TEXTE
69/2021

Abschlussbericht

Phosphonate in Wasch- und Reinigungsmitteln und deren Verbleib in der Umwelt – Entwicklung von Analyseverfahren und deren praktische Anwendung bei Proben von Oberflächenwasser, Abwasser und Sediment

von:

Oliver Happel, Dominic Armbruster, Heinz-Jürgen Brauch
DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), Karlsruhe

Eduard Rott, Ralf Minke
Universität Stuttgart, Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft, Stuttgart

Herausgeber:
Umweltbundesamt

Für Mensch & Umwelt

Umwelt Bundesamt

TEXTE 69/2021

Ressortforschungsplan des Bundesministeriums für
Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit

Forschungskennzahl 3715 65 414 0
FB000503

Abschlussbericht

Phosphonate in Wasch- und Reinigungsmitteln und deren Verbleib in der Umwelt – Entwicklung von Analyseverfahren und deren praktische Anwendung bei Proben von Oberflächenwasser, Abwasser und Sediment

von

Oliver Happel, Dominic Armbruster, Heinz-Jürgen Brauch
DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), Karlsruhe

Eduard Rott, Ralf Minke
Universität Stuttgart, Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft, Stuttgart

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Herausgeber
Umweltbundesamt
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau
Tel: +49 340-2103-0
Fax: +49 340-2103-2285
buergerservice@uba.de
Internet: www.umweltbundesamt.de

/umweltbundesamt.de
/umweltbundesamt

Durchführung der Studie:
DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW)
Karlsruher Straße 84
76139 Karlsruhe

Universität Stuttgart
Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft (ISWA)
Bandtäle 2
70569 Stuttgart

Abschlussdatum:
April 2018

Redaktion:
Fachgebiet IV 2.6 Wassergefährdende Stoffe
Marcus Gast

Publikationen als pdf:
http://www.umweltbundesamt.de/publikationen

ISSN 1862-4804

Dessau-Roßlau, Mai 2021

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

Kurzbeschreibung

Im Verlauf eines Jahres wurden 10 Beprobungen zweier kommunaler Kläranlagen in Stuttgart-Möhringen an der Körsch und in Stuttgart-Mühlhausen am Neckar vorgenommen. Dabei wurden jeweils folgende Matrices zur Quantifizierung der Phosphonate ATMP, EDTMP, DTPMP, HEDP und PBTC entnommen: Kläranlagenzulauf, Ablauf der Vorklärung, Ablauf der Nachklärung und, im Falle der Kläranlage Stuttgart-Mühlhausen, auch Ablauf des Sandfilters und Ablauf des Aktivkohlefilters. Weiterhin wurden Flusswasser, Flusssediment und Flussschwebstoffe vor und hinter der Einleitstelle beprobt. Zusätzlich zur Phosphonatanalytik erfolgte die Erfassung der Kenngrößen Temperatur, Kläranlagendurchfluss, pH, Leitfähigkeit, Feststoffgehalt, chemischer Sauerstoffbedarf und Phosphorgehalt. Die Schwerpunkte der Methodenentwicklung lagen auf der Extraktion von Phosphonaten aus Feststoffproben, der Anpassung der Chromatographie zur Analyse matrixbelasteter Proben und der Etablierung einer automatischen Anreicherung zur Quantifizierung von Oberflächenwasserproben. Im Rahmen dieses Projekts wurde die etablierte ionenchromatographische Trennung erstmals erfolgreich mit einem empfindlichen Tandem-Massenspektrometer gekoppelt. Diese Technik erlaubte die Quantifizierung aus Oberflächenwasserproben bis zu einer Bestimmungsgrenze von 0,1 µg/L. Durch Eigensynthese isotopenmarkierter Interner Standards wurde die Empfindlichkeit und Spezifität der Analyse erheblich verbessert. Nach der Etablierung einer robusten Analysemethode erfolgte die Bilanzierung der Phosphonate innerhalb und im Umfeld der beiden Kläranlagen. Dabei zeigte sich, dass HEDP und PBTC in der Regel die höchsten Gehalte aufwiesen. Hohe Eliminierungsraten von 80–90 % nach dem Durchlaufen der Nachklärung wurden festgestellt. Die gegenwärtigen Daten zeigen, dass Phosphonate in der Kläranlage und im Fließgewässer zu hohem Anteil adsorbiert an Feststoffpartikel (unterer bis mittlerer mg/kg-Bereich) vorliegen. Sowohl im Neckar als auch in der Körsch wurden der Einleitstelle signifikant erhöhte Sedimentbeladungen und, abhängig von der Größe des Gewässers, auch erhöhte Schwebstoffbeladungen festgestellt. Die im Oberflächenwasser detektierten Konzentrationen befanden sich, abhängig von der Belastung, im unteren µg/L-Bereich und darunter.

Abstract

During the course of a year, 10 samples were taken from two municipal sewage treatment plants in Stuttgart-Möhringen on the river Körsch and in Stuttgart-Mühlhausen on the river Neckar. The following matrices were sampled to quantify the phosphonates ATMP, EDTMP, DTPMP, HEDP and PBTC: wastewater treatment plant inflow, discharge of the preliminary clarification, discharge of the secondary clarification and, in the case of the wastewater treatment plant Stuttgart-Mühlhausen, also discharge of the sand filter and discharge of the activated carbon filter. Furthermore, river water, river sediment and river suspended matter were sampled before and behind the discharge point. In addition to phosphonate analysis, the parameters temperature, flow rate, pH, conductivity, solids content, chemical oxygen demand and phosphorus content were recorded. The main focus of the method development was the extraction of phosphonates from solid samples, the adaptation of chromatography for the analysis of matrix-loaded samples and the establishment of an automatic enrichment for the quantification of surface water samples. In this project, the established ion chromatographic separation was successfully coupled with a sensitive tandem MS detector for the first time. This technique allowed the quantification of surface water samples down to a determination limit of 0.1 µg/L. The sensitivity and specificity of the analysis was considerably improved by the self-synthesis of isotope-labelled Internal Standards. After the establishment of a robust analysis method, phosphonate-balancing was assayed within and around the two wastewater treatment plants. HEDP and PBTC generally accounted for the largest proportion. High elimination rates of 80–90% after the secondary clarification were determined. Current data show that within wastewater treatment plants and rivers, phosphonates are adsorbed onto solid particles to a high degree (lower to medium mg/kg range). Both in the Neckar and Körsch River, significantly increased sediment loads and, depending on the size of the receiving water, also increased suspended matter loads were found behind the discharge point. The concentrations detected in surface water were in the lower µg/L range and below, depending on the wastewater burden.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis 11
Tabellenverzeichnis 20
Abkürzungsverzeichnis 23
Zusammenfassung 25
1.1 Probenahmekonzept 25
1.2 Besonderheiten bzgl. Probenahmen 25
1.3 Herausforderungen bei den Probenahmen 25
1.4 Ergebnisse hinsichtlich zusätzlich erfasster Daten 26
1.5 Ergebnisse der Literaturrecherche 27
1.5.1 Bestimmungsmethoden 28
1.5.2 Anreicherungsverfahren 29
1.5.3 Probenvorbereitungstechniken 29
1.6 Phosphonatanalytik: Methodenentwicklung 30
1.6.1 Referenzstandards und Interne Standards 30
1.6.2 Anpassung der Chromatographie 31
1.6.3 Automatische Anreicherung 32
1.6.4 Probenaufschluss 32
1.7 Phosphonatanalytik: Ergebnisse 33
1.7.1 Abwasser und Abwasser-Feststoffe 33
1.7.2 Flusswasser 34
1.7.3 Sediment 35
1.7.4 Schwebstoff 36
Summary 38
1.8 Sampling concept 38
1.9 Details regarding sampling 38
1.10 Challenges regarding sampling 38
1.11 Results with regard to additional data collected 39
1.12 Results of the literature review 40
1.12.1 Determination methods 41
1.12.2 Enrichment methods 42
1.12.3 Sample preparation methods 42
1.13 Phosphonate analysis: Method development 42
1.13.1 Reference Standards and Internal Standards 43
1.13.2 Adaptation of chromatography 44

1.13.3 Automated enrichment 44
1.13.4 Sample digestion 45
1.14 Phosphonate analysis: Results 45
1.14.1 Wastewater and wastewater solids 45
1.14.2 River water 47
1.14.3 Sediment 47
1.14.4 Suspended matter 49
2 Einleitung 51
3 Probenahmekonzept 54
3.1 Überblick 54
3.2 Kläranlage S-Mühlhausen am Neckar 55
3.2.1 Kläranlage S-Mühlhausen 55
3.2.2 Probenahmestellen am und im Neckar 58
3.2.3 Zusammenfassung und Details zur Durchführung 62
3.3 Kläranlage S-Möhringen an der Körsch 63
3.3.1 Kläranlage S-Möhringen 63
3.3.2 Probenahmestellen an und in der Körsch 66
3.3.3 Zusammenfassung und Details zur Durchführung 70
4 Durchführung der Probenahmen 71
4.1 Flüssigprobenahmen 71
4.1.1 Generelles 71
4.1.2 Stichproben 71
4.1.3 24-h-Mischproben 72
4.2 Feststoffgewinnung 73
4.2.1 Generelles 73
4.2.2 Schwebstoffgewinnung aus Flussproben 73
4.2.3 Feststoffgewinnung aus Kläranlagenzulaufproben 75
4.3 Sedimentbeprobung 75
5 Literaturübersicht zur Phosphonat-Analytik 77
5.1 Vorgehensweise 77
5.2 Gegenwärtiger Stand der Phosphonatanalytik 77
5.2.1 Titration und Spektrophotometrie 78
5.2.2 Dünnschichtchromatographie (TLC) 78
5.2.3 NMR-Analyse 78
5.2.4 Gas- und flüssigchromatographische Methoden 79

