Schlussbericht

der Forschungsstelle(n)

Nr. 1 Universität Duisburg - Essen (UDE)

Nr. 2 Institut für Energie und Umwelttechnik e. V. (IUTA)

zu dem über die



im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF)

> vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

> > geförderten Vorhaben 16369N

Untersuchungen zur Entfernung organischer Spurenstoffe aus Abwasser durch den Einsatz von Plasmaverfahren (elektrische Entladungen)

(Bewilligungszeitraum: 01.02.2010 - 31.12.2012)

der AiF-Forschungsvereinigung

Umwelttechnik

Universität Duisburg-Essen Prof. Dr. T.C. Schmidt

Fakultät für Chemie

Instrumentelle Analytische Chemie Universitätsstr. 5

45141 Essen

Essen, 28.03.13

PD Dr. Ursula Telgheder

Duisburg, 28.03.13

Ort, Datum

Dr. Jochen Türk

Name und Unterschrift des/der Projektleiter(s) an der/den Forschungsstelle(n)

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages

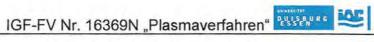






Inhaltsverzeichnis

1.	Zus	sammenfassung	8
2.		ssenschaftlich-technischer und wirtschaftlicher Nutzen der erzielten ebnisse	9
	2.1.	Aufbau des Plasmareaktors	.11
	2.2.	Substanzauswahl und Optimierung der analytischen Methoden	.13
	2.3.	Optimierung der analytischen Methoden	.13
	2.4.	Test der Versuchsapparatur und Charakterisierung des Plasmas	.16
	2.5.	Produktbildung und Abbaukinetik bei der Umsetzung von Modellsubstanzen im Plasma	.17
	2.6.	Charakterisierung des Plasmas mit realen nativen und dotierten Abwassermatrices und Optimierung der Betriebsbedingungen	.21
	2.7.	Behandlung von realen Abwässern im Plasma und Bestimmung von Abbaueffizienzen und Toxizitäten	.23
	2.7	.1. MTT Test	23
	2.7	.2. Alkaline Comet Assay	24
	2.7	.3. ER Calux	25
	2.7	.4. Bestimmung der Abbaueffizienzen mittels instrumenteller Analytik	27
	2.8.	Wirtschaftlichkeitsberechnungen	.28
3.		schätzung zur Realisierbarkeit des vorgeschlagenen und ualisierten Transferkonzepts	.30
	3.1.	Zusammenfassende Bewertung der Ergebnisse	.30
4.	Nu	rstellung des wissenschaftlich-technischen und wirtschaftlichen tzens der erzielten Ergebnisse insbesondere für KMU sowie ihren ovativen Beitrag und ihre industriellen Anwendungsmöglichkeiten	.33
5.		sammenstellung aller Arbeiten, die im Zusammenhang mit dem IGF- rhaben veröffentlicht wurden.	
	5.1.	Veröffentlichungen	.34
	5.2.	Vorträge und Poster	.34
	5.3.	Wissenschaftliche Abschlussarbeiten	.35
	5.4.	Angaben über gewerbliche Schutzrechte, sofern sie erworben wurden, oder ihre Anmeldung beabsichtigt ist	.35
	5.5.	Einschätzung der Realisierbarkeit des vorgeschlagenen und ggf. aktualisierten Transferkonzepts	.35









	5.6. Pro	ojektbearbeiter und Autoren des Abschlussberichts	38
	5.6.1.	Projektbearbeiter	38
	5.6.2.	Autoren des Abschlussberichtes	38
6.	Literat	ur	39
7.	Anhan	ıg	41







Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Seitenansicht des Hochspannungs-Plasmareaktors [xc = 20 cm, yc =
	10 cm, zc = 4 cm; Elektrodendimensionen: xe = 10 cm, ye = 5 cm,
	ze = 0,5 cm. Eine Elektrode ist mit Al2O3 beschichtet]
	Einzelpulses12
Abbildung 3	Koronaentladungen bei unterschiedlichen Leitfähigkeiten
	SIM-Chromatogramm von Bisphenol A und 17-α-Ethinylestradiol
Abbildarig 1.	(c=900 ng/mL der optimierten GC-MS Methode14
Abbildung 5:	Beispiel LC-MS/MS Chromatogramm zur Bestimmung von sieben
	Perfluoroalkansäuren und drei Perfluorosulfonaten. Konzentration
	der Substanzen im Standard 50 ng/mL15
Abbildung 6:	Spektrale Aufnahme von den in der koronaähnlichen Entladung
	gebildeten reaktiven Spezies mittels einer ICCD-Kamera in
	Kombination mit einem Spektrographen16
Abbildung 7:	Abbau von Diclofenac (c0 = 1mg/L) (Plasmaanlage Energie: 0.4
	kWh, Spannung: 35 kV, Frequenz: 40 Hz, Behandlungsdauer: 4
	Stunden)17
Abbildung 8:	Abbau von lopamidol, c0 = 1mg/L (Plasmaanlage Energie: 0,4 kWh,
	Spannung: 35 kV, Frequenz: 40 Hz, Behandlungsdauer: 4 Stunden)18
Abbildung 9:	Abbauraten von ausgewählten organischen Substanzen im
	Reinstwasser; Leitfähigkeit: 2 mS/cm (Na2SO4); U = 30 kV;
	Pulswiederholrate: 10 Hz; a) Batchbetrieb V = 30 mL); b)
	Durchflussbetrieb V = 250 mL20
Abbildung 10	: Untersuchungsergebnisse ausgewählter Wasserproben vor und
	nach der Plasmabehandlung22
Abbildung 11	: MTT Test an CHO Zellen; Bezeichnung der Proben vom Zulauf zur
	Ozonung der Kläranlage Duisburg-Vierlinden: Native Probe
	(M121210/29), Abwasserprobe nach Dotierung mit
	Modellsubstanzen (M121210/30 und M121210/32), dotierte
	Abwasserprobe nach Plasmabehandlung (M121210/31 und
	M121210/32)24
Abbildung 12	: Keine Gentoxiziät der untersuchten Wasserproben; *** hoch
	signifikant; Bezeichnung der Proben vom Zulauf zur Ozonung der
	Kläranlage Duisburg-Vierlinden: Native Probe (M121210/29),
	Abwasserprobe nach Dotierung mit Modellsubstanzen
	(M121210/30 und M121210/32), dotierte Abwasserprobe nach
	Plasmabehandlung (M121210/31 und M121210/32)25

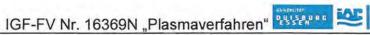








Abbildung 13:	MTT Test an T47D Zellen, erste Probenserie; Bezeichnung der	
	Proben vom Zulauf zur Ozonung der Kläranlage Duisburg-	
	Vierlinden: Native Probe (M121210/29), Abwasserprobe nach	
	Dotierung mit Modellsubstanzen (M121210/30 und M121210/32),	
	dotierte Abwasserprobe nach Plasmabehandlung (M121210/31 und	
	M121210/33)	.26
Abbildung 14:	Relativer Abbau von ausgewählten Mikroverunreinigungen durch die Behandlung des Kläranlagenablaufes aus Duisburg-Vierlinden	
	im Plasmareaktor.	.28
Abbildung 15:	Vergleich von AOP-Studien	.29
Abbildung 16:	Alkaline Comet Assay a) ungeschädigte DNA, b) geschädigte DNA.	.48







Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Abbau von ausgewählten organischen Substanzen mittels	
koronaähnlicher Entladungen	19
Tabelle 2: Abbauraten und Anfangskonzentrationen der ausgewählten Substanz	zen21
Tabelle 3: Estradiol Equivalente der ersten Probenserie; Bezeichnung der Probenserie	en
vom Zulauf zur Ozonung der Kläranlage Duisburg-Vierlinden: Native	
Probe (M121210/29), Abwasserprobe nach Dotierung mit	
Modellsubstanzen (M121210/30), dotierte Abwasserprobe nach	
Plasmabehandlung (M121210/31 und M121210/33)	26
Tabelle 4: Estradiol Equivalente (EEQ) der untersuchten Abwasserproben	27
Tabelle 6: Aufstellung der geplanten und durchgeführten Arbeitsschritte	30
Tabelle 7: Plan der bereits umgesetzten Maßnahmen zum Ergebnistransfer in d	lie
Wirtschaft	36
Tabelle 8: Geplante Maßnahmen zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft	37
Tabelle 9: Übersicht PFC-Methode (*Wiederfindung in % über das	
Gesamtverfahren mit 100 mL Probevolumen; * NWG und BG	
Messwertangabe)	42
Tabelle 10: GC-MS-Parameter Hormonmethode	43
Tabelle 11: Massenspuren der GC-MS Hormonmethode	44
Tabelle 12: Lösungsmittelgradient	45
Tabelle 13: MRM-Übergänge für ausgewählte Modellpharmaka, negativ und	
positiv ionisiert	45
Tabelle 14: Gradient der mobilen Phase (RKM)	46
Tabelle 15: Massenübergänge und MS-Einstellungen (RKM)	47
Tabelle 16: Zytotoxizitätsskala (DIN EN ISO 10993-5)	48
Tabelle 17: Signifikanz der DNA Schädigung	49







Abkürzungsverzeichnis

BG Bestimmungsgrenze

BSTFA Bis-trimethylsilyltrifluoroacetamid

°C **Grad Celsius**

Chinese Hamster Ovary CHO

CO2 Kohlenstoffdioxid

DIN Deutsches Institut für Normung DMEM F12 Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO Dimethylsulfoxid

DNA Desoxyribonukleinsäure

DPBS Dulbecco's Phosphate Buffered Saline

EEQ Estradiol Equivalente EE2 17α-Ethinylestradiol ENU N-ethyl-N-nitrosourea

ERE Estrogen Responsive Element

GC Gaschromatografie

HPLC High pressure liquid chromatography **IUTA** Institut für Energie- und Umwelttechnik

LC Liquid chromatography

L.M.P. low melting point mA Milliampere

mL Milliliter

MRM Multiple-Reaction-Monitoring

MS Massenspektrometrie

MS/MS Tandemmassenspektrometrie

MTT 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid

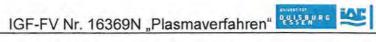
MW Mittelwert

m/zMasse-zu-Ladungsverhältnis

Nanometer nm

NWG Nachweisgrenze nicht nachgewiesen n.n. **OTM** Olive Tail Moment

PFBA Perfluoro-n-butansäure **PFBS** Perfluoro-1-butansulfonat **PFC** Perfuorierte Chemikalie **PFDA** Perfluoro-n-dekansäure **PFHpA** Perfluoro-n-heptansäure **PFHxA** Perfluoro-n-hexansäure **PFHxS** Perfluoro-1-hexansulfonat **PFOA** Perfluoro-n-okansäure **PFNA** Perfluoro-n-nonansäure **PFPeA** Perfluoro-n-pentansäure **PFOS** Perfluoro-1-oktansulfonat









Quadrupol Q Q1 Quadrupol 1 Q3 Quadrupol 3

QqQ Tripelquadrupolmassenspektrometer

SA Standardabweichung SEM Standard Error of Mean SIM Single ion monitoring SPE Solid phase extraction STABW Standardabweichung **TMCS** Trimethylchlorsilan

T47D humane Brustadenokarzinom Zellen

UDE Universität Duisburg-Essen UQN Umweltqualitätsnormen WDF Wiederfindungsrate WRRL Wasserrahmenrichtline

Mikroliter μL







1. Zusammenfassung

Oxidationsverfahren wie ozonbasierte Prozesse (z. B. konventionelle Ozonung, Peroxonprozess oder UV-basierte Prozesse stellen ein wirkungsvolles Instrument zur Transformation von Spurenschadstoffen in der Wasseraufbereitung dar.

Bestimmte Schadstoffe wie z. B. perfluorierte Tenside werden unter den üblichen Prozessbedingungen konventioneller Oxidationsverfahren jedoch kaum abgebaut. Eine neue Technik mit möglicherweise erheblichem Potential beruht auf der Anwendung von Plasmen in der wässrigen Phase. Zu deren Untersuchung wurde ein Plasmareaktor mit einem System zur Quantifizierung reaktiver Spezies etabliert. Im Laufe der Arbeiten stellte sich heraus, dass mit dem ursprünglich vorgesehenen Generator der Fa. Siemens aufgrund der fest vorgegebenen Spannung der Leitfähigkeitsbereich der zu behandelnden Wässer stark eingeschränkt ist. Für die Abbauversuche mit den Standardlösungen und realen Proben wurde daher ein neu entwickelter Generator der Fa. Puls- und Plasmatechnik mit variabel einstellbarer Spannung verwendet. Die angelegten Spannungen sind in einem Bereich von 0-50 kV mit einer Pulsanstiegszeit von ca. 250 ns frei wählbar. Zur spektroskopischen Charakterisierung der Koronaentladungen wurde eine modifizierte Reaktorzelle aus Quarz angefertigt. In diesen Messungen konnten die im Plasma durch homolytische Wasserspaltung generierten reaktiven Spezies nachgewiesen werden. Weiterhin wurden unterschiedliche Elektrodenmaterialien untersucht. Die Art der Herstellung der Elektrodenbeschichtung hat nicht nur einen starken Einfluss auf die mechanische und chemische Beständigkeit des Materials, sondern auch auf die Generierung der Koronaentladungen und somit auf die Abbaurate der organischen Spurenstoffe. Die Optimierung des gesamten Plasmareaktors gestaltete sich somit erheblich zeitintensiver als geplant. Experimentelle Parameter wie Leitfähigkeit und pH-Wert der behandelten Wässer sowie Elektrodenabstände, Generatorfrequenz wurden im Hinblick auf einen größtmöglichen Abbau ausgewählter Substanzen optimiert.

