit einem chemischen Aufschlussverfahren angewendet.

Allerdings eignet sich die Dichteseperation meistens nur für MP-Partikel (MPP) mit einer Dichte  $< 1.2\text{ g/cm}^3$  und nicht alle Polymertypen sind beständig gegen Säuren [4]. Aus diesem Grund besteht noch großer Forschungsbedarf auf dem Gebiet der Vereinheitlichung der Probenvorbereitung für verschiedene Polymerarten in unterschiedlichen Umweltmatrices [4].

Ein weiteres Problem stellt die Größe der Partikel in der MP-Analytik dar. Die oftmals angewendete  $\mu\text{FTIR}$ - oder Raman-Spektroskopie zählt die Partikel in der Probe aus [2]. Dies ist sehr zeitaufwändig und



**Abbildung 1** Einteilung der MP-Identifikationsmethoden nach Messgrößenbereich und Messzeit (verändert nach [2]).

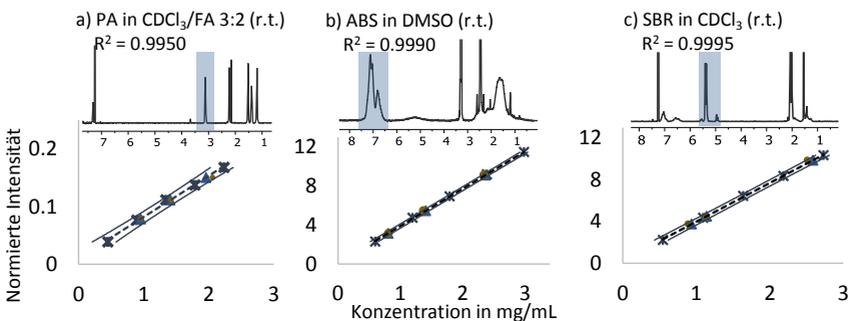
teilweise fehleranfällig [2]. Bei beiden Methoden handelt es sich um eine größenabhängige Methode welche die MP-Konzentration nur als MP-Anzahl angeben kann (Abbildung 1). Um eine Vergleichbarkeit und Vereinheitlichung von Ergebnissen zu gewährleisten, ist die Angabe der MP-Konzentration als MP-Masse allerdings genauso wichtig [2]. Eine Alternative bieten dazu die GC-MS-Methoden, bei denen es sich um größenunabhängige Methoden handelt. Das aktuelle Hauptproblem in der MP-Analytik ist somit das Fehlen einer Analytik im Sinne standardisierter Probenvorbereitung sowie eines Portfolios unterschiedlicher sich gegenseitig ergänzender analytischer Verfahren, durch die Studien untereinander besser verglichen und somit die globale Ausbreitung und Auswirkung von MP besser verstanden werden können. Auf dieser Grundlage haben wir eine alternative Identifizierungs- sowie Quantifizierungsmethode von MPP entwickelt. Es handelt sich um die größenunabhängige, schnelle und einfache Analyse von MP mittels  $^1\text{H}$ -qNMR-Spektroskopie.

Wir konnten bereits zeigen, dass die quantitative Analyse von LDPE, PET, PS und PVC-Partikeln mittels qNMR Spektroskopie möglich ist und die Nachweisgrenze im umweltrelevanten Bereich liegt [5]. Ergänzend dazu möchten wir die Ergebnisse der Methodenvalidierung für PA-, ABS-, und SBR-Partikel hier vorstellen [6]. Speziell für die qNMR-Analytik von MP haben wir bereits eine Probenvorbereitung entwickelt, welche sich für unterschiedliche Umweltmatrices (Biofilm, Invertebraten, Sediment und Gewässer) eignet und hohe Wiederfindungsraten von  $>80\%$  aufweist [7]. Nichtsdestotrotz sind wir aktuell dabei, eine Probenvorbereitung zu entwickeln, welche es ermöglicht, verschiedenste Polymertypen in einer Umweltprobe zu erfassen und mittels qNMR-Spektroskopie zu quantifizieren. Wir möchten einen möglichen Workflow und erste Ergebnisse dazu vorstellen.

## Ergebnisse und Diskussion

Für die MP-Analytik mittels qNMR Spektroskopie müssen die MPP gelöst vorliegen. Daher muss zunächst ein geeignetes deuteriertes Lösungsmittel für die verschiedenen Polymertypen ausgewählt werden. Für PA eignet sich Chloroform und Ameisensäure (FA) mit einem Mischungsverhältnis von 3:2, ABS ist in DMSO und SBR in Chloroform löslich [6]. Für die drei unterschiedlichen Polymertypen wurde eine Methodenvalidierung durchgeführt, indem die Parameter Linearität, Genauigkeit, Präzision und Nachweis (NG)- sowie Bestimmungsgrenze (BG) bestimmt wurden, da die quantitative  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie unseres Wissens nach bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht für diese Polymertypen in der MP-Analytik angewendet wurde. Für die Kalibriergeraden im Bereich von ca.  $0.5 - 3.0\text{ mg/mL}$  ist die Linearität der Methode mit einem Regressionsfaktor von  $> 0.995$  für alle drei Polymerarten als gegeben anzusehen (Residuen sind normalverteilt) [6]. Die Genauigkeit und Präzision der Methode wurde mit jeweils drei Modellproben überprüft. Für die PA-Fasern konnten Werte für die Genauigkeit zwischen  $90.9-99.3\%$ , für die ABS-Partikel zwischen  $98.6-102.8\%$  und für SBR zwischen  $100.9 - 105.0\%$  ermittelt werden [6]. Auch die Werte der Präzision (zwischen  $99.2 - 100.0\%$ ) lassen darauf schließen, dass auch die zusätzlichen drei Polymerarten mittels qNMR-Spektroskopie quantitativ bestimmt werden können.

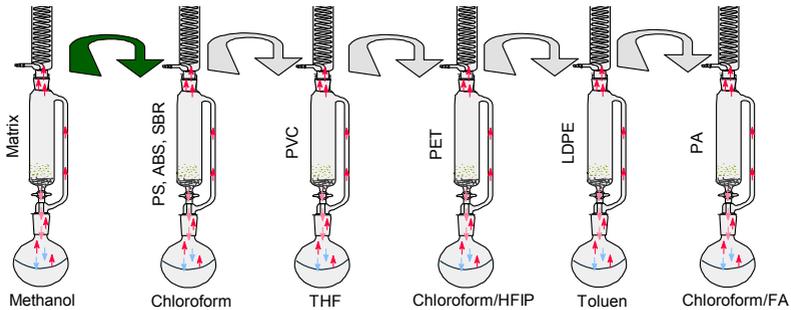
Entscheidend für die MP-Analytik ist allerdings weiterhin, ob die NG sowie BG der verschiedenen Polymere im umweltrelevanten Bereich von ca. 20 µg – 5 mg pro kg oder L Umweltprobe liegt. Basierend auf dem Signal-zu-Rausch (SNR) Verhältnis wurde die NG mit einem SNR von 3 und die BG mit einem SNR von 10 bestimmt. Mit der  $^1\text{H}$ -qNMR Methode können für die PA-Partikel eine NG von ca. 40 µg/mL und eine BG von ca. 132 µg/mL, für die ABS-Partikel eine NG von ca. 67 µg/mL und eine BG von ca. 225 µg/mL und für die SBR eine NG von ca. 10 µg/mL und eine BG von ca. 33 µg/mL erreicht werden [6]. Die NG und BG können allerdings noch verbessert werden, indem die Messzeit (aktuell bei ca. 2 min) erhöht wird, um das SNR-Verhältnis zu verbessern. Nichtsdestotrotz liegen die NG und BG von LDPE, PET, PS, PVC, PA, ABS und SBR schon jetzt im unteren umweltrelevanten Bereich.



**Abbildung 2** Kalibriergeraden für a) PA b) ABS c) SBR mit den dazugehörigen Vertrauensbereich, den theoretischen ● sowie kalkulierten ▲ Werten der drei Modellproben. Aufgetragen ist die Konzentration in mg/mL gegen die normierte Intensität. Zusätzlich ist ein Beispiel  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum der jeweiligen MPP dargestellt (markiert ist das Signal, welches für die Quantifizierung verwendet wurde).

Da wir zeigen konnten, dass die quantitative  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie sich für die MP-Analytik von LDPE, PET, PS, PVC, PA, ABS und SBR eignet, besteht der nächste Schritt darin, ein geeignetes Probenvorbereitungsprotokoll zu entwickeln, welches es erlaubt, eine möglichst große Anzahl von Polymerarten unabhängig voneinander aus ein und derselben Probe zu analysieren. Entsprechend unserer Vorarbeiten, aber auch einer erst kürzlich veröffentlichter Arbeiten von Dierkes et al. [8], sehen wir in der Flüssig-Extraktion von Polymeren mittels geeigneter Lösungsmittel für das jeweils spezifische Polymer eine vielversprechende Möglichkeit zum Erreichen dieses Ziels. In Abbildung 3 ist ein möglicher Work-Flow für die Fest-Flüssigextraktion dargestellt. Im ersten Schritt werden die Styrenpolymere wie beispielsweise PS, ABS und SBR mittels Chloroform aus der Umweltprobe extrahiert. In den nächsten Schritten wird zunächst mittels THF PVC, danach PET mit einem Gemisch aus Chloroform/Hexafluoropropanol (HFIP) 1:1, LDPE mit Tolen und PA mit einem Gemisch aus Chloroform und FA 3:2 aus der Probe extrahiert. Die Reihenfolge spielt dabei eine entscheidende Rolle, um die einzelnen

Polymere bereits bei der Extraktion zu trennen, damit im Anschluss bei der Analyse mittels  $^1\text{H-NMR}$  Spektroskopie keine störenden Signalüberlagerungen auftreten.



**Abbildung 3** Vorgeschlagener Work-Flow für die simultane Bestimmung von MP in Umweltproben mittels Fest-Flüssig-Extraktion.

In einem Vorversuch wurden die Wiederfindungsraten (WFR) einer einfachen Bestimmung von PS und PET und die WFR einer simultanen Bestimmung von PS, PVC und PET in einer Modellmatrix bestehend aus Sand bestimmt um zu zeigen, ob die Fest-Flüssigextraktion eine alternative Methode darstellt. Für die einfache Fest-Flüssigextraktion von PS-Partikeln konnte eine WFR von 95.3 % und für PET-Partikel eine WFR von 65.4 % bestimmt werden. Die WFR für die simultane Bestimmung ergaben für die PS-Partikeln einen Wert von 98.5 %, für PVC von 80.3 % und PET war nur nachweisbar (Konzentration > LOD; < LOQ). Die Vorversuche zeigen, dass die Fest-Flüssigextraktion eine Methode für die simultane Bestimmung bietet, allerdings insbesondere für PET noch großer Optimierungsbedarf besteht. In einem nächsten Schritt wollen wir daher das Mischungsverhältnis von Chloroform/HFIP optimieren und gegebenenfalls alternative Extraktionsmittel testen. Zusätzlich werden wir die simultane Bestimmung von PS, ABS, SBR, PVC, PET, LDPE und PA in unterschiedlichen Umweltmodellproben testen.

Neben dem Vorteil der simultanen Bestimmung bietet die Fest-Flüssigextraktion kombiniert mit der qNMR-Spektroskopie den weiteren Vorteil, dass die Methode zeitsparender ist als gängige Probenvorbereitungsmethoden. Die Dichteseparation kann bis zu 24 h und ein Aufschluss bis zu 4 Tage dauern. Generell ist bei der Fest-Flüssigextraktion kein weiterer Aufbereitungsschritt bezüglich der Matrix notwendig. Gegebenenfalls kann noch ein vorgeschlagener Schritt mit Methanol als Extraktionsmittel durchgeführt werden, um organische Matrixeffekte zu entfernen. Allerdings zeigten erste Voruntersuchungen mit Biofilm als Modellmatrix, dass die vorhandenen Matrixsignale des Biofilms nicht störend für die quantitative Analyse von PS, ABS, SBR, PVC, PET und PA mittels qNMR-Spektroskopie sind. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass die verschiedenen MPP in der zu untersuchenden Umweltprobe mittels Fest-Flüssigextraktion aufkonzentriert werden und somit die Nachweis- sowie Bestimmungsgrenze des MP pro Volumen Umweltprobe verbessert werden kann.

## Methodik

Getestet wurden folgende Polymer-Partikel: ABS Granulat der Firma CARAT GmbH, Deutschland; PA 6.6 Fasern und PET Fasern der Firma Schwarzwälder-Textil-Werke, Deutschland; SBR mit einem Styrengelhalt von ca. 30 %, erworben von SigmaAldrich; PS-Kügelchen der Firma Kissenwelt, Deutschland. Für die  $^1\text{H-NMR}$  Experimente wurde ein JEOL<sup>®</sup> 500 Spektrometer, 500 MHz 5mm TH ATM Probenkopf (DFG INST 366/6-1) genutzt. Die Signalintensität ist proportional zu den H-Atomen des Analyten. Für die entsprechenden MPP wird derselbe Signalbereich integriert und mit dem Restprotonensignal des Lösungsmittels normiert. Für die Methodvalidierung wurde jeweils eine 5-Punkt-Kalibriergerade im Konzentrationsbereich von ca. 0.5 – 3.0 mg/mL aufgenommen und drei Modellproben in dem entsprechenden Konzentrationsbereich aufgenommen. Für die Vorversuche der Fest-Flüssigextraktion wurde eine MP-Konzentration von ca. 0.20 – 0.40 mg/g Modellmatrix (Sand) gewählt. Pro Polymerart wurde die Probe für ca. 1 h extrahiert, das Lösungsmittel entfernt, in 1 mL des entsprechenden deuterierten Lösungsmittels gelöst und mittels qNMR-Spektroskopie analysiert.

## Literatur

- [1] J. Angel, Microplastics: Everything you need to know in one infographic, available at <https://www.boomerangalliance.org.au/microplasticsinfographic> (accessed on September 9, 2019).
- [2] C. Zarfl, *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *411*, 3743–3756.
- [3] L. Fuhr, R. Buschmann, J. Freund, *Plastikatlas 2019: Daten und Fakten über eine Welt voller Kunststoff*, Heinrich-Böll-Stiftung, BUND (Hrsg.), 2019.
- [4] F. Stock, et al., *TrAC* **2019**, *113*, 84–92.
- [5] N. Peez, et al., *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *411*, 823–833.
- [6] N. Peez, W. Imhof. Identification and Quantification of Microplastics by Quantitative  $^1\text{H-NMR}$  Spectroscopy: An Update for PVC, ABS and PA particles, Manuskript in Bearbeitung.
- [7] N. Peez, et al., *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *411*, 7409-7418.
- [8] G. Dierkes, et al., *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *411*, 6959–6968.

## **Prototyp eines Mikroplastik-Separators auf Basis hydrophober Wechselwirkungen von Mikroplastik und Luftblasen in wässrigen Medien zur Analyse von Sedimentproben**

G. Renner, Essen/D, T.C. Schmidt, Essen/D, J. Schram, Krefeld/D

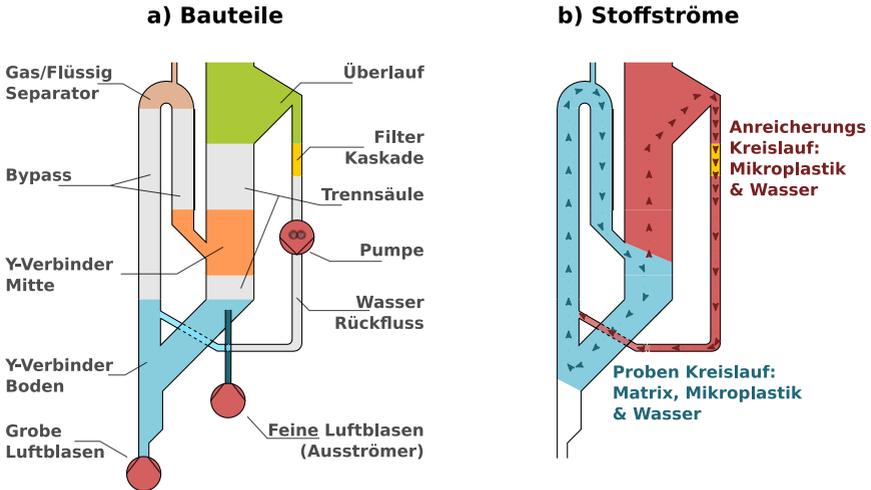
Gerrit Renner, Universität Duisburg-Essen, Universitätsstr. 5, Essen/D

### **Einleitung**

Die Analyse von Mikroplastik aus Umweltproben wird in vielen Fällen durch eine sehr variable Matrix erschwert, da diese als unbekanntes Mehrkomponentengemisch die eigentlichen Messsignale von Mikroplastik überlagern können. Im schlimmsten Fall führt dies zu Fehlinterpretationen, sodass Mikroplastik fälschlicherweise nicht erkannt oder Mikroartikel natürlichen Ursprungs als Mikroplastik deklariert werden. [1,2] Aus diesem Grund werden zumeist sehr zeit- und ressourcenaufwändige Probenvorbereitungen durchgeführt, um Mikroplastik von der Matrix zu trennen, anzureichern und aufzureinigen. [3] In diesem Zusammenhang hat sich vor allem die Abtrennung von Mikroplastik nach der Materialdichte in einer wässrigen Suspension etabliert. Hierbei wird die Dichte der Flüssigphase durch Zugabe von Salzen, wie z.B. NaCl, NaI oder ZnCl<sub>2</sub>, modifiziert, um auch dichtere Kunststoffe wie Polyamide abzutrennen. Ein entscheidender Nachteil dieser Trenntechniken ist der hohe Zeitaufwand von bis zu 24 h. Außerdem ist der Einsatz der Dichtemodifikatoren ein signifikanter Kostenfaktor, der je nach Reagenz auf über 800 € pro Probe ansteigen kann. [4] Aus diesen Gründen sind die Verfahren zwar grundsätzlich geeignet, die Praktikabilität ist jedoch eingeschränkt.

In diesem Beitrag wird ein Prototyp für ein alternatives Zeit- und Ressourcen sparendes Separationsverfahren für Mikroplastik aus Sedimentproben vorgestellt werden. Bei der neuen Methode stehen neben der Wiederfindung auch die Effizienz und Praktikabilität im Fokus. Um dies zu realisieren, werden nicht die unterschiedlichen Materialdichten als treibende Kraft, sondern die hydrophoben Oberflächen der Mikroplastikpartikel herangezogen. Wird ein sehr feiner Luftblasenstrom durch eine wässrige Sediment-Suspension geleitet, haftet Mikroplastik, bedingt durch die hydrophobe Partikeloberfläche, an den Luftblasen und wird mit diesen an die Wasseroberfläche transportiert. Im Gegensatz dazu haftet beispielsweise Sand nicht an den feinen Luftblasen und sedimentiert. Zusätzliche Reagenzien mit Ausnahme von Wasser und Druckluft werden nicht benötigt. In der technischen Umsetzung findet dieser Trennprozess in einer 5 x 50 cm großen Trennsäule statt, in der die Sedimentprobe dem auftreibenden Luftblasenstrom entgegen geriselt wird. Am unteren Ende der Apparatur wird das Sediment mittels grober Luftblasen über einen Bypass zurück in die Trennsäule transportiert, sodass die gesamte Probe mehrere Zyklen durchlaufen kann. Dadurch soll

verhindert werden, dass Mikroplastik durch die sedimentierende Matrix, die im großen Überschuss vorliegt, ebenfalls nach unten gezogen wird. Eine schematische Zeichnung der Apparatur ist in Abbildung 1 zu sehen.



**Abbildung 1** Schematische Zeichnung des Mikroplastik Separators. Das System besteht im Wesentlichen aus zwei Kreisläufen, die über zwei Y-Verbinder an Boden und Mitte der Apparatur miteinander verbunden sind. Mikroplastik wird in der Trennsäule durch Anhaften an feinen Luftblasen zum Überlauf transportiert, wo diese in einer Filterkaskade gesammelt werden. Das gefilterte Wasser wird anschließend zurückgeführt, sodass ein geschlossener Kreislauf entsteht.

### Ergebnisse

Der vorgestellte Prototyp wurde mit vier verschiedenen Experimenten validiert. Dafür sind Modellproben aus je 200 g Sand und bis zu 20 mg Mikroplastik (Polyoxymethylen) hergestellt worden. In diesem Zusammenhang wurden die folgenden Aspekte untersucht:

- Einfluss des Luftblasenstroms (Volumenstrom) auf die Wiederfindung von Mikroplastik und Sand
- Zusammenhang zwischen Laufzeit der Separation und Wiederfindung von Mikroplastik
- Einfluss der Mikroplastik-Konzentration auf die Wiederfindung.