5.2.5 Elektrophoretische Methoden 80
5.2.6 Ionenchromatographische Techniken 81
5.3 Probenvorbereitungstechniken 87
5.3.1 Aufbereitung wässriger Proben 87
5.3.2 Aufschluss und Bestimmung von Phosphonaten in Schwebstoff-, Sediment- und Bodenproben 89
5.4 Ähnlichkeiten und Unterschiede zur EDTA-Analytik 93
5.5 Vor Projektbeginn am TZW durchgeführte Arbeiten im Bereich der Phosphonatanalytik 94
5.6 Empfehlung zur Weiterentwicklung der Analytik sowie geplante Vorhaben zur Methodenerweiterung 96
6 Methodenentwicklungen zur Phosphonat-Analytik 98
6.1 Charakterisierung von kommerziell verfügbaren Phosphonatstandards 98
6.2 Eigensynthese von ^{13}C-markierten und deuterierten Internen Standards 99
6.3 Anpassung der Chromatographie 102
6.3.1 Vorversuche 103
6.3.2 Matrixabtrennung 104
6.3.3 On-Column-Enrichment (OCE) 111
6.4 Entwicklung der IC-ESI-MS/MS-Kopplung 117
6.5 Kalibration und Bestimmungsgrenzen 120
6.6 Abbauprodukte von Phosphonaten 126
6.7 Probenvorbereitung von Umweltproben 127
6.7.1 Analyse von wässrigen Proben (Abwasser und Flusswasser) 127
6.7.2 Analyse von Feststoffproben (Sediment und Schwebstoffe) 127
6.7.2.1 Aufschluss und Auswertung der primär untersuchten Feststoffproben 128
6.7.2.2 Optimierung des Extraktionsverfahrens für die Feststoffproben 129
6.7.2.3 Vergleich der Einfach-Extraktion mit unterschiedlichen Extraktionsmitteln 129
6.7.2.4 Vergleich der Dreifach-Extraktion mit optimierten Extraktionsmitteln 131
6.7.2.5 Dreifach-Extraktion von Sediment und Abwasser-Feststoff mit optimiertem Extraktionsvolumen 133
6.8 Herausforderungen bei der Methodenentwicklung 136
6.8.1 Hohe Calcium-Konzentrationen 136
6.8.2 Matrixeffekte und Störsubstanzen 137
7 Eingesetzte Verfahren der Probenvorbereitung und Analytik 138
7.1 Abfluss der Flüsse 138
7.2 pH-Wert und elektrische Leitfähigkeit 138

7.3 Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) ... 138
7.4 Feststoffkonzentration ... 139
7.5 Phosphor (Gesamt-P, Gelöst-P, o-PO_4-P, GUP, PP) ... 139
7.6 Methoden der Probenvorbereitung zur Phosphonat-Analytik ... 139
7.7 Phosphonat-Analytik per IC-ESI-MS/MS ... 140
8 Herausforderungen bei den Probenahmen ... 141
8.1 Flüssigproben, Sedimentproben ... 141
8.2 Schwierigkeiten hinsichtlich der Schwebstoffgewinnung ... 142
9 Ergebnisse des Monitorings: Zusätzlich erfasste Parameter ... 144
9.1 Temperatur ... 144
9.2 Durchfluss ... 145
9.3 pH-Wert ... 147
9.4 Elektrische Leitfähigkeit ... 149
9.5 Feststoffe ... 151
9.6 Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) ... 155
9.7 Phosphor (S-Mühlhausen, Neckar) ... 157
9.8 Phosphor (S-Möhringen, Körsch) ... 161
10 Ergebnisse des Monitorings: Phosphonate ... 164
10.1 Abwasserproben ... 164
10.1.1 Adsorbierte Phosphonate im KA-Zulauf ... 164
10.1.2 Gelöste Phosphonate in der Kläranlage ... 167
10.1.3 Datumsbetrachtung hinsichtlich Kläranlagenproben ... 176
10.1.4 Phosphonatelimination in Kläranlagen ... 178
10.1.5 Anteil von Phosphonat-P am GUP ... 184
10.1.6 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Durchfluss und Temperatur ... 185
10.1.7 Zusammenfassung ... 186
10.2 Flussproben ... 188
10.2.1 Vergleich vor und hinter der Einleitstelle ... 188
10.2.2 Datumsbetrachtung hinsichtlich Flussproben ... 194
10.2.3 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Flusskonzentration, KA-Ablauf und Elimination ... 196
10.2.4 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Flusskonzentration, Temperatur und Wasserstand ... 198
10.2.5 Zusammenfassung ... 199
10.3 Sedimentproben ... 200
10.3.1 Einzelanalyse verschiedener Stichproben ... 200

10.3.2 Vergleich vor und hinter der Einleitstelle 206
10.3.3 Datumsbetrachtung hinsichtlich Sedimentproben 213
10.3.4 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Sediment und KA-Ablauf 215
10.3.5 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Sediment und Temperatur 216
10.3.6 Zusammenfassung 217
10.4 Schwebstoffproben 218
10.4.1 Vergleich vor und hinter der Einleitstelle 218
10.4.2 Anteil von adsorbierten und gelösten Phosphonaten in Flussproben 225
10.4.3 Datumsbetrachtung hinsichtlich der Schwebstoffproben 227
10.4.4 Nachprüfungen hinsichtlich des Einflusses von Algenbildung bis zur Zentrifugierung 228
10.4.5 Zusammenfassung 232
10.5 Umwandlungsprodukte der Phosphonate 233
11 Anhang 236
11.1 Standardarbeitsanweisungen 236
11.1.1 Kalibration mit Phosphonat-Standards aus Trinkwasser 237
11.1.2 Analytische Methode: Trennung und Detektion 238
11.1.3 Probenvorbereitung: Oberflächenwasser 240
11.1.4 Anreicherungsmethoden für Trink- und Oberflächenwässer 241
11.1.5 Probenvorbereitung: Abwasser 242
11.1.6 Probenvorbereitung: Schwebstoffe u. Sedimente (Fluss) 243
11.1.7 Probenvorbereitung: Abwasser-Feststoffe 244
11.1.8 Informativ: Saure Aufschlüsse von Feststoffen 245
11.2 Standard operating procedure 246
11.2.1 Calibration of phosphonate standards from drinking water 247
11.2.2 Analytical method: separation and detection 248
11.2.3 Sample preparation: surface water 250
11.2.4 Enrichment procedures for drinking- and surface water 251
11.2.5 Sample preparation: waste water 252
11.2.6 Sample preparation: suspended matter and sediment (river) 253
11.2.7 Sample preparation: waste water solids 254
11.2.8 Informative: acid digestion of solid samples 255
11.3 Analysen (Einzelwerte in Tabellenform) 256
11.3.1 Messwerte der Phosphonate: S-Mühlhausen am Neckar 256
11.3.2 Messwerte der Phosphonate: S-Möhringen an der Körsch 262

12 Quellenverzeichnis.....267

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Luftaufnahme des Hauptklärwerks in Stuttgart-Mühlhausen (Google Earth). 56

Abbildung 2: Verfahrensübersicht des Hauptklärwerks in Stuttgart-Mühlhausen (adaptiert nach SES, 2009). 57

Abbildung 3: Sediment- und Schwebstoffprobenahmestellen im Neckar (Google Maps). 58

Abbildung 4: Sedimentprobengewinnung im Neckar oberstrom der Kläranlage mittels Schlauchboot. 60

Abbildung 5: Schwebstoffbeprobung des Neckars oberstrom der Kläranlage sowie Stichprobenahmestelle. 60

Abbildung 6: Schwebstoff-, Stichproben- und Sedimentprobenahmestelle des Neckars unterstrom der Kläranlage. 61

Abbildung 7: Verteilung der Neckarbeprobungen über die Jahre 2016 und 2017. 62

Abbildung 8: Luftaufnahme der Kläranlage S-Möhringen (Google Earth). 64

Abbildung 9: Verfahrensübersicht der Kläranlage S-Möhringen (adaptiert nach SES, 2013). 65

Abbildung 10: Übersicht über die Stich-, Sediment- und Schwebstoffprobenahmestellen in der Körsch (Google Earth). 66

Abbildung 11: Sediment- und Stichprobenahmestelle der Körsch oberstrom der Kläranlage. 67

Abbildung 12: Sediment- und Stichprobenahmestelle der Körsch oberstrom der Kläranlage (nähere Betrachtung). 67

Abbildung 13: Schwebstoffprobenahmestelle der Körsch oberstrom der Kläranlage auf dem Kläranlagengelände. 68

Abbildung 14: Schwebstoffbeprobung der Körsch unterstrom der Kläranlage (Ostseite der Brücke). 68

Abbildung 15: Sediment- und Stichprobenahmestelle der Körsch unterstrom der Kläranlage (Westseite der Brücke). 69

Abbildung 16: Sediment- und Stichprobenahmestelle der Körsch unterstrom der Kläranlage (nähere Betrachtung). 69

Abbildung 17: Verteilung der Körschbeprobungen über die Jahre 2016 und 2017. 70

Abbildung 18: Automatischer Probenehmer für durchflussproportionale Probenahme, gekühlt. 72