Die Kinetik des Abbaus von Modellsubstanzen (Carbamazepin, Diclofenac, Bisphenol A, Metoprolol) wurde untersucht. Diese konnten in Reinstwasser gut abgebaut werden.

Erste Studien zu Einflüssen der Matrixbestandteile auf die Nebenproduktbildung bezüglich AOX sind durchgeführt worden. Unter den eingestellten Reaktorbedingungen konnte keine signifikante Nebenproduktbildung beobachtet werden.

Reale Abwasserproben aus dem Marienhospital in Gelsenkirchen, der Kläranlagen Duisburg - Vierlinden und Bad Sassendorf wurden in dem verbesserten Plasmareaktor behandelt. Die Matrixbestandteile störten dabei deutlich den Substanzabbau.

Unter Berücksichtigung der energetischen Bilanzierung erscheint eine Anwendung der dielektrischen Entladung unter Wasser nur für den Abbau von ozonrefraktären Spurenstoffen in kleinen Volumina, wie z. B. Membrankonzentraten sinnvoll. Hierfür sind Arbeiten zur Reduzierung der Störeinflüsse nach Projektende nötig. Die Projektziele wurden somit nur teilweise erreicht.







2. Wissenschaftlich-technischer und wirtschaftlicher Nutzen der erzielten Ergebnisse

Die Liste prioritärer Stoffe, die in europäischen Oberflächengewässern aufgrund ihrer Persistenz, Bioakkumulation und toxikologischen Eigenschaften überwacht werden müssen, soll auf Vorschlag der Europäischen Kommission erweitert werden¹. Nachdem zuvor bereits vorgeschlagene Grenzwerte für Arzneimittelwirkstoffe in der letzten Revision der neuen Oberflächengewässerverordnung 2011 mit Verweis auf die europäische Wasserrahmenrichtline (WRRL) herausgefallen sind, hat die Europäische Kommission am 31.01.2012 nun erstmalig Umweltqualitätsnormen (UQN) u.a. für das Kontrazeptivum 17α-Ethinylestradiol (EE2), sowie das Antiepileptikum Carbamazepin und das Analgetikum Diclofenac vorgeschlagen¹. Die Entwicklung von technischen Verfahren zur Reduktion von prioritären Stoffen nimmt folglich seit Jahren an Bedeutung zu. Die Substanzen gelangen auf verschiedenen Wegen in Oberflächengewässer und von dort bis in die Trinkwasseraufbereitung. Haupteintragspfade sind kommunale Kläranlagen, die mit der üblicherweise eingesetzten Technik nicht in der Lage sind, die aus Industrieeinleitern, Krankenhäusern und Privathaushalten stammenden Stoffe zu eliminieren. Die Umsetzung der europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) erfordert die Optimierung der heutigen Kläranlagentechnik und Ausstattung der über 6000 kommunalen und industriellen Kläranlagen mit zusätzlichen Behandlungsstufen zur Gewährleistung der Grundforderung nach einem guten ökologischen und chemischen Zustand der Gewässer bis zum Jahr 2020. Obwohl die in Oberflächengewässern und Trinkwasser gefundenen Konzentrationen an Spurenschadstoffen zumeist noch als unbedenklich gelten, werden insbesondere in Regionen mit einer hohen Bevölkerungsdichte und der Trinkwassergewinnung aus Oberflächengewässern (z. B. in Berlin und dem Ruhrgebiet) immer höhere Anforderungen an die Abwasserqualität und vor-Ort-Abwasseraufbereitung bei Indirekteinleitern gestellt.

Aus diesem Grund haben sich in den letzten Jahren viele Arbeitsgruppen mit Verfahren und Konzepten zur weiterführenden Abwasserbehandlung beschäftigt. Neben der Sammlung und direkten Behandlung am Eintragsort (z. B. bei Industrie- und Krankenhausabwässern) gilt die Ozonierung von Abwasser als besonders aussichtsreich, da sich die meisten - aber nicht alle - organischen Kontaminationen mit diesem Verfahren entfernen lassen. Um die restlichen Stoffe zu eliminieren, werden sog. AOPs (Advanced Oxidation Processes) vorgeschlagen. Durch den kombinierten Einsatz von Ozon mit Wasserstoffperoxid (Peroxon-Prozess), Ozon mit UV-Strahlung oder mit Hilfe des Fenton-Prozesses werden viele Spurenstoffe durch die erzeugten OH-Radikale zerstört. Da bei dem gewünschten oxidativen Substanzabbau verfahrensbedingt immer Transformationsprodukte entstehen, ist es wichtig zu zeigen, dass mit dem Substanzabbau auch die Reduzierung der ökotoxikologischen Eigenschaften einhergeht.







Die Untersuchung zur Bildung toxikologisch bedenklicher Stoffe bei der oxidativen Behandlung war bereits Gegenstand des IGF-Forschungsvorhabens "Oxidationsnebenprodukte"². Die hier gewonnenen Erkenntnisse wurden auch zur Charakterisierung des Abbauerfolgs für das Plasmaverfahren eingesetzt. Neben der Abbaueffizienz und der sicheren Anwendung ist bei AOPs häufig der Energieverbrauch von entscheidender Bedeutung für die Wirtschaftlichkeit des Verfahrens.

Ein anderer Lösungsansatz ist die Adsorption der Schadstoffe an Aktivkohle. Dieses prinzipiell etablierte Verfahren hat jedoch den Nachteil der reinen Verlagerung der Schadstoffe. Zudem ist es verhältnismäßig teuer und es können Probleme mit Durchbruchsphänomen und Verblockung auftreten.

Aus dem Bereich der Membranverfahren ist für größere Moleküle die Nanofltration, für kleinere Stoffe wie z.B. Diclofenac und Carbamazepin nur die Umkehrosmose geeignet. Aufgrund der hohen Volumenströme, erwarteten Zusatzkosten von über 0.50 €/m3 und der ungelösten Frage zur Entsorgung des Konzentrates ist diese allerdings nicht für den Einsatz in Kläranlagen geeignet.

In diesem Forschungsprojekt sollte eine neue innovative Technologie auf ihre Einsatzmöglichkeit und Wirtschaftlichkeit hin untersucht werden. Seit wenigen Jahren wird der Einsatz von Plasmen bei der Wasserbehandlung beschrieben. Das Plasma wird durch elektrische Entladungen direkt im Wasser erzeugt. Es handelt sich um ein nicht-thermisches Plasma, das zur Bildung reaktiver Spezies wie OH-Radikalen, Wasserstoffperoxid und Ozon direkt im Wasser führt. Neben diesen nachgewiesenen bedeutenden Plasmaprodukten werden in der Lösung weitere Radikale gebildet, die nicht nur oxidierenden Charakter haben, sondern auch reduzierend wirken. Weiterhin treten hydratisierte Elektronen auf, die bei anderen AOPs nicht gebildet werden und ebenfalls auf bestimmte Substanzgruppen einwirken können. Die Summe aller reaktiven Plasmaprodukte führt zu einem Abbau der im Wasser gelösten organischen Spurenstoffe. Der größte Vorteil des Verfahrens ist die gleichzeitige in situ Bildung einer Vielzahl chemischer Reaktionspartner ohne den Einsatz von gasförmigem Ozon oder anderen Chemikalien. Da die zugeführte Energie direkt der Reaktionslösung (Abwasser) zur Verfügung gestellt wird und das Verfahren ohne mechanisch bewegte Komponenten auskommt, ist zu erwarten, dass der Energieverbrauch insgesamt niedriger liegt als bei anderen Verfahren der Wasserbehandlung. Die sicherheitstechnischen Aufwendungen wie bei der Ozonierung fallen ebenfalls weg.







2.1. Aufbau des Plasmareaktors

Die erforderliche Apparatur besteht aus dem Plasmareaktor, dem Pulsgenerator und der Steuerelektronik sowie einer Anordnung von Behältern und Pumpen zur Erzeugung der Flüssigkeitsströme und den analytischen Messsystemen (siehe Abb. 1a). Als Plasmareaktor werden zwei Edelstahlplatten (50 x 100 x 5 mm) bezeichnet, von denen die Kathode mit einer 500 μm α-Al₂O₃ beschichtet ist. Die wurde mittels Sintertechnik hergestellt. Die Elektroden werden parallel in einem Abstand von 3 mm in einem Halter aus Polymethylmethacrylat (PMMA) angeordnet. Die genauen Dimensionen der Reaktorzelle sind in Abbildung 2a dargestellt. Die Anlage wurde ausgehend von Hartmann et. al. 20093 modifiziert und aufgebaut.

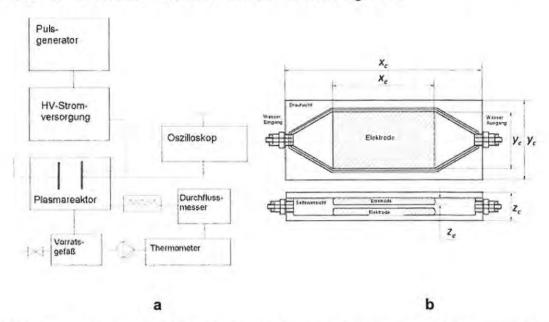


Abbildung 1: Plasmaanlage (a) schematische Darstellung, (b) Drauf- und Seitenansicht des Hochspannungs-Plasmareaktors [xc = 20 cm, yc = 10 cm, zc = 4 cm; Elektrodendimensionen: xe = 10 cm, ye = 5 cm, ze = 0,5 cm. Eine Elektrode ist mit Al_2O_3 beschichtet].

Da sich die Art der Beschichtung als sehr viel bedeutsamer als bisher bekannt herausstellte, wurde die mechanische und chemische Beständigkeit verschiedener Aluminiumoxid-Beschichtungen intensiver als geplant untersucht.

Über die Bestimmung der Ausbeute von OH-Radikalen konnte die Güte der Beschichtung zusätzlich bestimmt werden.

Wasserstoffperoxid, das durch Reaktion von zwei OH-Radikalen erzeugt wird, konnte UV/VIS-spektroskopisch mit der KI-Methode bestimmt werden⁴. Mit zunehmender Porosität der Beschichtung nimmt die Intensität der koronaähnlichen Entladungen ab. Die Menge an gebildetem Wasserstoffperoxid in der wässrigen Lösung ist trotzdem deutlich höher. Es muss somit eine zusätzliche Quelle für die Erzeugung von OH-Radikalen existieren. Dabei kann es sich nur um die bei elektrischen Entladun-







gen im Wasser unvermeidbare Elektrolyse handeln, die besonders bei der Verwendung von porösen Schichten begünstigt wird. Es wurde zwar versucht den bei der Elektrolyse freigesetzten Sauerstoff und Wasserstoff mittels eines elektrochemischen Sensors online zu messen, allerdings erwies sich dies im realisierten Aufbau bisher als unmöglich. Der Sensor wurde durch die von dem Plasmagenerator ausgesandten elektrischen Störungen in seiner Funktion zu stark beeinträchtigt.

Der Hochspannungspulsgenerator der Firma Siemens konnte nur mit einer festen Spannung betrieben werden. Aus diesem Grund war nur eine leichte Variation der Leitfähigkeit der Lösung (200-700 µS/cm) einstellbar, was eine starke Einschränkung für die Versuche darstellte. Deshalb wurde von der Firma PPT, Dortmund, ein neuer HV-Generator entwickelt und gefertigt. Die angelegten Spannungen sind in einem Bereich von 0-50 kV frei wählbar mit einer Pulsanstiegszeit von ca. 250 ns. Zusätzlich wurde in den mechanischen Werkstätten der Hochschule eine modifizierte Reaktorzelle angefertigt (siehe Abbildung 2).

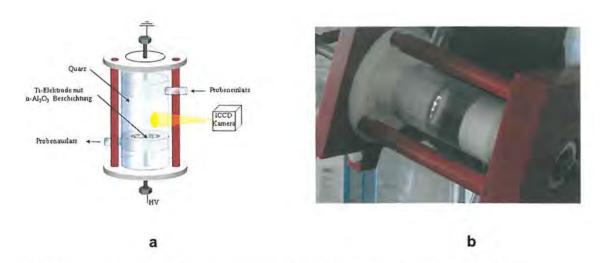


Abbildung 2: modifizierte Plasmareaktorzelle (a) schematische Darstellung (b) CCD-Kameraufnahme von einer Koronaentladung eines Einzelpulses.