Außerdem enthält eine Modellprobe neben 200 g Sand, jeweils 5 mg Polyoxymethylen, Polyamid, Polyvinylchlorid und Chitin,

- um die Eignung des Verfahrens für verschiedene Polymere zu testen.

Für die vorgestellte Apparatur konnte ein optimaler Luftblasenstrom von 24-30 mL/min beobachtet werden. Die Separationszeit betrug ca. 20 min und die Mindestmenge an Mikroplastik konnte mit ca. 5 mg ermittelt werden. Als Zielgröße ist bei den Experimenten a)-c) jeweils die Wiederfindung der Trockenmasse durch Rückwägung bestimmt worden. Optimalerweise sollte diese zwischen 80-120 %<sub>m</sub> liegen. In Experiment d) konnte gezeigt werden, dass die vorgestellte Trennmethode für verschiedene Polymere geeignet ist. Dafür wurde der getrocknete Filter mittels Infrarot-Mikroskopie systematisch großflächig untersucht. Die Auswertung der gemessenen IR Spektren erfolgte mit der robusten und voll-automatisierten  $\mu$ IDENT Methode. [2]

Insgesamt konnte erfolgreich gezeigt werden, dass die neue Methode zur Trennung von Mikroplastik für analytische Zwecke eine kostengünstige und schnelle Alternative zu bereits bekannten, auf Dichte basierenden, Trennverfahren darstellt.

### Literatur

- [1] M. G. J. Löder, H. K. Imhof, M. Ladehoff, L. A. Löschel, C. Lorenz, S. Mintenig, S. Piehl, S. Primpke, I. Schrank, C. Laforsch, G. Gerdt, *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 14283-14292
- [2] G. Renner, P. Sauerbier, T. C. Schmidt, J. Schram, *Anal. Chem.* **2019**, 91, 9656-9664
- [3] J. Li, D. Yang, L. Li, K. Jabeen, H. Shi, *Environ. Pollut.*, **2015**, 207, 190-195
- [4] E. M. Crichton, M. Noël, E. A. Gies, P. S. Ross, *Anal. Methods*, **2017**, 9, 1419-1428

## **Oxidation von Polystyrolpartikeln durch Ozon und Auswirkung auf die Ladungsdichte und Adsorption von natürlichen organischen Substanzen**

L. Eitzen; Berlin/D, A. S. Ruhl, Berlin/D, M. Jekel, Berlin/D

Lars Eitzen, Technische Universität Berlin, Fachgebiet Wasserreinhaltung, Sekr. KF 4, Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin, Germany, lars.eitzen@tu-berlin.de

### **Einleitung**

Plastikpartikel in der aquatischen Umwelt unterliegen Verwitterungsprozessen durch UV-Einstrahlung und mechanischem Stress. Diese Prozesse führen zur Veränderung der chemischen Bindungsstruktur an der Oberfläche des Materials wie bspw. die Bildung von Hydroxyl-, Carboxyl- und Carbonylgruppen durch Oxidation. Diese funktionellen Gruppen führen zu einer Stabilisierung der sonst hydrophoben Kunststoffe in wässrigen Suspensionen. Ein häufiges Problem in der Mikroplastikforschung ist die Verwendung von neuwertigen Kunststoffen, da verwittertes Plastik aus der Umwelt im Gegensatz zu diesen über andere chemische und physikalische Eigenschaften verfügt und sich somit auch anders verhält. Die UV-Bestrahlung von Kunststoffen mit Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}_2$  ist eine gängige Praxis um natürliche Verwitterungsprozesse abzubilden. Ozon als gängiges Oxidationsmittel kann ebenfalls dazu verwendet werden Kunststoffe zu oxidieren und damit zusätzliche funktionelle Oberflächengruppen zu schaffen, um die Eigenschaften von verwittertem Material nachzubilden.

Als Maß für die Oxidation wird häufig das Verhältnis der Carbonylbande (ca.  $1725\text{ cm}^{-1}$ ) von Ausgangsmaterial zu verwittertem Material benutzt, eine Quantifizierung der Ladungsdichte ist allerdings nicht möglich. Die Oberflächengruppen können jedoch mit einer Ladungstitration bestimmt werden, um genaue Aussagen über die Anionenladungsdichte eines Kunststoffes zu treffen [Schwarz et al. 2006].

Die Adsorption von natürlichen organischen Substanzen kann ebenfalls zu einer Stabilisierung von Partikeln in Suspensionen führen. Eine aus funktionellen Gruppen resultierende Oberflächenladung beeinflusst jedoch die Sorption organischer Substanzen an Plastikpartikeln [Hüffer et al. 2018]. Die Kombination aus beiden Effekten wurde bislang unzureichend untersucht.

In dieser Arbeit wurde Polystyrol (PS) durch Ozon oxidiert, um eine natürliche Verwitterung nachzubilden. FTIR-Spektren des Materials wurden aufgenommen, um die Wirkung des Ozons zu charakterisieren. Die elektrophoretische Mobilität wurde hinsichtlich der Dispersionsstabilität und Oberflächenladung untersucht, die Oberflächenladungsdichte wurde mit einer PDADMAC-Ladungstitration bestimmt. Adsorptionsversuche an PS wurden mit natürlichen organischen Substanzen (hier nur Ergebnisse der natural organic matter (NOM) gezeigt) der International Humic Substances Society (IHSS) in Anwesenheit von  $\text{Ca}^{2+}$  als Brückenbildner durchgeführt.

## Material und Methoden

Polystyrol(PS)-Partikel wurden durch kryogene Vermahlung (Cryomill, Retsch) aus Granulaten hergestellt. Partikelgrößen und Konzentrationen von hergestellten Dispersionen wurden durch Partikelzählung mit Lichtabschattung (PAMAS) bestimmt. IHSS-Lösungen wurden mit Reinstwasser hergestellt und 3 mM  $\text{CaCl}_2$  zugegeben. Für HA wurde der pH-Wert auf 11 erhöht um das Material zu lösen, anschließend wurde der pH-Wert wieder auf 7 abgesenkt. Sämtliche Lösungen wurden über 0,45  $\mu\text{m}$  Cellulose-Nitratfilter filtriert. Die Adsorptionsansätze wurden mit 2 g/L PS und 200 mL organischen Substanzen (1 – 10 mg/L) in 250 mL Schottflaschen für 168 h bei 25°C und 250 rpm geschüttelt und anschließend die Lösung über 0,45  $\mu\text{m}$  Cellulose-Nitratfilter abfiltriert. Die Restkonzentration der organischen Substanz in Lösung wurde photometrisch bei einer Wellenlänge von 254 nm quantifiziert und hieraus die Adsorption an dem PS ermittelt.

Für die Oxidationsversuche wurde PS in VE-Wasser suspendiert und im semi-Batch-Verfahren mit Ozon begast. Aus der Dispersion wurde ein Aliquot für Ladungstitration genommen und anschließend über 0,45  $\mu\text{m}$  Cellulose-Nitratfilter filtriert. Das PS-Pulver wurde anschließend im Exsikkator für 7 Tage getrocknet. Diffuse Reflexions-FTIR (DRIFTS)-Messungen des PS-Materials wurden mit einem Nicolet 8700 mit KBr-Hintergrund durchgeführt.

Elektrophoretische Mobilitätsmessungen wurden mit dem Zetasizer Nano Z durchgeführt. Das Zetapotential wurde nach 2 min Temperierung bei 20°C im Monomodal-Modus (20 Einzelmessungen) bestimmt. Ladungstitrationen wurden mit dem kationischem Polymer PDADMAC und dem Autotitrator MPT-2 durchgeführt, die Titranten wurden vorab entgast.

## Ergebnisse

Das gemahlene PS-Pulver wurde bereits in anderen Veröffentlichungen charakterisiert. Die Oxidation wurde mit zwei verschiedenen Ozondosen durchgeführt. Die auf das lokale Maximum bei 700  $\text{cm}^{-1}$  normierten Emissionsspektren zeigen bei den oxidierten Proben eine stärker ausgeprägte charakteristische Bande bei 1725  $\text{cm}^{-1}$  und für  $\text{O}_3 = 200 \text{ mg/g}$  eine sehr breite Schulter von 3600 – 3100  $\text{cm}^{-1}$  (Abbildung 1).

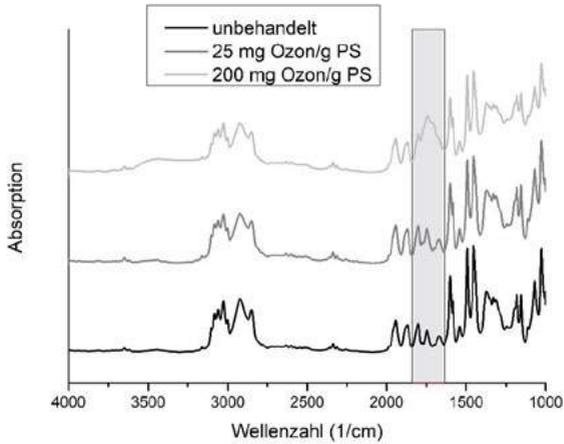


Abbildung 1: FTIR-Spektren von Ausgangsmaterial und ozonierten Proben. Grau markiert der für Carbonyl-Gruppen relevante Bereich um  $1725\text{ cm}^{-1}$ .

Eine höhere Ozondosis führte zu einem erhöhten Verbrauch an PDADMAC um eine Ladungsneutralisation des PS zu erreichen. Im Vergleich zu dem Ausgangsmaterial steigerte sich der Titrantenverbrauch von  $0,05\text{ mg/L}$  auf  $0,6 - 0,7\text{ mg/L}$ , was einer Ladungsdichte von  $0,12\text{ meq/g}$  bzw.  $1,46 - 1,71\text{ meq/g}$  entspricht.

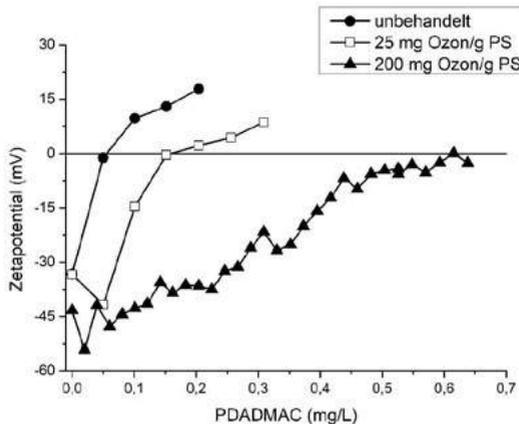


Abbildung 2: Ladungstitrations mit PDADMAC, jeweils  $100\text{ mg/L}$  Feststoff

Die Sorption von NOM an unbehandelten Polystyrolpartikeln in Gegenwart von  $3\text{ mM CaCl}_2$  zeigte einen linearen Verlauf ( $R^2 = 0,98$ ) über den untersuchten

Konzentrationsbereich. Die Beladung stieg mit der eingesetzten NOM-Konzentration von 0,03 mg/g auf 0,53 mg/g an. Bei den ozonierten Materialien wurden geringere Beladungen von 0,2 bis 0,25 mg/g gemessen.

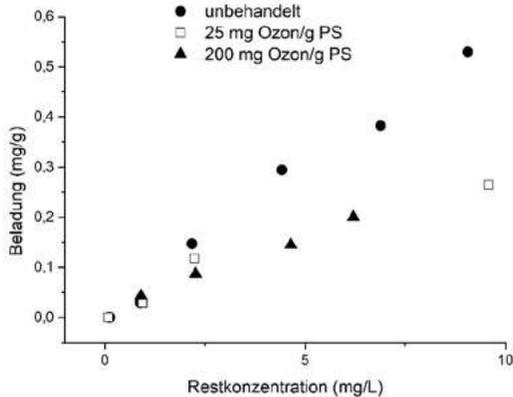


Abbildung 3: Beladung von Polystyrolpartikeln mit NOM in Anwesenheit von 3 mM  $\text{CaCl}_2$  bei pH 6, 25°C und 48h Kontaktzeit.

### Schlussfolgerungen

Die im FTIR-Spektrum identifizierten erhöhten Banden im Bereich  $1680 - 1780 \text{ cm}^{-1}$  lassen auf eine Zunahme von Carbonylgruppen durch Oxidation schließen. Das breite Signal von  $3600 - 3100 \text{ cm}^{-1}$  kann auf Hydroxylgruppen deuten, jedoch absorbiert auch chemisch gebundenes Wasser in diesem Bereich [Mailhot & Gardette 1992]. Die Verwitterung durch Ozon stellt demnach eine Alternative zur gängigen UV-Bestrahlung dar.

Eine Erhöhung der Ladungsdichte konnte durch die Zunahme von ladungstragenden Oberflächengruppen ebenfalls festgestellt werden. Durch die Zugabe von 200 mg  $\text{O}_3/\text{g}$  PS konnten 1,71 meq/g Ladungsäquivalente an der Oberfläche generiert werden. Die Oxidation führte zu einer Stabilisierung der Partikel in Suspension welche optisch wahrnehmbar war und mit Zetapotentialmessungen bestätigt werden konnte.

Das unbehandelte PS konnte mit bis zu 0,53 mg NOM/ g PS beladen werden. Die erzielte Beladung von NOM nahm durch die Oxidation des Materials ab, da aufgrund der erzeugten negativen Ladung auf der Oberfläche elektrostatische Wechselwirkungen die Adsorption der NOM verhindern.

## Danksagung

Dank gilt den Kollegen Daniel Dittmann und Leon Saal von der Bundesanstalt für Materialforschung in Berlin für die Durchführung der DRIFTS-Messungen.

## Literatur

[Mailhot & Gardette 1992] – B. Mailhot and J.-L. Gardette: Polystyrene Photooxidation. 1. Identification of the IR-Absorbing Photoproducts Formed at Short and Long Wavelengths. *Macromolecules* Vol. 25, 4119-4126 (**1992**).

[Schwarz et al. 2006] – S. Schwarz, S. Bratskaya, W. Jaeger, B.-R. Paulke: Effect of Charge Density, Molecular Weight and Hydrophobicity on Polycations Adsorption and Flocculation of Polystyrene Latices and Silica. *Journal of Applied Polymer Science* Vol. 101, 3422–3429 (**2006**).

[Hüffer et al. 2018] – T. Hüffer, A-K. Weniger, T. Hoffmann: Sorption of organic substances by aged polystyrene microplastic particles. *Environmental Pollution* Vol. 236, 218 – 225 (**2018**).

## „Wie viele Mikroplastik-Partikel haben wir in unserer Probe?“

### Wie können wir diese Frage in einem akzeptablen Zeitrahmen beantworten?

Elisabeth von der Esch, München/D, Alexander J. Kohles, München/D,

Martin Elsner München/D, Natalia P. Ivleva München/D

Elisabeth von der Esch, Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie,  
Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie,  
Technische Universität München, Marchioninstr. 17, München/D

### Einleitung

Umweltkontaminationen durch Mikroplastik (MP) erfahren zunehmend Beachtung. Mikroplastik kann durch Umwelteinflüsse wie UV-Bestrahlung, mechanische Beanspruchung und (mikro) biologische Zersetzung von Kunststoffen entstehen (sekundäres MP) oder aber auch gezielt für die Verwendung in z. B. Industriereinigern und Körperpflegeprodukten hergestellt werden (primäres MP). Im Gegensatz zur „klassischen“ Analyse von gelösten Chemikalien ist bei Mikroplastik nicht nur die chemische Identität und die Massenkonzentration von Interesse, sondern auch eine nähere Charakterisierung der Anzahl, Größe und Form der Partikel. Hauptmerkmale des Analyten sind daher:

- Vielfalt der Polymertypen (in unterschiedlichen Abbaustufen)
- Größen (1  $\mu\text{m}$  - 1 mm)
- Formen (Fragmente, Fasern, Filme und Kugeln)

Diese bereits komplexen Proben weisen außerdem im Vergleich zu den nativen Partikeln einen notorisch niedrigen Mikroplastikgehalt auf und die Analyse ist bekanntermaßen anfällig für Artefakte aufgrund von Plastik-Kontaminationen. Um eine zufriedenstellende Antwort auf die Frage: „Wie viele Mikroplastik-Partikel haben wir in unserer Probe?“ zu erhalten, sollten daher alle chemischen und morphologischen Eigenschaften von MP für jede Probe analysiert und quantifiziert werden. Um dies zu ermöglichen, haben wir ein flexibles Tool für die Partikeldetektion inklusive Kalibrierung und Validierung entwickelt.

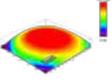
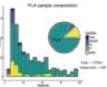
### Ergebnisse

*TUM-ParticleTyper* ist ein Open-Source-Software-Tool, das wir für die effektive Partikel- und Faserquantifizierung in verschiedenen Arten von Mikroskopbildern (optische-, Fluoreszenz-, Rasterelektronen-Mikroskopie) entwickelt haben. Dieses Tool wurde erarbeitet, um eine automatisierte Analyse von Mikroplastikproben von der Abscheidung auf einem Filter bis zur chemischen Identifizierung zu ermöglichen. Die Software führt

eine Partikeldetektion auf Bildern durch und gibt eine morphologische Klassifizierung der in der Probe vorhandenen Partikel ab, welche die Größenverteilung und Formklassifizierung liefert. Diese Informationen werden von der Software verwendet, um optimale Koordinaten für eine nachfolgende chemische Identifizierung durch beispielsweise Raman-Mikrospektroskopie (herstellerunabhängig) zu berechnen. Für Proben mit einer großen Anzahl von Partikeln ist es sogar möglich, eine Unterprobe zu erstellen, um unverhältnismäßig lange Messzeiten zu vermeiden, unter Kontrolle der statistischen Signifikanz. Unsere benutzerfreundliche grafische Oberfläche ermöglicht es dem Anwender, die Analyse auf ihre spezifischen Bedürfnisse und Forschungsfragen abzustimmen (z. B. den Fokus nur auf Fasern in Raman-Mikroskopiebildern im Größenbereich von 10 µm bis 100 µm zu legen). Dieser Software ermöglicht daher einen großen Schritt zur Beantwortung der Frage: "Wie viele MP-Partikel befinden sich in meiner Probe?" Das Verfahren ist in Abbildung 1 dargestellt, wo die einzelnen Schritte und deren Ziel dargestellt werden.

### **Ausblick**

Aktuell können wir mit unserem Messverfahren zur morphologischen und chemischen Charakterisierung von Partikeln mittels Raman-Mikrospektroskopie, Partikel bis 10 µm quantifizieren. Dies liegt daran, dass die Auflösung des Bildes die Partikelgrößenuntergrenze bestimmt. Mit unserem Mikroskop steht uns eine maximale Auflösung von rund 8000 × 8000 Pixeln zur Verfügung. Das soll heißen, dass wir, wenn wir in Schritt 2 ein Bild des gesamten Filters aufnehmen, maximal eine Auflösung von 2 µm/ Pixel erreichen. Um eine höhere Auflösung zu erreichen, muss der Bildausschnitt kleiner gewählt werden (damit die Pixel auf eine kleinere Fläche verteilt werden können). Um also Partikel kleiner als 10 µm zu messen zu können, muss das Messverfahren angepasst werden. Das kann über zwei Wege realisiert werden. Erstens, je kleiner die Partikel werden, desto homogener sind sie auf dem Filter verteilt und es reicht aus, alle Partikel kleiner als 10 µm auf einem Ausschnitt des Filters zu messen und auf die Gesamtfläche zu extrapolieren. Dieser Pfad erfordert den Beweis, dass eine solche Extrapolation zulässig ist. Sollte dies nicht möglich sein, weil auch kleine Partikel inhomogen verteilt sind, gibt es den zweiten Weg. Die zweite Möglichkeit ist, dass der Filter als Mosaik gemessen wird. Dazu würde von einem Ausschnitt des Filters ein Bild aufgenommen und darin eine Stichprobe der Partikel gemessen. Dieses Vorgehen wird so lange wiederholt, bis auf dem Gesamten Filter Stichproben gemessen wurden.