Abbildung 19: Zentrifuge Padberg CEPA Z41 zur Schwebstoffgewinnung. 74

Abbildung 20: Schwebstoffmasse bei 4,5 m³ Durchsatz eines Baches (ungetrocknet ca. 100 g). 75

Abbildung 21: Auf Schlauchboot montierter Greifer nach Ekman-Birge bzw. nach Lenz. 76

Abbildung 22: Beispiel einer ^{31}P-NMR-Messung zur Unterscheidung zwischen Phosphorsäureestern und Phosphonaten in marinen Feststoffproben. Im oberen Bild wurde partikuläres Material aus dem Meerwasser gemessen, im unteren Bild marines Sediment. [Aus Benitez-Nelson *et al.*, 2004; Copyright © 2004 by John Wiley Sons, Inc. Reprinted by permission of John Wiley & Sons, Inc.] 79

Abbildung 23: Bestimmung von Phosphonaten im Abwasser via IPC-UV. Oben: ATMP (2; 223 µg/L) und EDTMP (3; 65 µg/L) in einem KA-Zulauf (Schwarze Linie) und nach Standardaddition (gepunktete Linie); Unten: DTPMP (5; 1146 g/L) in einem anderen KA-Zulauf (schwarze Linie) und nach Standardaddition (gepunktete Linie); HEDP eluiert bei 8 min und wird durch andere Signale überlagert. [Aus Nowack, 1997; Copyright © 1997 by Elsevier. Reprinted by permission of Elsevier] 82

Abbildung 24: Massenspektren eines EDTMP-Standards (20 mg/L) durch eine IPC-ESI-MS Methode (Aus Knepper *et al.*, 2002). Oben: Spektrum ohne Suppression (Natrium-Addukte vorhanden). Unten: Spektrum nach Suppression (Detektion von EDTMP als einfach und zweifach geladenes Molekülion). 83

Abbildung 25: Ionenspektrum eines Phosphonat-Multistandards (je 20 mg/L) durch die IPC-ESI-MS Methode nach Suppression (Aus Knepper *et al.*, 2002). Detektion der Phosphonate als Molekülionen ($[M-H]^-$): ATMP (m/z 298), DTPMP (m/z 572), EDTMP (m/z 435), HDTMP (m/z 491), HEDP (m/z 205), PBTC (m/z 269). 84

Abbildung 26: Chromatogramm einer aufkonzentrierten dotierten Trinkwasserprobe nach Ionenaustausch (Phosphonatgehalte: je 2 µg/L; Zugabe von 300 µg/L DTPA zum Eluenten). [Aus Schmidt *et al.*, 2013; Copyright © 2013 by Taylor and Francis. Reprinted by permission of Taylor and Francis] 86

Abbildung 27: Chromatogramm einer Oberflächenwasserprobe (Rhein bei Karlsruhe) nach Ionenaustausch und Anreicherung. [Aus Schmidt *et al.*, 2013; Copyright © 2013 by Taylor and Francis. Reprinted by permission of Taylor and Francis] 87

Abbildung 28: Adsorption von ATMP (10 µmol/L) an Goethit als Funktion des pH in Ab- und Anwesenheit von Zn, Cu oder Fe(III) (äquimolar) bzw. Ca (1 mmol/L). [Aus Nowack, 2003; Copyright © 2003 by Elsevier. Reprinted by permission of Elsevier.] 89

Abbildung 29: Adsorption von ATMP-Metallkomplexen an Belebtschlamm als Funktion des pH-Werts (1 g/L Belebtschlamm, 1 mmol/L NaCl, 3,7 µmol/L ATMP). [Aus Nowack, 2002a; Copyright © 2002 by Elsevier. Reprinted by permission of Elsevier] 90

Abbildung 30: Differenzierung unterschiedlicher organischer Phosphorspezies, einschließlich Phosphonaten, in Streu (L-Horizont) durch ^{31}P-NMR. Extraktion durch eine 1:1-Mischung aus 0,5 mol/L NaOH und 0,1 mol/L EDTA. [Aus Cade-Menun *et al.,* 2002; Copyright © 1972 by American Society of Agronomy Inc. Reprinted by permission of American Society of Agronomy Inc.] 92

Abbildung 31: Links: Chromatogramm eines Phosphonat-Multistandards mittels IC-Trennung und ICP-MS-Detektion (Phosphonatgehalte: je 1 mg/L). Rechts: gleicher Standard und gleiche Chromatographie mit hochauflösender ESI-TOF-Detektion. 95

Abbildung 32: Links: Chromatogramm mittels IC-Trennung und ICP-MS-Detektion eines DTPMP-Standards und eines Antiscalant-Handelsproduktes mit DTPMP als einzigen angegebenen phosphorhaltigen Wirkstoff. Rechts: gleiches Handelsprodukt und gleiche Chromatographie, jedoch mit hochauflösender ESI-TOF-Detektion. 96

Abbildung 33: Syntheseschema mit adaptierten Mengenangaben zur Herstellung von ^{13}C-markiertem ATMP....100

Abbildung 34: Störion (28,8 min) bei der Bestimmung von ATMP in einer Wasserprobe (Körsch). Links: stärkster Massenübergang des ATMP (24,4 min); rechts: entsprechender Massenübergang des IS. Blau markiert: ATMP....102

Abbildung 35: Störion (25,4 min) bei der Bestimmung von DTPMP in einer Wasserprobe (Rhein). Links: stärkster Massenübergang des DTPMP (27,5 min); rechts: entsprechender Massenübergang des IS. Blau markiert: ATMP....102

Abbildung 36: Beispieltrennungen mit erweiterter Spülmethode. IC-LF-Analyse von Sedimentaufschlüssen hinter der Einleitstelle mit zwei unterschiedlichen Aufschlusstechniken: Aufschluss mit NaOH (schwarz), Aufschluss mit NaOH-EDTA (blau) und Phosphonat-Multistandard in Reinstwasser mit 1 mg/L (pink). 104

Abbildung 37: Beispieltrennungen mit erweiterter Spülmethode. Leitfähigkeitsdetektion von Sediment-aufschlüssen mit NaOH-EDTA vor (schwarz) und hinter der Einleitstelle (blau), sowie eines Phosphonat-Multistandards mit 1 mg/L (pink). 104

Abbildung 38: Standardeluent. Teilbilder (A) und (B): Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards (1 mg/L) in Reinstwasser (blau) und in einer Aufschlussmatrix mit den Maximalgehalten an möglichen Aufschlussmitteln (EDTA, Nitrat, Chlorid, Trichloracetat). Teilbild (C): Extrahierte Massenspuren des Phosphonat-Standards aus der IC-ESI-TOF-Kopplung. 107

Abbildung 39: Elutions-Modifikation (I). Teilbilder (A) und (B): Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards (1 mg/L) in Reinstwasser (blau) und in einer Aufschlussmatrix mit den Maximalgehalten an möglichen Aufschlussmitteln (EDTA, Nitrat, Chlorid, Trichloracetat). Teilbild (C): Extrahierte Massenspuren des Phosphonat-Standards aus der IC-ESI-TOF-Kopplung. 108

Abbildung 40: Elutions-Modifikation (II). Teilbilder (A) und (B): Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards (1 mg/L) in Reinstwasser (blau) und in einer Aufschlussmatrix mit den Maximalgehalten an möglichen Aufschlussmitteln (EDTA, Nitrat, Chlorid, Trichloracetat). Teilbild (C): Extrahierte Massenspuren des Phosphonat-Standards aus der IC-ESI-TOF-Kopplung. 109

Abbildung 41: Chromatogramme (Leitfähigkeitsdetektion) eines Sedimentaufschlusses (blau), eines Abwasser-Feststoffaufschlusses (pink) und eines Phosphonat-Multistandards (schwarz) durch die überarbeitete Methode (Probenaufschluss mit NTA, Zusatz von 20 % Methanol zum Eluenten). Chlorid: 5 min, Sulfat: 12,5 min, NTA: 15 min bis 21,5 min. Phosphonat-Multistandard: HEDP (21,5 min), in zeitlicher Folge: ATMP, EDTMP, PBTC, DTPMP. Durch den starken Matrixeinfluss der Feststoffextrakte verschiebt sich die Retentionszeit des HEDP bei den Proben um ca. 0,5 min nach hinten (im Vergleich zum Multistandard aus HPLC-Wasser), sodass die Substanz zeitgleich mit Abklingen des NTA-Signals eluiert. 110

Abbildung 42: Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards in Reinstwasser mit 100 µg/L. Injektion von 1x 100 µL (blau) und 4x 25 µL (rot). Extraktion der exakten Massen mit ±10 ppm. 111

Abbildung 43: Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards in Karlsruher Trinkwasser mit 100 µg/L. Injektion von 1x 100 µL (blau) und 4x 25 µL (rot). Extraktion der exakten Massen mit ±10 ppm. 112

Abbildung 44: Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards in Oberflächenwasser (Rhein) mit 100 µg/L. Injektion von 1x 100 µL (blau) und 4x 25 µL (rot). Extraktion der exakten Massen mit ±10 ppm. 112

Abbildung 45: IC-ESI-TOF-Chromatogramme von Phosphonat-Multistandards in Karlsruher Trinkwasser. Injektionsvolumen und Gehalte: 500 µL mit 1 µg/L (rot), 50 µL mit 10 µg/L (grün) und 5 µL mit 100 µg/L (blau). Extraktion der exakten Massen mit ±10 ppm (Reihenfolge der Analyten v.l.n.r.: HEDP, ATMP, EDTMP, PBTC, DTPMP). 113