Mit der modifizierten Reaktorzelle (siehe Abb.2a) können beliebige Elektrodenabstände (3 mm - 150 mm) eingestellt werden. Die Verwendung von Quarz erlaubt die Plasmabeobachtung mithilfe der ICCD-Kamera bis in den UV-Bereich (200 nm). In Abbildung 2b ist eine typische elektrische Entladung eines Einzelpulses zu sehen. Mit einem Elektrodenabstand von ca. 10 cm finden zeitgleich ca. 5 koronaähnliche Entladungen statt.

Im Laufe des Projektes wurde deutlich, dass die Geometrie und das Material der beschichteten Elektroden einen wesentlich größeren Einfluss auf die Generierung der Koronaentladungen und somit auf die Bildung reaktiver Spezies haben als bei der Planung des Projektes angenommen wurde. Einen ebenso großen Einfluss auf die







Plasmagenerierung hat die Leitfähigkeit der zu behandelnden Lösung. Bei 100 µS/cm entstehen nur einzelne Koronaentladungen. Mit Zunahme der Leitfähigkeit steigt die Anzahl der Verzweigungen. Gleichzeitig nimmt die Länge der Entladungskanäle ab. (Abb. 3)

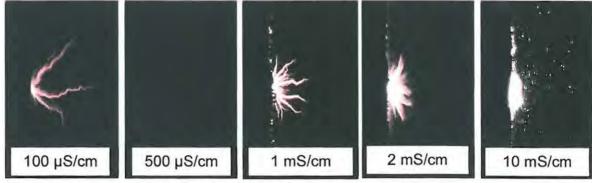


Abbildung 3: Koronaentladungen bei unterschiedlichen Leitfähigkeiten

Da diese Ergebnisse aber für das Verständnis der Plasmaprozesse unerlässlich sind, gestalteten sich die Arbeiten zu diesem Arbeitspaket weitaus zeitintensiver als ursprünglich vorgesehen⁴.

2.2. Substanzauswahl und Optimierung der analytischen Methoden

Aufgrund der Erkenntnisse aus vorangegangenen Forschungsvorhaben und der aktuellen Literatur wurden in Zusammenarbeit mit dem projektbegleitenden Ausschuss (PA) folgende Modellsubstanzen priorisiert und für die systematische Evaluierung des Plasmaverfahrens ausgewählt:

Bisphenol A (östrogenaktive Industriechemikalie) Diclofenac (Analgetikum), Carbamazepin (Antiepileptikum), lopamidol (Röntgenkontrastmittel), Metoprolol (β-Blocker), 17-α-Ethinylestradiol (Hormon), Perfluoroorganische Verbindungen

2.3. Optimierung der analytischen Methoden

Die sehr geringen Konzentrationen der zu untersuchenden Modellsubstanzen in realen Abwasserproben und die teilweise hohen Salzgehalte bei den Versuchen zur Charakterisierung des Plasmareaktors erforderte die Entwicklung und Optimierung der massenspektrometrischen Messmethoden auf Basis der Gas- und Flüssigkeitchromatografie (GC-MS und LC-MS/MS) für die instrumentelle Vergleichsanalytik. Aufbauend auf den analytischen Methoden aus dem IGF-FV Nr. 15862 "Oxidationsnebenprodukte" und IGF-FV Nr. 16145 BG "EPASGO" wurden diese an die Matrix adaptiert und evaluiert^{2,5}. Zusätzlich wurde für die Gruppe der perfluorierten Verbin-







dungen eine Methode zur Probenvorbereitung und Messung mittels LC-MS/MS entwickelt und getestet. Die Details zu den Analysenmethoden sind im Anhang kurz beschrieben. Die Abwasserproben wurden freundlicherweise von den Wirtschaftsbetrieben Duisburg und der Emschergenossenschaft/Lippeverband zur Verfügung gestellt.

Für die Gruppe der flüchtigen Substanzen, wie z. B. die östrogenaktive Industriechemikalie Bisphenol A und Hormone oder die Flammschutzmittel, wurden zur GC-MS Messmethodenentwicklung zunächst alle Analyten einzeln als gelöste Reinstoffe injiziert, um die Masse-zu-Ladungsverhältnisse (m/z) der Vorläuferionen und die individuellen Retentionszeiten zu bestimmen. Anschließend wurden alle Analyten als Gemisch analysiert, um die chromatographische Trennung zu beurteilen und optimieren zu können. Dazu wurden verschiedene Temperaturprogramme des GC-Ofens getestet und der Temperaturgradient mit der besten Trennleistung ausgewählt. Anschließend erfolgte die Erstellung einer Einzelionenspur (SIM) Methode, bei der nur die relevanten Massenspuren aufgezeichnet wurden, wodurch sich die Empfindlichkeit der Methodik deutlich steigern ließ. Abbildung 4 zeigt beispielhaft ein Chromatogramm der Referenzsubstanzen von Bisphenol A und 17-α-Ethinylestradiol nach Derivatisierung mit Bis-trimethylsilyltrifluoroacetamid (BSTFA) und Trimethylchlorsilan (TMCS) mit den angepassten Einstellungen des GC-MS Systems als SIM Methode.

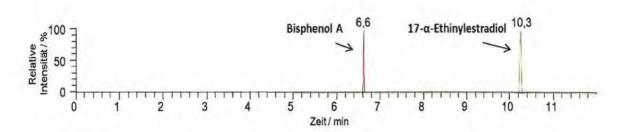


Abbildung 4: SIM-Chromatogramm von Bisphenol A und 17-α-Ethinylestradiol (c=900 ng/mL der optimierten GC-MS Methode.

Zur Bestimmung der weiteren Modellsubstanzen aus der Gruppe der Pharmazeutika wie z. B. dem Analgetikum Diclofenac, dem Antiepileptiukm Carbamazepin oder, dem Röntgenkontrastmittel lopamidol, wurden die LC-MS/MS Messmethoden an die Matrix angepasst. Die Methode zur Untersuchung der perfluorierten Verbindungen (PFC) wie z. B. Perfluoroctansäure (PFOA) oder Perfluoroctansulfonat (PFOS) wurde in Anlehnung an DIN 38407-42 entwickelt und evaluiert.

Für die generelle Methodenentwicklung bei der LC-MS/MS wurden die Analyten als Reinsubstanzen injiziert, um so die besten Einstellungen der Parameter des Triplequadrupol-Massenspektrometers (QqQ) für eine maximale Sensitivität und Selektivität der Messmethode bestimmen zu können. Zur Evaluierung der besten chromatographischen Trennung wurden verschiedene neue Säulenmaterialen getestet.







Hierbei wurden neben sub-2µ-Materialien auch neue Fused-core-Trennphasen untersucht. Für die LC-MS/MS Multimethode zur Bestimmung der PFC zeigte die Macherey Nagel Nucleodur Sphinx Trennsäule die beste Trennleistung. Die Abbildung 5 zeigt beispielhaft ein Chromatogramm zur Bestimmung der perfluorierten Verbindungen. Diese PFC-Multimethode wurde auch zur Untersuchung von Blindwerten aus dem mit PTFE-beschichteten neuen Plasmareaktor eingesetzt.

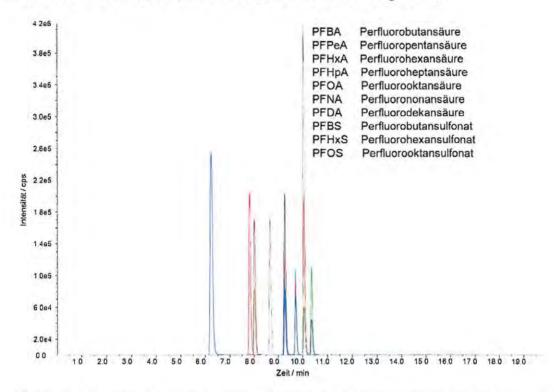


Abbildung 5: Beispiel LC-MS/MS Chromatogramm zur Bestimmung von sieben Perfluoroalkansäuren und drei Perfluorosulfonaten. Konzentration der Substanzen im Standard 50 ng/mL.

Bei der Charakterisierung des Plasmareaktors wurden Versuche mit sehr unterschiedlichen pH-Werten und hohen Salzgehalten durchgeführt. Dabei traten erhebliche Matrixeffekte auf, die die Analytik deutlich erschwerten. Da die zur Erhöhung der Leitfähigkeit verwendeten Salze nicht flüchtig waren, führte dies zu starken Verschmutzungen an der Ionenquelle. Für die weiteren Versuche mit dem Plasmareaktor wurden deshalb die Messmethoden an die unterschiedlichen Matrixbedingungen angepasst. Hierzu wurden für die Analysen als Direktinjektion die Proben vor der Messung so verdünnt, dass die Substanzen trotzdem noch detektiert werden konnten. Bei den Methoden mit Festphasenextraktion wurden die Waschschritte angepasst, um die Salze vor der Elution vollständig aus der SPE-Kartusche zu spülen. Die Salzabtrennung konnte hierdurch erfolgreich realisiert werden, so dass die Matrixeffekte in der GC-MS vollständig eliminiert wurden und bei den LC-MS/MS-Bestimmungen zumindest stark reduziert und durch den Einsatz interner Standards kompensiert werden konnten.







2.4. Test der Versuchsapparatur und Charakterisierung des Plasmas

Die weiteren Untersuchungen von reaktiven Spezies wurden mit der modifizierten Reaktorzelle (Abb. 3) und dem HV-Generator der Firma PPT, Dortmund durchgeführt.

In einem ersten Schritt wurden die in dem Plasma generierten, reaktiven Spezies mithilfe einer schnellen ICCD-Kamera in Kombination mit einem Spektrographen untersucht. Diese Gerätkombination (Kosten: ca. 50.000 €) wurde während der Projektlaufzeit mit zusätzlich für das Projekt bereit gestellten Haushaltsmitteln aus der Berufungszusage für Prof. Torsten C. Schmidt beschafft. Nur mit solch einer Detektionseinheit war der Nachweis der ultrakurzlebigen (< 2 µs) reaktiven Spezies (Abb. 6) möglich.

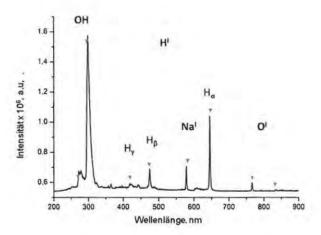


Abbildung 6: Spektrale Aufnahme von den in der koronaähnlichen Entladung gebildeten reaktiven Spezies mittels einer ICCD-Kamera in Kombination mit einem Spektrographen.

Die Emissionslinien on OH und H bilden sich durch homolytische Spaltung von Wasser $(H_2O \xrightarrow{h\nu} (H_2O)^* \rightarrow H + OH)$.

Die Emissionslinie von atomarem Sauerstoff lässt sich durch die Anwesenheit von gelöstem Sauerstoff erklären. Die Spektrallinie von Natrium ist auf die Einstellung der Leitfähigkeit (400 µS) der Lösung mit Natriumsulfat (c = 1,7 mmol/L) zurückzuführen. Neben der spektroskopischen Methode wurde für die Bestimmung der Ausbeute an OH-Radikalen auch ein Radikalfänger eingesetzt. Dazu wurde die Reaktionslösung mit Terephthalsäure versetzt. Der spektroskopische Nachweis der fluoreszierenden 2-Hydroxy-Terephthalsäure basiert auf der Reaktion der OH-Radikalen mit der Terephthalsäure. Nur die OH-Emissionslinien lassen direkt auf die durch das Plasma generierten OH-Radikale schließen. Die Bildung von 2-Hydroxy-Terephthalsäure kann auch auf OH-Radikale zurückgeführt werden, die durch Elektrolyse erzeugt wurden. Die stationäre Konzentration an OH-Radikalen, die durch die Koronaentladung generiert wird, sollte sehr gering sein. Denn die zur Abfangreaktion mit Tereph-







thalsäure konkurrierende Rekombination der OH-Radikale mit dem H-Atom ist kinetisch bevorzugt^{6,7}.

2.5. Produktbildung und Abbaukinetik bei der Umsetzung von Modellsubstanzen im Plasma

Im Rahmen der Arbeiten konnten unterschiedliche reaktive Spezies nachgewiesen werden, allerdings ist die gemeinsame Wirkung auf die Reaktion mit Modellsubstanzen in der wässrigen Lösung nicht vorhersehbar. Daher lassen sich die Koronaentladung und ihre Wirkung über die direkte Bestimmung von einzelnen Spezies in der Lösung nicht vollständig beschreiben. Als Modellsubstanzen wurden entgegen ursprünglicher Planungen pharmazeutische Verbindungen (Diclofenac, Metoprolol, Carbamazepin und lopamidol) eingesetzt, da diese für eine spätere mögliche Anwendung zur Behandlung von Abwasser von Indirekteinleitern (z. B. Krankenhausabwässer) interessant sind. Die Reaktion von Diclofenac gegenüber OH-Radikalen und Ozon bzw. die entstehenden Abbauprodukte sind beschrieben⁵.

In Abbildung 7 werden exemplarisch die Abbaukurven von Diclofenac unter Verwendung von unterschiedlich beschichteten Elektroden gezeigt.