	Schritt	Ziel
	Testen der Oberflächenrauheit	Glatte Oberfläche für einfache Fokussierung.
	Bild es gesamten Filters aufnehmen	Jedes Partikel auf dem Filter soll abgebildet sein, damit im nächsten Schritt alle Partikel berücksichtigt werden können.
	Lokalisierung und morphologische Charakterisierung aller Partikel mittels TUM-Particle Typen [1]	Jedes Partikel auf dem Filter wird gezählt, vermessen und der Mittelpunkt wird berechnet.
	Auswahl der Partikel [2]	Um zu gewährleisten, dass die Messung der Partikel innerhalb von 2 Tagen möglich ist, wird eine Stichprobe (7000 Partikel) erzeugt. Dadurch, dass die Gesamtzahl der Partikel bekannt ist, kann auf diese Zahl extrapoliert und der Fehler abgeschätzt werden.
	Raman Messung [1-3]	Bisher kennen wir nur die morphologischen Eigenschaften unserer Probe. Durch die Identifikation mit Raman Mikrospektroskopie können wir chemische Fingerabdrücke der Partikel erstellen.
	Chemische Zuordnung [3]	Die chemischen Fingerabdrücke müssen nun mit einer Datenbank abgeglichen werden, um zwischen Polymeren, anorganischen und anderen organischen Partikeln zu unterscheiden.
	Visualisierung der Daten [3]	Alle morphologischen Daten (Partikelzahl, Partikelgrößenverteilung und Form) werden nun mit den Ergebnissen der chemischen Zuordnung vereint, um die Zusammensetzung der Probe wiederzugeben.
	Quantifizierungsgrenzen [1,2]	Mit diesem Verfahren können Partikel bis zu einer Größe von 10 µm quantifiziert werden. Dabei können Stoffe die 1% der Gesamtpartikel ausmachen mit einer Genauigkeit von 0.2% nachgewiesen werden.

**Abbildung 1:** Aktuelles Messverfahren für eine Mikroplastik-Probe, die auf einem 25 mm Goldbeschichtetem Polycarbonat Filter aufgebracht wurde und mit einem 20× Vergrößerungsobjektiv mittels Raman-Mikrospektroskopie innerhalb von 2 Tagen analysiert wird.

## Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei der Bayerischen Forschungsförderung für die Finanzierung des Projektes: Mikropartikel in der aquatischen Umwelt und in Lebensmitteln – sind biologisch abbaubare Polymere eine denkbare Lösung für das „Mikroplastik-Problem“? – MiPAq. Außerdem danken die Autoren bei Christian Schwaferts und Philipp Anger für hilfreiche Diskussionen.

## Literatur

- [1] von der Esch & Kohles, Anger, Hoppe, Niessner, Elsner, Ivleva. TUM-ParticleTyper: A Detection and Quantification Tool for Automated Analysis of (Microplastic) Particles and Fibers. *PLOS ONE* submitted **5.12.2019**
- [2] Anger & von der Esch, Baumann, Elsner, Niessner, Ivleva. **2018**. Raman microspectroscopy as a tool for microplastic particle analysis. *Trends in Analytical Chemistry*
- [3] von der Esch, Lanzinger, Kohles, Schwaferts, Weisser, Hofmann, Glas, Elsner, Ivleva. Simple Generation of Suspensible Secondary Microplastic Reference Particles via Ultrasound Treatment. *Frontiers in Analytical Chemistry* (under revision, **15.07.2019**).

## **Heteroaggregation von Mikro-Polystyrol in Anwesenheit eines amorphen Eisenhydroxids (Ferrihydrit)**

J. Schmidtman, Bayreuth/D, G. Papastavrou, Bayreuth/D, N. Helfricht, Bayreuth/D, S. Peiffer, Bayreuth/D

Johanna Schmidtman, Universität Bayreuth, Lehrstuhl Hydrologie, Universitätsstr. 30  
95447 Bayreuth

### **Einleitung**

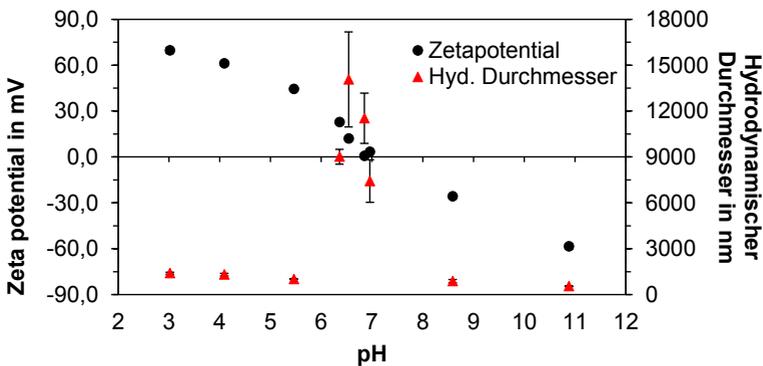
Die Verschmutzung der Umwelt durch Kunststoffpartikel ist ein weit verbreitetes Problem. Während das Vorkommen von Plastik bzw. Mikroplastik (MP) in Gewässern, sowie dessen Auswirkungen auf Meeres- und Süßwasserorganismen bereits in zahlreichen Studien untersucht wurde, wurden dem Verbleib und dem Transportverhalten von MP bisher wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Da MP Partikel im unteren Mikrometer- und Submikrometerbereich kolloidale Systeme darstellen, sind die Oberflächenkräfte für die Beurteilung des Transportverhaltens von besonderer Bedeutung. Es ist davon auszugehen, dass MP Partikel während ihres Aufenthalts in der Umwelt mit verschiedenen natürlichen Inhaltsstoffen in Wechselwirkung treten und so ihre Oberflächeneigenschaften verändern. Eine mögliche Wechselwirkung ist die Homo- bzw. Heteroaggregation von MP mit natürlichen kolloidalen Bestandteilen des Wassers, zum Beispiel Eisenhydroxide oder organischem Material.

In dieser Arbeit wurde das Aggregationsverhalten von 1 µm Polystyrol (PS, microParticles Berlin) und Ferrihydrit untersucht. Das Eisen(III)oxyhydroxid wurde als Vertreter der natürlichen Kolloide gewählt und eigens nach Schwertmann und Cornell (2008) synthetisiert und mit Hilfe der Röntgen-Diffraktometrie (XRD) bzw. der BET Oberflächenbestimmung charakterisiert. Um erste Aussagen über die Homoaggregation von PS sowie die Heteroaggregation von PS und Ferrihydrit zu treffen, wurde das Zetapotential und der hydrodynamische Durchmesser mit einem ZetaSizer Nano ZS unter Einfluss von pH-Wert und Ionenstärke bestimmt. Darüber hinaus wurde die Morphologie der Proben mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskops (REM) untersucht.

### **Ergebnisse**

Der pH-Wert der Probe hat einen Einfluss auf die Oberflächenladung der Kolloide und somit auf das Aggregationsverhalten. Eine Änderung des pH-Wertes führte jedoch nicht zu erkennbarer Aggregation von PS, allerdings stiegen die Zetapotential-Werte von PS

mit sinkendem pH-Wert an, blieben jedoch weitestgehend negativ. Die Änderung der Ionenstärke, die mit der Zugabe unterschiedlicher Mengen an Säure und Base zur Probe einhergeht, muss explizit berücksichtigt und gegebenenfalls ausgeglichen werden. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass zunehmende Konzentrationen mono- und divalenter Kationen das Zetapotential von PS unterschiedlich beeinflussen. Zweiwertige Ionen komprimieren die elektrische Doppelschicht im Vergleich zu einwertigen Ionen effizienter, was zu einer Verringerung der Abstoßungskräfte führte. Maximale Heteroaggregation von PS und Ferrihydrit wurde bei neutralen pH-Werten beobachtet (Abbildung 1). Die Größe der Aggregate in Proben mit neutralem pH-Wert waren um ein Vielfaches größer als solche in saurem oder basischem Milieu. Außerdem wurde mit Hilfe des REM gezeigt, dass PS Partikel bei neutralem pH-Wert vollständig mit Ferrihydrit bedeckt sind. Unsere Ergebnisse haben gezeigt, dass der Verbleib von MP Partikeln in aquatischen Systemen durch natürliche, kolloidale Bestandteile des Wassers beeinflusst wird und die Berücksichtigung der Wechselwirkungen zwischen MP und natürlichen Kolloiden zur Beurteilung des Transportverhaltens von MP von besonderer Bedeutung sind.



**Abbildung 1** Einfluss des pH-Werts auf das Zetapotential und den hydrodynamischen Durchmesser von Suspensionen mit PS und Ferrihydrit mit einer konstanten Ionenstärke von 1 mmol/L

## Literatur

- [1] U. Schwertmann & R.M. Cornell, *Iron Oxides in the Laboratory: Preparation and Characterization*, John Wiley & Sons Ltd, Weinheim, **2008**.  
 [2] O.S. Alimi, J. Farner Budarz, L.M. Hernandez, N. Tufenkji, *Environ. Sci. & Technol.* **2018**, 52, 1704-1724.

## Immunanalytische Bestimmung von $\beta$ -Lactam-Antibiotika und deren Hydrolyseprodukten im Trinkwasser

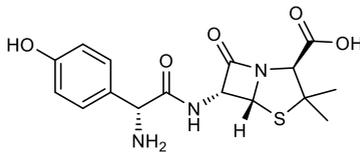
A. Ecke, Berlin/D, R. J. Schneider, Berlin/D

Alexander Ecke, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Fachbereich 1.8  
Umweltanalytik, Richard-Willstätter-Str. 11, 12489 Berlin/D

### Einleitung

Arzneimittel können über vielfältige Eintragswege in den Wasserkreislauf gelangen. Die Exkretion durch medikamentierte Menschen und Tiere sowie fehlerhafte Entsorgung sorgen für den Eintrag in das Abwasser oder den Boden. Aufgrund der Persistenz vieler Pharmaka und dem damit einhergehenden unzureichenden Abbau in Kläranlagen gelangen diese Verbindungen in Oberflächengewässer sowie in das Grundwasser und damit letztlich auch ins Trinkwasser.<sup>[1]</sup>

Unter den verschiedenen Medikamenten und ihren diversen Wirkungen auf Mensch und Umwelt stellen insbesondere Antibiotika im Trinkwasser eine große Gefahr dar, da sie zur Bildung resistenter Keime führen können. Zu den am häufigsten eingesetzten Antibiotika zählen Vertreter der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika und hiervon vor allem das Aminopenicillin Amoxicillin (AMX, Abbildung 1), welches aufgrund seiner Wirkung als Breitband-Antibiotikum gegen zahlreiche bakterielle Infektionskrankheiten verschrieben wird.<sup>[2,3]</sup>



**Abbildung 1** Strukturformel von Amoxicillin (AMX).

Der besonderen Bedeutung von AMX als potenzieller Kontaminante des Trinkwassers wird seit vergangenem Jahr auch vonseiten der EU-Kommission Rechnung getragen, indem es auf die Beobachtungsliste von Stoffen für eine unionsweite Überwachung im Bereich der Wasserpolitik gesetzt wurde.<sup>[4]</sup> Als Methode der Wahl zur Quantifizierung von AMX ist hierbei die Analyse mittels Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit der Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) angezeigt, die empfindliche und genaue Messungen ermöglicht. Allerdings ist diese Methode zeitaufwendig, kostenintensiv und nicht für die vor-Ort-Analytik geeignet.

Immunanalytische Methoden, wie der Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), die auf der Bindung spezifischer Antikörper an den Analyten basieren, ermöglichen

schnelle und kostengünstige Analysen bei hohem Probendurchsatz, die grundsätzlich auch vor Ort durchgeführt werden können. Monoklonale Antikörper für AMX sind verfügbar und wurden bereits in früheren Arbeiten für die Bestimmung von AMX in Lungensekreten und Tiergewebe mittels ELISA genutzt.<sup>[5-7]</sup> Diese Arbeiten beschränkten sich allerdings auf die Bestimmung der unveränderten Ausgangsverbindung AMX und enthielten keine Betrachtung möglicher Abbauprodukte.

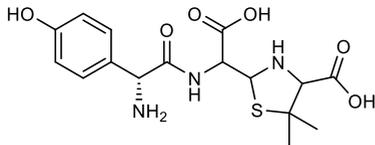
Im Wasser spielt jedoch aufgrund der längeren Verweildauer des AMX auch die Hydrolyse eine zentrale Rolle, welche zu zahlreichen Abbauprodukten führt, die zwar keine antibiotische Wirkung mehr aufweisen, aber weitere negative Auswirkungen auf Mensch und Umwelt haben können, die noch nicht im Detail bekannt sind. Studien zur Identifizierung und Strukturaufklärung möglicher Hydrolyseprodukte (HPs) von AMX mittels MS sowie deren Bildungsmechanismen wurden bereits publiziert.<sup>[2,3,8-10]</sup>

Wir berichten nun über die erstmalige Kombination immunanalytischer Methoden zur Bestimmung von AMX und anderen Penicillinen im Trinkwasser mit dem Wissen über mögliche HPs.

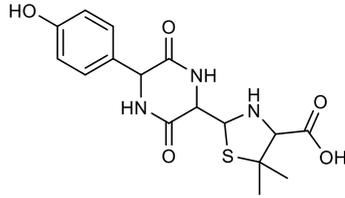
## Immunanalytische Bestimmungsmethodik

Bei der Entwicklung eines indirekten kompetitiven Referenz-ELISA für die Bestimmung von AMX wurde zunächst eine signifikante Verschiebung der Kalibrationskurven zu geringeren  $IC_{50}$ -Werten mit zunehmendem Alter der verwendeten AMX-Standards beobachtet, die nach ca. zwei Monaten ihren Endpunkt erreichte. Damit einhergehend verringerte sich auch die Bestimmungsgrenze im Vergleich zu einer frischen AMX-Standardlösung um den Faktor 100 auf  $1 \mu\text{g/L}$ . Die Ursache für diese Veränderung wurde in der Hydrolyse des AMX vermutet, was durch die Verwendung von basisch hydrolysierten AMX-Standards bestätigt wurde, die analoge Kalibrierkurven lieferten. Auf Grundlage der publizierten Studien zu möglichen AMX-HPs, wurden mehrere dieser HPs (Abbildung 2) synthetisiert bzw. kommerziell erworben und ebenfalls zur Ermittlung von Kalibrierkurven im ELISA getestet, um die Spezies zu identifizieren, die von dem verwendeten Antikörper besser erkannt wird und somit für die verbesserte Empfindlichkeit des Assays sorgt.

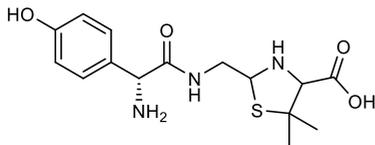
Ein wesentlich geringerer  $IC_{50}$  konnte dabei für das primäre HP Amoxicilloic Acid (HP1) ermittelt werden, dessen  $IC_{50}$  nochmals um den Faktor 10 niedriger liegt als für die hydrolysierten AMX-Standards. HP1 wird durch Hydrolyse des  $\beta$ -Lactam-Rings von AMX gebildet. Das sekundäre HP2, welches durch intramolekularen Ringschluss aus HP1 gebildet wird, wird vom Antikörper wesentlich schlechter gebunden und zeigt dementsprechend einen höheren  $IC_{50}$ -Wert. Dass der  $IC_{50}$  der hydrolysierten AMX-Standards zwischen dem der Reinsubstanzen HP1 und HP2 liegt, deutet darauf hin, dass beide Verbindungen in den gealterten AMX-Standards wie auch in den hydrolysierten Standards vorliegen. Auch HP3 und HP4 werden vom Antikörper kaum gebunden, sodass die verbesserte Bestimmungsgrenze hauptsächlich auf die Bildung von HP1 zurückzuführen ist.



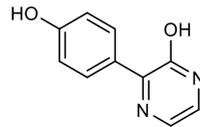
Amoxicilloic Acid (HP1)



Amoxicillin-Piperazin-2,5-dion (HP2)



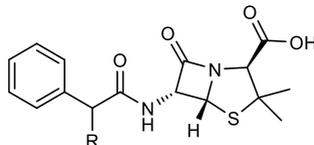
Amoxicilloic Acid (HP3)



3-(4-Hydroxyphenyl)-pyrazin-2-ol (HP4)

### Abbildung 2 Strukturen der hier betrachteten Hydrolyseprodukte (HPs) von AMX.

Ein ähnliches Verhalten wurde im Rahmen von Kreuzreaktivitätsuntersuchungen auch für weitere  $\beta$ -Lactam-Antibiotika (Abbildung 3) beobachtet, bei denen die  $IC_{50}$ -Werte der gealterten/hydrolysierten Standards im Vergleich zu frischen Standards ebenfalls niedriger liegen.



R = NH<sub>2</sub>: Ampicillin  
 H: Penicillin G  
 COOH: Carbenicillin

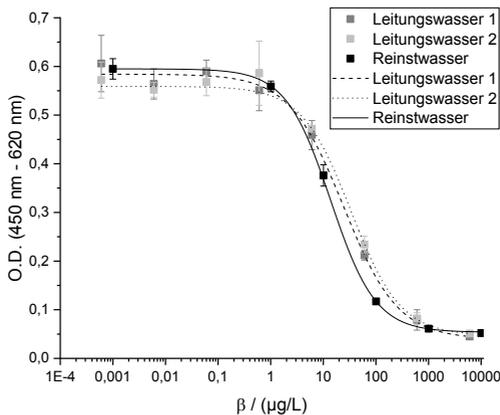
### Abbildung 3 Weitere im ELISA getestete $\beta$ -Lactame.

Unterschiede treten dabei in Abhängigkeit von der Gruppe R (siehe Abbildung 3) auf. Ampicillin verhält sich aufgrund seiner großen strukturellen Ähnlichkeit zu AMX analog und bildet die HP1 und HP2 entsprechenden Produkte. Penicillin G kann aufgrund der fehlenden Aminogruppe keinen intramolekularen Ringschluss eingehen und bildet hauptsächlich das zu HP1 analoge Produkt, was sich aus den übereinstimmenden  $IC_{50}$ -Werten ergibt. Bemerkenswerterweise wird Carbenicillin bereits im nicht-hydrolysierten Zustand gut gebunden, mit einem  $IC_{50}$  analog zu HP1. Alterung bzw. Hydrolyse der Carbenicillin-Standards bewirkt nur noch eine minimale Verringerung des  $IC_{50}$ . Dies spricht dafür, dass eine zusätzlich Carboxylgruppe im Molekül die Bindung an den Antikörper verbessert, womöglich durch elektrostatische

Wechselwirkungen zwischen der unter Assaybedingungen deprotonierten und somit negativ geladenen Carboxylgruppe und einer positiv geladenen Aminosäureseitenkette am Paratop des Antikörpers.

### Messungen in Trinkwasser

Für die Messung von Realproben wurde des Weiteren ein geeigneter Probenpuffer gefunden, der den pH-Wert angleicht sowie störende Ionen wie  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Cu}^{2+}$  durch Zusatz von Ethylendiamintetraacetat (EDTA) komplexiert und somit vergleichbare Kalibrierkurven für unterschiedliche Wasserproben liefert (Abbildung 4).



**Abbildung 4** Kalibrierkurven von Messungen in verschiedenen Wasserproben.

Aus den vorangegangenen Betrachtungen zur Hydrolyse von AMX und der damit verbundenen Verbesserung der Bestimmungsgrenze ergibt sich für die Bestimmung von  $\beta$ -Lactam-Antibiotika in Wasserproben folgende Strategie: Die Proben werden zum Teil vor der Messung basisch hydrolysiert, um dann durch Vergleich der hydrolysierten mit den nicht-hydrolysierten Proben den Hydrolysegrad im beprobten Wasser abzuschätzen. Aus den Messungen der hydrolysierten Proben kann außerdem die ursprüngliche Konzentration von AMX mithilfe der Kalibrierkurven bestimmt werden.

Der hier entwickelte ELISA bildet somit die Grundlage für die schnelle, kostengünstige und mobile Untersuchung der Wasserqualität hinsichtlich der Kontamination mit  $\beta$ -Lactam-Antibiotika und ihren HPs mit immunanalytischen Methoden. Ausgehend von diesem Referenz-ELISA sind weitere Assay-Formate denkbar, mit denen die Empfindlichkeit weiter erhöht sowie die Analysendauer verringert werden können (z. B. partikelbasierte Assays).

## Literatur

- [1] T. A. Ternes, *Wat. Res.* **1998**, 32, 3245-3260.
- [2] A. Pérez-Parada, A. Agüera, M. d. M. Gómez-Ramos, J. F. García-Reyes, H. Heinzen, A. R. Fernández-Alba, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2011**, 25, 731-742.
- [3] K. Hirte, B. Seiwert, G. Schüürmann, T. Reemtsma, *Wat. Res.* **2016**, 88, 880-888.
- [4] *Amtsblatt der Europäischen Union* **2018**, L141, 9-12.
- [5] C. Mayorga, T. Obispo, L. Jimeno, M. Blanca, J. Moscoso Del Prado, J. Carreira, J. J. Garcia, C. Juarez, *Toxicology* **1995**, 97, 225-234.
- [6] S. L. Hill, D. Burnett, A. L. Lovering, R. A. Stockley, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, 36, 1545.
- [7] L.-C. Yeh, W.-M. Lee, B.-W. Koh, J. P. Chan, C.-H. Liu, J.-P. Kao, C.-C. Chou, *Poultry Science* **2008**, 87, 577-587.
- [8] I. Gozlan, A. Rotstein, D. Avisar, *Chemosphere* **2013**, 91, 985-992.
- [9] A. D. Deshpande, K. G. Baheti, N. R. Chatterjee, *Current Science* **2004**, 87, 1684-1695.
- [10] E. Nägele, R. Moritz, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2005**, 16, 1670-1676.