Abbildung 46: Lineare Darstellung der OCE-Kalibration (5x 50 µL) aus unterschiedlichen Matrices. Blau: Einfachinjektion (50 µL) des 10-fach höher konzentrierten Standards. Orange, Grau und Gelb: Konzentrationen entsprechend der x-Achsenbeschriftung. 115

Abbildung 47: Logarithmische Darstellung der OCE-Kalibration (5x 100 µL) aus unterschiedlichen Matrices. Blau: Einfachinjektion (50 µL) des 10-fach höher konzentrierten Standards. Orange, Grau und Gelb: Konzentrationen entsprechend der x-Achsenbeschriftung. Die Bestimmungsgrenzen aus Leitungswasser sind markiert. PBTC lag im Rheinwasser bereits in einer Konzentration von ca. 0,1 µg/L vor. 116

Abbildung 48: Auftreten spezifischer (A, oben) und unspezifischer (A, unten; B, oben und unten) Massenübergänge in Schwebstoffproben. 119

Abbildung 49: Lineare Auftragung der Direktkalibration. Vergleich der Signalflächen bei der Kalibration von ATMP und PBTC zwischen 0,01 µg/L (nicht dargestellt) und 100 µg/L durch drei Chromatographievarianten: Nach Schmidt *et al.* (blau), nach Schmidt *et al.* mit zusätzlich 20 % Methanol (orange) und mit 20 % Methanol und einem zusätzlichen 10-minütigen Spülschritt bei verdünntem Eluenten (grau). Probe V1: Überprüfung der Verschleppung nach dem höchsten Kalibrierpunkt. 121

Abbildung 50: Logarithmische Auftragung der Direktkalibration. Vergleich der Signalflächen bei der Kalibration von ATMP und PBTC zwischen 0,01 µg/L und 100 µg/L durch drei Chromatographiemethoden: Nach Schmidt *et al.* (blau), nach Schmidt *et al.* mit zusätzlich 20 % Methanol (orange) und mit 20 % Methanol und einem zusätzlichen 10-minütigen Spülschritt bei verdünntem Eluenten (grau). Probe V1: Überprüfung der Verschleppung nach höchstem Kalibrierpunkt. 123

Abbildung 51: Kalibration mit IS-Korrektur aus Leitungswasser: DIR und OCE-Methode. y-Achse: Quotient aus der Integralfläche des Analytsignals und der Integralfläche des korrespondierenden IS-Signals.....125

Abbildung 52: Ausbeuten der Einfachextraktion von Sedimentproben (Sed; blau) und Fluss-Schwebstoffproben (Sw; orange). Dreierblöcke jeweils v.l.n.r. zeigen NaOH-, NaOH-EDTA-, NaOH-NTA-Extraktion; NaOH-Gruppen: NaOH-Konzentration variiert 0,5 mol/L, 0,05 mol/L, 0,005 mol/L; NaOH-EDTA & NaOH-NTA-Gruppen: NaOH-Konzentration konstant bei 0,5 M, Konzentration des zusätzlichen Komplexbildners variiert: 0,1 mol/L, 0,01 mol/L, 0,001 mol/L.....130

Abbildung 53: Effizienz dreier konsekutiver Extraktionen von ATMP, PBTC und dem korrespondierenden Internen Standard aus Sediment (Sed) und Fluss-Schwebstoff (Sw); 3er-Blöcke 1 und 2 = 0,5 mol/L NaOH; 3er Blöcke 3 und 4 = 0,5 mol/L NaOH + 0,1 mol/L EDTA; 3er Blöcke 5 und 6 = 0,5 mol/L NaOH + 0,1 mol/L NTA. 132

Abbildung 54: Relative Extraktionseffizienz der drei Extraktionsschritte einer Sediment und einer Abwasser-Feststoffprobe nach Variante 1: Auftragung der Integralflächen von Analyt und korrespondierendem IS. Die aufsummierten Integrale von Extrakt 1, 2 und 3 wurden als 100 % definiert.....134

Abbildung 55: Absolute Analytmengen in den drei Extraktionsschritten einer Sediment und einer Abwasser-Feststoffprobe nach Variante 2 (Angaben in mg/kg lyophilisiertem Feststoff). Konzentrationsreihenfolge im Sediment HEDP > PBTC > DTPMP > ATMP > EDTMP; im Abwasser-Feststoff: HEDP > DTPMP > PBTC > ATMP > EDTMP. Die Gehalte von EDTMP und HEMPA lagen in einem Bereich nahe der Bestimmungsgrenze. 135

Abbildung 56: Gefriergetrocknete Schwebstoffe verschiedener Probenahmen, bei denen die Schwebstoffextraktion teilweise mehrere Wochen nach Probenahme durchgeführt wurde. Sehr gut ist die Grünfärbung durch Algenbildung während der Standzeit der IBCs zu erkennen. 142

Abbildung 57: Gemessene Temperatur bei den einzelnen Probenahmen.....144

Abbildung 58: Boxplotdarstellungen der gemessenen Temperaturen (Quartile, Median, Minimum und Maximum). 145

Abbildung 59: Durchflüsse der Kläranlagen zum Zeitpunkt der Flussbeprobungen, Abfluss der Körsch und Wasserstand des Neckars im Bereich der Probenahmestelle oberstrom der Kläranlage (Hofen). 146

Abbildung 60: Boxplotdarstellungen der Kläranlagendurchflüsse und Abflüsse/Wasserstände der Vorfluter vor der Einleitstelle (Quartile, Median, Minimum und Maximum). 147

Abbildung 61: pH-Werte der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 148

Abbildung 62: Boxplotdarstellungen der pH-Werte der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Quartile, Median, Minimum und Maximum). 149

Abbildung 63: Elektrische Leitfähigkeit der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 150

Abbildung 64: Boxplotdarstellungen der elektrischen Leitfähigkeit der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Quartile, Median, Minimum und Maximum). 151

Abbildung 65: Feststoffkonzentration in den Kläranlagenzulauf-24-h-Mischproben und Fließgewässerproben zur Schwebstoffextraktion. Untere Zahlen in Balken: Wochenzahl zwischen Probenahme und Zentrifugierung/Schwebstoffextraktion der Flussproben (grün markiert, wenn Algenwachstum aufgrund kurzer Wartezeit nicht zu erwarten war). Obere Zahlen in Balken: Wasserstand in Hofen (in m; oben); Durchfluss der Körsch (in L/s; unten) (rote Markierungen bei stark erhöhtem Durchfluss). 153

Abbildung 66: Boxplotdarstellungen der Feststoffkonzentration in den Kläranlagenzulauf-24-h-Mischproben und Fließgewässerproben (Quartile, Median, Minimum und Maximum). 154

Abbildung 67: Darstellung der Schwebstoff-/Feststoffkonzentration in Fließgewässerproben abhängig von der Dauer bis zur Zentrifugierung nach der Probenahme. 154

Abbildung 68: Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 156

Abbildung 69: Boxplotdarstellungen des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Quartile, Median, Minimum und Maximum). 157

Abbildung 70: P-Fraktionen in S-Mühlhausen-24-h-Mischproben und Neckarstichproben (Aktivkohleanlage am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 159

Abbildung 71: P-Fraktionen in S-Mühlhausen-24-h-Mischproben und Neckarstichproben (Mediane). 160

Abbildung 72: P-Fraktionen in S-Möhringen-24-h-Mischproben und Körsch-Stichproben. 162

Abbildung 73: P-Fraktionen in S-Möhringen-24-h-Mischproben und Körsch-Stichproben (Mediane). 163

Abbildung 74: S-Mühlhausen – KA-Zulauf – Adsorbierte und gelöste Phosphonate. 165

Abbildung 75: S-Möhringen – KA-Zulauf – Adsorbierte und gelöste Phosphonate. 166

Abbildung 76: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Phosphonatkonzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 169

Abbildung 77: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Phosphonat-P-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 170

Abbildung 78: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – PBTC-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 171

Abbildung 79: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – HEDP-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 172

Abbildung 80: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – ATMP-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 173

Abbildung 81: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – EDTMP-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 174

Abbildung 82: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – DTPMP-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb). 175

Abbildung 83: S-Mühlhausen & S-Möhringen – KA-Zulauf – Phosphonatkonzentrationen chronologisch nach Probenahmedatum sortiert. 177

Abbildung 84: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Eliminationsgrade aller Phosphonate. 180

Abbildung 85: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Vergleich der Phosphonateliminationsgrade. Für ATMP, EDTMP und DTPMP sind Mindesteliminationsgrade angegeben. 182

Abbildung 86: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Vergleich der Ablaufkonzentrationen aller Phosphonate. 183

Abbildung 87: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Anteile von Phosphonat-P am GUP. 184

Abbildung 88: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlagenablauf – Korrelation der Phosphonatelimination mit Temperatur und Durchfluss. 186

Abbildung 89: Neckar – Fluss – Gelöstphosphonatkonzentrationen vor und hinter der Einleitstelle. 188

Abbildung 90: Körsch – Fluss – Gelöstphosphonatkonzentrationen vor und hinter der Einleitstelle. 191

Abbildung 91: Neckar & Körsch – Fluss – Gelöstphosphonatkonzentrationen nach Datum sortiert. 195

Abbildung 92: Neckar & Körsch – Fluss – Korrelation Fluss- mit KA-Ablaufkonzentration. 196