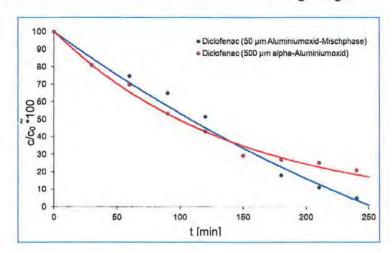


Abbildung 7: Abbau von Diclofenac (c₀ = 1mg/L) (Plasmaanlage Energie: 0.4 kWh, Spannung: 35 kV, Frequenz: 40 Hz, Behandlungsdauer: 4 Stunden)

Der Verlauf dieser beiden Abbaukurven ist nahezu identisch. In diesem Fall hat die Porosität der Platten keinen signifikanten Einfluss auf den Abbau. Im Vergleich zu anderen, organischen Substanzen (siehe Tabelle 1) ist der Abbau von Diclofenac mit einer Abbaurate von 23 % pro Stunde recht hoch.







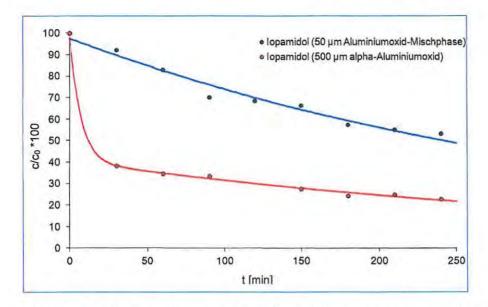


Abbildung 8: Abbau von Iopamidol, c₀ = 1mg/L (Plasmaanlage Energie: 0,4 kWh, Spannung: 35 kV, Frequenz: 40 Hz, Behandlungsdauer: 4 Stunden)

Im Gegensatz zum Diclofenac (Abb. 7) war ein signifikanter Einfluss des Elektrodenmaterials auf den Abbau von lopamidol zu beobachten (Abb. 8). Bei Verwendung der 500 µm dicken alpha-Aluminiumoxidbeschichtung konnten bis zu 77% abgebaut werden. Wird als Elektrodenmaterial die poröse Aluminiumoxid-Mischphase eingesetzt, so ist ein lopamidolabbau von nur 40% möglich.

Ebenso beeinflusst die Betriebsart des Reaktors die Abbauraten von ausgewählten organischen Spurenstoffen (Tab. 1; Abb. 9 a/b). Es wurden Untersuchungen im Batch- und Durchflussbetrieb durchgeführt. Die Plasmareaktorbedingungen sind bei beiden Varianten wie in den Optimierungsversuchen erarbeitet sowohl im Batchbetrieb als auch im Durchflussbetrieb gleich gehalten. Lediglich das behandelte Volumen betrug im Batchverfahren 30 mL, im Durchflussverfahren 250 mL bei einer Durchflussgeschwindigkeit von 7 L/h, d.h. umgerechnet eine effektive Aufenthaltszeit im Plasmareaktor von ca. 30 min. Im Batchbetrieb konnte die Probe nur 30 min behandelt werden, da es sonst zu einer Überhitzung in der Reaktorzelle kommt. Bei Verwendung des Durchflussreaktors war es möglich, das Probenreservoir zu kühlen und somit die Behandlungszeit auf 4 Stunden zu verlängern.







Tabelle 1: Abbau von ausgewählten organischen Substanzen mittels koronaähnlicher Entladungen

Substanz	Abbau nach 0,5 h (Batchbetrieb) [%]	Abbau nach 4 h (Durchflussbetrieb) [%]
Carbamazepin	15	10
Metoprolol	49	23
lopamidol	81	85
Diclofenac	92	84
Bisphenol A	39	11

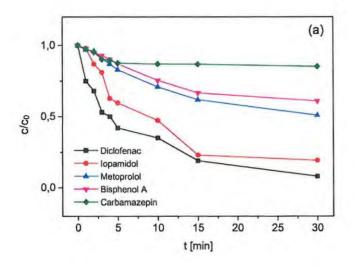
Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, werden im Batchbetrieb signifikant höhere Abbauraten erreicht, als unter Verwendung des Durchflussreaktors. Eine Ausnahme bildet lopamidol, das bevorzugt photolytisch abgebaut wird und daher der Abbau von der längeren Behandlungszeit im Durchflussreaktor profitiert.







In Abb. 9a/b sind exemplarisch die Abbauraten von Diclofenac, Metoprolol, Iopamidol, Carbamazepin und Bisphenol A in Reinstwasser dargestellt. Die Behandlung der Probe fand im Batchbetrieb (a) bzw. im Durchflussbetrieb (b) statt.



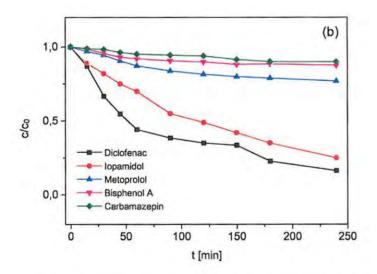


Abbildung 9: Abbauraten von ausgewählten organischen Substanzen im Reinstwasser; Leitfähigkeit: 2 mS/cm (Na₂SO₄); U = 30 kV; Pulswiederholrate: 10 Hz; a) Batchbetrieb V = 30 mL); b) Durchflussbetrieb V = 250 mL







2.6. Charakterisierung des Plasmas mit realen nativen und dotierten Abwassermatrices und Optimierung der Betriebsbedingungen

Anhand der Dotierung von realen Proben aus der Kläranlage Duisburg – Vierlinden mit Carbamazepin, Iopamidol, Bisphenol A, Diclofenac, Metoprolol, PFOS und PFOA wurde die Übertragung der entwickelten Behandlungsmethode auf reale Abwassermatrices überprüft. Nach 0, 5, 10, 15 und 30 min Behandlungszeit erfolgte die instrumentelle Analyse mittels LC-MS/MS und GC-MS. In Tabelle 2 sind die Abbauraten und Anfangskonzentrationen der ausgewählten Substanzen dargestellt.

Tabelle 2: Abbauraten und Anfangskonzentrationen der ausgewählten Substanzen

Substanz	Anfangskonzentration [mg/L]	Abbaurate [%]
Metoprolol	1,3	10,7
Carbamazepin	1,0	8,2
Diclofenac	1,8	24
lopamidol	1,4	38
PFOA	7,8	19

Insbesondere bei den Röntgenkontrastmitteln und perflourierten Substanzen gibt die Bestimmung des AOX-Gehaltes einen Hinweis auf den Grad der Oxidation oder ggf. Bildung von Transformationsprodukten. Daher wurde von realen Proben (Kläranlage Duisburg-Vierlinden, Bad Sassendorf, Marienhospital) mit DOC-Gehalten zwischen 1 mg/L und 14 mg/L der AOX sowie AOF, AOCI und AOI-Gehalt vor und nach der Plasmabehandlung untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 10 zusammengefasst. Die Abwasserproben wurden freundlicherweise von den Wirtschaftsbetrieben Duisburg und der Emschergenossenschaft/Lippeverband zur Verfügung gestellt.







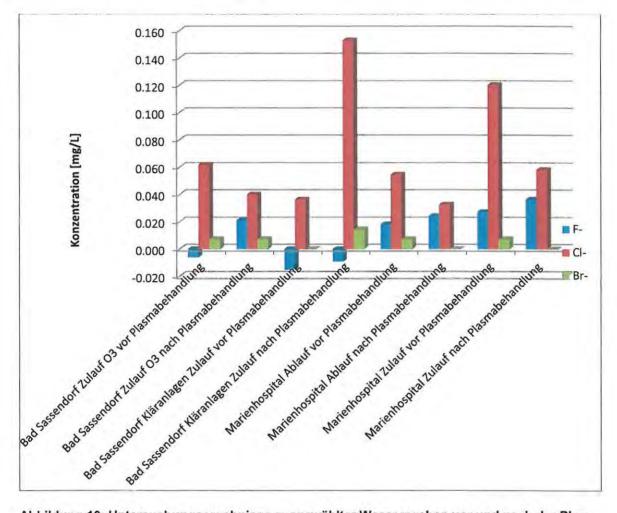


Abbildung 10: Untersuchungsergebnisse ausgewählter Wasserproben vor und nach der Plasmabehandlung

Es ist keine systematische Zunahme bzw. Abnahme der AOX-Werte erkennbar. Die negativen Ergebnisse resultieren aus Schwankungen bei der Blindwertbestimmung. Theoretisch ist es möglich, im Plasma Halogenradikale aus Halogeniden zu erzeugen, die dann eine direkte Halogenierung der organischen Substanzen bewirken. Der Anstieg der AOCI/AOBr-Konzentration in der Probe des Kläranlagenzulaufes aus Bad Sassendorf kann so erklärt werden. Umgekehrt können halogenhaltige organische Verbindungen im Plasma abgebaut werden unter gleichzeitiger Abnahme des AOX-Wertes. Eine Abnahme von AOCI ist bei den Proben aus dem Marienhospital und Bad Sassendorf Zulauf Ozonung zu beobachten. Der Anstieg der AOF-Konzentrationen bei allen untersuchten Proben kann durch die Verwendung von PTFE als Reaktormaterial erklärt werden^{8,9,10}.







2.7. Behandlung von realen Abwässern im Plasma und Bestimmung von Abbaueffizienzen und Toxizitäten

Die Bestimmung der Toxizitäten erfolgten im Unterauftrag durch das Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser - Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH (IWW). Die eingeschickten Wasserproben wurden auf das Vorhandensein von zytotoxischen, gentoxischen und östrogenen Effekten untersucht. Dazu wurden die Methoden aus dem IGF-FV Nr. 15862 "Oxidationsnebenprodukte" adaptiert. Die Details zu den Testverfahren sind im Anhang kurz beschrieben. Die Abwasserproben wurden freundlicherweise von den Wirtschaftsbetrieben Duisburg und der Emschergenossenschaft/Lippeverband zur Verfügung gestellt.

2.7.1. MTT Test

Die Ergebnisse des MTT Tests mit CHO Zellen zeigten, dass keine der originalen Abwasserproben der Kläranlage Duisburg-Vierlinden der untersuchten Probenserie zytotoxisch ist. Die Vitalität nach einer Exposition von 24 h lag über 80 % (Abbildung 11). Allerdings wurden bei zwei der extrahierten Wasserproben zytotoxische Effekte nachgewiesen werden. Der Extrakt nach Festphasenanreicherung der dotierten Abwasserprobe vom Ablauf der Kläranlage Duisburg-Vierlinden (M121210/30) resultiert in einer Abnahme der Vitalität auf 68 %, somit einer Einstufung als mäßig zytotoxisch. Der Extrakt dieser im Plasmareaktor behandelten dotierten Abwasserprobe (M121210/31) wird als stark zytotoxisch eingestuft, da die Vitalität hier bei 56 % liegt (Abbildung 11). Die Effekte konnten nicht in den originalen Abwasserproben, sondern nur nach Festphasenanreicherung nachgewiesen und können deshalb auf die hohen Konzentrationen der Modellsubstanzen bei der Dotierung zurückgeführt werden. Ob es sich hierbei um die Wirkung einer einzelnen Substanz oder die Wirkung des Substanzgemischs handelt, konnte im Rahmen des Projektes nicht näher geklärt werden.







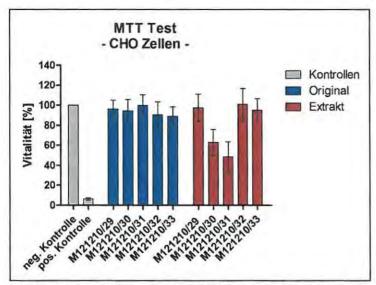


Abbildung 11: MTT Test an CHO Zellen; Bezeichnung der Proben vom Zulauf zur Ozonung der Kläranlage Duisburg-Vierlinden: Native Probe (M121210/29), Abwasserprobe nach Dotierung mit Modellsubstanzen (M121210/30 und M121210/32), dotierte Abwasserprobe nach Plasmabehandlung (M121210/31 und M121210/32).

Bei den untersuchten Abwasserproben aus Bad Sassendorf und vom Marienhospital in Gelsenkirchen (Kläranlagen Zulauf und Ablauf) konnte bei keiner der untersuchten Proben vor und nach Behandlung im Plasmareaktor, weder Original noch im Extrakt nach Festphasenanreicherung, eine zytotoxische Wirkung nachgewiesen werden, da die Vitalität nach einer 24-stündigen Exposition bei allen Wasserproben über 80 % lag.

2.7.2. Alkaline Comet Assay

Die Ergebnisse des Alkaline Comet Assay mit den Abwasserproben M121210/29 bis M121210/33 von der Kläranlage Duisburg-Vierlinden ergab weder für die Originalproben noch für die Extrake vor und nach Behandlung im Plasmareaktor ein gentoxisches Potenzial, da im Vergleich zur Negativkontrolle keine signifikante Erhöhung des Olive Tail Moments zu erkennen ist (Abbildung 12).