## **Risikobewertungsbasierte Anpassung der Probenahmeplanung (RAP) – Erfahrungen der Stadtwerke Düsseldorf bei der Umsetzung**

Norbert Konrad<sup>1,4</sup>, Hans-Peter Rohns<sup>1</sup>, Karin Kurzal<sup>2</sup>, Ulrich Schürfeld<sup>3,4</sup>, Björn Droste<sup>1</sup>, Pegah Kamkar<sup>1</sup>, Christoph Wagner<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>) Stadtwerke Düsseldorf AG, Qualitätsüberwachung Wasser, Wiedfeld 50, D-40589 Düsseldorf, <sup>2</sup>) Gesundheitsamt des Kreises Mettmann, Düsseldorfer Straße 47, D-40822 Mettmann, <sup>3</sup>) Landeshauptstadt Düsseldorf, Gesundheitsamt, Kölner Str. 180 D-40227 Düsseldorf, <sup>4</sup>) Referenzautoren

### **Abstract**

Die Trinkwasserverordnung in der Fassung von 2018 [1] lässt es seit 2019 zu, den Untersuchungsumfang und die Häufigkeiten der chemischen Trinkwasseruntersuchungen nach einer Risikoeinschätzung anzupassen. Dieses innovative Konzept ermöglicht es erstmals in der Geschichte der Trinkwasseruntersuchung dem Wasserversorger, seine begrenzten analytischen Ressourcen gezielt auf die identifizierten Risiken zu konzentrieren. Die Stadtwerke Düsseldorf sind diesen Weg mit aktiver Unterstützung ihrer Überwachungsbehörden frühzeitig gegangen und berichten hier über das Vorgehen bei der Ausarbeitung eines RAP-Dokuments und des daraus abgeleiteten Probenahmeplans. Die gemachten Erfahrungen sind durchweg positiv.

### **Einführung**

Die Neufassung der Trinkwasserverordnung (TrinkwV), § 14 Absatz 2a sieht die Option vor, für Wasserversorgungsanlagen (WVA, hier Anlagen nach § 3 Absatz 2 Buchstaben a und b TrinkwV) auf der Basis der Ergebnisse einer Risikobewertung von einem ansonsten festgelegten Parameterumfang sowie einer vorgegebenen Häufigkeit der Untersuchungen abzuweichen [1].

Das Hauptanliegen der RAP ist ein an die lokalen Gegebenheiten angepasstes, auf einer Risikobetrachtung basierendes und entsprechend bewertetes Untersuchungsprogramm, damit die Mittel für Probennahme und Analytik möglichst effizient zum Schutz der Trinkwasserqualität und damit der menschlichen Gesundheit eingesetzt werden [2]. Dabei besteht neben der Reduktion von Parametern nun auch die Möglichkeit einer Streichung. Dieses kann sinnvoll sein, wenn gewährleistet ist, dass sich das Trinkwasser in Bezug auf diese Parameter dauerhaft nicht ändert.

Die TrinkwV lässt aber auch eine Aufweitung des Untersuchungsumfangs auf nicht in der TrinkwV geregelten chemischen Parameter zu, z.B. standortspezifische Kontaminanten. Damit können zum Beispiel organische und anorganische Spurenstoffe wie Arzneistoffe, nicht-relevante Metabolite von PSM und Industriechemikalien mit Untersuchungshäufigkeiten verbindlich in der RAP geregelt werden.

Durch die Information der Verbraucher über die Reduktion und Erweiterung wird deutlich, dass der Versorger nicht nur sein Standardprogramm untersucht, sondern sich intensiv mit den standortspezifischen Themen der Wasserversorgung, in Düsseldorf z.B. dem Thema Spurenstoffe, auseinandersetzt. Damit wird dem Informationsbedürfnis des mündigen Verbrauchers genüge getan und Informationen für die politische Diskussion gegeben.

Die WHO präferiert seit Jahren in ihrem Weißbuch [3] die Anwendung des risikobasierten Ansatzes für die Ermittlung der Untersuchungshäufigkeit und -frequenz. Auch eine Anweisung zur Vorgehensweise für die Risikobewertung steht zur Verfügung [4]. Dieser Ansatz wird zukünftig auch in der EU-Richtlinie festgelegt, wie der Entwurf [8] zeigt. Somit wird mit der Neufassung der TrinkwV nur der Weg vorgezeichnet, der zukünftig verbindlich vorgeschrieben sein wird.

Da die Stadtwerke Düsseldorf AG (SWD) den in § 14 Absatz 2a TrinkwV dargestellten Optionen folgen wollten, wurde für die Wasserversorgungsanlagen und das Versorgungsnetz eine Risikobewertung durchgeführt, um dann einen Vorschlag zur risikobasierten Anpassung der Probenahmeplanung (RAP) zu formulieren.

***Die Risikobewertung bezieht sich dabei auf das Trinkwasser. Es werden aber die bekannten Probleme im Uferfiltrat, Grund- und Rohwasser bewertet, sofern sie Einfluss auf die Trinkwasserqualität haben können.***

### **Voraussetzungen**

Für die Erstellung einer RAP sind verschiedene Voraussetzungen zu erfüllen:

1. Sie muss von einer Person(en) vorgenommen werden, die über hinreichende Fachkenntnisse über das Wasserversorgungssystem verfügt und eine hinreichende Qualifikation für das Risikomanagement im Trinkwasserbereich hat,
2. sich an den allgemeinen Grundsätzen für eine Risikobewertung entsprechend den allgemein anerkannten Regeln der Technik, hier DIN EN 15975-2 orientieren,
3. die Ergebnisse aller Untersuchungen im Wassereinzugsgebiet berücksichtigen, die für die Risikobewertung relevant sein können,
4. schriftlich in einem Risikobewertungsbericht niedergelegt werden, der dem Gesundheitsamt vorgelegt wird.

Die Stadtwerke Düsseldorf konnten diese Anforderungen mit eigenem Personal erfüllen. Alternativ könnten externe Berater hinzugezogen werden.

## **Inhalt der RAP**

Die Mindestinhalte der RAP wurden in der TrinkwV knapp beschrieben. So soll sie insbesondere Folgendes enthalten:

- a) eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Risikobewertung,
- b) einen Vorschlag zur Anpassung der Probennahmeplanung für die betroffene Wasserversorgungsanlage
- und c) eine Anlage, die für die Information der betroffenen Verbraucher geeignet ist.

Die Stadtwerke Düsseldorf haben nach Diskussion mit den Gesundheitsämtern folgenden, erweiterten Inhalt gewählt:

- 1 Einleitung**
- 2 Angaben zur Trinkwasserversorgung, einschließlich Angaben des Verantwortlichen**
- 3 Personen, die die Risikobewertung durchgeführt haben**
- 4 An der Erstellung der RAP inhaltlich beteiligte interne und externe Fachleute**
- 5 Grundlagen der Risikobewertung**
- 6 Beschreibung des Versorgungssystems**
- 7 Eingesetzte Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren gemäß § 11 TrinkwV**
- 8 Für die Risikobewertung berücksichtigte Informationen, Dokumente und Normen**
- 9 Gefährdungsanalyse für den Rhein, das Grundwasser pro Gewinnungsgebiet, Roh- und Trinkwasser**
- 10 Risikobewertung für jeden Parameter, dessen Häufigkeit angepasst werden soll**
- 11 Erwägungsgründe für jeden Parameter**
- 12 Vorschlag zur Umsetzung der RAP**
- 13 Anlage für die Information der Verbraucher/innen nach § 21 Abs. 1TrinkwV**
- 14 Bestätigung, dass kein Umstand abzusehen ist, der aufgrund der RAP eine Verschlechterung der Qualität des Trinkwassers verursachen würde**

## **Gefährdungsanalyse**

Die Wasserversorgung der SWD basiert auf dem Multibarrierenprinzip, bei dem sich zwischen den gefährdeten Rohwasserquellen (Rhein und landseitiges Grundwasser) und dem Trinkwasser verschiedene sich ergänzende oder überlappende Barrieren befinden. Eine Gefährdung besteht durch Eindringen von chemischen Stoffen in das Rohwasser, sodass sich dessen Qualität hinsichtlich bestimmter Parameter verschlechtert (Zustandsänderung). Die Ursachen liegen bei den SWD in einer Verunreinigung des Rheins oder des landseitigen Grundwassers. Durch die Wasseraufbereitung werden verschiedene Gefährdungen verringert oder eliminiert. Es können durch die Bildung von Transformationsprodukten allerdings auch neue hinzukommen. Auch im Verteilungsnetz sind Gefährdungen analysierbar (z.B. Korrosion von Versorgungsleitungen). In der RAP wurden die Gefährdungen der

einzelnen Wasserarten beschrieben und diskutiert. Dabei wurden vorhandene analytische Daten ausgewertet und vorgestellt und bekannte Probleme von Gefährdungen diskutiert.

## Risikobewertung

Risiken im Trinkwasser müssen für die in der Untersuchungshäufigkeit zu reduzierenden Parameter und für die identifizierten Gefährdungen bewertet werden. Dabei wurde die Vorgehensweise gemäß W1001 angewandt, wobei das Risiko ohne und mit Maßnahmen zur Risikobeherrschung bewertet wird. Das Risiko ergibt sich dabei als Produkt von Eintrittswahrscheinlichkeit und Schadensausmaß.

## Erwägungsgründe

Für jeden Parameter mit vorgeschlagenen Änderungen in der Untersuchungshäufigkeit wurde mit Bezug auf die 30 bzw. 60%ige Ausschöpfung des Grenzwertes eine kurze Begründung für die Reduktion gegeben. So lassen die UBA-Leitlinien [2] im ersten Fall eine Reduktion der Häufigkeit und im zweiten eine vollständige Einstellung der Untersuchung zu, die bei den SWD allerdings nicht umgesetzt wurde, weil auch zukünftig ein Überblick über diese Parameter zur Überwachungsphilosophie der SWD gehört. Auch die Neuaufnahme von Parametern wurde begründet (Beispiel: Spurenstoffe, Transformationsprodukte, etc.).

Für die konkrete Umsetzung der Untersuchungshäufigkeiten und –frequenzen wurden für alle Parameter des nach RAP modifizierten Untersuchungsumfangs an Wasserwerksausgängen, Hochbehältern und den Probenahmestellen im Netz eine EXCEL-Datei (Tab.1) erstellt.

*Tabelle 1: Zusätzliche Parameter zur Untersuchung im Trinkwasser*

Parameter	Parameter 30-%-Kriterium erfüllt?	Parameter 60-%-Kriterium erfüllt?	Erwägungsgründe	Beschreibung des Ergebnis	Soll untersucht werden?	Vorschlag Untersuchungshäufigkeit	Vorschlag zum Ort der Probenahme
EDTA	ja	ja	Belastung im Rohwasser, im Trinkwasser gelegentlich	Aufnahme	ja	6 Proben/Jahr	Hochbehälter 1, Wasserwerk 1
Arzneistoffe, Industriechemikalien, PSM-Metaboliten gemäß Liste	ja	ja	Belastung im Rohwasser, im Trinkwasser gelegentlich	Aufnahme	ja	6 Proben/Jahr	Wasserwerke 1-3
N-Nitrosamine	nein	nein	DMS-Belastung im Rohwasser führt zur Bildung bei der Ozonung	Aufnahme	ja	10 Proben/Jahr	Wasserwerke 3
Perfluorierte Verbindungen gemäß Liste	ja	ja	Belastung im Rohwasser, selten PFBA und PFBS im Trinkwasser	Aufnahme	ja	4 Proben/Jahr	Wasserwerke 2, Hochbehälter 1
Trifluoacetat	ja	ja	Belastung im Roh- und Trinkwasser durch Uferfiltrat	Aufnahme	ja	4 Proben/Jahr	Wasserwerke 2, Hochbehälter 1
Amidosulfonsäure	ja	ja	Belastung im Roh- und Trinkwasser durch Uferfiltrat	Aufnahme	ja	4 Proben/Jahr	Wasserwerke 2, Hochbehälter 1
Glyphosat/AMPA	ja	ja	Keine bekannte Rohwasserbelastung, Ausschluss einer Belastung	Aufnahme	ja	4 Proben/Jahr	Wasserwerke 2, Hochbehälter 1
Endokrine Substanzen	ja	ja	Ausschluss einer Belastung	Aufnahme	ja	4 Proben/Jahr	Wasserwerke 2, Hochbehälter 1
Dioxan	nein	nein	erhöhte Belastung im Rohwasser durch Uferfiltrat, in den Trinkwässern regelmäßig nachweisbar	Aufnahme	ja	12 Proben/Jahr	Hochbehälter 1, Wasserwerk 1

## **Verbraucherinformation nach § 21 Absatz 1 TrinkwV**

Zur Information der Bevölkerung über die Anwendung der RAP als neuem Ansatz zur Überwachung der Trinkwasserqualität wurde der Vorschlag in den UBA-Leitlinien [2] auf die Wasserversorgung von Düsseldorf und Mettmann adaptiert.

Die Trinkwasseranalyse wurde entsprechend der Vorgaben [2] um die für das Versorgungsgebiet relevanten Spurenstoffe erweitert.

## **Erfahrungen der Beteiligten und der Betroffenen**

### **Gesundheitsämter**

Jedem Wasserversorger sind die Risiken bekannt, die die Örtlichkeit seiner Wassergewinnungsanlagen oder das Aufbereitungsverfahren mit sich bringen. Mit der Verfahrensbeteiligung am Water-Safety-Plan oder erst jüngst beim Wasserversorgungskonzept in NRW gibt es auch bei den Wasserversorgern ausreichend Unterlagen, die bei der Erarbeitung einer RAP herangezogen werden können. Alle diese Unterlagen, wie auch die für den Katastrophenschutz, hatten keine Auswirkungen auf die tägliche Arbeit, um den Pflichten gemäß Trinkwasserverordnung gerecht zu werden.

Dies ist mit einer RAP nun anders. Die Anpassung der Untersuchungen an die tatsächlichen Risiken der jeweiligen Trinkwassergewinnung ermöglicht es, sich auf die Parameter zu konzentrieren, die von Belang sind und für die es auch eine gewisse Wahrscheinlichkeit gibt, Abweichungen festzustellen. Untersuchungen haben das Ziel die Übereinstimmung mit den geltenden Grenz-, Leit- und Orientierungswerten festzustellen. Wenn es nicht die geringste Wahrscheinlichkeit für Überschreitungen gibt und es die prozessualen Ausgangsbedingungen nicht hergeben, dass eine solche eintritt, machen wiederholte Messungen keinen Sinn.

Die Erarbeitung einer RAP ergibt das Gespräch zwischen dem Versorger und den zuständigen Überwachungsbehörden, das ohnehin geführt werden muss. Und das Schriftstück landet dann nicht als „Papiertiger“ in den Akten, sondern hat positive Wirkung auf die tägliche Arbeit der Akteure. Die genehmigenden Gesundheitsbehörden in Düsseldorf und Mettmann haben daher den Prozess konstruktiv begleitet, das Ergebnis am Ende kritisch geprüft und ihre Zustimmung erteilt.

### **Konsumenten**

Verbraucher(innen) bekommen alle wichtigen Daten zur Trinkwasserqualität, auch die der standortbezogenen Spurenstoffe zeitnah zur Verfügung gestellt. Die bessere Erfüllung des Informationsbedürfnisses zeigt sich durch weniger Anfragen.

### **Qualitätsüberwachung**

Mit der RAP wurden die Spurenstoffuntersuchungen verpflichtend in den Untersuchungsumfang aufgenommen. In der Folge gibt es für das Labor eine verstärkte Nachfrage zu Spurenstoffen und auf Erweiterung des Methodenportfolios für die LC-MS-Analytik, bei einem gleichzeitigen Rückgang der Anfragen von naßchemischen Parametern, PAK und LHKW. Die Auswertung der vorhandenen Daten über die Wasserqualität vom Rohwasser bis zum Zapfhahn des Verbrauchers macht dabei eine Ausweitung des Methodenportfolios bei gleichem Aufwand erst möglich.

## Zusammenfassung

Die Stadtwerke Düsseldorf haben mit Unterstützung der Gesundheitsämter in Düsseldorf und Mettmann eine risikobewertungsbasierte Anpassung der Probenahmeplanung (RAP) erstellt und umgesetzt. Das Vorgehen berücksichtigt die Vorgaben der TrinkwV [1], der UBA-Leitlinien [2] und des weiteren Regelwerks [5-7]. Die Struktur der RAP und die konkrete Umsetzung wurden in Zusammenarbeit mit den Behörden entwickelt. Das Vorgehen kann exemplarisch für andere Wasserversorger sein. Die Erfahrungen mit der Umsetzung seit März 2019 sind insgesamt positiv zu bewerten.

## Literatur

[1] Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch, (Trinkwasserverordnung - TrinkwV 2001) Trinkwasserverordnung in der Fassung der vom 3. Januar 2018, BGBl. I S. 99

[2] Leitlinien für die risikobewertungsbasierte Anpassung der Probenahmeplanung für eine Trinkwasserversorgungsanlage (RAP) nach § 14 Absatz 2a bis 2c Trinkwasserverordnung; Umweltbundesamt, Berlin, Januar 2018

[3] WHO (2017): Guidelines for drinking-water quality, fourth edition incorporating the first addendum.

[https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/en/](https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/en/)

[4] WHO (2009): Water safety plan manual (WSP manual), Step-by-step risk management for drinking-water supplier, Genf

[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75141/9789241562638\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75141/9789241562638_eng.pdf?sequence=1)

[5] DIN EN 15975-2:2013-12: Sicherheit der Trinkwasserversorgung - Leitlinien für das Risiko- und Krisenmanagement - Teil 2: Risikomanagement

[6] DVGW Hinweis W 1001. Sicherheit in der Trinkwasserversorgung - Risikomanagement im Normalbetrieb – Beiblatt 1: Umsetzung für Wasserverteilungsanlagen

[7] DVGW Hinweis W 1001. Sicherheit in der Trinkwasserversorgung - Risikomanagement im Normalbetrieb – Beiblatt 2: Risikomanagement für Einzugsgebiete von Grundwasserfassungen zur Trinkwassergewinnung

[8] <https://www.dvgw.de/themen/wasser/wasserqualitaet/trinkwasser-richtlinie/>

## Raw water UV disinfection: results of a pilot study

Norbert Konrad<sup>1,3</sup>, Stephan Kamphausen<sup>1</sup>, Matthias Rammler<sup>1</sup>, Birgitt Schmitt<sup>1</sup>, Hans-Peter Rohns<sup>1</sup>, Christoph Wagner<sup>1</sup>, Jutta Eggers<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Stadtwerke Düsseldorf AG, Qualitätsüberwachung Wasser, Wiedfeld 50, D-40589 Düsseldorf, <sup>2</sup>DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruher Straße 84, D-76139 Karlsruhe, <sup>3</sup>Correspondence author

## Summary

A medium pressure UV system for disinfection was installed as first step in the raw water line of the Flehe waterworks and tested as a supplement but possible replacement of a treatment step for 2 years. During pilot testing no malfunctions occurred and the system could be operated continuously according to planning and design.

The occasional appearance of coliforms and E.coli, accompanied by increased turbidity in the raw water was safely eliminated by the installed UV system.

Algae formation was found in the influent stainless steel pipes and in smaller extent in the effluent pipes. The installed observation windows showed increasing biofilm formation along with the distance to the UV reactor.

During the medium-pressure irradiation with a reduction equivalent dose (RED) of 400 J/m<sup>2</sup> a photo degradation of trace organic substances was observed: acesulfame, diatrizoate, iopamidol and methyl benzotriazole were reduced in concentration up to 18%. No reduction was measured for the metabolites dimethylsulfamide (DMS) and desphenyl chloridazone (DPC). Thus the degradation of trace organic substances may be relevant during UV disinfection of raw water and transformation products will be different from those of oxidative disinfection processes.