Abbildung 93: Neckar & Körsch – Fluss – Korrelation Flusskonzentration mit Elimination in Kläranlage. 197

Abbildung 94: Neckar & Körsch – Fluss – Korrelation Flusskonzentration mit Temperatur & Wasserstand/Durchfluss. 198

Abbildung 95: Neckar – Sediment – Einzelanalyse verschiedener Stichproben der ersten vier Probenahmen. Die Meterangaben stellen die Entfernung bis zur Einleitstelle dar. 201

Abbildung 96: Neckar – Sediment – Phosphonatbeladungen vor und hinter der Einleitstelle. 206

Abbildung 97: Körsch – Sediment – Phosphonatbeladungen vor und hinter der Einleitstelle. 209

Abbildung 98: Phosphonatgehalte im Tiefenprofil eines Rheinsediments. 212

Abbildung 99: Neckar & Körsch – Sediment – Phosphonatbeladungen chronologisch nach Probenahmedatum sortiert. 214

Abbildung 100: Neckar & Körsch – Sediment – Korrelation Beladung mit KA-Ablaufkonzentration. 215

Abbildung 101: Neckar & Körsch – Sediment – Korrelation Beladung mit Flusstemperatur. 216

Abbildung 102: Neckar – Schwebstoffe – Phosphonatbeladungen vor und hinter der Einleitstelle. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben. 219

Abbildung 103: Körsch – Schwebstoffe – Phosphonatbeladungen vor und hinter der Einleitstelle. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben. 222

Abbildung 104: Neckar – Fluss & Schwebstoffe – Adsorbierte und gelöste Phosphonate. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben. 225

Abbildung 105: Körsch – Fluss & Schwebstoffe – Adsorbierte und gelöste Phosphonate. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben. 226

Abbildung 106: Neckar & Körsch – Schwebstoffe – Phosphonatbeladungen nach Datum sortiert. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben. 227

Abbildung 107: Neckar & Körsch – Schwebstoffe – Korrelation Beladung mit Dauer bis Zentrifugierung. 229

Abbildung 108: Neckar & Körsch – Schwebstoffe – Korrelation Beladung mit Feststoffkonzentration. 230

Abbildung 109: Neckar & Körsch – Schwebstoffe – Korrelation Beladung mit Wasserstand/Durchfluss....231

Abbildung 110: Analyse einer moderat belasteten Sedimentprobe via IC-ESI-TOF (negativer Messmodus). Orange: substanzunabhängige *Molecular-Feature*-Suche nach chromatographischen Signalen. Schwarze und rote Kurve: Extraktion von m/z 78,9591 (PO_3^--Signal) nach Fragmentierung mit 40 eV. Grün: Signal des PBTC als stärkstes Analytsignal in dieser Probe. 234

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Spannweite der Phosphonatgehalte in den im Rahmen des Projekts untersuchten Matrices (belastete und unbelastete Proben). Flusswasser: BG = 0,1 µg/L; KA-Zulauf und Ablauf NK: BG = 1 µg/L; Flusssediment und Flussschwebstoff: BG = 0,03 mg/kg; Feststoff (Abwasser): BG = 0,3 mg/kg. 33

Tabelle 2: Übersicht der in diesem Projekt untersuchten Phosphonate, die u. a. in Wasch- und Reinigungsmitteln enthaltenen sind....51

Tabelle 3: Übersicht aller Probenahmestellen und Probenarten. 54

Tabelle 4: GPS-Koordinaten aller Probenahmestellen im Neckar....59

Tabelle 5: GPS-Koordinaten aller Probenahmestellen in der Körsch....66

Tabelle 6: Schema der Probenvorbereitung, Anreicherung und Analytik zur Bestimmung von Phosphonaten im Spurenbereich (nach Schmidt *et al.*, 2013). 86

Tabelle 7: Wiederfindungsraten der Phosphonate ATMP, EDTMP und DTPMP nach Dotierung in Trinkwasser, sowie zu Kläranlagenabflüssen; Anreicherung durch Adsorption an Calciumcarbonat (nach: Nowack, 1997). 88

Tabelle 8: Wiederfindungen von Phosphonaten aus Oberflächenwasser nach Festphasenanreicherung (SPE) durch einen schwachen Anionentauscher (Strata X-AW) (nach: Schmidt *et al.*, 2013). 88

Tabelle 9: Daten zur ^{31}P-NMR-Analyse der Sedimente dreier oligotropher schwedischer Bergseen: Angaben des relativen Anteils unterschiedlicher organischer Phosphorverbindungen, einschließlich Phosphonaten, am Gesamtphosphorpool (nach: Ahlgrena *et al.*, 2006). 92

Tabelle 10: Detektion von EDTA in verschiedenen Flüssen und Seen sowie Kläranlagenabflüssen in der Schweiz: Konzentrationen in der wässrigen Phase und im Sediment, einschließlich relativer Adsorptionsraten (nach: Nowack *et al.*, 1996). 94

Tabelle 11: Zusammenfassung der in der Literaturrecherche erfassten Methoden zur Phosphonatbestimmung. 97

Tabelle 12: Kenngrößen der eingesetzten Phosphonatstandards: Hersteller, Reinheitsangabe, Phosphatgehalt (ermittelt via Colorimetrie und photometrischer Detektion) und Gegenüberstellung des theoretisch zu erwartenden Phosphorgehalts mit dem durch ICP-MS sowie durch oxidativen Aufschluss (Peroxodisulfat-Oxidation mit nachfolgender colorimetrischer Phosphatbestimmung) ermittelten Phosphorgehalt. Die Angaben beziehen sich jeweils auf eine 1000 mg/L Stammlösung....99

Tabelle 13: Übersicht der verfügbaren isotopenmarkierten Standards. Repräsentativ für die Gruppe der Aminomethylenphosphonsäuren ist ATMP-$^{13}C_3$ aufgeführt. Bei der Synthese der Aminomethylenphosphonsäuren durch Einsatz von Formaldehyd-^{13}C resultieren Phosphonsäurederivate, deren Methylensubstituenten

^{13}C-Atome aufweisen: 3 beim ATMP, 4 beim EDTMP und 5 beim DTPMP. 101

Tabelle 14: Stärkste Massenübergänge und primäre Bestimmungsgrenzen (BG) mittels IC-ESI-MS/MS-Kopplung mittels Direktinjektion ohne Einsatz Interner Standards. 117

Tabelle 15: Übersicht der Bestimmungsgrenzen der Phosphonate aus HPLC-Wasser durch unterschiedliche Chromatographiemethoden via Einfachinjektion (50 µL). Mit Ausnahme des PBTC werden die niedrigsten Bestimmungsgrenzen durch die Methode mit 10-min Spülschritt und 20 % Methanol erreicht. 124

Tabelle 16: Durchgeführte Probenaufschlusstechniken in Anlehnung an Literaturquellen. 128

Tabelle 17: Gegenüberstellung der Befunde durch die Quantifizierung von Sediment und Abwasser-Feststoffen nach Variante 1 (Zugabe des Internen Standards zum Sediment vor der Extraktion und Quantifizierung der vereinten Extrakte) und Variante 2 (Zugabe des Internen Standards zu den einzelnen Extrakten nach der Extraktion und separate Quantifizierung der Gehalte der einzelnen Extrakte). 136

Tabelle 18: Zeitpunkte der Stichprobenahmen im Neckar und in der Körsch. 141

Tabelle 19: Dauer bis zur Zentrifugierung der Schwebstoffproben. 143

Tabelle 20: Mediane in mg/L (links) sowie Eliminationsgrade in % (rechts) der Gehalte einzelner Phosphorfraktionen in den 24-h-Kläranlagenmischproben (S-Mühlhausen) und Neckarstichproben. 158

Tabelle 21: Mediane (links) sowie Eliminationsgrade (rechts) der Konzentrationen einzelner Phosphorfraktionen in den 24-h-Kläranlagenmischproben (S-Möhringen) und Körsch-Stichproben. 161

Tabelle 22: Übersicht der Phosphonatkonzentrationen (in µg/L) in beiden Kläranlagen. 168

Tabelle 23: Übersicht der Phosphonat-P-Konzentrationen (in µg/L) in beiden Kläranlagen. 168

Tabelle 24: Übersicht aller Phosphonateliminationsgrade (in %) beider Kläranlagen. 179

Tabelle 25: Neckar – Sediment – Vergleich der Mittelwerte aus mehreren Stichproben der ersten vier Probenahmen. 205

Tabelle 26: Gegenüberstellung der im Körschsediment vor der Einleitstelle bestimmten Phosphonatgehalte mit Gehalten in den Sedimenten dreier möglichst unbelasteter Gewässer. 213

Tabelle 27: Übersicht der Standardarbeitsanweisungen zur Phosphonat-Analytik. 236

Tabelle 28: Abwasserproben Standort S-Mühlhausen am Neckar. 256

Tabelle 29: Flusswasserproben Standort S-Mühlhausen am Neckar. 258

Tabelle 30: Sedimentproben Standort S-Mühlhausen am Neckar. 259

Tabelle 31: Schwebstoffproben Standort S-Mühlhausen am Neckar. 260

Tabelle 32: Feststoffproben KA-Zulauf Standort S-Mühlhausen am Neckar. 261
Tabelle 33: Abwasserproben Standort S-Möhringen an der Körsch. 262
Tabelle 34: Flusswasserproben Standort S-Möhringen an der Körsch. 263
Tabelle 35: Sedimentproben Standort S-Möhringen an der Körsch. 264
Tabelle 36: Schwebstoffproben Standort S-Möhringen an der Körsch. 265
Tabelle 37: Feststoffproben KA-Zulauf Standort S-Möhringen an der Körsch. 266