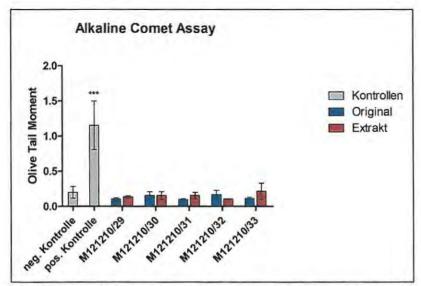


Abbildung 12: Keine Gentoxiziät der untersuchten Wasserproben; *** hoch signifikant; Bezeichnung der Proben vom Zulauf zur Ozonung der Kläranlage Duisburg-Vierlinden: Native Probe (M121210/29), Abwasserprobe nach Dotierung mit Modellsubstanzen (M121210/30 und M121210/32), dotierte Abwasserprobe nach Plasmabehandlung (M121210/31 und M121210/32).

Ebenfalls konnte keine signifikant erhöhte Schädigung der DNA bei den nativen und angereicherten Abwasserproben von den Zu- und Abläufen der Kläranlagen Bad Sassendorf und vom Marienhospital in Gelsenkirchen im Vergleich zur Negativkontrolle nachgewiesen werden. Somit konnte für keine der untersuchten Abwasserproben ein gentoxisches Potenzial nachgewiesen werden.

2.7.3. ER Calux

Vor der Durchführung des ER Calux zur Bestimmung der Östrogenität wurden die Abwasserproben auf das Vorhandensein eines zytotoxischen Potenzial gegenüber den im ER Calux eingsetzten T47D Zellen untersucht.

Die Ergebnisse des MTT Tests mit T47D Zellen ergaben, dass die Festphasenextrakte M121210/30 und M121210/31 auch gegenüber T47D Zellen zytotoxisch sind, und im ER Calux daher im Verhältnis von 1:20 ins Zellkulturmedium exponiert wurden. Alle anderen Wasserproben zeigten keine Zytotoxizität und wurden demnach im Verhältnis von 1:10 exponiert (Abbildung 13).







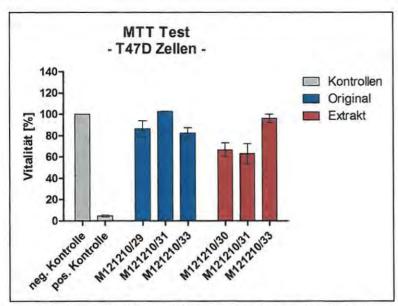


Abbildung 13: MTT Test an T47D Zellen, erste Probenserie; Bezeichnung der Proben vom Zulauf zur Ozonung der Kläranlage Duisburg-Vierlinden: Native Probe (M121210/29), Abwasserprobe nach Dotierung mit Modellsubstanzen (M121210/30 und M121210/32), dotierte Abwasserprobe nach Plasmabehandlung (M121210/31 und M121210/33).

Die Ergebnisse des ER Calux zeigen, dass außer der Wasserprobe M121210/29 Original, alle anderen Wasserproben östrogene Effekte aufweisen (Tabelle 3).

Tabelle 3: Estradiol Equivalente der ersten Probenserie; Bezeichnung der Proben vom Zulauf zur Ozonung der Kläranlage Duisburg-Vierlinden: Native Probe (M121210/29), Abwasserprobe nach Dotierung mit Modellsubstanzen (M121210/30), dotierte Abwasserprobe nach Plasmabehandlung (M121210/31 und M121210/33)

Wasserprobe	EEQ [pm/100 μL ± SA]
M121210/29 Original	n.n.
M121210/30 Extrakt	11,4 ±3,5
M121210/31 Original	20,5 ±4,7
M121210/31 Extrakt	20,4 ±0,4
M121210/33 Original	9,2 ±5,1
M121210/33 Extrakt	6,2 ±1,5

n.n. = nicht nachgewiesen; SA = Standardabweichung

Die Wasserproben der zweiten Probenserie wurden ebenfalls zunächst auf ein zytotoxisches Potenzial untersucht. Hier konnte bei keiner der Proben ein zytotoxischer Effekt nachgewiesen werden. Die Ergebnisse des ER Calux der Abwasserproben aus Bad Sassendorf und vom Marienhospital in Gelsenkirchen aus der zweiten Probenserie sind in Tabelle 4: Estradiol Equivalente (EEQ) der untersuchten Abwasserprobendargestellt. Hier ist zu erkennen, dass alle Proben östrogen wirken. Teilweise konnte nach der Plasmabehandlung ein höherer EEQ festgestellt werden. Diese Zunahme der Östrogenität könnte durch den Abbau von antiöstrogenen Substanzen, welche zuvor die Testzellen des ER Calux störten oder die Bildung von östrogenakti-







ven Transformationsprodukten verursacht worden sein. Ähnliche Effekte wurden auch bei der Untersuchung von ozonisierten Kläranlagenabläufen im PILLS-Projekt Eine genauere Untersuchung war im Rahmen dieses Projektes nicht möglich.

Tabella 4: Estradial Equivalente (EEO) der unterquebten Aburacea

Wasserprobe	Probenherkunft	EEQ [pm/100 μL ± SA]
M130214/06 nativ	Zulauf Kläranlage Bad Sassendorf	4,7 ±1,12
M130214/06 SPE	Zulauf Kläranlage Bad Sassendorf	2,2 ±0,61
M130214/08 nativ	Ablauf Kläranlage Bad Sassendorf	6,6 ±5,96
M130214/08 SPE	Ablauf Kläranlage Bad Sassendorf	3,9 ±0,30
M130214/09 SPE	Zulauf Kläranlage Bad Sassendorf nach Plasmabehandlung	2,9 ±0,83
M130214/10 SPE Ablauf Kläranlage Bad Sassendorf nach Plasmabehandlung		5,5 ±2,11
M130214/41 nativ	Zulauf Kläranlage Marienhospital	5,7 ±5,05
M130214/42 nativ Ablauf Kläranlage Marienhospital		1,1 ±1,01
M130214/42 SPE	Zulauf Kläranlage Marienhospital	7,2 ±2,23
M130214/43 nativ	Zulauf Kläranlage Marienhospital nach Plasmabehandlung	8,3 ±6,29
M130214/44 nativ	Ablauf Kläranlage Marienhospital nach Plasmabehandlung	11,2 ±6,71
M130214/44 SPE	Ablauf Kläranlage Marienhospital nach Plasmabehandlung	6,9 ±2,66

n.n. = nicht nachgewiesen; SA = Standardabweichung

2.7.4. Bestimmung der Abbaueffizienzen mittels instrumenteller Analytik

Die Konzentrationen von ausgewählten Modellsubstanzen wurden in den realen Kläranlagenzu- und abläufen aus Duisburg-Vierlinden, Bad Sassendorf und vom Marienhospital in Gelsenkirchen vor und nach Behandlung im Plasmareaktor guantifiziert. Durch die komplexe Matrix konnten in den untersuchten die Spurenstoffe nur unvollständig abgebaut werden, da die im Plasmareaktor gebildeten reaktiven Spezies mit anderen Matrixbestandteilen reagierten. In Abbildung 14 ist exemplarisch der relative Abbau von ausgewählten Mikroverunreinigungen im Kläranlagenablauf aus Duisburg-Vierlinden dargestellt. Die Ausgangskonzentration der Pharmazeutika Diclofenac und Carbamazepin konnten um max. 24% reduziert werden. Bei lopamidol und PFOA wurden max. 38% durch die Behandlung im Plasmareaktor eliminiert.







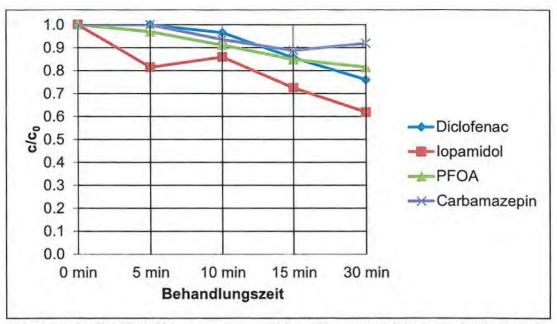


Abbildung 14: Relativer Abbau von ausgewählten Mikroverunreinigungen durch die Behandlung des Kläranlagenablaufes aus Duisburg-Vierlinden im Plasmareaktor.

Die Eliminationsleistung der Modellsubstanzen in Reinstwasser konnten in den untersuchten realen Abwasserproben nicht betätigt werden.

2.8. Wirtschaftlichkeitsberechnungen

Neben dem effizienten Abbau stand als Optimierungsziel auch ein möglichst geringer Energieverbrauch im Fokus. Für die beiden Betriebszustände "minimaler Energieverbrauch" und "optimale Abbaueffizienz" sollten dazu Wirtschaftlichkeitsberechnungen zu dem neuen Plasmaverfahren durchgeführt werden. Aufgrund der Schwierigkeiten bei der Behandlung von Realproben kann mit den Untersuchungsergebnissen jedoch noch kein Anlagenkonzept für unterschiedliche Abwassermatrizes und Behandlungsvolumina vorgeschlagen werden. Hierzu sind noch weitere Untersuchungen notwendig, die im Rahmen dieses Forschungsvorhabens nicht vorgesehen und aus Zeitgründen auch nicht mehr zu realisieren waren.

Zur energetischen Bewertung von Wasserbehandlungsverfahren ist das E_{EO}-Konzept (Electric energy per order (EEO)13 etabliert. Nach Bolton sind Verfahren wirtschaftlich, wenn der E_{EO}-Wert kleiner als 3 kWh/m³/order ist¹¹. Abbildung 15 zeigt eine Übersicht über verschiedene physiko-chemische Wasserbehandlungsverfahren und deren berechneten E_{EO}-Wert. Die für das Plasmaverfahren berechneten E_{EO}-Werte wurden bei Anwendung von Hybridreaktoren erlangt. Bei den Hybridreaktoren findet die elektrische Entladung in der Gasphase oberhalb der wässrigen Phase statt. Die Abbaureaktion verläuft im Wesentlichen über die Generierung von Ozon. Ozonrefraktäre Substanzen können hiermit nicht abgebaut werden.







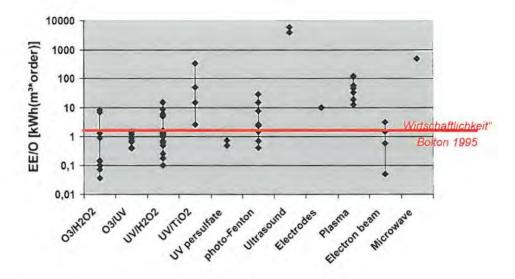


Abbildung 15: Vergleich von AOP-Studien 12

Mit der folgenden Gleichung

$$E_{EO} = \frac{P \cdot t \cdot 1000}{V \cdot \lg\left(\frac{c_i}{c_f}\right)}$$
GI.1

wird am Beispiel von Iopamidol mit einem Abbau nach Plasmabehandlung von 77,5 % die Berechnung von EEO gezeigt.

Durch Einsetzen der nachfolgenden Werte in die Gleichung 1

P: Leistung des Hochspannungspulsgenerators in kW : 0,180 kW V: Volumen (Reaktorfüllmenge) : 0,250 L t: Dauer der Plasmabehandlung : 4h

ci: Anfangskonzentration von Iopamidol : 0,03195 mol/L cf: Konzentration von lopamidol nach Plasmabehandlung : 0,00720 mol/L

wird ein E_{FO}-Wert von 2472 kWh/m³/order erhalten. Dieser hohe Wert stellt eine mögliche Anwendung der dielektrischen Entladung unter Wasser zum oxidativen Abbau von organischen Spurenstoffen in Frage. Gelingt jedoch der Abbau von chemisch inerten Verbindungen, wie z. B. PFTs, ist auch ein derartiger hoher Energieaufwand bei speziellen Anwendungen mit kleinen Abwasserströmen z. B. zur Reinigung von Galvanikabwässern gerechtfertigt. 13 Aufgrund des enorm hohen EEO-Wertes kann zu diesem Zeitpunkt noch keine sinnvolle Angabe über entstehende Kosten des gesamten Reaktorssytems gemacht werden. Eine Anwendung in Kläranlagen erscheint auch nach weiterer Optimierung des Verfahrens nicht realistisch







3. Einschätzung zur Realisierbarkeit des vorgeschlagenen und aktualisierten Transferkonzepts

3.1. Zusammenfassende Bewertung der Ergebnisse

Gegenüberstellung der Ergebnisse mit den Zielsetzungen des ursprünglichen Forschungsantrags

Im Rahmen des IGF-Forschungsvorhabens konnte ein Plasmareaktor erfolgreich aufgebaut und charakterisiert werden. Dieses komplexe System besteht aus einem Hochspannungspulsgenerator, der innerhalb der Projektlaufzeit weiter entwickelt werden musste, einer Reaktorzelle für den Batch- und Durchflussbetrieb sowie Elektrodenbeschichtungen mit dielektrischen Eigenschaften. Sowohl die elektronische Weiterentwicklung des Generators als auch die Festlegung geeigneter Elektrodenmaterialien beinhalteten umfangreichere Arbeiten im Hinblick auf Zeit und Materialien als ursprünglich geplant. Daher lag der Schwerpunkt der Untersuchungen auf der Konstruktion und Charakterisierung des gesamten Plasmareaktors, um einen effizienten Abbau von organischen Spurenstoffen zu gewährleisten. Mit dem modifizierten Reaktor konnten dann auch zufriedenstellende Abbauraten ausgewählter organischer Substanzen in reinem Wasser erzielt werden, so dass prinzipiell der Einsatz dieses physikalischen Verfahrens zur Wasserreinigung eingesetzt werden kann. Als Folge der länger andauernden Optimierungsphase konnten nur stichprobenartig reale Abwässer behandelt und analysiert werden. Hierbei wurde festgestellt, dass die Matrix sich störend auf den Abbau der organischen Spurenstoffe auswirkt. Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse bei der Behandlung von Standardlösungen werden über die Projektlaufzeit hinaus weitere detaillierte Optimierungsversuche durchgeführt, um den Störeinfluss der Matrix zu beseitigen. In Tabelle 5 sind die geplanten und tatsächlich durchgeführten Arbeiten gegenübergestellt.