## Introduction

UV disinfection is a well accepted method in drinking water production [1]. Typically, disinfection measures are applied as a last step after water treatment. Although UV shows good deactivation results for all relevant bacteria and viruses in drinking water [3] it is less successful in deactivating algae. For the deactivation/degradation of algae doses > 400 J/m<sup>2</sup> have to be applied. For example, algae growth was observed in various plants after the UV lamp. Especially the visible part of the emission spectrum of medium pressure UV lamps are responsible for algae growth [2].

We planned to build an UV disinfection as first step of a treatment plant with the intention to keep the further treatment plant on a low bacterial level. In particular, we do not wish an intense bacterial colonization of our activated carbon filters. So we de-

ecided to set up a medium pressure UV system for partial flow treatment of the raw water in the Flehe waterworks.

## Experimental

### Pilot plant setup

A medium pressure Siemens Barrier M 275 UV with DVGW approval was installed in the raw water flow and operated from 01.03.2016 to 27.03.2018. The plant was designed for operation in accordance with DVGW Code of Practice W294-1 [1]. The parameter SSK relevant for the design was set at a maximum of  $2.1 \text{ m}^{-1}$ . Accordingly, the plant could be operated with a maximum volume flow of  $40 \text{ m}^3/\text{h}$  and a minimum irradiance of  $106 \text{ W}/\text{m}^2$ . Decision in favor of a medium pressure UV mercury discharge lamp was made, because of its high flux which allows the construction of compact systems and its variable lamp power output which could be adapted to short-term turbidity enhancements. The automatic mechanical cleaning of the cladding tube was set to an hourly interval. The water was taken from the raw water line 1 of Flehe waterworks which was a mix of three pumping stations. After treatment the water was led into regular treatment plant.

Quartz windows were installed in the influent and effluent pipes of the UV system at a distance of 30 - 60 cm in order to visually observe algae growth. In addition, sampling points for quality control were installed before and after the UV system.

The operating parameters of the UV system and the water flux and turbidity were recorded and stored in a SCADA process data system.

## Results

### Pilot plant

The medium pressure UV worked properly over the whole test period. In was not necessary to change the UV lamp. After one year of operation the UV sensor showed a difference of 20 % with respect to a reference measurement. The lamp output only reached the control range towards the end of the test period.

Figure 1 shows the performance of the UV system. Constant power consumption between 1.7 and 1.8 kW was observed. Only in March 2017 and January 2018 the control system seized and increased the power temporarily to 2.2 kW. The triggering event was in both cases turbidity due to increased Rhine water levels which correspond to minima in radiation intensity.

Data points above and under the intensity graph are results of the cladding device which leads to shadowing or reflections on the radiation sensor.

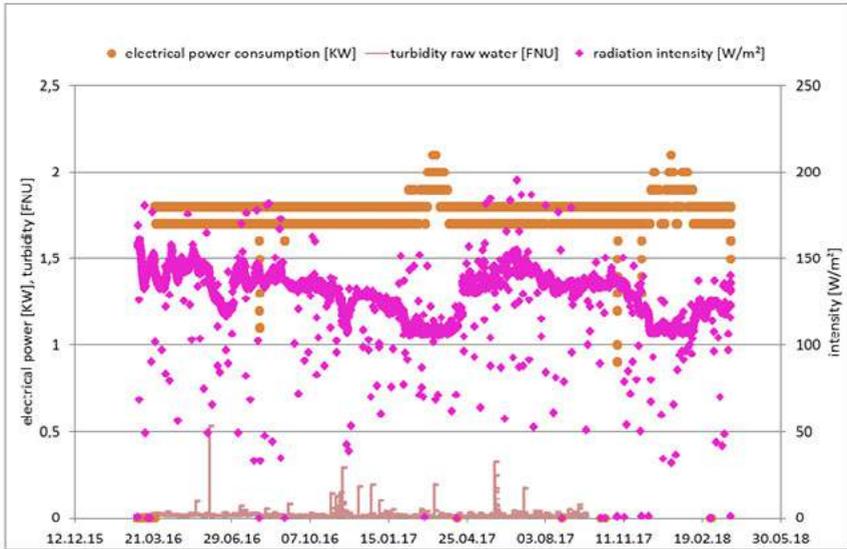


Figure 1: Power consumption and radiation intensity of the UV system and raw water turbidity as a function of time

**Microbiological results**

From November to January, coliforms and *E.coli* occasionally appeared in the raw water, accompanied by increased turbidity. They were eliminated by the installed UV system (Table 1). The total bacteria counts at 36°C and the colony count on R2A, a low-nutrient agar, were also reduced by the UV treatment which was in accordance to expectations.

Table 1: Microbiological results of UV disinfection

sampling point	date and time of sampling	temperature °C	total colony count, 20°C	total colony count, 36°C	Coliformes membran filtration	Coliformes MPN	E. coli membran filtration	E. coli MPN	Germ counts on R2A agar, 20°C	SSK 254 nm /m
			KBE/ml	KBE/ml	KBE/100 ml	MPN/100 ml	KBE/100 ml	MPN/100 ml	KBE/ml	
FR1	20.11.2017 11:50	13,5	0	0		19,2		0	37	2
FUVA	20.11.2017 11:53	13,8	0	5	0 ←		0	0	12	2
FR1	27.11.2017 12:15	14,4	0	0		1		0	18	2,05
FUVA	27.11.2017 12:18	14,5	0	0	0 ←		0	0	0	1,95
FR1	04.12.2017 11:55	13,9	0	0		4,2		0	8	2,32
FUVA	04.12.2017 12:09	14,4	0	0	0 ←		0	0	12	
FR1	18.12.2017 12:15	13	0	0		3,1		0	53	3,06
FUVA	18.12.2017 12:18	13,1	0	0	0 ←		0	0	16	2,99
FR1	02.01.2018 09:55	10,7	0	0		1		0	18	
FUVA	02.01.2018 10:07	10,6	0	0	0 ←		0	0	2	
FR1	08.01.2018 10:45	9,1	0	0		1		0	72	3,24
FUVA	08.01.2018 11:15	9,1	0	0	0 ←		0	0	0	3,18
FR1	10.01.2018 12:10	12,9	0	0		5		4 ←		
FUVA	10.01.2018 12:13	13,1	0	0	0 ←		0			
FR1	29.01.2018 12:10	10,2	0	0		1		0	50	3,12
FUVA	29.01.2018 12:12	10,6	0	0		0		0	0	3,09

FR1: raw water

FUVA: effluent UV

## Chemical results

The statistical evaluation of the weekly samples until 26.02.2018 is shown in Table 2 for raw and UV-treated water. Since SSK and SAK were the same in terms of measurement uncertainty, only the SAK value was subsequently determined. SAK and SSK were very close to each other, which is due to the good particle elimination in bank filtration if no flood events take place. With respect of medium values of SAK/SSK a small fraction (4.1/1.4 %) is reduced by UV treatment. Photo induced reduction of nitrate to nitrite was not observed. To prevent this undesired process the use of doped quartz glass with a cut-off at 240 nm is prescribed according to DVGW Code of Practice W294-1.

Table 2: Statistics of physical and chemical parameter of UV treatment

	raw water				effluent UV			
	SAK 254	SSK 254	nitrate	nitrite	SAK 254	SSK bei	nitrate	nitrite
	nm	nm			nm	254 nm		
	1/m	1/m	mg/l	mg/l	1/m	1/m	mg/l	mg/l
maximum	3.19	3.24	18	0	3.01	3.44	16.6	0
minimum	1.27	1.33	7.6	0	0.79	1.07	7.1	0
total number	66	86	95	0	51	87	86	44
medium	2.19	2.15	11.22	-	2.10	2.12	11.14	-

## Transformation products

However, various organic trace substances inherent in raw water were degraded up to 18% by UV treatment (Table 3). As with other disinfection methods, transformation products (TPs) are to be expected. In literature information about photo-TPs of acesulfame [4, 5, 6], diatrizoate, iopamidol [7, 8, 9] and benzotriazoles [10, 11] are known. In most cases, the research objective was the photochemical degradation of trace substances by sunlight in surface waters. The identified transformation products differ strongly from those of other disinfection procedures, e.g. ozonation or chlorination.

Table 3: Reduction of trace organic substances with UV treatment

substance	acesulfame	amidotrizoic acid	Desphenyl-chloridazone	dimethyl-sulfamide	4/5-methyl-benzotriazole	iopamidole
reduction [%]	14.6	18.0	-0.8	0.3	13.4	16.3

## Decommissioning of the plant

The inspection during decommissioning in the presence of the TZW showed no deposits on the cladding of UV-Lamp or the reactor walls. Slight formation of algae was noted at the curved pipe of UV outlet and strong fouling on the raw water inlet. On the quartz windows, a stronger growth was observed with increasing distance from the UV lamp, especially in the inflow. This is explained by a higher penetration depth of visible light compared to disinfecting UV emission [2].

## Outlook

Major difficulties with UV disinfection of raw water are formation of algae and transformation products without toxicological assessment. It is expected that the introduction of UV LEDs will reduce algae growth because the emitted wavelength can be adapted to the disinfection requirements.

The investigation of transformation products formed during UV disinfection of contaminated raw water is recommended. The problem will not only occur with river bank filtrate but also with contaminated ground water. Preliminary results with a low-pressure UV showed strong degradation for melamine and oxipurinol which are common raw water contaminants. In these cases further work on transformation products is necessary.

## Literature

- [1] Arbeitsblatt W294-1:06-2006, UV-Geräte zur Desinfektion in der Wasserversorgung; Teil 1: Anforderungen an Beschaffenheit, Funktion und Betrieb
- [2] Jutta Eggert, Dirk Hochmuth, Tim Schwarzenberger, Bestandsaufnahme zum Wachstum von Algen im Wirkungsbereich von UV-Anlagen, DVGW-Forschungsbericht W201516, 2017
- [3] W.A.M. Hijnen, E.F. Beerendonk, G.J. Medema, inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: a review, *Water Research*, 40 (2006), 3-22 in
- [4] M. Scheurer, B. Schmutz, O. Happel, H.-J. Brauch, R. Wülser, F.R. Storck, *Science of The Total Environment*, 481 (2014), 425-432.
- [5] O. Happel, M. Scheurer, B. Schmutz, F.R. Storck, R. Wülser, H.-J. Brauch, *Vom Wasser*, 112 (2014), 83-85
- [6] N. Perkola, S. Vaalgamaa, J. Jernberg, A. Vähätalo, Degradation of artificial sweeteners via direct and indirect photochemical reactions, *Environmental Science and Pollution Research* 23 (2016), 13288-97
- [7] S. Allard, J. Criquet, A. Prunier, C. Falantin, A. Le Person, J. Yat-Man Tang, J.-P. Croué, Photodecomposition of iodinated contrast media and subsequent formation of toxiciodinated moieties during final disinfection with chlorinated oxidants, *Water Research* 103 (2016), 453-461
- [8] T. Rastogi, C. Leder, K. Kümmerer, Qualitative environmental risk assessment of photolytic transformation products of iodinated X-ray contrast agent diatrizoic acid, *Science of The Total Environment*, 482-483 (2014), 378-388
- [9] F. Tian, B. Xu, Y. Lin, C.Y. Hu, T. Y. Zhang, N. Y. Gao, Photodegradation kinetics of iopamidol by UV irradiation and enhanced formation of iodinated disinfection by-products in sequential oxidation processes, *Water Research* 58 (2014), 198-208
- [10] C. Weidauer, C. Davis, J. Raacke, B. Seiwert, T. Reemtsma, Sunlight photolysis of benzotriazoles – identification of products and pathways, *Chemosphere* 154 (2016), 416-424
- [11] S. Bahnmüller, C. H. Loi, K. L. Linge, U. von Gunten, S. Canonica, Degradation rates of benzotriazoles and benzothiazoles under UV-C irradiation and the advanced oxidation process UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, *Water Research*, 74 (2015), 143-154

## Fate of antibiotic resistant bacteria and their resistance genes during ozone treatment

Fajnorova S.<sup>a,b</sup>, Wurzbacher C.<sup>b</sup>, Wanner J.<sup>a</sup>, Drewes J.E.<sup>b</sup>, Hübner U.<sup>b</sup>

<sup>a</sup>University of Chemistry and Technology Prague, Department of Water Technology and Environmental Engineering, Technická 5, 166 28 Praha 6, Czech Republic

<sup>b</sup>Technical University of Munich, Chair of Urban Water Systems Engineering, Am Coulombwall 3, 85748 Garching, son.fajn@gmail.com

### Introduction

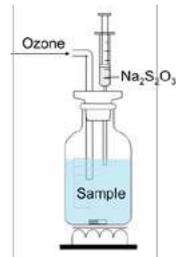
Antimicrobial resistance (AMR) represents a new class of emerging concern, with adverse effects not only to the environment but also often referred as the most serious threat to public health of the 21<sup>st</sup> century. It is estimated that AMR is causing one death every 3 seconds by 2050 (10 million deaths per annum) [1]. Conventional wastewater treatment plants (WWTP) are considered as an important contributor to the spread of antimicrobial resistance in urban aquatic environments [1c, 2]. Ozone is a widely applied disinfectant and currently increasingly applied at WWTPs to remove trace organic chemicals[3]. However, inconsistent results have been reported regarding the removal of antibiotic resistant bacteria (ARB) and especially antibiotic resistance genes (ARGs) by ozone[2, 4]. Despite inactivation of ARB, negligible abatement of ARGs is often reported for oxidative treatment using ozone[2]. Due to the persistence of DNA including ARGs for extended periods of time after cell death in the environment, an element of risk remains for natural occurring gene transfer and reintegration of ARGs within microbial communities[5].

Therefore, this study aims to improve our understanding of the fate of ARB and their respective ARGs during ozone treatment at different operational conditions, and assess a potential selection pressure on relevant pathogens. To this end, the inactivation kinetics of selected microbial species were investigated as a function of ozone exposure with respect to water quality. Based on the list of antibiotic-resistant “priority pathogens” published by the World Health Organization in February 2017[6], trimethoprim resistant *Escherichia coli* and imipenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* from the group of critical priority pathogens as well as vancomycin resistant *Enterococcus faecium* from the group of high priority pathogens were selected as targets for this study.

### Material and methods

Ozone reaction kinetics were determined in 1 L batch experiments (Figure 1), performed in i) secondary effluent (SE) and ii) synthetic water (i.e. ultrapure water buffered to pH 7 using phosphate buffer and spiked with cultures of environmental isolates of susceptible and resistant bacteria of interest).

Bacterial susceptibility and resistance were identified based on pre-tested susceptibility of target bacteria to defined antibiotics according to the broth microdilution plate count technique (ISO 20776-1). The selected antibiotics were trimethoprim (20 µg/mL for *E. coli*), vancomycin (24 µg/mL for *Enterococci*), and imipenem (4 µg/mL for *P. aeruginosa*). The final concentrations of individual drugs to distinguish between susceptible and resistant bacteria were defined based on a pre-test, considering drug concentrations recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2016)<sup>[7]</sup>.



**Figure 1:** Batch-scale experimental set-up

The samples were mixed with predefined volumes of ozone stock solution (approximately 50 mg/L) produced in a 2.5 L semi-batch reactor with the target to achieve a specific dose of 0.3 mg O<sub>3</sub>/mg DOC in the experimental reactor. Ozone exposure was determined according to decay of ozone concentration as a function of time. Ozone concentration was determined using the indigo colorimetric method<sup>[8]</sup>. In order to determine the abatement of ARB and ARGs as a function of ozone exposure, the ozone reaction was stopped at different time intervals by adding 10% sterile sodium thiosulfate solution<sup>[9]</sup>.

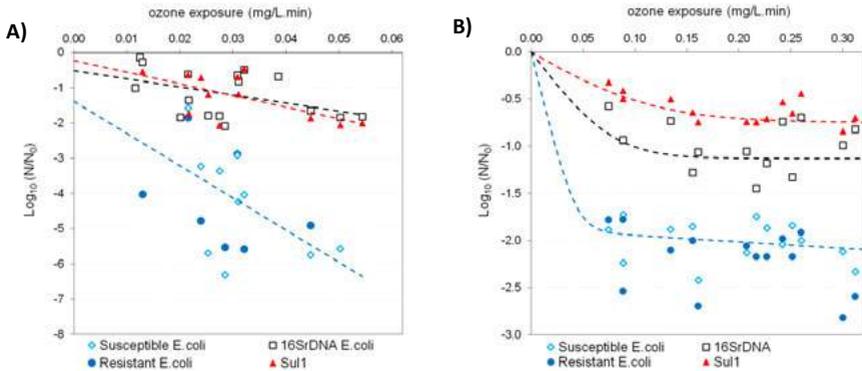
The inactivation of selected susceptible and resistant microorganisms was evaluated by plate counting and monitoring of cell membrane integrity by applying bacterial viability kits for fluorescence microscopy. The influence of ozone on microbial cells and genes was evaluated by quantitative polymerase chain reaction (qPCR), quantifying the copy numbers of ARGs and the 16S rRNA gene (as a proxy for total cell numbers).

## Results and discussion

Our results confirm a very fast inactivation of bacteria without significant difference between resistant and susceptible bacteria (Figure 2, two-sided t-test:  $p < 0.25$ ). However, the sensitivity to ozone varies between individual species (in decreasing order: *P. aeruginosa* > *E. coli* > *Enterococci*), indicating that the selective pressure of ozone is mitigated by individual microbial cell features, such as the Gram-positive cell wall of *Enterococci*. These findings do not support previous results from Lüddecke et al (2016), who reported that antibiotic resistant bacteria are not ozone sensitive<sup>[10]</sup>, but support findings of Alexander et al., (2016) who concluded selection for bacteria carrying BlaVIM resistance genes through ozonation<sup>[11]</sup>.

A rapid decline of cell integrity was observed within the first 10 seconds (corresponding to 0.015 mg O<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>.min), making the selected bacterial viability test not suitable to track inactivation of bacteria by several orders of magnitude. Nonetheless, the absolute loss

of cell membrane integrity confirms that disinfection with ozone is driven by a direct attack of the cell membrane followed by a slower destruction of genes.



**Figure 2:** Removal kinetic of *E. coli* and *sul1* gene copies in synthetic water (A) and WWTP effluent (B)

In contrast to the efficient inactivation of bacteria, a higher stability of ARGs was observed (Figure 2). This effect might be caused by the initial attack of ozone, but could also be enhanced by an incomplete destruction of genes, since our qPCR only detected a short fragment of the entire gene. Samples are currently re-evaluated with qPCR using different length of primers to test this hypothesis. Moreover, ARGs and 16S rRNA gene copy numbers showed different susceptibility to ozone treatment in secondary effluent, e.g. a 2-log removal of *vanA* required almost two times higher ozone exposure than a 2-log removal of 16S rDNA while no significant differences were observed in synthetic water. This might be explained by different susceptibility of species present in the wastewater matrix.

## Conclusions

Our study clearly demonstrate that ozonation is a suitable process to reduce direct risk from infection by antibiotic resistant bacteria originating from wastewater treatment plant effluents. However, continuous research efforts are needed to better understand the integrity of resistance genes detectable by qPCR after ozonation, to determine the potential of horizontal gene transfer into other bacteria, and to characterize risks for human health that are linked to these genes by identifying potential pathways to human exposure in the environment.

## References

- [1] a) WHO, *Antimicrobial resistance: 2014 global report on surveillance*, World Health Organization, Geneva, **2014**, p. 256; b) U. Hübner, U. von Gunten and M. Jekel, *Water Research* **2015**, *68*, 150-170; c) I. Michael, L. Rizzo, C. S. McArdell, C. M. Manaia, C. Merlin, T. Schwartz, C. Dagot and D. Fatta-Kassinos, *Water Research* **2013**, *47*, 957-995.
- [2] C. X. Hiller, U. Hübner, S. Fajnorova, T. Schwartz and J. E. Drewes, *Science of The Total Environment* **2019**.
- [3] N. Czekalski, S. Imminger, E. Salhi, M. Veljkovic, K. Kleffel, D. Drissner, F. Hammes, H. Bürgmann and U. von Gunten, *Environmental Science & Technology* **2016**, *50*, 11862-11871.
- [4] J. Alexander in *Mikrobiologische Charakterisierung von anthropogen beeinflussten Wassersystemen und Evaluierung von Abwasserbehandlungsverfahren*, Vol. Karlsruher Institut für Technologie (KIT), **2017**.
- [5] A. Nocker, P. Sossa-Fernandez, M. D. Burr and A. K. Camper, *Applied and Environmental Microbiology* **2007**, *73*, 5111-5117.
- [6] W. H. O. WHO in *Global priority list of antibiotic resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*, Vol. **2017**.
- [7] CSLI in *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Vol. CSLI, Wayne, **2016**, p. 256.
- [8] K. L. Rakness, *Ozone in Drinking Water Treatment: Process Design, Operation, and Optimization*, American Water Works Association, **2011**, p.
- [9] M. Y. Lim, J.-M. Kim, J. E. Lee and G. Ko, *Applied and Environmental Microbiology* **2010**, *76*, 1120-1124.
- [10] F. Lüddecke, S. Heß, C. Gallert, J. Winter, H. Güde and H. Löffler, *Water Research* **2015**, *69*, 243-251.
- [11] J. Alexander, G. Knopp, A. Dötsch, A. Wieland and T. Schwartz, *Science of The Total Environment* **2016**, *559*, 103-112.