Abkürzungsverzeichnis

^{31}P-NMR	Kernspinresonanzanalyse auf Basis des Phosphorisotops ^{31}P
AFS	Abfiltrierbare Stoffe
AK	Aktivkohle
AMPA	Aminomethylphosphonsäure
amu	Atomare Masseneinheit
AP	Arbeitspaket
ATMP	Aminotrismethylenphosphonsäure bzw. Nitrilotris(methylenphosphonsäure)
β	Konzentration in Masse pro Volumen
BG	Bestimmungsgrenze
c	Konzentration in Stoffmenge pro Volumen
CBA	Cost-benefit analysis
COD	chemical oxygen demand
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
DIR	Direktmessung
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
DTPMP	Diethylentriaminpenta(methylenphosphonsäure)
DUP	dissolved unreactive phosphorus
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EDTMP	Ethylendiamintetra(methylenphosphonsäure)
EGS	Ecosystem Goods and Services
ESI-MS/MS	Electrospray Ionisierung in Kopplung mit Tandem-Massenspektrometrie
ESI-TOF	Electrospray Ionisierung in Kopplung mit Flugzeit-Massenspektrometrie
eV	Elektronenvolt
GUP	Gelöste unreaktive Phosphorfraktion
HEDP	Hydroxyethandiphosphonsäure
HELCOM	Kommission zum Schutz der Meeresumwelt im Ostseeraum (Convention on the Protection of the Marine Environment of the Baltic Sea Area)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IBC	Intermediate Bulk Container
IC	Ionenchromatographie (hier: Anionenchromatographie)
ICP-MS	Induktiv gekoppeltes Plasma mit massenspektrometrischer Detektion
IPC	Ionenpaarchromatographie
IS	Interner Standard
ISWA	Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft, Stuttgart

KA	Kläranlage
Korr.	Korrelation
KW	Kalenderwoche
L	Liter
LF	Leitfähigkeit
LFKW	Lehr- und Forschungsklärwerk
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MeOH	Methanol
MW	Mittelwert
N1A1	N: Neckar, 1: erste Probenahme, A: vor der Einleitstelle, 1: Probestelle 1
N1B1	N: Neckar, 1: erste Probenahme, B: hinter der Einleitstelle, 1: Probestelle 1
NaOH	Natriumhydroxid
NK	Nachklärung
NKB	Nachklärbecken
NTA	Nitrilotriacetat
OCE	Automatische 20-fache Anreicherung durch multiple Injektionen (on-column-enrichment)
PBTC	Phosphonobutantricarbonsäure
PN	Probenahme
PP	Partikuläre Phosphorfraktion
Q1	1. Quartil (25 %)
Q3	3. Quartil (75 %)
RP	Reversphasenchromatographie
SD	Sediment
Sed	Sediment
SF	Sandfilter
SOP	Standardarbeitsanweisungen
SPE	Festphasenanreicherung
SW	Fluss-Schwebstoffe
SW KA	Abwasser-Feststoffe bzw. Feststoffe
TLC	Dünnschichtchromatographie
TZW	DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe
Var.	Varianz
VK	Vorklärung
VKB	Vorklärbecken
WPR	Wasch-, Pflege- und Reinigungsmittel

Zusammenfassung

1.1 Probenahmekonzept

An den zwei Standorten Kläranlage Stuttgart-Mühlhausen (1,2 Millionen Einwohnerwerte, 60 Mio. m^3/a Abwasser, Zufluss: bis 7,5 m^3/s, Schnellsandfiltrationsstufe und halbtechnische Aktivkohleanlage, Bio-P-Elimination und P-Fällung, Vorfluter Neckar: 290 m^3/s) und Klärwerk Stuttgart-Möhringen (160 Tsd. Einwohnerwerte, 6 Mio. m^3/a bis 7 Mio. m^3/a Abwasser, Trockenwetterzufluss: 100 L/s bis 200 L/s, überwiegend kommunales Abwasser, Bio-P-Elimination und P-Fällung, sehr schwacher Vorfluter Körsch: 10 L/s bis 20 L/s) wurden zu zehn Zeitpunkten im Abstand von 1 bis 2 Monaten regelmäßig folgende Proben genommen: Zulauf Kläranlage (24-h-Mischprobe & Feststoffextrakt aus Zentrifugation), Ablauf Vorklärung (24-h-Mischprobe), Ablauf Nachklärung (24-h-Mischprobe), Ablauf Schnellsandfilter (24-h-Mischprobe) (nur S-Mühlhausen), Ablauf Aktivkohleversuchsanlage (24-h-Mischprobe) (nur S-Mühlhausen), Stich-, Sediment- (Neckar: Greifer nach Lenz montiert auf Schlauchboot, Körsch: Probenahmeschaufel) und Schwebstoffprobe (Zentrifugierung von 500 L bis 1.000 L) des Fließgewässers oberstrom sowie unterstrom der Einleitstelle. Die Stichproben wurden mit einem handelsüblichen Probenschöpfer gewonnen, während die 24-h-Mischproben mit automatischen Probenehmern gewonnen wurden. S-Mühlhausen/Neckar wurde beprobt in den Kalenderwochen 07, 14, 19, 23, 28, 31, 38, 40, 43, 47. S-Möhringen/Körsch wurde beprobt in den Kalenderwochen 05, 13, 18, 23, 28, 33, 38, 43, 48, 50.

Bei jeder Probenahme wurden vor Ort folgende Metadaten erfasst: GPS-Position, Datum/Uhrzeit, Luft-/Wassertemperatur, Wasserstand des Gewässers und Abfluss der Kläranlage. Neben der Bestimmung des Phosphonatgehalts aller genommenen Proben wurden von allen Flüssigproben noch folgende Parameter bestimmt: pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit, CSB (chemischer Sauerstoffbedarf), Gesamt-Phosphor, Gelöst-Phosphor, o-PO_4-Phosphor (β[Partikulärer Phosphor (PP)] = β[Gesamt-P] – β[Gelöst-P], β[Gelöster unreaktiver Phosphor (GUP)] = β[Gelöst-P] – β[o-PO_4-P]) und Feststoffgehalt der Kläranlagenzulauf- und Schwebstoffproben.

1.2 Besonderheiten bzgl. Probenahmen

Bei den ersten vier Probenahmen im Neckar wurden jeweils oberhalb und unterhalb der Kläranlageneinleitstelle mehrere Sedimentproben (i. d. R. 5 bis 6) genommen, einzeln gefriergetrocknet und einzeln auf Phosphonate hin analysiert (ab der fünften Probenahme wurden 5 bis 6 Proben vermischt und als Mischprobe analysiert). An drei von zehn Probenahmezeitpunkten war die Aktivkohleversuchsanlage nicht aktiv. In der Körsch wurden je Probenahmestelle fünf Sedimentproben mit einer Probenahmeschaufel genommen. Diese wurden erst nach der Gefriertrocknung miteinander vermischt und als Mischprobe auf den Phosphonatgehalt hin analysiert.

1.3 Herausforderungen bei den Probenahmen

Die angestrebte Dauer zwischen der Gewinnung der Flussstichproben ober- und unterstrom der Kläranlagen (Neckar: ca. 70 min, Körsch: 40 min bis 60 min) konnte erst ab der dritten Probenahme wegen anfänglicher Schwierigkeiten eingehalten werden. Die Gewinnung der großen Mengen an Flussproben (500 L bis 1.000 L) mittels Tauchpumpe und Notstromaggregat vor Ort erfolgte überwiegend problemfrei. Aufgrund des Ausfalls der ISWA-eigenen Schwebstoffzentrifuge zu Beginn des Vorhabens betrug die Dauer zwischen Probenahme und Zentrifugierung der Probe bei einigen Proben allerdings mehrere Wochen (bis zu 23 Wochen). Da in dieser Zeit sichtbar Algenwachstum eintrat, ist somit in Proben mit langer Standzeit mit leichten Verfälschungen der erfassten Feststoffkonzentration zu rechnen.

1.4 Ergebnisse hinsichtlich zusätzlich erfasster Daten

Die erfassten Abwassertemperaturen bei den Probenahmen lagen zwischen 13 °C und 22 °C, einem für Mikroorganismen geeigneten Bereich. Lediglich während einer Probenahme lag in der Kläranlage S-Möhringen mit 8,8 °C eine relativ niedrige Abwassertemperatur vor. Eine temperaturbedingte Verschlechterung der Bio-P-Eliminationsleistung dürfte hier durch eine verstärkte P-Fällung kompensiert worden sein. Die Flusstemperatur war in der Regel ähnlich der Lufttemperatur, während die Abwassertemperatur im Frühjahr, Herbst und Winter signifikant darüber lag.

Der Wasserstand und die Wasserführung des Neckars variierten bei allen Probenahmen kaum (2,20 m; ca. 286 m^3/s). Die Kläranlage S-Mühlhausen leitete demnach stets weniger als 1 % des Neckarvolumenstroms in den Neckar ein. Das Klärwerk S-Möhringen leitete dagegen das 2- bis 37-fache des Volumenstroms des Flusses in die Körsch ein. Ferner traten teilweise leicht erhöhte Durchflüsse in S-Möhringen auf (z. B. KW05, KW18), was auf regenreiches Wetter zurückzuführen ist.