Tabelle 5: Aufstellung der geplanten und durchgeführten Arbeitsschritte

AP	Durchführung laut Antrag	Tatsächliche Durchführung
3.3.1	Aufbau des Plasmareaktors	Aufbauend auf den Erfahrungen mit einem Hochspannungsgenerator wurde ein komplett neuer Generatortyp konstruiert. Parallel dazu wurde der Plasmareaktor angepasst.







AP	Durchführung laut Antrag	Tatsächliche Durchführung
3.3.2	Substanzauswahl und Optimie- rung der analytischen Methoden	Die Substanzauswahl wurde in enger Abstimmung mit den Mitgliedern des Projektbegleitenden Ausschusses getroffen. Wie vorgesehen wurden die schon etablierten LC-MS/MS und GC-MS Methoden an die Matrix adaptiert. Für die perfluorierten Verbindungen konnten neue Methoden entwickelt und optimiert werden.
3.3.3	Test der Versuchsapparatur und Charakterisierung des Plasmas	Aufgrund der notwendigen Abstimmung der komplexen Plasmareaktoreinheiten zur Generierung einer stabilen Koronaentladungen waren umfangreichere Untersuchungen nötig als geplant. Zur Charakterisierung des Plasmas wurden die reaktiven Spezies mittels ultraschneller zeitaufgelöster UV-VIS-Spektroskopie nachgewiesen.
3.3.4	Charakterisierung des Plasmas mit Abwasser und Optimierung der Betriebsbedingungen	Die aus den Arbeiten zu AP 3.3.3 gewon- nenen Erkenntnisse führten dazu, dass die Optimierung der Betriebsbedingungen ei- nen viel größeren Einfluss auf die Generie- rung des Plasmas hat. Daher wurde in die- sem AP zusätzlich der Plasmareaktor wei- ter modifiziert.
3.3.5	Untersuchung zur Einwirkung des Plasmas auf reale Abwas- sermatrices	Die unerwünschte Bildung von halogenor- ganischen Verbindungen wurde anhand der AOX-Bestimmung in realen Proben untersucht.
3.3.6	Ermittlung von Abbaureaktionen und –effizienzen mit dotierten Abwässern	Anhand der Dotierung von realen Proben aus der Kläranlage Duisburg – Vierlinden mit Carbamazepin, Iopamidol, Bisphenol A, Diclofenac, Metoprolol, PFOS und PFOA wurde die Übertragung der entwickelten Behandlungsmethode auf reale Abwassermatrices überprüft. Aufgrund des signifikanten Störeinflusses der Matrix sind hier weitere Untersuchungen über das Projektende hinaus nötig.







AP	Durchführung laut Antrag	Tatsächliche Durchführung
3.3.7	Behandlung von realen Abwässern (ohne Dotierung) im Plasma und Bestimmung von Abbaueffizienzen und Toxizitäten	Die Abbauraten waren in den untersuchten Abwässern geringe wie in Reinstwasser. Es wurden keine toxischen Effekte in den undotieren Proben beobachtet.
3.3.8	Wirtschaftlichkeitsberechnungen	Zur energetischen Bewertung wurde der EEO- Wert (Electric energy per order (E _{EO}) berechnet.
3.3.9	Analytische Versuchsbegleitung	Die kontinuierliche Messung von Proben und die toxikologische Bewertung erfolgte entsprechend den Planungen des Antrages.







4. Darstellung des wissenschaftlich-technischen und wirtschaftlichen Nutzens der erzielten Ergebnisse insbesondere für KMU sowie ihren innovativen Beitrag und ihre industriellen Anwendungsmöglichkeiten

Von der Anwendungsseite her kommen die Ergebnisse allen Branchen mit biologisch schwer abbaubarem Abwasseranfall zu Gute, da die Anlagen zur Plasmareinigung von Abwasser typischer Weise in Modulbauweise erstellt werden. Eine Anpassung der Anlage hinsichtlich der Reinigungsproblematik und dem Durchsatz ist somit möglich. Da die Technologie keine Einrichtungen für chemische Umsetzungen benötigt, sondern nur einen Anschluss für die elektrische Versorgung, können die Anlagen auch mobil ausgeführt und für die Anwendung direkt beim Verursacher geplant werden. Aufgrund des hohen energetischen Aufwandes sollte das zu behandelnde Volumen möglichst klein gehalten werden.

Im Bereich der Trinkwasseraufbereitung kommen immer häufiger Membranverfahren (Umkehrosmose UO, Nanofiltration NF) zum Einsatz, bei denen ca. 20 - 25% der Rohwassermenge in Form von salzhaltigen Konzentraten als Abwasser anfallen, deren Einleiten in den Vorfluter an manchen Stellen problematisch wird, da Konzentrate potenziell anthropogene Spurenstoffe (persistente Pharmazeutika, Hormone, Pestizide, PFT) und Antiscalants auf Phosporbasis enthalten, die biologisch meist nur schwer abbaubar sind. So ist ein wichtiger Aspekt bei der Planung und Realisierung einer NF/UO-Anlage die Möglichkeit der Konzentratbehandlung.

Neben Ingenieurbüros und Anlagenbauer profitieren insbesondere KMU aus dem Bereich der Abwassertechnik, Abwasserverbände sowie Betreiber von über 6000 kommunalen und industriellen Abwasserbehandlungsanlagen bzw. Kläranlagen profitieren indirekt über den Ergebnistransfer von den Projektergebnissen.

Das Verfahren soll überall dort einsetzbar sein, wo aus eindeutigen Punktquellen (geringe Volumenströme) Kontaminationen des Abwassers erfolgen, die nicht in die Umwelt gelangen dürfen.

Entsprechend Anlage 1 des Fragebogens zur Einschätzung der erzielten Forschungsergebnisse kann die hauptsächliche Nutzung der Forschungsergebnisse im Bereich der Umwelttechnik erfolgen. Zu den Wirtschaftszweigen, in denen das Verfahren einsetzbar wäre, ist die chemische Industrie, das Textil- und Bekleidungsgewerbe sowie in der Energie- und Wasserversorgung.







5. Zusammenstellung aller Arbeiten, die im Zusammenhang mit dem IGF-Vorhaben veröffentlicht wurden.

5.1. Veröffentlichungen

Sein, M.M; Bin Nasir, Z.; Telgheder U.; Schmidt, T.C. Studies on a non-thermal pulsed corona plasma between two parallel-plate electrodes in water. J. Phys. D: Appl. Phys. 2012, 45, 225203

Gasanova, S.; Telgheder U.; Kerpen, K.; Kuklya, A.; Schmidt, T. C. Aluminium oxide coatings for generation of dielectric barrier discharge in aqueous solution. Submitted to Plasma Chemistry Plasma Processing (Plasma Chem Plasma Process)

5.2. Vorträge und Poster

Telgheder, U.; Schmidt, T. C.; Nicht-thermische Plasmaverfahren für die Membran-Konzentrat- und Abwasserbehandlung, Jahrestagung 2010 des Clusters Umwelttechnologien NRW, Essen, 2010

Schmidt, T. C.; Non-thermal plasma created by corona-like discharge for eliminating organic contaminants Wassertag Brüssel, Innovationsallianz NRW, Brüssel, Belgien, 2011

Gasanova, S.; Non-thermal plasma created by corona-like discharge for eliminating recalcitrant organic contaminants in water, Marie-Curie Researchers Symposium, Warschau, Polen, 2011

Gasanova, S.; Non-thermal plasmas created by corona-like discharges for eliminating recalcitrant organic contaminants, Mediterranean 2012 Conference for Academic Disciplines, Gozo, Malta, 2012.

Sein, M. M., Bin Nazir, Z., Telgheder, U., Schmidt, T.; Degradation of diclofenac and iopamidol by underwater corona plasma generated between two parallel plate electrodes, ACS 243rd National Meeting & Exposition, San Diego, USA, 2012

Gasanova, S., Kerpen, K., Kuklya, A., Telgheder, U., Portner, C., Türk, J..; Optical studies of dielectric barrier discharge generated in water, ANALYTICA Conference, München, 2012

Gasanova, S.; Kerpen, K.; Kuklya, A.; Telgheder, U.; Schmidt, T. C.; Optical study of dielectric barrier discharge generated in water, IWA-WCE Congress, Dublin, Irland, 2012







5.3. Wissenschaftliche Abschlussarbeiten

Bachelorarbeit Robert Keith Brown, 2010: Zyklisch voltammetrische Untersuchung an umweltrelevanten organischen Substanzen in wässrigen Elektrolyten

Bachelorarbeit Rebecca Well, 2011: Entwicklung einer Analysenmethode zur Detektion von Transformationsprodukten plasmabehandelter kontaminierter Wässer mittels HPLC-DAD

Masterarbeit Zuber Bin Nasir, 2010: Determination of reactive species produced by a pulsed corona discharge in water

Masterarbeit Christian Becker, 2011: Electrochemical studies on the stability of selected pharmaceutical ingredients

Dissertation Svetlana Gasanova seit 2010: Non-thermal plasmas created by coronalike discharges for eliminating recalcitrant organic contaminants

5.4. Angaben über gewerbliche Schutzrechte, sofern sie erworben wurden, oder ihre Anmeldung beabsichtigt ist

Es wurden keine gewerblichen Schutzrechte erworben. Die Anmeldung gewerblicher Schutzrechte ist nicht geplant.

5.5. Einschätzung der Realisierbarkeit des vorgeschlagenen und ggf. aktualisierten Transferkonzepts

Im Rahmen des abgeschlossenen Projekts wurden die Ergebnisse den Mitgliedern des projektbegleitenden Ausschusses in drei Sitzungen präsentiert und ausgiebig diskutiert. Darüber hinaus wurden die Ergebnisse einem breiten Interessentenkreis durch Poster und Vorträge auf nationalen und internationalen Tagungen sowie durch die Teilnahme an der Messe Analytica 2012 vorgestellt. Während der gesamten Projektlaufzeit haben zahlreiche Beratungsgespräche - vornehmlich mit KMU aus dem Bereich der Abwasser- und Anlagentechnik - stattgefunden, um die weiteren technischen Maßnahmen zu diskutieren. Alle Angaben finden sich in der nachfolgenden Tabelle 6.







Tabelle 6: Plan der bereits umgesetzten Maßnahmen zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft

Datum/ Zeitraum	umgesetzte Maß- nahmen	Erläuterung	Zielgruppe
6.7.2010	Projektbegleitender Ausschuss	Vorstellung des Pro- jektes	PA Mitglieder
22.11.2010	Jahrestagung 2010 des Clusters Umwelt- technologien NRW	Vorstellung des Pro- jektes (Poster und Interview)	ca. 180 Teilnehmer aus Wirtschaft und Wissenschaft
26.5.2011	Wassertag Brüssel, Innovationsallianz NRW	Vorstellung des Pro- jektes und Koopera- tion mit KMU	Ca. 150 Teilnehmer aus Wirtschaft und Wissenschaft
25. – 27. 9. 2011	Marie-Curie Resear- chers Symposium, Warschau, Polen	Poster	Ca. 100 Teilnehmer aus Wirtschaft und Wissenschaft
21.11.2011	Projektbegleitender Ausschuss	Vorstellung der Ergebnisse	PA Mitglieder
2011	IUTA Tätigkeitsbericht	Bericht über Teiler- gebnisse	Wirtschaft und Wissenschaft
25 29.3.2012	ACS 243rd National Meeting & Exposition, San Diego, USA	Vortrag	Ca. 11000 Fachleu- te aus Chemie und Chemietechnik
13.4. 2012	ANALYTICA Con- ference, München	Posterpräsentation	Ca. 30000 Fachleu- te aus Wissen- schaft und Wirt- schaft
1318.5. 2012	IWA-WCE Congress, Dublin, Irland	Posterpräsentation	Fachkräfte aus der Wasser- und Ener- giewirtschaft
21.6. 2012	Projektbegleitender Ausschuss	Vorstellung der Ergebnisse	PA Mitglieder
2012	IUTA Tätigkeitsbericht	Bericht über Teiler- gebnisse	Wirtschaft und Wissenschaft







Tabelle 7: Geplante Maßnahmen zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft

Da- tum/Zeit- raum	Geplante Maßnah- men	Erläuterung	Zielgruppe
Konti- nuierlich	Beratung von KMU	Information von Unternehmen außerhalb des PA. Diese Maßnahme wird laufend über die gesamte Projektlaufzeit durchgeführt.	Interessierte KMU
Konti- nuierlich/ nach Pro- jektende	Veröffentlichung in Fachzeitschriften	Korrespondenz Abwasser, WasserAbwasserPraxis, WLB, Water Research, Plasma Chem Plasma Process und vergleichbare Organe, Jahresberichte Tätigkeitsberichte	Industrie, Ent- scheidungsträger in Abwasserver-

Das vorgeschlagene Transferkonzept konnte in wesentlichen Punkten erfolgreich umgesetzt werden. Es ist geplant, die Ergebnisse des Forschungsvorhabens auch auf weiteren Tagungen, Messen und Konferenzen vorzustellen. Darüber hinaus sind die Forschungsstellen aktiv in den Dialog mit insbesondere kleinen und mittelständischen Unternehmen eingebunden. Des Weiteren gehen die Ergebnisse des Projektes direkt in das Lehrangebot der Universität Duisburg-Essen ein.