## Untersuchung eines mit CO<sub>2</sub> regenerierten Ionenaustauschermischbetts zur Sulfatentfernung bei der Trinkwasseraufbereitung

P. Benne, Berlin/D, M. Schulz, Berlin/D, M. Ernst, Hamburg/D,  
A. Sperlich, Berlin/D

Paul Benne, Berliner Wasserbetriebe, Cicerostr. 24, 10709 Berlin/D,  
paul.benne@bwb.de

### Einleitung

Durch die Einstellung des südöstlich von Berlin gelegenen Braunkohletagebaus und die damit verbundene Flutung ehemaliger Abbaugruben wird Sulfat aus der Pyritoxidation freigesetzt. In Folge sind steigende Sulfatkonzentrationen in der Spree und oberflächennahen Grundwässern nachzuweisen, die u.a. in Berlin die Trinkwasseraufbereitung negativ beeinflussen. Im Müggelsee kam es Ende des Jahres 2014 zu einem deutlichen Anstieg der Sulfatkonzentration im Rohwasser auf Werte um den Grenzwert der Trinkwasserverordnung von 250 mg/L [1]. Im Rahmen des Verbundprojektes SULEMAN werden deshalb zur Sulfatentfernung geeignete Trinkwasseraufbereitungsverfahren untersucht, um sie hinsichtlich ihrer Grenzen, Ressourceneffizienz und Nachhaltigkeit zu bewerten. Dafür wird am Standort Berlin Friedrichshagen seit Februar 2019 eine Pilotanlage des sogenannten CARIX®-Ionenaustauscherverfahrens (engl. *carbon dioxide regenerated ion exchangers*) betrieben [2]. Bei diesem wird ein Mischbettfilter bestehend aus einem schwach sauren Kationenaustauscher und einem stark basischen Anionenaustauscher in der Hydrogenkarbonat-Form zur Teilentsalzung mit anschließender Teilentkarbonisierung eingesetzt. Nach dem Durchbruch des Filters werden Kationen- und Anionenaustauscher im Mischbett gemeinsam mit einer mit Kohlenstoffdioxid angereicherten Lösung regeneriert (siehe Abb. 1) [2].

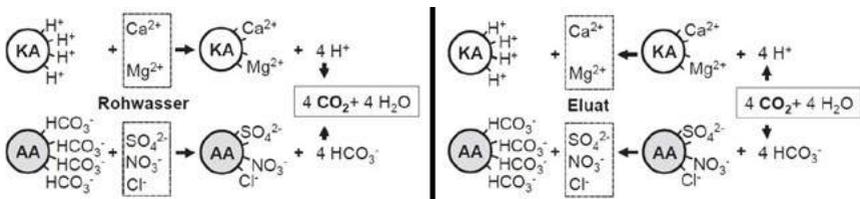


Abbildung 1: Schema des Ionenaustauschs mit schwach sauren Kationenaustauschern, kombiniert mit stark basischen Anionenaustauschern; links Beladungsvorgang, rechts Regenerationsvorgang [2]

Der Prozess eignet sich laut DVGW-Arbeitsblatt W 235-3 zur zentralen Enthärtung mit Sulfat- und Nitrat-Entfernung als Nebenziel, wobei eine an das aufzubereitende Rohwasser gestellte Anforderung ein DOC- bzw. TOC-Gehalt (engl. *dissolved/total organic carbon*) kleiner 3 mg/L ist. Ziel der hier vorgestellten Studie ist die Untersuchung

der Leistungsfähigkeit des Verfahrens sowie die Bestimmung möglicher Querempfindlichkeiten zu den hohen DOC-Konzentrationen ( $> 3,6 \text{ mg/L}$ ) im Berliner Trinkwasser [3].

### Vorgehensweise

Bei der Untersuchung wird eine Pilotanlage, wie sie in Abb. 2 schematisch dargestellt ist, zusammen mit einem automatischen Probenehmer verwendet. Bei den im Mischbett mit einem Bettvolumen (BV) von  $0,4 \text{ m}^3$  verwendeten Ionenaustauscherharzen handelt es sich um einen stark basischen Anionenaustauscher mit vernetzter Acrylgelstruktur und einen schwach sauren Kationenaustauscher aus einem makroporösen Methacrylcopolymer.

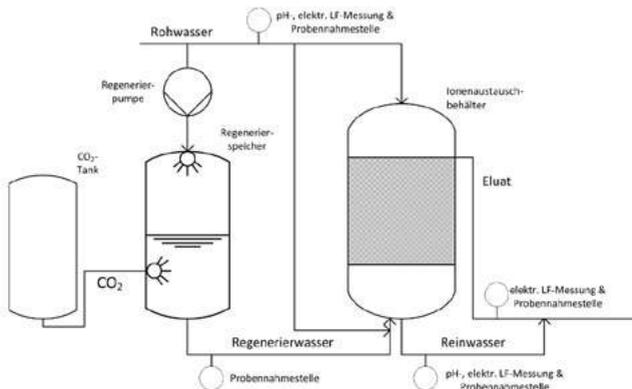


Abbildung 2: Schema der Ionenaustausch-Pilotanlage

Das durch Belüftung und anschließende Schnellfiltration aufbereitete Grundwasser wird sowohl als Zulauf als auch als Regenerierwasser verwendet. Das Versuchsprogramm besteht aus einer Variation des Durchsatzes bei den Beladungs- und Regenerationsphasen und orientiert sich an den im DVGW-Arbeitsblatt 235-3 genannten Bettvolumina. In der noch laufenden Pilotierung wurden in drei Versuchsphasen (30-6, 30-5 und 45-6) jeweils 30 bzw. 45 BV Wasser bis zur anschließenden Regeneration mit 6 bzw. 5 BV Regenerierwasser durchgesetzt. Der Beladung geht eine Vorfiltration mit einem für alle Versuche konstanten Wasservolumen von  $0,4 \text{ m}^3$  (1 BV) voran. Der Regeneration mit kohlensäurehaltigem Regenerierwasser (angereichert bei 8 bar CO<sub>2</sub>-Druck im Regenerierspeicher) folgt eine Spülung mit ebenfalls konstanten  $0,6 \text{ m}^3$  (1,5 BV) Rohwasser, beides erfolgt im Gegenstrom. Innerhalb einer Versuchsreihe werden für alle Prozessphasen mindestens einmal die Konzentrationsverläufe relevanter Wasserinhaltsstoffe mithilfe von Stichproben mit einer zeitlichen Auflösung von 1 h aufgenommen und mindestens drei Mischproben erstellt. Die zur Auswertung herangezogenen Parameter sind die  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Mg}^{2+}$ -,  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -,  $\text{SO}_4^{2-}$ -,  $\text{NO}_3^-$ -,  $\text{Cl}^-$ -,  $\text{HPO}_4^{2-}$ -,  $\text{Br}^-$ -,  $\text{F}^-$ - und DOC-Konzentration, der spektrale Absorptionskoeffizient bei  $254 \text{ nm}$  ( $\text{SAK}_{254}$ ) und die Säurekapazität  $\text{Ks}_{4,3}$ . Zudem wurde Gelpermeationschromatographie mit organischer Kohlenstoff- und Ultraviolettstrahlung-Detektion (LC-OCD – engl. *liquid chromatography – organic carbon detection*) genutzt.

## Ergebnisse und Diskussion

Abb. 3 zeigt die Konzentrationen der Gesamthärte, des Hydrogencarbonats und den pH-Wert im Ablauf der Pilotanlage über den spezifischen Durchsatz. Den Verläufen der Gesamthärte (GH) und der  $\text{HCO}_3^-$ -Konzentration lässt sich der Übergang von der Teilenthärtung zur Entkarbonisierung entnehmen. Die Gesamthärte durchläuft zunächst ein Minimum, bevor sie ab 20 BV deutlich und danach nur noch langsam ansteigt. Die  $\text{HCO}_3^-$ -Konzentration steigt bis zum Durchsatz von 10 BV zunächst, um dann um bis 20 BV deutlich abzufallen. Mit dem nahezu konstanten Verlauf der  $\text{HCO}_3^-$ -Konzentration ab 20 BV setzt die Entkarbonisierung ein und ist zum Ende der Beladungsphase noch nicht abgeschlossen. Ein Anionenaustausch gegen Hydrogencarbonat ist ab 20 BV nicht mehr festzustellen.

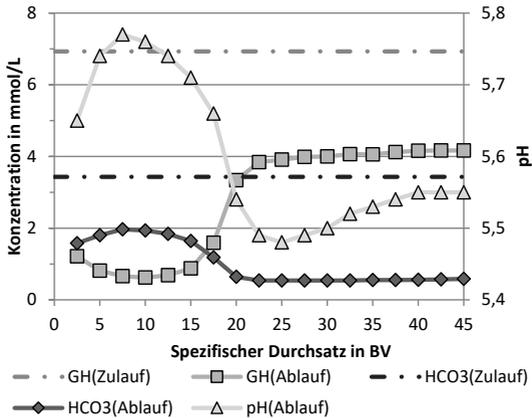


Abbildung 3: Gesamthärte (GH) und  $\text{HCO}_3^-$ -Konzentration ( $\text{HCO}_3$ ) im Zulauf und Ablauf in mmol/L, sowie  $\text{pH}_{\text{Ablauf}}$  für die Beladungsphase 45-6;  $\text{pH}_{\text{Zulauf}} = 7,34$

Abb. 4 lassen sich die normierten Konzentrationsverläufe der anorganischen Kationen und Anionen über den spezifischen Durchsatz während der Beladungsphase (45-6) entnehmen. Die Verläufe in Abb. 4 sind durch die auf Verdrängungsreaktionen zurückzuführenden Konzentrationsüberhöhungen einzelner Ionen zu erklären. Diese Überhöhungen treten verstärkt zum Ende der Teilenthärtung bzw. danach auf. An diesem Verhalten lässt sich die Selektivitätsreihe des jeweiligen Ionenaustauschers ableiten. Für den Kationentauscher gilt  $\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{K}^+$ . Für den Anionenaustauscher gilt  $\text{SO}_4^{2-} > \text{Br}^- > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{HPO}_4^{2-} > \text{F}^-$ . Zum Ende der Beladungsphase entsprechen die Ablaufkonzentrationen der Anionen ihren jeweiligen Zulaufkonzentrationen mit Phosphat als Ausnahme. Dieses ist das einzige Anion mit einer auf eine Verdrängungsreaktion zurückzuführende Konzentrationsüberhöhung, bei dem anschließend die Zulaufkonzentration wieder unterschritten wird. Am Kationenaustauscher lässt sich die Teilentkarbonisierung durch die fortlaufende Adsorption von Calcium und Magnesium beobachten.

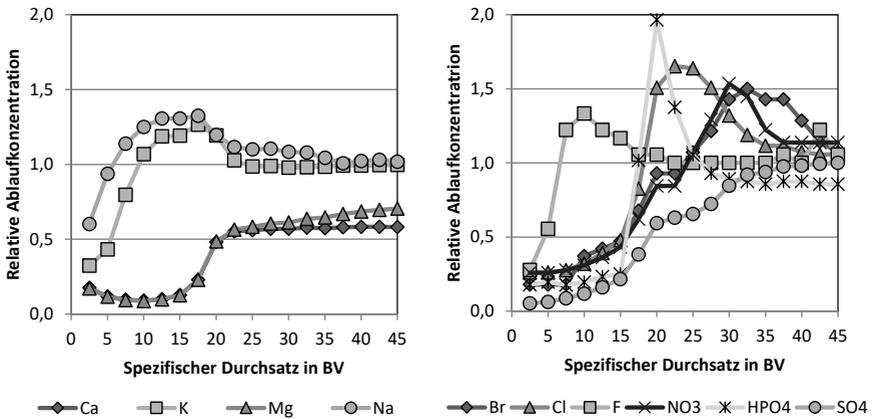


Abbildung 4: normierte Konzentrationsverläufe der anorg. Kationen (links) und Anionen (rechts) über den spezifischen Durchsatz für die Beladungsphase 45-6

In Abb. 5 sind die normierten Verläufe des DOC und des SAK<sub>254</sub> über den Durchsatz und die LC-OCD-Chromatogramme des Zulaufs sowie einer Ablauf-Mischprobe der Beladungsphase 45-6 dargestellt. Die in Abb. 5 dargestellten Konzentrationsverläufe des DOC und SAK<sub>254</sub> zeigen auch zum Ende der Beladungsphase noch eine Entfernung von 41 % bzw. 59 %. Besonders die UV-aktiven DOC-Fractionen mit hohem Anteil aromatischer Gruppen werden bevorzugt entfernt. Die LC-OCD-Chromatogramme in Abb. 5 bestätigen dies, da vor allem die Fraktion der Huminsäuren mit einer mittleren Retentionszeit von 35 Minuten im Zulauf und die Fraktion der etwas kleineren Building Blocks mit einer Retentionszeit von 40 Minuten im Zulauf entfernt werden. Die Fraktionen der niedermolekularen Säuren mit Retentionszeiten von 45 Minuten werden hingegen nur geringfügig entfernt [4]. Die hier nicht gezeigten ebenfalls aufgenommenen Chromatogramme mit den relativen UV-Signalhöhen bestätigen, dass die entfernten hochmolekularen Fraktionen am stärksten UV-Strahlung bei 254 nm absorbieren. In Abb. 5 weist ab 15 BV die DOC-Konzentration und der SAK<sub>254</sub> über die nächsten 5 BV eine größere Steigung auf. Ab 20 BV nimmt sie wieder ab und ist ab 30 BV bis zum Beladungsende null. Die Erschöpfung des Anionenaustauschers scheint somit auch einen Einfluss auf die Entfernung natürlicher organischer Substanzen (engl. *natural organic matter* – NOM) auszuüben. Eine direkte Konkurrenz zwischen Anionen und NOM, wie sie zwischen Anionen anhand der Konzentrationsüberhöhungen festzustellen ist, lässt sich jedoch Abb. 4 und Abb. 5. nicht entnehmen. Eine NOM-Entfernung über die Erschöpfung des Anionenaustauschers hinaus kann einerseits mit aus der Literatur bekannten Ca<sup>2+</sup>-Komplexbildungsreaktionen am Kationenaustauscher begründet werden. Weitere bereits aus der Literatur bekannte Mechanismen sind Adsorption durch π-π-, hydrophobe oder van-der-Waals-Wechselwirkungen mit der polymerischen Ionenaustauschermatrix [5].

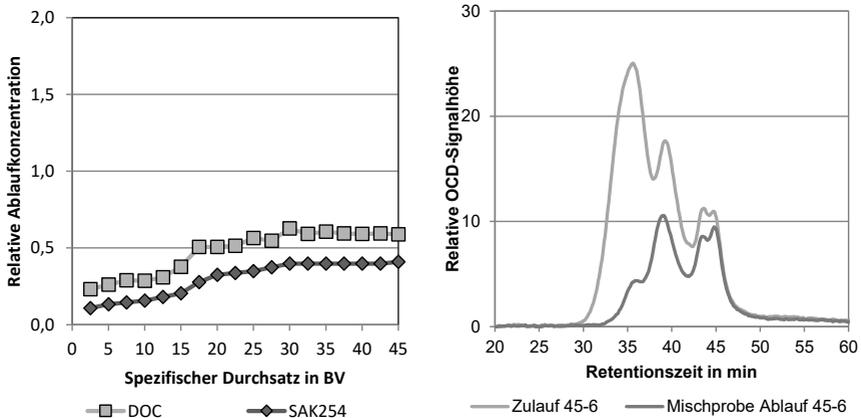


Abbildung 5: normierte Konzentrationsverläufe des DOC und SAK<sub>254</sub> (links) über den spezifischen Durchsatz und LC-OCD-Chromatogramme für Zulauf- und Ablaufmischprobe (rechts) für die Beladungsphase 45-6

Für anorganische Ionen gilt, dass die während der Beladung adsorbierten Frachten gleich der während der Regeneration desorbierten Frachten sind (in Tab. 1 beispielhaft für Calcium und Sulfat). Der Vergleich der Versuchsreihen 30-6 und 30-5 zeigt die Veränderung des dynamischen Gleichgewichts zwischen Beladungs- und Regenerationsvorgang. Durch eine Verringerung des Regenerationsvolumens nimmt die nutzbare Kapazität beider Ionenaustauscher ab, die entfernten Frachten fallen kleiner aus. Die mittlere Sulfatentfernung fällt dadurch insgesamt um 3,4 % kleiner aus. Der Vergleich der Daten von 30-6 und 45-6 zeigt, dass mit einem größeren Beladungsvolumen durch die Erschöpfung des Anionenaustauschers ab 20 BV nur eine geringfügig größere Sulfatfracht gegenüber 30-6 entfernt werden kann. Die mittlere Sulfatentfernung fällt mit 44,3 % deutlich geringer aus, da bei einem spezifischen Durchsatz von 40 BV bereits der vollständige Sulfatdurchbruch erreicht wird (siehe Abb. 4). Da die Erschöpfung des Anionenaustauschers deutlich nach der des Kationenaustauschers eintritt, findet weiterhin eine Teilentcarbonisierung statt. Die entfernte Calciumfracht ist in Versuchsphase 45-6 deshalb höher als in 30-6, doch auch hier nimmt die mittlere prozentuale Entfernung ab - 67,8 % gegenüber 59,3 %.

Auffällig sind die versuchsreihenübergreifende 35–25 % kleinere DOC-Fracht und die 60–65 % kleinere mittels SAK<sub>254</sub> bestimmte organische Fracht im Eluat (siehe Tab. 1). Dies kann auf einen biologischen Abbau zurückzuführen sein [6,7]. Eine für eine irreversible Anlagerung organischer Substanzen an das Ionenaustauschermaterial (organisches Fouling) sprechende abnehmende Leistung der Pilotanlage konnte bisher nicht festgestellt werden. Frühere Untersuchungen beschreiben die Acrylstruktur des Ionenaustauschermaterials als äußerst resistent gegen ein solches Fouling [7]. Gegen einen biologischen Abbau spricht die grundsätzlich desinfizierende Wirkung einer Regeneration mit kohlenensäurehaltigen Lösungen [7].

Tabelle 1: Während der Beladung (Bel.) adsorbierte und der Regeneration (Reg.) desorbierte Ca<sup>2+</sup>-, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>- und DOC-Fracht, organische Fracht, sowie die mittlere Ca<sup>2+</sup>- und SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-Entfernung

Versuchsreihe	30-6		30-5		45-6	
	Bel.	Reg.	Bel.	Reg.	Bel.	Reg.
Ca <sup>2+</sup> -Fracht in g	1008 ± 88	944 ± 35	917 ± 9	907 ± 31	1275 ± 20	1250 ± 18
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -Fracht in g	1231 ± 45	1264 ± 113	1140 ± 82	1075 ± 45	1327 ± 60	1263 ± 89
DOC-Fracht in g	26 ± 3	15 ± 1	23 ± 4	17 ± 3	28 ± 4	21 ± 1
Organische Fracht (SAK <sub>254</sub> ) in m <sup>3</sup> /m	76 ± 9	24 ± 2	74 ± 1	29 ± 3	102 ± 3	38 ± 1
Ca <sup>2+</sup> -Entfernung in %	67,8		64,4		59,3	
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> -Entfernung in %	59,4		56,0		44,3	

## Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegenden Ergebnisse der noch laufenden Untersuchung bestätigen die Eignung des Verfahrens zur Sulfatentfernung. Bei Sulfatkonzentrationen von 160-170 mg/L im Zulauf werden hier je nach Fahrweise der Pilotanlage 45-60 % des Sulfats entfernt. Zudem kommt es zu einer deutlichen Verringerung der Härte. Ebenfalls lässt sich der vorliegenden Studie entnehmen, dass auch die Organik zu großen Teilen und über die Erschöpfung des Anionenaustauschers hinaus entfernt wird. Bisher können keine negativen Effekte wie etwa irreversible Anlagerung organischer Substanzen oder eine für die Sulfatentfernung nachteilige Konkurrenz zwischen anorganischen Anionen und organischen Substanzen bei diesem Ionenaustauschverfahren festgestellt werden. Die Gründe sind noch nicht abschließend geklärt, möglich wären ein biologischer Abbau, Komplexbildungsreaktionen oder aber Adsorptionsmechanismen, die nicht mit der Adsorption anorganischer Anionen konkurrieren. In weiteren Pilot- und Laborversuchen sollen die Ergebnisse verifiziert und die für sie verantwortlichen Mechanismen genauer identifiziert werden.