Der pH-Wert lag in der Regel in allen Proben im Bereich zwischen 7 und 8, einem für Mikroorganismen und die P-Fällung anzustrebenden Bereich.

Die Einleitung der Kläranlage S-Mühlhausen hatte keinen die elektrische Leitfähigkeit des Neckars verändernden Einfluss, während die elektrische Leitfähigkeit im Falle der Körsch sogar geringer wurde.

Die Konzentration abfiltrierbarer Stoffe im Zulauf des Klärwerks S-Mühlhausen lag in der Regel zwischen 250 mg/L und 400 mg/L, während die des Klärwerks S-Möhringen in der Regel zwischen 190 mg/L und 280 mg/L lag. Zu regenreichen Zeiten, wie in KW05 konnte die Feststoffkonzentration im Kläranlagenzulauf auch nur 170 mg/L betragen, während in der Körsch die Feststoffkonzentration dagegen in der entsprechenden KW mit ca. 15 mg/L signifikant höher ausfiel als bei Trockenwetter (2 mg/L bis 3 mg/L in KW50). Beobachtungen zeigten, dass mit längeren Standzeiten der IBCs aufgrund von Verzögerungen durch eine fehlende Schwebstoffzentrifuge ein verstärktes Algenwachstum eintrat. Sehr lange Standzeiten wirkten sich allerdings nicht um ganze Größenordnungen auf eine Erhöhung der Feststoffkonzentration aus. Sicherheitshalber sollten allerdings eventuell die erfassten Feststoffkonzentrationen bei den Proben mit mindestens 20 Wochen Standzeit mit Vorsicht betrachtet werden, da hier teilweise leicht überdurchschnittlich hohe Feststoffkonzentrationen festgestellt wurden. Beispielhaft anhand KW19 ist zu sehen, dass der Neckar an dem Tag mit der höchsten Feststoffkonzentration (ca. 50 mg/L) auch den höchsten Wasserstand (2,40 m) im Gegensatz zu i. d. R. 2,12 m bis 2,25 m und damit den höchsten Durchfluss aufwies. Die belastbarsten Proben aus Kalenderwochen 31, 38 und 43 sind die Proben, die noch innerhalb einer Woche zentrifugiert werden konnten. Hier ist sehr gut zu erkennen, dass sich die Schwebstoffkonzentration vor und hinter der Kläranlageneinleitstelle kaum veränderte. Im Falle der Körsch gehörten Proben der Kalenderwochen mit dem niedrigsten Durchfluss vor der Kläranlageneinleitung zu den Proben mit den niedrigsten Feststoffkonzentrationen. Die Feststoffkonzentration in der Körsch veränderte sich durch die Kläranlageneinleitung stärker als die im Neckar. Ferner war hinter der Kläranlageneinleitstelle in der Körsch die P-Konzentration signifikant höher als vor der Einleitstelle, sodass in ersteren Proben bei längeren Standzeiten der IBCs vor der Zentrifugierung verstärktes Algenwachstum eintreten konnte. Die Schwebstoffkonzentrationen aus Kalenderwochen 33, 38, 43 und 48 sind aufgrund der sehr kurzen Standzeiten der IBCs am belastbarsten.

Der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) im Zulauf der Kläranlage S-Mühlhausen betrug typischerweise 630 mg/L bis 790 mg/L, während dieser in S-Möhringen zwischen 390 mg/L und 530 mg/L lag. Die in S-Möhringen relativ geringen CSB-Konzentrationen im Falle von zwei Kalenderwochen (5 und 18) von 270 mg/L bis 280 mg/L sind auf Verdünnung durch Regenwasser während sehr regenreicher Tage zurückzuführen. Im Klärwerk S-Mühlhausen lagen nach der biologischen Behandlung im Durchschnitt nur noch ca. 3 % des ursprünglichen CSB vor (ca. 97,1 % Elimination, 20 mg/L bis 24 mg/L CSB im

Nachklärbeckenablauf). Im Sandfilterablauf lagen noch 16 mg/L bis 19 mg/L CSB (97,6%ige Elimination) und im Aktivkohlefilterablauf noch 13 mg/L bis 15 mg/L CSB (98,0%ige Elimination) vor. Der CSB des Neckars hinter der Kläranlageneinleitung war mit einem Median von 12 mg/L nur unwesentlich höher als vor der Kläranlageneinleitung mit 11 mg/L. Im Ablauf der Nachklärung des Klärwerks S-Möhringen lagen noch 19 mg/L bis 25 mg/L vor, was einem CSB-Eliminationsgrad von etwa 95 % entspricht. Hinsichtlich des CSB in der Körsch gilt es die regenreichen Kalenderwochen 5 und 18 von den trockenen Kalenderwochen 13, 23, 43 und 50 zu unterscheiden. In trockenen Phasen wurde der CSB der Körsch durch die Kläranlageneinleitung von durchschnittlich 12 mg/L auf 23 mg/L erhöht. In der regenreichen KW05 war der CSB vor der Kläranlageneinleitstelle mit 52 mg/L höher als hinter der Kläranlageneinleitstelle mit 37 mg/L.

Hinsichtlich der Eliminationsleistung von Phosphor müssen die verschiedenen Phosphorfraktionen unterschieden werden. So ist offensichtlich, dass in S-Mühlhausen in der Vorklärung überwiegend die partikuläre Phosphorfraktion (PP) eliminiert wird. Die Phosphatfraktion (91,6%ige Elimination) und gelöste unreaktive Phosphorfraktion (GUP) (88,8%ige Elimination) werden dagegen erst durch die biologische Behandlung signifikant eliminiert. Während die o-PO_4- und partikuläre Phosphorfraktion (PP) durch die Behandlung mittels Aktivkohle nur noch zusätzlich um 1,5 % bis 2,5 % eliminiert werden, zeigt diese Behandlung insbesondere bei der GUP-Fraktion eine gute Wirkung durch zusätzliche 4,2%ige Elimination. Gemäß Median liegen im Nachklärbeckenablauf noch 50 µg/L der GUP- und 90 µg/L der PP-Fraktion sowie im Aktivkohleanlageablauf noch 23 µg/L der GUP- und 39 µg/L der PP-Fraktion vor. Beide Fraktionen können Phosphonate enthalten. Die in den Neckar eingeleitete GUP-Konzentration ist 31 µg/L P, die eingeleitete PP-Konzentration beträgt nur 16 µg/L (da der Sandfilter eine sehr gute Eliminationsleistung hinsichtlich der Partikelentfernung aufweist). Der Einfluss der Kläranlageneinleitung auf den Neckar ist bei der Phosphat- (Erhöhung um 9,8 %) und PP-Fraktion (Erhöhung um 25,0 %) gut zu sehen. Die GUP-Fraktion wird durch die Einleitung ebenfalls mit 7,4 % leicht erhöht.

Im Klärwerk S-Möhringen kann basierend auf dem Median durch Vorklärung nur ein PP-Eliminationsgrad von 19 % ausgemacht werden. Die GUP-Fraktion wird auf der Kläranlage mit 82,5 % am geringsten eliminiert, während sowohl die Phosphat- als auch die PP-Fraktion mit durchschnittlich 93,9 % und 91,1 % am besten eliminiert werden. Im Nachklärbeckenablauf liegen noch 42 µg/L der GUP- und 180 µg/L der PP-Fraktion vor. Der Einfluss der Kläranlageneinleitung auf die Körsch ist erheblich. So wird die Phosphat-Konzentration in der Körsch durch die Kläranlageneinleitung i. d. R. verdoppelt bis verdreifacht und die GUP- sowie PP-Konzentration i. d. R. nahezu verfünffacht.

1.5 Ergebnisse der Literaturrecherche

Bei der Literaturrecherche wurde der Schwerpunkt auf empfindliche analytische Methoden gesetzt, die sich zur differenzierten Bestimmung der Phosphonate ATMP, EDTMP, DTPMP, HEDP und PBTC in Spurenkonzentrationen und in Umweltproben eignen. Durch systematische Suche mittels Google Scholar, Web of Science und dem Chemical Abstract Service innerhalb eines Publikations-Zeitraums zwischen 2000 und 2015 wurden die bereits bekannten Publikationen durch jüngere Literatur ergänzt.

Die Phosphonatanalytik erweist sich generell als Herausforderung, da die Verbindungen in Abwasser, Trinkwasser und in natürlichen Gewässern in Form von uneinheitlichen Komplexen mit Metallkationen vorliegen (Nowack, 2003). Diese müssen vor der Analytik durch einen Kationentausch in eine einheitliche Form überführt werden. Die Verbindungen besitzen keine chromophoren Gruppen, lösen sich aufgrund ihrer starken Polarität schlecht in organischen Lösungsmitteln, besitzen eine geringe chemische Reaktivität und sind nicht flüchtig. Gleichzeitig erwiesen sich Matrixbestandteile in Umweltproben, die bei Anreicherungsschritten abhängig von der angewandten Methode ebenfalls aufkonzentriert wurden, häufig als Störfaktoren für die nachfolgende Analytik (Knepper *et al.*, 2002, Klinger *et al.*, 1997, Nowack, 1997).

1.5.1 Bestimmungsmethoden

In der Literatur finden sich zahlreiche Methoden zur Bestimmung von Phosphonaten. Von diesen eignen sich jedoch nur wenige zur Anwendung auf Umweltproben und zur Quantifizierung im Spurenbereich. Im Folgenden sind einige Beispiele von besonderem wissenschaftlichem Interesse aufgeführt.