5.6. Projektbearbeiter und Autoren des Abschlussberichts

5.6.1. Projektbearbeiter

Alexandra Fischbacher geb. Jarocki (UDE)

Svetlana Gasanova (UDE)

Dr. Klaus Kerpen (UDE)

Dr. Andriy Kuklya (UDE)

Xolelwa Lamani (UDE)

Robert Marks (UDE)

Dr. Christoph Portner (IUTA)

PD Dr. Ursula Telgheder (UDE)

Dr. Jochen Türk (IUTA)

Hannah Vitz (IUTA)

Nicolas Wöhrl (UDE)

5.6.2. Autoren des Abschlussberichtes

Projektleiterin: PD Dr. Ursula Telgheder

(Universität Duisburg-Essen)

Dr. Klaus Kerpen

(Universität Duisburg-Essen)

Dr. Christoph Portner

(Institut für Energie- und Umwelttechnik e. V., IUTA)

Dr. Jochen Türk

(Institut für Energie- und Umwelttechnik e. V., IUTA)







6. Literatur

- [1] European Commission: Proposal for a directive of the european parliament and of the council, amending directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy, 2012.
- [2] Türk et al.: Untersuchungen zur Bewertung und Vermeidung von toxischen Oxidationsnebenprodukten bei der oxidativen Abwasserbehandlung, Abschluss-bericht, BMWi, AiF "Otto von Guericke" e. V. (IGF-FV 15862 N), 2011.
- [3] Hartmann, W.; Roemheld, M.; Rohde, K.-D.; Spiess, F.-J. Large Area Pulsed Corona Discharge in Water for Disinfection and Pollution Control. IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation, 2009, 16, 1061-1065.
- [4] Allen A.O., Hochanadel C.J., Ghormley, J.A., Davis T.W., Decomposition of water and aqueous solution under mixed fast neutron and gamma radiation. J.Phys.Chem., 1952, 56, 575-586.
- [5] Türk et al.: Energieeffiziente Eliminierung von persistenten Pharmazeutika aus Abwässern mittels eines schadstoffabhängig gesteuerten Oxidationsverfahren (EPASGO), Abschlussbericht, BMWi, AiF "Otto von Guericke" e. V. (IGF-FV 16145 BG), 2012.
- [6] Goryachev; V.L., Rutberg, F.G; Ufimtsev, A.A.; Photolytic properties of a pulsed discharge in water. Technical Physics Letters, 1998, 24(2), 122-123.
- [7] Thomas, J.K., Rates of reaction of the hydroxyl radical. Trans. Faraday Soc., **1965**, 61, 702-707.
- [8] Sein, M. M.; Zedda, M.; Tuerk, J.; Schmidt, T. C.; Golloch, A.; von Sonntag, C. Oxidation of Diclofenac with Ozone in Aqueous Solution. Environmental Science and Technology 2008, 42, 6656-6662.
- [9] Sein, M. M.; Schmidt, T. C.; Golloch, A.; von Sonntag, C. Oxidation of Some Typical Wastewater Contaminants (Tributyltin, Clarithromycin, Metoprolol and Diclofenac) by Ozone. Water Science and Technology, 2009, 59,1479-1485.
- [10] Deborde, M.; Rabouan, S.; Mazellier, P.; Duguet, J.P.; Legtube, B. Oxidation of bisphenol A by ozone in aqueous solution Water Research, 2008, 42, 4299-4308.







[11] Bolton, J., Bircher, K., Tumas, W., Tolman, C. Figures-of-merit for the Technical Development and Application of Advanced Oxidation Processes, Journal of Advanced Oxidation Technologies, 1996 1, 13-17.

[12] Jekel, M.; Remy, C. Persönliche Mitteilung 2012

[13] Bolton, J.R.; Bircher, K.G.; Tumas, W.; Tolman, C.A. Figures of Merit for the Technical Development and Application of Advanced Oxidation Technologies for Both Electric and Solar Driven Systems Pure Appl. Chem, 73, 2001, 627-637







7. Anhang

Nachfolgend sind die eingesetzten Testverfahren und Messmethoden kurz beschrie-

Instrumentelle Testverfahren

PFC Polyfluorierte Verbindungen

Die Probenvorbereitung und Messung erfolgte in Anlehnung an DIN 38407-42. Zur Probenvorbereitung wurden die wässrigen Proben mittels Festphasenextraktion (SPE) über eine Strata XAW (Phenomenex) angereichert.

1. Konditionierung: 5 mL mit 0,1% Ammoniak in Methanol, 5 mL Methanol

2. Equilibrierung: 5 mL Millipore pH 7 Wasser

Probenaufgabe: aus Glasflaschen auf die SPE geben

4. Waschen: 5 mL Millipore pH 7 Wasser, 5 mL mit 1% Ameisensäure in Aceton/Acetonitril 1:1, 5 mL Methanol

5. Trocknung: 5 min trockensaugen

6. Elution: 3 x 3 mL mit 0,1% Ammoniak in Methanol, anschl. trockensaugen (5 min)

Die Aufnahme des Extraktes erfolgte in einem 30 mL Glasvial, anschließendes Eindampfen unter Stickstoffstrom bei 40 °C. Die eingeengte Probe wurde mit 0,5 mL eines 1:1 Gemisches von Wasser und Methanol versetzt. Anschließend wurde die Probe 1 min geschüttelt und mittels Spritzenfilter 0,45µm in ein Autosampler-Vial überführt.

HPLC: Shimadzu LC-20

Säule: Macherey Nagel Nucleodur Sphinx 150mm x 2mm, 3µm

Flussrate: 0,3 mL / min

Eluent A: Wasser (LC-MS Baker) + Ammoniumaccetat (LC-MS) 10 µmmol/L + 0.1% Essigsäure (LC-MS)

Eluent B: Methanol (LC-MS) + Ammoniumaccetat (LC-MS) 10 μmmol/L + 0,1% Essigsäure (LC-MS)

Gradient: 0-10 min auf 100% B

Injektionsvolume: 50 μL

MS :AB Sciex 3200 QTrap







Tabelle 8: Übersicht PFC-Methode (*Wiederfindung in % über das Gesamtverfahren mit 100 mL Probevolumen; * NWG und BG Messwertangabe)

Substanz	m/z Q1	m/z Q3	NWG [ng /mL]	BG [ng /mL]*	WDF (n=3)*	Stabw [%]
PFBA	212,9	168,7	0,16	0,2	95	13,1
PFPA	262,9	218,9	0,06	0,1	99	6,2
		68,9	5,5	10	101	7,1
PFHxA	312,9	268,9	0,03	0,1	100	6,6
PFHpA	362,9	319	0,04	0,1	103	2,9
		168,9	0,05	0,1	97	3,1
PFOA	413,1	369	0,05	0,1	107	3,8
		168,7	0,05	0,1	106	2,5
PFNA	462,9	419	0,03	0,1	105	0,5
		218,7	0,07	0,1	102	3,4
PFDA	512,9	469	0,03	0,1	95	16,3
		219	0,1	0,25	98	10,9
PFBS	298,8	80	0,05	0,25	116	2,0
		99	0,05	0,25	109	5,0
PFHxS	398,8	80	0,06	0,1	112	4,7
		99	0,08	0,1	110	3,1
PFOS	498,8	80	0,01	0,1	109	1,4
		99	0,05	0,1	109	2,8
MPFOS	503	80			Interner Std.	
		99			Interner Std.	
MPFOA	417	372			Interner Std,	
		168,7			Interner Std,	







Hormone

Zur GC-MS Bestimmung der estrogenaktiven Substanzen erfolgte wie folgt. Für die SPE wurde eine Kartusche Strata XL (Phenomenex) 500 mg / 6 mL eingesetzt.

1. Konditionierung

2 x 5 mL Methanol

2. Equilibrierung

2 x 5 mL Wasser

3. Probenaufgabe

über PTFE - Schlauch ansaugen

4. Trocknung

mit Stickstoff trockenblasen

5. Elution

5 x 5 mL tert, Butylmethylether

Das Eluat wurde unter Stickstoff bei 50 °C bis zur Trockene eingedampft und anschließend mit 100 µL ((N,O, (Bis-(trimethylsilyl)-trifluoro-acetamid) + 1 % Trimethylchlorsilan) BSTFA+1% TMCS versetzt, geschüttelt und 30 min bei 70 °C derivatisiert,

GC-MS (Thermo Trace GC Ultra mit DSQ MS)

Trennsäule: Restek Rxi – 5Sil-MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 um

Ofentemperatur: 100 °C

Injektionsvolumen: 1 µL

Trägergas: Helium 5,0

	Heizrate	Temperatur	Haltezeit
		100 °C	1 min
Gaschromatograph	40 °C/min	260 °C	0 min
	5 °C/min	310 °C	1 min
	Tranferline	310°C	
	Heizrate	Temperatur	Haltezeit
DTV		100 °C	
PTV	14,5 °C/s	320 °C	5 min
	Injektionsart	Splitless	







	Messmethode	SIM	
		Startzeit	m/z
Managarakturanatan		7,5 min	357; 368; 372; 386
Massenspektrometer	SIM Methode positiv	11,0 min	257; 261; 285; 329; 342; 346; 416; 419
		12,2 min	302; 345; 425; 429; 440; 504

Tabelle 10: Massenspuren der GC-MS Hormonmethode

Substanz	m/z Quantifizierung	m/z Verifizierung
Bisphenol A	357	372
17-α-Ethinylestradiol	425	440
Bisphenol A-D16	368	386

Pharmaka

Die Analytik der Pharmaka wurde mittels LC-MS/MS wie nachfolgend beschrieben durchgeführt. Die Anreicherung und Matrixabtrennung erfolgte mit einer HLB (Waters) SPE-Kartusche (500 mg/6 mL).

1. Konditionierung 5 mL Methanol, 5 min, einwirken lassen

2. Equilibrierung 5 mL Millipore pH 3 Wasser

3. Probenaufgabe über PTFE - Schlauch ansaugen

Bei stark verunreinigten Abwässern: 4. Waschschritt (5mL Wasser mit 5% Methanol)

5. Trocknung 5 min, trockensaugen

6. Elution 3 x 3 mL Methanol, anschl. trockensaugen (5 min)

Die Aufnahme des Extraktes erfolgt in einem 30 mL Glasvial, anschließendes Einengen im Stickstoffstrom bei 40 °C. Die eingeengte Probe wird zum Lösen mit 1 mL Wasser (95 %) / Acetonitril (5%) mit jeweils 0,1% Ameisensäure aufgenommen. Anschließend wird die Probe 1 min, bei 2500 upm mit einem Vortex geschüttelt und in ein Autosampler-Vial überführt.







HPLC: Agilent 1100

Trennsäule: Phenomenex Synergi 4u Polar-RP 80A (150 mm x 2 mm, 4 µm)

Ofentemperatur: 35 °C

Injektionsvolumen: 50 µL

Eluent A: Millipore H₂O mit 0,1% Ameisensäure

Eluent B:Acetonitril mit 0,1% Ameisensäure

MS: AB Sciex API 3000

Tabelle 11: Lösungsmittelgradient

Zeit (min)	Flußrate (µL/min)	A (%)	B (%)
0,1	350	95	5
2	350	95	5
6	350	70	30
10	350	70	30
15	350	5	95
16	350	5	95
16,2	350	95	5
20	350	95	5

Die Temperatur der Ionenquelle betrug 450° C. Die angelegte Ionisierungsspannung 5000 V. Die Gaseinstellungen für Nebulizer- 12 und Curtain-Gas 10.

m/z Q1	m/z Q3 (Quant)	m/z Q3	Wdf [%]	SD [%]	BG[ng/mL]	NWG [ng/mL]
237,1	194,0	191,8	86	33,5	0,25	0,17
294,0	250,0	214,2	86	40,2	0,5	0,13
268,2	116,2	77,0	95	25,8	0,1	0,1
	Q1 237,1 294,0	237,1 194,0 294,0 250,0	Q3 (Quant m/z Q1) Q3 237,1 194,0 191,8 294,0 250,0 214,2	Q3 (Quant m/z Q1) Q3 Wdf [%] 237,1 194,0 191,8 86 294,0 250,0 214,2 86	Q3 (Quant M/zQ1 SD SD Q3 Wdf [%] [%] 237,1 194,0 191,8 86 33,5 294,0 250,0 214,2 86 40,2	m/z Q1 Q3 (Quant Q1) m/z Q3 Wdf [%] SD [%] BG[ng/mL] 237,1 194,0 191,8 86 33,5 0,25 294,0 250,0 214,2 86 40,2 0,5

Die Bestimmung von weiteren Pharmazeutika erfolgte analog der beschriebenen Methode.