Die Ergebnisse wurden im Rahmen des SULEMAN-Projekts (03ET1574A) erarbeitet, das vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie und der Deutschen Vereinigung des Gas- und Wasserfaches (DVGW) gefördert wird.

## Literaturverzeichnis

- [1] J. Gelbrecht, A. Cabezas, M. Hupfer und D. Zak, **2016**, IGB-Dossier, zu finden unter [https://www.igb-berlin.de/sites/default/files/media-files/download-files/IGB\\_Dossier\\_2016\\_Sulfat\\_END.pdf](https://www.igb-berlin.de/sites/default/files/media-files/download-files/IGB_Dossier_2016_Sulfat_END.pdf), Zugriffen: 29.11.2019 [2] DVGW, DVGW-Arbeitsblatt W 235-3 (A) – Zentrale Enthärtung in der Trinkwasserversorgung – Ionenaustauschverfahren, **2012**, WVGW, Bonn [3] Analysedaten des Wasserwerks Friedrichshagen Jahresmedianwerte 2018, **2018**, Berliner Wasserbetriebe, zu finden unter [https://www.bwb.de/de/assets/downloads/Reinwasser\\_FRI\\_2018\\_MED.pdf](https://www.bwb.de/de/assets/downloads/Reinwasser_FRI_2018_MED.pdf), Zugriffen: 29.11.2019 [4] S. A. Huber, A. Balz, M. Abert, W. Pronk, *Water research*, **2011**, 45, S. 879 [5] M. Pürschel, Dissertation, Technische Universität Dresden, 2017 [6] M. Schulz, J. Winter, H. Wray, B. Barbeau, P. Bérubé, *Water Science and Technology: Water Supply*, **2017** [7] W. H. Höll, K. Hagen in *Ion Exchange Advances* (Hrsg.: M. J. Slater), Springer Netherlands, Dordrecht, **1992**, S. 136–143.

## Einflussparameter auf die Bromatbildung bei der Ozonung bromidhaltiger Grundwässer

J. Kämmler, Hamburg/D, L. Preda, Hamburg/D, J. Specker, Hamburg/D, M. Ernst, Hamburg/D

Jakob Kämmler, DVGW-Forschungsstelle TUHH, Am Schwarzenberg-Campus 3, 21073 Hamburg/D

### Kurzfassung

Bei der Ozonung von Grundwässern zur Trinkwasseraufbereitung können bei erhöhtem Bromidgehalt und/oder hoher Ozondosis Bromatkonzentrationen entstehen, die den TrinkwV-Grenzwert von 10 µg/l überschreiten. Es wurden verschiedene Minimierungsstrategien für die Bromatbildung getestet: Variation des pH-Werts, Dosierung von Wasserstoffperoxid, stufenweise Ozondosierung und Variation der Ozonkonzentration im Gas. Durch die untersuchten Strategien kann die Bromatbildung deutlich verringert werden. Die Dosierung von Wasserstoffperoxid beeinträchtigt andere Aufbereitungsziele wie die Farbdezuierung oder die Desinfektionswirkung. Die Dosierung von Säure ist aufgrund des hohen Chemikalienverbrauchs nicht wünschenswert. Sowohl Mehrfachdosierung als auch Variation der Gaskonzentration sind vielversprechende Wege, die Bromatbildung bei der Ozonung von Grundwässern zu unterdrücken.

### Einleitung

Aufbereitetes Grundwasser ist in der Regel hygienisch einwandfrei und kann ohne Desinfektion in die Verteilernetze gegeben werden. Auch deshalb ist die Ozonung ein in der Grundwasseraufbereitung bisher wenig erprobtes Verfahren. Dennoch können bestimmte Wasserqualitäten Argumente dafür liefern, Ozon in der Grundwasseraufbereitung einzusetzen. Insbesondere zur Reduzierung der Färbung (SAK<sub>436</sub>, TrinkwV-Grenzwert 0,5 m<sup>-1</sup>), aber auch zur Elimination vereinzelt auftretender organischer Spurenstoffe (Arzneimittelrückstände, Pestizide etc.) kann Ozon als effizientes Oxidationsmittel eingesetzt werden. Dabei muss der Nutzen mit der Bildung von Desinfektionsnebenprodukten abgewogen werden. Insbesondere das Karzinogen Bromat ist relevant, da es aus natürlicherweise im Wasser vorhandenem Bromid gebildet wird und schon Bromidkonzentrationen von 50 µg/l problematische Bromatkonzentrationen im Wasser verursachen können [1]. Weiterhin ist die Entwicklung leicht abbaubarer organischer Substanzen (Erhöhung des AOC, *Assimilable Organic Carbon*) aus Sicht der Netzhygiene zu beachten. Verschiedene Minimierungsstrategien für Bromat sind aus der Abwasseraufbereitung bekannt [2] und wurden für die Grundwasseraufbereitung getestet.

### Material und Methoden

Zwei aufbereitete norddeutsche Grundwässer wurden ozoniert. Wasser A ist ein Grundwasser mit hoher Färbung (SAK<sub>436</sub> = 1,15 m<sup>-1</sup>) und hohem Bromidgehalt (Brunnen in Küstennähe). Wasser B ist ein Hamburger Leitungswasser, zu dem pedogene Huminstoffe (Carl Roth Humic Acid) und Bromid (als Natriumbromid) dotiert wurden. Die Wasseranalysen werden in Tabelle 1 gezeigt. Zur Ozonung von Wasser A wurden entsprechende Mengen einer ozonhaltigen Stammlösung zu den Proben dosiert. Das

Verhältnis Ozon / TOC (w/w) war in den Versuchen fest bei 0,8. Diese Dosis wurde in Vorversuchen als notwendig bestimmt, um die Färbung des Wassers deutlich unter den TrinkwV-Grenzwert zu reduzieren. Die Proben konnten nach Ozonzugabe über Nacht bei Raumtemperatur (20 °C) ausreagieren. Der pH-Wert wurde unmittelbar vor dem Versuch mit verdünnter Salzsäure bzw. Natronlauge eingestellt. Wasserstoffperoxid wurde unmittelbar vor der Ozonzugabe als 0,3%ige (w/w) Lösung zu den Proben gegeben. Für die Mehrfachdosierung wurde die notwendige Menge Ozon-Stammlösung in mehrere gleich große Volumina geteilt, die im Abstand von 10 min zur Probe dosiert wurden. Bei der Einfachdosierung wurde die gesamte Menge auf einmal zugegeben, bei der Zweifachdosierung zweimal die halbe Menge usw. Für die Variation der Gaskonzentration bei gleicher Ozondosis wurde eine Pilotanlage mit Injektion von gasförmigem Ozon verwendet. Bei konstantem Gas-Volumenstrom wurden zwei unterschiedliche Ozonkonzentrationen im Gas hergestellt. Die Dosiermenge von Ozon wurde durch Variation des Wasservolumenstroms eingestellt. Für diesen Versuch wurde Wasser B verwendet.

## Ergebnisse und Diskussion

Die Dosierung von Wasserstoffperoxid führte zu einer starken Verminderung der Bromatbildung bis weit unter den TrinkwV-Grenzwert von 10 µg/l (Abbildung 1). Als Gründe dafür werden folgende angenommen:

- Die hohe Reaktivität von Wasserstoffperoxid mit Ozon, welches dadurch in geringerem Maße als Oxidationsmittel für Bromid zur Verfügung steht;
- Die Reduktion von hypobromiger Säure (HOBr), des wichtigsten Zwischenprodukts der Bromatbildung, zu Bromid durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Dadurch, dass der *Advanced Oxidation Process* (AOP) Wasserstoffperoxid/Ozon relevante Mengen Ozon verbraucht, finden weniger direkte Reaktionen von Ozon mit Wasserinhaltsstoffen statt. Im Versuch zeigte sich beispielsweise, dass die Entfärbung des Wassers durch den Einsatz von Wasserstoffperoxid weniger effektiv ist (Ergebnisse nicht abgebildet).

Die Ozonung bei verschiedenen pH-Werten zeigt ein Maximum an Bromat bei pH 7 und stetig sinkende Konzentrationen bei tieferen und höheren pH-Werten (Abbildung 2). Bei einer pH-Veränderung treten verschiedene Effekte auf [1]:

- Das Gleichgewicht zwischen HOBr und Hypobromit (OBr<sup>-</sup>), den entscheidenden Vorläufersubstanzen von Bromat, wird bei niedrigen pH-Werten Richtung HOBr verschoben, welches durch Ozon nur langsam oxidiert wird. Dadurch wird die Bromatbildung verringert;
- Bei niedrigeren pH-Werten verringert sich die Bildung von Hydroxylradikalen, welche HOBr und OBr<sup>-</sup> oxidieren können. Auch dadurch wird die Bromatbildung verringert;
- Bei niedrigeren pH-Werten ist Ozon stabiler, die Ozonexposition steigt, was die Oxidation von Bromid zu HOBr/OBr<sup>-</sup> verstärkt. Dadurch steigt das Bildungspotential für Bromat.

Da diese gegenläufigen Effekte sich überlagern, kann keine triviale Ursache-Wirkungs-Beziehung aus den Versuchen hergeleitet werden. Es ist wahrscheinlich, dass die verringerte Ozonexposition für den Rückgang der Bromatbildung bei höheren pH-Werten verantwortlich ist.

Die mehrstufige Dosierung von Ozon zeigt einen klaren Trend in Richtung niedrigerer Bromatkonzentrationen mit Erhöhung der Stufenanzahl (Abbildung 3). Durch die nied-

rigeren Konzentrationen von Ozon können Stoffe mit schneller Kinetik bevorzugt mit Ozon reagieren. Dazu gehören natürliche organische Stoffe (NOM), welche schneller mit Ozon reagieren als Bromid [3]. Dies wurde im Versuch durch einen größeren Rückgang von Färbung und UV-Absorption der Wässer bestätigt (Ergebnisse nicht abgebildet).

Bei Dosierung von gasförmigem Ozon spielt die Konzentration im Gas eine wichtige Rolle bei der Bromatbildung, wie aus Abbildung 4 hervorgeht. Bei ähnlicher Ozondosis wird bei Einsatz eines höher konzentrierten Gases deutlich mehr Bromat gebildet. Die Erklärung erfolgt auch hier über temporär höhere Ozonkonzentrationen im Wasser. Diese stellen sich durch den verbesserten Stoffübergang zwischen Gas- und Wasserphase bei höherer Gaskonzentration zwangsläufig ein. Diese Effekte wurden ebenfalls bei einer Studie mit Membrankontaktoren zur Ozonung beobachtet [4].

### **Fazit und Ausblick**

Die Bromatbildung bei der Ozonung kann durch Zugabe von  $H_2O_2$ , Säuredosierung, die Erhöhung der Anzahl der Dosierstufen und die Verringerung der Gaskonzentration erreicht werden. Die Chemikaliendosierungen verändern dabei die Reaktivität von Ozon und Hydroxylradikalen, was je nach Behandlungsziel unerwünscht sein kann. Die verfahrenstechnischen Vorschläge der Erhöhung der Anzahl der Dosierstufen und der Verringerung der Ozonkonzentration verändern die Reaktionsmechanismen nicht in dem Ausmaß, sondern führen zu einer stärkeren Selektion der Reaktionspartner von Ozon anhand kinetischer Parameter. Daher können Sie unabhängig vom Behandlungsziel des Wassers als vorteilhaft bezüglich der Bromatbildung angesehen werden. Zur weiteren Erforschung der Ozonung in der Grundwasseraufbereitung wird eine Pilotanlage mit anschließender Biofiltration in einem Grundwasserwerk betrieben. Neben der Bromatbildung liegt der Fokus dabei auf der Transformation natürlicher organischer Substanzen und der Reduktion des durch die Ozonung gebildeten AOC durch Biofiltration. Die Ergebnisse dieses Beitrags werden durch die Pilotversuche validiert. Des Weiteren wird ein kinetisches Modell zur Bromatbildung erstellt, mit dem verfahrenstechnische Simulationen durchgeführt werden können.

### **Danksagung**

Die vorgestellten Ergebnisse wurden im Rahmen des DVGW-Forschungsprojekts *Einsatzmöglichkeiten und Einsatzgrenzen von Verfahren zur Verringerung unerwünschter DOC-Anteile (Entfärbung) in huminstoffreichen Grundwässern (COL\_EX, W201719)* erarbeitet. Wir danken dem DVGW und den beteiligten Wasserversorgungsunternehmen für die Unterstützung.

Tabelle 1: Wasseranalysen

Parameter	Einheit	Wasser A	Wasser B
pH		7,9	8,1
LF	$\mu\text{S/cm}$	447	270
Ks4,3	mmol/l	2,4	2
Br-	mg/l	0,17	0,19
TOC	mg/l	3,5	1,2
SAK254	1/m	15,1	10,1
SAK436	1/m	1,15	1,61

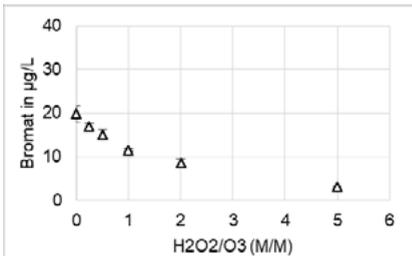
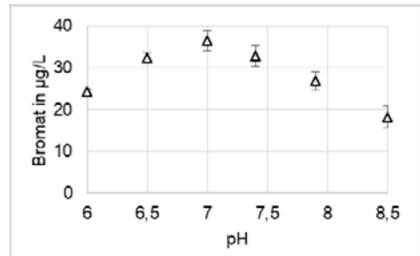
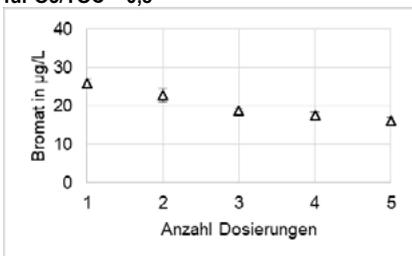
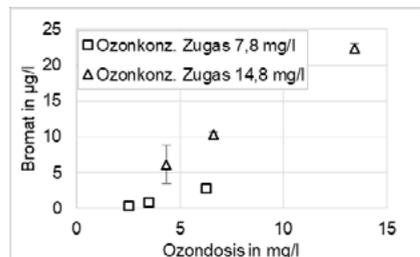
Abbildung 1: Bromatbildung in Wasser A für verschiedene molare Verhältnisse H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> für O<sub>3</sub>/TOC = 0,8Abbildung 2: Bromatbildung in Wasser A bei verschiedenen pH-Werten für O<sub>3</sub>/TOC = 0,8Abbildung 3: Bromatbildung in Wasser A bei schrittweiser Dosierung mit gleicher Gesamtdosis für O<sub>3</sub>/TOC = 0,8

Abbildung 4: Bromatbildung in Wasser B für verschiedene Ozonkonzentrationen im Zugas und verschiedene Ozondosen

## Literatur

[1] U. von Gunten, Water Res. **2003**, **37**, 1469-1487. [2] F. Soltermann, C. Abegglen, M. Tschui, S. Stahel, U. von Gunten, Water Res. **2017**, **116**, 76-85. [3] P. Westerhoff, R. Song, G. Amy, R. Minear, Journal AWWA, **1998**, **90**, no. 2, 82-94. [4] S. K. Stylianou, I. A. : Katsoyiannis, M. Mitrakas, A. I. Zouboulis, J. Hazard. Mater., **2018**, **358**, 129-135.

## Kulturunabhängige Detektion von *Pseudomonas aeruginosa* in Trinkwasser

Klüpfel, J., München/D, Göpfert, L., München/D, Elsner, M., München/D, Seidel, M.,  
München/D

Julia Klüpfel, Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie,  
Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie,  
Technische Universität München, Marchioninistraße 17, D-81377 München

### Einleitung

Immer wieder kommt es zu bakteriellen Verunreinigungen in Trinkwasserleitungen. Diese können eine Gesundheitsgefahr darstellen und führen sowohl zu großer Besorgnis in der Öffentlichkeit als auch zu wirtschaftlichen Problemen, wenn die Ursache nicht zeitnah beseitigt wird. Während *Escherichia coli* und *Enterococcus faecalis* primär durch fäkale Verunreinigungen in Trinkwassersysteme gelangen können, ist *Pseudomonas aeruginosa* als Boden- und Wasserkeim nicht nur darauf zurückzuführen. *P. aeruginosa* kann sich auf nahezu allen feuchten Oberflächen ansiedeln, überlebt auch unter extremen Bedingungen (40 °C, Trinkwasser mit sehr geringer Nährstoffdichte, niedrige pH-Werte), bildet Biofilme und ist als nosokomialer Keim für viele krankenhausaussassoziierte Infektionen verantwortlich. Als sogenannter opportunistischer pathogener Keim ist *P. aeruginosa* besonders für immungeschwächte Personen gefährlich. Da *P. aeruginosa* intrinsisch bereits gegen eine Vielzahl an Antibiotika resistent ist und per horizontalem Gentransfer weitere Resistenzen erwerben kann, wird die Behandlung einer *P. aeruginosa* Infektion zunehmend herausfordernder. Dementsprechend sollten Verunreinigungen von Trinkwasserleitungen mit *P. aeruginosa* möglichst frühzeitig erkannt und bekämpft werden.

Durch das Ausbilden von Biofilmen ist eine Bekämpfung des *P. aeruginosa* in Leitungs- und Verteilsystemen oder anderen Orten jedoch sehr schwierig. Der Einsatz von Bioziden wie die Chlorierung des Wassers führt oft nur kurzfristig zum Erfolg, da die Bakterien in der Lage sind, sich dann oftmals in einen Zustand der Dormanz zu versetzen und das Biozid somit nicht auf den Organismus wirken kann.

Derzeit werden Untersuchungen zur *P. aeruginosa* Belastung mit Hilfe von Kulturmethoden vorgenommen. Dabei liegen zwischen Probenahme und dem Ergebnis, ob und wie viele Keime sich in einem bestimmten Probenvolumen befinden, mindestens 24 Stunden. Da es durch die Biofilmbildung außerdem zu Problemen bei der Kultivierung und des Auszählens kommen kann, ist die Entwicklung schneller, kulturunabhängiger Methoden, welche die Quantifizierung von *P. aeruginosa* aus Trinkwasserproben ermöglichen, unerlässlich. Eine Möglichkeit ist die DNA-basierte Analyse, bei der DNA

aus den Bakterien extrahiert wird, welche im Anschluss quantifiziert werden kann. Die am weitesten verbreitete Methode hierbei ist die quantitative Polymerasekettenreaktion (*Polymerase chain reaction*, PCR). Dabei wird eine für den Organismus spezifisch DNA-Sequenz in Zyklen amplifiziert und die DNA-Menge entweder mithilfe eines DNA-interkalierenden Farbstoffes oder fluoreszenz-markierten DNA-Sonden sichtbar gemacht. Durch eine Kalibrierung kann die Menge an DNA mit der Menge an Bakterien in der ursprünglichen Probe korreliert werden.

Da die Menge der extrahierten DNA stark von der Anzahl der Bakterien in der Probe abhängt, und zu erwarten ist, dass in Trinkwasser nur geringe Bakterienzahlen vorhanden sind, ist eine vorhergehende Konzentration der Bakterien aus großen Volumina notwendig. Hierzu hat sich die monolithische Adsorptionsfiltration bewährt, bei der die Bakterien aufgrund der Wechselwirkungen mit der Oberfläche des Monolithen zurückgehalten werden [1]. Durch die Struktur des Monolithen ist der Gegendruck gering, wodurch auch größere Volumina in kurzer Zeit filtriert werden können. Die Herstellung der epoxid-basierten Monolithen ermöglicht es außerdem, die Oberfläche der monolithischen Adsorptionsfilter (MAF) mit unterschiedlichen Funktionalitäten zu versehen. Nach der Filtration können die Bakterien von der Oberfläche der MAF eluiert werden.