Röntgenkontrastmittel (RKM)

Die Analytik der RKM wurde mittels LC-MS/MS wie nachfolgend beschrieben durchgeführt. Die Anreicherung und Matrixabtrennung erfolgte mit einer Isolute ENV+ (Biotage) SPE-Kartusche (200 mg/6 mL).

1. Konditionierung 5 mL Methanol, 5 min einwirken lassen

5 mL Millipore pH 7 Wasser 2. Equilibrierung

3. Probenaufgabe über PTFE – Schlauch ansaugen

4. Trocknung 5 min trockensaugen

5. Elution 3 x 3 mL Methanol anschl, trockensaugen (5 min)

Die Aufnahme des Extraktes erfolgt in einem 30 mL Glasvial, anschließendes Einengen im Stickstoffstrom bei 40 °C. Die eingeengte Probe wird zum Lösen 1 mL Wasser pH 3 mit Ammoniumacetat (10 mmol/L) aufgenommen, Anschließend wird die Probe 1 min, bei 2500 upm mit einem Vortex geschüttelt und in ein Autosampler-Vial überführt.

HPLC: Agilent 1100

Trennsäule: Shimadzu Shimpack XR-ODS (50 mm x 3 mm, 2,2 µm)

Ofentemperatur: 30°C

Eluenmt A: Millipore H₂O mit 0,1% Ameisensäure

Eluent B: Acetonitril mit 0,1% Ameisensäure

Flussrate: 300 µL/min

Tabelle 13: Gradient der mobilen Phase (RKM)

Zeit (min)	Flußrate (µL/min)	A (%)	B (%)	
0,1	300	95	5	
1	300	95	5	
5	300	60	40	
7	300		40	
7,5	300	95	5	
10	300	95	5	







In der Ionenquelle wurden die Gaseinstellungen für Nebulizer- (12) und Curtain-Gas (8) gewählt. Die Temperatur der Ionenquelle betrug 450° C. Die angelegte Spannung 5000 V.

Tabelle 14: Massenübergänge und MS-Einstellungen (RKM)

Parameter	m/z Q1	m/z Q3	DP [V]	FP [V]	CE [eV]	CXP [V]
lopromid	792	573	101	370	35	36
Iomeprol	778	405	101	360	57	32
lopamidol	778	559	101	375	33	40
Amidotrizoesäure	615	361	86	330	25	26

Toxikologische Testverfahren

Festphasenanreicherung

Die Probenvorbereitung zur Extraktion und Anreicherung erfolgte für die toxikologischen Testverfahren wie folgt beschrieben mit einer Oasis HLB (Waters) SPE-Kartusche (500 mg/6 mL).

1. Konditionierung 2 x 5 mL Methanol

2 x 5 mL UPLC-Wasser 2. Equilibrierung

über PTFE – Schlauch ansaugen (300 mL) Probenaufgabe

4. Trocknung mit Stickstoff trockenblasen

5. Elution 5 x 5 mL tert. Butylmethylether

Das Eluat wurde unter Stickstoff bei 50 °C bis zur Trockene eingedampft und der

Rückstand in 4 mL Reinstwasser aufgenommen.

MTT Test

Die MTT-Tests wurden laut standardisiertem Protokoll durchgeführt. Es handelt sich dabei um einen Test, bei dem die mitochondriale Aktivität der Zellen an Hand eines Farbumsatzes nachgewiesen wird. Nur in vitalen Zellen kann das gelbe MTT durch mitochondriale Dehydrogenasen in ein violettes Formazan umgewandelt werden. Daher ist eine direkte Korrelation zwischen umgesetztem Farbstoff und der Anzahl vitaler Zellen möglich. Die Vitalität der T47D Zellen wurde bei den jeweiligen Messungen bestimmt. Aufgetragen sind die Mittelwerte der drei einzelnen Wells je Probe, sowie die Standardabweichung. Die Beurteilung der Zytotoxizität erfolgte unter Berücksichtigung einer Zytotoxizitätsskala (Tabelle 15, DIN EN ISO 10993-5).





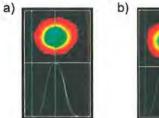


Tabelle 15: Zytotoxizitätsskala (DIN EN ISO 10993-5)

Grad der Schädigung	Vitalität [%]	zytotoxizität nicht zytotoxisch schwach zytotoxisch mäßig zytotoxisch	
0	81 – 100 %		
1	71 – 81 %		
2	61 – 71 %		
3	0 - 60 %	stark zytotoxisch	

Alkaline Comet Assay

Die Tests wurden laut standardisiertem Protokoll durchgeführt. Der Alkaline Comet Assay ermöglicht die Detektion einer DNA Schädigung einzelner Zellen, mittels Elektrophorese. Geschädigte DNA liegt in Bruchstücken unterschiedlicher Größe vor, die während der Elektrophorese entsprechend ihrer Größe augetrennt werden. Nach dem Anfärben der DNA liegt geschädigte DNA als "Comet" vor, während ungeschädigte DNA als Ganzes vorliegt (Abbildung 16).



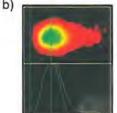


Abbildung 16: Alkaline Comet Assay a) ungeschädigte DNA, b) geschädigte DNA

100.000 CHO Zellen in 2 mL HAM's F12 Medium wurden je Well einer 24-Well Platte eingesät und über Nacht bei 37 °C und 5% Kohlenstoffdioxid inkubiert. Am nächsten Tag erfolgt die Exposition. Dazu wurde das alte Medium entfernt und frisches Medium sowie die Kontrollen (Negativkontrolle = 2 mL Medium; Positivkontrolle = 1,98 mL Medium & 10 µL ENU; Lösemittelkontrolle = 1,8 mL Medium & 0,2 mL Zellkulturwasser) und Wasserproben (Verhältnis 1:10) zugegeben. Die Zellen wurden dann für 24 h exponiert.

Zur Vorbereitung für den nächsten Tag wurde die benötigte Anzahl an Chamber Slides (acht Kammern) auf die hydrophile Seite eines Gelbond Film® geklebt, die Kammern mit je 50 µL L.M.P. Agarose versiegelt und über Nacht bei 2 - 12 °C gelagert.







Nach der Exposition wurde das Medium aus den Wells entnommen, die Zellen mit 1 mL DPBS gewaschen, für 10 s mit 0,5 mL Trypsin behandelt und für 3 min bei 37 °C und 5% Kohlendioxid inkubiert. Anschliessend wurden die Zellen in 0,5 mL DPBS resuspendiert und eine Zellzahl von 400.000 CHO/mL eingestellt, 20 µL der Zellsuspension wurden dann mit 45 µL L.M.P. Agarose vermischt und 50 µL dieser Mischung in die entsprechende Kammer der auf Eis gelagerten Chamber Slide gegeben. Nach dem aushärten der Gele wurde die Chamber Slide abgenommen und die Filme über Nacht in gekühlter (4 °C) Lyselösung gelagert.

Am nächsten Tag folgte die Elektrophorese. Dazu wurden die Filme mit den Gelen zunächst für 20 min in gekühlter (4 °C) Elektrophoreselösung inkubiert bevor über einen Zeitraum von 20 min eine Spannung von 300 mA angelegt wurde. Anschliessend wurden die Filme zuerst 30 min in Neutralisationslösung, gefolgt von 2 h in Ethanol absolut inkubiert. Das Ethanol wurde dann abgenommen und die Gele getrocknet.

Für die Auswertung wurden die Filme für 18 min mit SYBR Green® gefärbt und mit der Comet Assay 4 Software (Perceptive Instruments) ausgewertet. Je Gel wurde der Olive Tail Moment (OTM) von 50 Zellkernen ausgewertet und der Standard Error of Mean (SEM) berechnet. Die Signifikanz (Tabelle 16) wurde mittels des Mann Whitney U Tests berechnet.

Tabelle 16: Signifikanz der DNA Schädigung

p-Wert	> 0,05	0,01 - 0,05	0,001 - 0,01	< 0,001
Signifikanz	nicht signifi- kant	signifikant	sehr signifi- kant	stark signifikant
Kennzeichnung		*	**	***

ER Calux

Der ER Calux wurde laut standardisiertem Protokoll der Firma BioDetection Systems durchgeführt. Dies ist ein Reportergen Assay bei dem ein Estrogen Responsive Element an ein Luciferase Gen gekoppelt wurde. Eine östrogen aktive Substanz bindet an einen Rezeptor und dieser wiederum an das ERE der DNA wodurch es zur Expression des Luciferase Gens kommt. Durch Zugabe von Luciferin kommt es zur Lumineszenz welche dann nachgewiesen werden kann. Die Lumineszenz korreliert damit direkt mit der östrogenen Aktivität einer Probe.

Für die Exposition wurden 10.000 T47D Zellen in 100 µL DMEM F12 ohne Phenolrot pro Well einer 96-Well Platte eingesät, wobei die äußeren Wells mit 200 µL PBS gefüllt wurden. Nach Einsaat erfolgte eine Inkubation über Nacht im Brutschrank bei 37 °C und 5% Kohlenstoffdioxid. Am nächsten Tag erfolgte ein Mediumwechsel. 24 h nach dem Medium-wechsel wurde für die Exposition mit der 17-ß-Estradiol Standard-







reihe Medium mit Wasser im Verhältnis von 1:10 vermischt. Die Endkonzentrationen der Standards lagen zwischen 0 und 30 pM 17-ß-Estradiol. Das Expositionsmedium der Wasserproben ent-hielt 1 % DMSO (Dimethylsulfoxid). Die Exposition der Wasserproben fand dann im Verhältnis von 1:10 (90 µL Medium mit 1% DMSO und 10 µL Probe) statt. Die Zellen wurden danach für 24 h bei 37 °C und 5% Kohlenstoffdioxid inkubiert. Alle Standards und Wasserproben wurden im dreifachen Ansatz untersucht.

Nach der 24-stündigen Exposition der T47D Zellen gegenüber den 17-ß-Ethinylestradiol Standards sowie der Wasserproben wurde das Medium aus den Wells entfernt, 50 µL Lyselösung zugegeben und die Platte für 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden 30 µL Überstand aus den Wells entnommen und in eine weiße 96-Well Platte überführt. Nach Zugabe von 30 µL GlowMix wurde die Lumineszenz bestimmt.

Die Auswertung erfolgt an Hand einer von BioDetection Systems bereitgestellten Excel Datei. Dazu wurden die Lumineszenz-Werte in diese Datei übertragen und die östrogene Aktivität berechnet.

HPLC-DAD-Methode zur Bestimmung der ausgewählten Modellsubstanzen

Herstellen der Stammlösungen:

Zur Herstellung der Stammlösungen wurden 25 mg jeder Substanz eingewogen und in einem 500 mL- Kolben mit Reinstwasser bis zur Markierung aufgefüllt. Die Konzentrationen der Stammlösungen liegen bei 50 mg/L. Durch Zugabe von Natriumsulfat wird die Konduktivität der Lösung auf 400 µS/cm eingestellt.

Herstellen der Kalibrierlösungen aus den Stammlösungen:

Für jede Substanz werden vier Kalibrierlösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen aus der Stammlösung hergestellt. Die Lösungen werden in 50 mL-Kolben angesetzt und mit Reinstwasser jeweils bis zur Markierung aufgefüllt. Die Konzentrationen der Stammlösungen betragen 1, 5, 10, 20 und 25 mg/L.

HPLC-Methode

Es wurde ein binäres Laufmittelgemisch (Wasser/Acetonitril v/v=80/20; Flussrate: 0.7 mL/min) verwendet. Über die Injektionsspritze wird die Probe (30 μL) auf die Säule aufgegeben und bei T = 25 °C chromatographiert. Als Trennsäule wurde eine Nucleosil 100 C₁₈ 5.0 µm (250 x 4mm) der Firma Knauer eingesetzt. Vom Säulenausgang gelangen die Substanzen in eine Quarzküvette und werden mittels eines DA-Detektors (λ = 278 nm) registriert. Mithilfe der Chromgate Software werden die Sig-







nale ausgewertet. Die Einstellung des pH-Wertes von pH=3 erfolgte durch Zugabe von 37% iger Salzsäure.

Bestimmung von AOX

Die AOX-Bestimmung erfolgte analog ISO 9652.