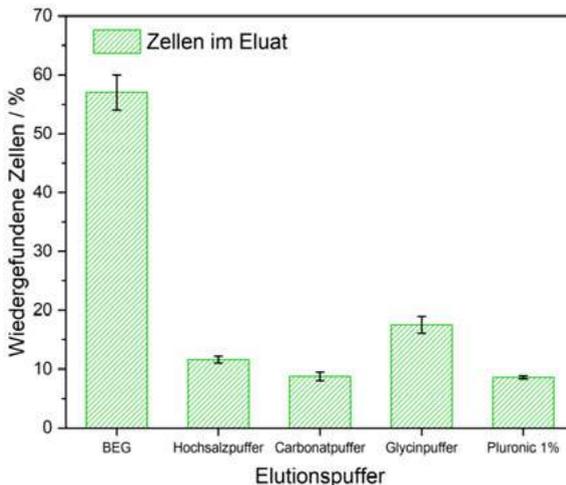
In dieser Studie präsentieren wir die Ergebnisse der Quantifizierung von *P. aeruginosa* aus aufgestockten Trinkwasserproben. Diese wurden durch die Kopplung der monolithischen Adsorptionsfiltration mit zentrifugaler Ultrafiltration und anschließender Quantifizierung der DNA mittels qPCR untersucht.

## Material und Methoden

Die Herstellung der MAFs erfolgte nach einem etablierten Protokoll [2]. Da die Rückhaltefunktion der MAFs stark von der jeweiligen Oberflächenfunktionalisierung abhängt, wurden drei verschiedene Funktionalisierungen getestet: MAF-OH (hergestellt durch Säurefunktionalisierung), MAF-PmB (mit dem Antibiotikum Polymyxin B als Oberflächenmodifikation) und MAF-DEAE (hergestellt durch Funktionalisierung mit Diethylamin) [2, 3]. Vor der Filtration wurden Übernachtskulturen in Flüssigmedium von *P. aeruginosa* angesetzt und die optische Dichte bestimmt, um die Menge an Bakterien für die Filtrationen genau zu bestimmen. Die Durchführung der Filtration erfolgte aus unterschiedlichen Volumina (1 L, 5 L und 10 L) an Trinkwasserproben, versetzt mit definierten Mengen an *P. aeruginosa* ( $10^1$  –  $10^8$  koloniebildende Einheiten (*colony forming units*, CFU) mL<sup>-1</sup>). Es wurden außerdem unterschiedliche pH-Werte der Probe (pH 3 und pH 7) für die Filtration getestet, wobei Salzsäure zur Einstellung des pH-Wertes genutzt wurde. Nach der Filtration wurde mit 20 mL Elutionspuffer eluiert, wobei zur Optimierung unterschiedliche Puffer eingesetzt wurden: Carbonatpuffer (pH 9,6), Hochsalzpuffer (pH 7), Glycinpuffer (pH 9,5), Rinderextrakt Glycinpuffer (*Beef extract glycine*, BEG; pH 9,5) und Pluroniclösung (1 %). Anschließend wurden die Volumina der Eluate mithilfe der zentrifugalen Ultrafiltration auf 1,5 mL reduziert. Aus 1 mL der konzentrierten Eluate wurde DNA extrahiert und anschließend per qPCR quantifiziert.

## Ergebnisse

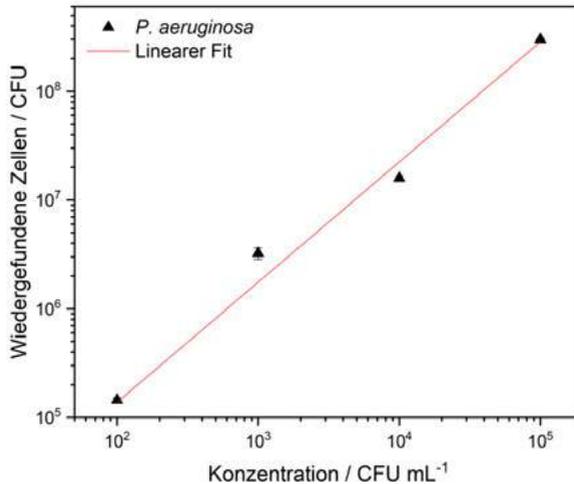
Ausgehend von analogen erfolgreichen Filtrationen mit Legionellen wurde für die Anreicherung von *P. aeruginosa* aus Trinkwasser zunächst folgende Methode getestet: MAF-DEAE mit 1 L Filtrationsvolumen und pH 7. Dies führte jedoch nur zu sehr geringen Mengen an Bakterien im Eluat ( $0,04 \pm 0,01$  % Wiederfindung), sodass andere Elutionspuffer getestet wurden. Hier erwies sich der Hochsalzpuffer als erheblich effektiver, jedoch wurden dennoch nur  $1,66 \pm 0,23$  % der eingesetzten Zellen im Eluat wiedergefunden. Auch eine Erhöhung des Probenvolumens brachte hierbei keine Verbesserung. Da Polymyxin B als Antibiotikum an die äußere Zellwand bindet, wurden anschließend Filtrationen mit MAF-PmB getestet. Hier wurde zunächst der pH-Wert variiert (pH 4 und pH 7), wobei für pH 4 bessere Ergebnisse erzielt wurden ( $4,3 \pm 0,3$  %) als für pH 7 ( $1,7 \pm 0,1$  %). Die erzielten Wiederfindungen mit beiden MAF-Funktionalisierungen entsprachen jedoch nicht den Erwartungen, basierend auf Ergebnissen mit anderen Bakterien (*Escherichia coli*, *Legionella pneumophila*, *Enterococcus faecalis*). Als dritte MAF-Modifikation wurde MAF-OH getestet, zunächst mit 10 L Filtrationsvolumen bei pH 3 und verschiedenen Elutionspuffern (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Wiederfindungen von *P. aeruginosa* nach Filtration von 10 L Proben mit MAF-OH bei pH 3 und unterschiedlichen Elutionspuffern (n = 3).

Hier zeigte sich bei der Elution mit BEG-Puffer deutlich die höchste Wiederfindung ( $57,0 \pm 3,0$  %), sodass für die Optimierung des Filtrationsvolumens und weiteren des pH-Wertes dieser als Elutionspuffer gewählt wurde. Da das Ansäuern der Probe einen zusätzlichen Arbeitsschritt bedeutet, wurde auch eine Filtration bei pH 7 getestet, welche jedoch nicht erfolgreich war. Die Verringerung des Probenvolumens auf 5 L führte zu einer geringeren Standardabweichung im Vergleich zur Filtration mit 10 L, sodass mit

der optimierten Methode (5 L Probenvolumen, MAF-OH, pH 3, Elution mit BEG-Puffer) eine Kalibrierung möglich war (Abbildung 2).



**Abbildung 2:** Linearer Bereich der Kalibrierung, der eine Berechnung der Zellzahl in der Probe ermöglicht (n = 3).

### Zusammenfassung und Ausblick

Das hier vorgestellte Projekt zur kulturunabhängigen Detektion von *P. aeruginosa* ermöglicht es, Trinkwasserproben quantitativ auf Verunreinigungen mit *P. aeruginosa* zu untersuchen. Dabei konnte eine Detektionsgrenze von 10<sup>2</sup> CFU mL<sup>-1</sup> erreicht werden. Eine akute Kontamination des Trinkwassers ist so bereits mit diesem Setup detektierbar. Um die Nachweisgrenze weiter zu erhöhen, ist eine Verbesserung des Filtrationsprozesses oder der DNA-Analysemethode in Betracht zu ziehen. Für Anwendungen im Feld bzw. bei der Errichtung neuer Trinkwasserleitungen auf Baustellen ist eine möglichst gerätearme Umsetzung zwingend erforderlich. Da die qPCR ein PCR-Cycling-Gerät benötigt, können die apparativen Voraussetzungen durch die Anwendung einer isothermalen DNA-Amplifikationsmethode deutlich vereinfacht werden. Das Ziel für weitere Projekte ist deshalb, die hier vorgestellte Filtrationsmethode mit einer isothermalen DNA-Detektion zu verknüpfen. Am Lehrstuhl wurde dazu die Mikroarray-basierte heterogene asymmetrische Rekombinase Polymerase Amplifikation (haRPA) etabliert [4, 5]. Wird die DNA-Extraktion direkt auf den MAF-Disks durchgeführt, könnte zukünftig ein schnelles und einfaches molekularbiologisches Messsystem entstehen, das es ermöglicht schnell und mit geringem Aufwand zum Beispiel Wasserzähler direkt auf *P. aeruginosa* zu untersuchen. Andere Anwendungsbeispiele sind die schnelle Überprüfung an Baustellen, in Trinkwassernetzen oder bei Wasserrohrleitungen in Gebäuden.

## Literatur

- [1] Wunderlich, A., Torggler, C., Elsässer, D., Lück, C., Niessner, R., Seidel, M., Rapid quantification method for *Legionella pneumophila* in surface water, *Anal Bioanal Chem.* **2016**, 408, pp. 2203 – 2213.
- [2] Peskoller, C., Niessner, R., Seidel, M., Development of an epoxy-based monolith used for the affinity capturing of *Escherichia coli* bacteria, *J Chromatogr A.* **2009**, 1216, pp. 3794 – 801.
- [3] Kunze, A., Pei, L., Elsässer, D., Niessner, R., Seidel, M., High performance concentration method for viruses in drinking water, *J Virol Methods.* **2015**, 222, pp. 132 – 137.
- [4] Kunze, A., Dilcher, M., Abd El Wahed, A., Hufert, F., Niessner, R., Seidel, M., On-chip isothermal nucleic acid amplification on flow-based chemiluminescence microarray analysis platform for the detection of viruses and bacteria, *Anal Chem.* **2015**, 88 (1), pp. 898 – 905.
- [5] Kober, C., Niessner, R., Seidel, M., Quantification of viable and non-viable *Legionella* spp. by heterogeneous asymmetric recombinase polymerase amplification (haRPA) on a flow-based chemiluminescence microarray, *Biosens Bioelectron.* **2018**, 100, pp. 49 – 55.

## ***Pseudomonas aeruginosa* – immer wieder Störenfried für die Trinkwasserversorgung**

I. Hübner, Köln/D., M. Kramer, Köln/D., C. Schmidt, Köln/D

Dr. Iris Hübner, RheinEnergie AA, Parkgürtel 24, 50238 Köln/D

### **Pseudomonas aeruginosa kein Problem im Trinkwassernetz**

Obwohl kein Parameter der Trinkwasserverordnung, führt die RheinEnergie AG seit mehr als 20 Jahren Untersuchungen auf *Pseudomonas aeruginosa* zum Schutz besonders sensibler Bevölkerungsgruppen und zur Eigenüberwachung durch. Routinemäßig kontrolliert werden die Übergabestellen nahezu aller Krankenhäuser, privater Kliniken und sonstiger medizinischer Einrichtungen im Versorgungsgebiet der RheinEnergie AG und der BELKAW. Das Monitoringkonzept umfasst 35 speziell eingerichtete Stellen, die einmal monatlich beprobt und untersucht werden. Positive Befunde sind sporadische Ereignisse mit einer Häufigkeit von weniger als insgesamt einem Befund pro Jahr. Die festgestellten Verhältnisse liegen damit noch unter den Ergebnissen einer vom DVGW in den Jahren 2003 und 2004 durchgeführten Umfrage [1], bei der die *P. aeruginosa*-Kontamination in Routinenetzproben bei 0,9 % lag. In der Vergangenheit erwies sich die Dokumentation einer einwandfreien mikrobiologischen Trinkwasserbeschaffenheit speziell an der Übergabe zu medizinischen Einrichtungen öfters als hilfreich, insbesondere wenn *P. aeruginosa*-Belastungen in der Inneninstallation auftraten. Der Verdacht, dass die Kontamination aus dem öffentlichen Netz erfolgte, ließ sich stets schnell ausschließen.

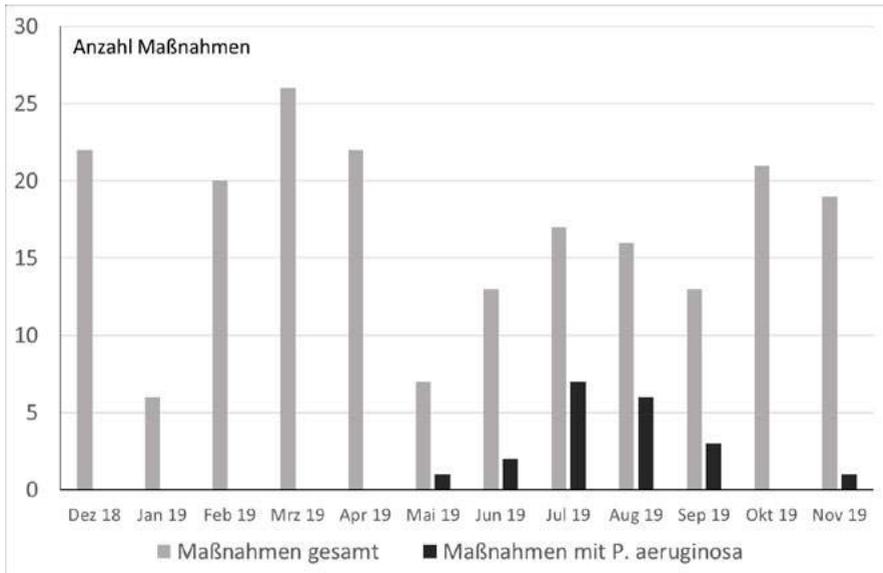
### **Umsetzung der UBA-Empfehlung ab Dezember 2018**

Die in 2017 erschienene UBA-Empfehlung [2] zu erforderlichen Untersuchung auf *P. aeruginosa*, zur Risikoeinschätzung und zu Maßnahmen beim Nachweis in Trinkwasser setzt die RheinEnergie AG seit Dezember 2018 um. Die bis zu diesem Zeitpunkt durchgeführten mikrobiologischen Kontrollen von Neubauleitungen vor der Einbindung, nach Rohrbrüchen und von geplanten Baumaßnahmen am Netz umfassten nur die Parameter der Trinkwasserverordnung Koloniezahlen bei 22 und 36 °C sowie *E. coli* und Coliforme Bakterien. Nach gängiger Praxis erfolgten die Probenahmen für diese Kontrolluntersuchungen an mit Zapfhähnen versehenen Standrohren auf den Unterflurhydranten, über die auch die Spülung erfolgte. Seit Umsetzung der UBA-Empfehlung wurde der Parameterumfang auf *P. aeruginosa* erweitert, die bis dahin bewährte Beprobungsmethode aber nicht geändert.

### **Kontaminierte, zur Probenahme genutzte Hydranten verursachen falsch-positive Befunde**

Die Ergebnisse eines Untersuchungsjahres sind in Abbildung 1 dargestellt. Abgebildet ist die Gesamtanzahl der Maßnahmen im Wasserverteilungssystem pro Monat, d. h. Neubau von Leitungen, Reparaturen nach Rohrbrüchen mit Auswechslung von Bauteilen und geplante Eingriffe im Rohrnetz, sowie die Anzahl dieser Maßnahmen, bei denen in Kontrolluntersuchungen *P. aeruginosa* auftrat. Offensichtlich ist das saisonale Vorkommen von *P. aeruginosa*. In den warmen Monaten sind bis zu 30 % der Maßnahmen betroffen.

Die Ursache für die festgestellten Befunde liegt aber nur zum Teil an einer Verschmutzung neuerrichteter Leitungen oder neu verbauter Armaturen. Tatsächlich weisen die Bestandshydranten häufig eine Belastung mit *P. aeruginosa* auf, wie die weiteren Untersuchungen ergaben.



**Abbildung 1:** Gesamtanzahl der Baumaßnahmen im Wasserverteilungssystem und Anzahl, bei denen *P. aeruginosa* in der Kontrolluntersuchung auftrat. Die vermeintliche Belastung ist häufig auf kontaminierte Probenahmehydranten zurückzuführen.

Bei den meisten Baumaßnahmen verschwand die *P. aeruginosa*-Belastung nach Spülung, in Nachkontrolluntersuchungen war kein Befund mehr feststellbar. In 6 Fällen, in denen Spülmaßnahme aber nicht zum Erfolg führten, wurden die zur Probenahme verwendeten Hydranten durch fabrikneue ersetzt oder alternativ Flansche mit Probenahmeverrichtung eingebaut. Die Proben, die anschließend an den neuen Hydranten oder an den aufgeflanschten Zapfstellen entnommen wurden, waren einwandfrei. Daraus lässt sich schließen, dass die Ursache für die Belastung an den zuvor für die Probenahme genutzten Hydranten lag. Diese ausgebauten Hydranten wurden im Labor demontiert und die verschiedenen Bauteile gezielt mit Abstrichuntersuchungen auf eine *P. aeruginosa*-Biofilmbildung geprüft. Die Untersuchungen zeigten, dass alle Bauteile, d.h. Dichtungen, Innenwände, Spindel, Dichtungskugel, im Innenraum der Hydranten, eine *P. aeruginosa*-Besiedlung aufweisen können. Stichprobenuntersuchungen (n = 5) fabrikneuer Hydranten zeigten bisher keine *P. aeruginosa*-Kontamination. Der Nachweis von *P. aeruginosa*-Biofilmbildung im Innenraum der Unterflurhydranten insbesondere in den warmen Monaten ist nicht überraschend, denn Hydranten sind gegenüber Regenwasser und

Straßenablauf nicht dicht. Ihr Innenraum stellt optimale Lebensbedingungen für *P. aeruginosa* dar, wie sie aus Forschungsvorhaben gut bekannt sind [3].

### **Bewertung und Konsequenzen für die Praxis**

Die Probenahmeproblematik an Bestandshydranten ist nicht neu. Aber die Erkenntnis, dass Bestandshydranten massiv mit *P. aeruginosa*-Biofilmen besiedelt sein können, führte bei der RheinEnergie AG zu einer Änderung der bisherigen Praxis im Rohrnetzneubau. Die Befüllung von Neubauleitungen über Hydranten wird weitgehend vermieden, oder erfolgt erst nach mikrobiologischer Kontrolle des Hydranten. Im Fall einer *P. aeruginosa*-Belastung muss die Befüllung mit anderen Techniken aus der Bestandsleitung durchgeführt werden, um eine Kontamination der neuen Leitung zu verhindern. Bei Beprobungen von Neubauleitungen kann auf die Entnahme an Hydranten nicht immer verzichtet werden. Im Fall von Befunden wird aber versucht, die Beprobung alternativ an einer anderen Probenahmeeinrichtung der Leitung durchzuführen, die sich im günstigsten Fall am Ende der Leitung befindet.

### **Literatur**

- [1] Mikrobiologisch-hygienische Aspekte des Vorkommens von *Pseudomonas aeruginosa* im Trinkwasser. DVGW energie | wasser-praxis **2009, 60 - 66**
- [2] Empfehlung des Umweltbundesamtes: Empfehlung zu erforderlichen Untersuchungen auf *Pseudomonas aeruginosa*, zur Risikoeinschätzung und zu Maßnahmen beim Nachweis im Trinkwasser – Empfehlung nach Anhörung der Trinkwasserkommission, Umweltbundesamt 2017, 1-8
- [3] *Pseudomonas aeruginosa* in Trinkwassersystemen – Wachstumsansprüche und nachhaltige Gegenmaßnahmen. Abschlussbericht TZW Technologiezentrum Wasser Karlsruhe DVGW-Förderkennzeichen W6-02-09 + W6-02-09-ERW **31.7.2014**

## Impressum

Wasserchemische Gesellschaft –  
Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V.  
IWW Zentrum Wasser  
Moritzstraße 26  
45476 Mülheim an der Ruhr

Das vorliegende Werk wurde sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Autoren und Herausgeber für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen sowie für eventuelle Druckfehler keine Haftung.

### Kurzreferate zur Wasser 2020

Wasser 2020 – Wasserchemische Gesellschaft – Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker

© Wasserchemische Gesellschaft - Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V., IWW Zentrum Wasser, Moritzstrasse 26, 45476 Mülheim an der Ruhr (Federal Republic of Germany), 2020

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in andere Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieses Mediums (Buches) darf ohne schriftliche Genehmigung des Herausgebers in irgendeiner Form - durch Fotokopie, Mikroverfilmung oder irgendein anderes Verfahren - reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen, verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden. Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen, Handelsnamen oder sonstigen Kennzeichen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, dass diese von jedermann frei benutzt werden dürfen. Vielmehr kann es sich auch dann um eingetragene Warenzeichen oder sonstige gesetzlich geschützte Kennzeichen handeln, wenn sie nicht eigens als solche markiert sind.

All rights reserved (including those of translation into other languages). No part of this media (book) may be reproduced in any form - by photoprinting, microfilm, or any other means - nor transmitted or translated into a machine language without written permission from the publisher. Registered names, trademarks, etc. used in this book, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

Bildnachweis: Wasserchemische Gesellschaft

Herstellung: jva druck + medien, Geldern

Stand: Juli 2020/TG