Durch ^{31}P-solid-state-NMR konnte der Anteil organischer Phosphonate am Gesamtphosphorgehalt von Sedimentproben bestimmt werden (Ahlgrena *et al*., 2006; Benitez-Nelson *et al*., 2004; Bai *et al*., 2009). Durch die Methode kann jedoch keine qualitative Aussage bezüglich der vorhandenen Phosphonate getroffen werden. Die Methode eignet sich, um Phosphonate im Gemisch mit unterschiedlichen organischen Phosphorspezies als Summenparameter zu bestimmen. Die Bestimmungsgrenzen liegen im mg/kg-Bereich. Zur Extraktion der Phosphonate aus Bodenproben wurden Natriumhydroxid (NaOH) und Ethylendiamintetraacetat (EDTA) eingesetzt.

Ortega-Gadea *et al*. (2006) und Bernabé-Zafón *et al*. (2007; gleiche Arbeitsgruppe) etablierten eine Analysemethode für kommerziell eingesetzte Phosphonate durch eine CZE-Elektrospray-Ionisation-Ionenfallenmassenspektrometrie-Kopplung (CZE-ESI-ITMS). Unter anderem wurden die Phosphonate ATMP, DTPMP, HEDP, EDTMP und PBTC in technischen Formulierungen in einer Verdünnung von 100 mg/L analysiert. Eine Nachweisgrenze wurde nicht bestimmt. Verunreinigungen der technischen Produkte von ATMP, EDTMP und DTPMP mit niedersubstituierten Derivaten konnten detektiert werden.

Nowack (1997) etablierte eine Methode zur Bestimmung der Phosphonate HEDP, ATMP, EDTMP und DTPMP in Wasserproben mittels Ionenpaachromatographie (IPC). Die Analyten wurden dabei zunächst durch einen Kationenaustausch in ihre freien Säuren und anschließend vor der Chromatographie in einheitliche Eisen-III-Komplexe überführt. Die photometrische Detektion bei 260 nm ermöglichte Nachweisgrenzen im Bereich zwischen 15 µg/L und 100 µg/L. Mittels eines vorgeschalteten Anreicherungsschritts durch Adsorption an Calciumcarbonat konnte die Nachweisgrenze bis in den unteren µg/L-Bereich erweitert werden, wodurch ein Nachweis der Stoffe in Zuläufen von Kläranlagen ermöglicht wurde. In den Zuflüssen mehrerer Kläranlagen in der Schweiz konnte Nowack (1998) ATMP und EDTMP in Konzentrationen von bis zu 240 µg/L bzw. 350 µg/L nachweisen. Die Konzentrationen in den Abflüssen lagen unterhalb der Bestimmungsgrenzen (BG) von 15 µg/L (ATMP) bzw. 22 µg/L (EDTMP).

Eine IPC-ESI-MS Methode zur Detektion der Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP und PBTC wurde durch Knepper *et al.* (2002) beschrieben. Die Auftrennung der Analyte erfolgte auf einer C18-Säule mittels eines Wasser/Acetonitril-Gradienten und dem Ionenpaar-Reagenz Tetraethylammoniumacetat (10 mmol/L). Die Detektion erfolgte nach Eluent-Suppression. Bestimmungsgrenzen wurden nicht ermittelt.

Durch Schmidt *et al.* (2013) wurde die gegenwärtig empfindlichste Bestimmungsmethode via IC-ICP-MS am TZW etabliert, mit der die kommerziell eingesetzten Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP in Konzentrationen ab 0,1 µg/L in Gewässerproben nachgewiesen werden können. Dabei werden Metall-Phosphonat-Komplexe zunächst durch Kontakt mit einem stark sauren Kationenaustauscherharz aufgebrochen, die Metallkationen entfernt und die Phosphonate in die freien Phosphonsäuren überführt. Diese werden nach Neutralisation durch einen schwachen Anionenaustauscher 50-fach angereichert, durch Anionenchromatographie aufgetrennt (Dionex IonPac AS16) und durch Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) detektiert.

Unter den Ergebnissen der Literaturrecherche finden sich nur zwei Publikationen, die den folgenden Kriterien entsprechen: niedrige Bestimmungsgrenze, differenzierte Erfassung der projektrelevanten Analyten und Quantifizierung aus Proben mit anspruchsvoller Matrix (Umweltproben). Dabei handelt es sich um Nowack (1997; Abwasserproben, BG: 15 µg/L) und Schmidt *et al.* (2013; Rheinwasser, BG: 0,1 µg/L).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass in der jüngeren Literatur seither keine grundlegend neuen analytischen Methoden oder Monitoringdaten zum Vorkommen von Phosphonaten in der Umwelt hinzugekommen sind. Diese Schlussfolgerung wird bei der Lektüre des aktuellen Reviews über Eigenschaften, Einsatz und Umweltverhalten von Aminopolyphosphonaten von Studnik *et al.* (2015) bestätigt.

1.5.2 Anreicherungsverfahren

Frühere Studien beschrieben eine Anreicherung von Phosphonaten durch Verdampfung der wässrigen Matrix (Klinger, 1997, Klinger *et al*., 1997, Knepper *et al*., 2002) oder Adsorption an präzipitierten Hydroxiden, Carbonaten und Phosphaten (Daley-Yates *et al*., 1989; Frigge und Jackwerth, 1991; Nowack, 1997; Liggett, 1973; Flesch und Hauffe, 1989; Liggett und Libby, 1970) und ihre anschließende Wiederauflösung in Säuren. Dabei führte die gleichzeitige Aufkonzentration von anderen nichtflüchtigen Matrixbestandteilen (z. B. Salze und Huminstoffe) bei Oberflächenwasserproben zu uneinheitlichen Wiederfindungsraten bei verschiedenen Phosphonaten und stellte ein Problem bei der nachfolgenden Analyse dar (Frigge und Jackwerth, 1991; Klinger, 1997; Knepper *et al*., 2002).

Schmidt *et al*. (2013) etablierte eine erfolgreiche Probenaufbereitungstechnik, bei der die Phosphonate zunächst über einen starken Kationentauscher von Metallkationen befreit und in ihre freien Säuren überführt wurden. Anschließend erfolgte eine 50-fache Anreicherung durch einen schwachen Anionentauscher, von dem die Phosphonate mit einer 4%igen Lösung aus Ammoniak in Methanol eluiert wurden. Dieses stellte die erste Methode dar, durch die die Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP und HEDP aus Gewässerproben gleichzeitig mit hohen Wiederfindungsraten angereichert werden konnten.

1.5.3 Probenvorbereitungstechniken

Zur Bestimmung von Phosphonaten aus Umweltproben im Spurenbereich (ng/L- bis unterer µg/L-Bereich) ist grundsätzlich eine Probenvorbereitung notwendig. Dabei sollen die in unterschiedlichen Komplexen vorliegenden Analyte in eine einheitliche Form überführt, von Matrixbestandteilen und Metallkationen getrennt und ggf. aufkonzentriert werden. Durch Kontakt mit einem stark sauren Kationentauscher werden die Metallkationen durch Protonen ausgetauscht und die Phosphonate in die freien Säuren überführt.

Im Gegensatz zu den Aminocarboxylat-Komplexbildnern (z. B. EDTA) adsorbieren Aminophosphonate im oberflächenwasserrelevanten pH-Bereich (pH 6 bis pH 8) stark an die meisten mineralischen Oberflächen (Nowack, 2003). Calcium übt einen verstärkenden Effekt auf die Adsorptionsrate, sowie die Besetzungskapazität der Oberfläche aus. Fischer (2002) untersuchte die Adsorption von HEDP an Ton, Flusssedimente und Belebtschlamm. Eine generell starke, nur partiell reversible Adsorption wurde festgestellt.

Im Rahme der Methodenentwicklung wurden sowohl saure als auch alkalische Aufschlussvarianten evaluiert. Viele Literaturquellen beschäftigen sich mit der Charakterisierung von organischem Phosphor in Boden und Sediment. Bei der am häufigsten erwähnten Methode handelt es sich um eine kombinierte Extraktion mit NaOH und EDTA. Die Extraktion für 2 h bei 85 °C wurde durch Bowman und Moir (1993) etabliert. NaOH erhöht die Löslichkeit der Phosphorverbindungen, während EDTA durch Komplexierung von Calcium die Desorption von Phosphonaten unterstützt (Nowack und Stone, 1999b). Die Methode wurde zur Bestimmung von phosphororganischen Verbindungen mittels ^{31}P-NMR eingesetzt (Cade-Menun und Preston, 1996).

1.6 Phosphonatanalytik: Methodenentwicklung

Die wichtigsten Aspekte und Herausforderungen bei der Methodenentwicklung bestanden in der Extraktion von Phosphonaten aus Feststoffproben, dem Umgang mit anspruchsvoller Matrix und der Anreicherung von Phosphonaten aus Oberflächenwasser.

Für dieses Projekt wurde die etablierte IC-Trennmethode erstmals erfolgreich mit einem ESI-MS/MS-Massenspektrometer gekoppelt (AB Sciex 5500 Tripple Quad). Durch die Implementierung von ^{13}C-markierten bzw. deuterierten Internen Standards (Eigensynthese) der Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HEDP und PBTC wurden Bestimmungsgrenzen von 1 µg/L per Direktmessung erreicht und Störungen durch Matrixeffekte minimiert. Zur Quantifizierung von Oberflächenwasserproben mit geringen Phosphonatgehalten wurde ein Verfahren zur automatisierten 20-fachen Anreicherung etabliert, wodurch Bestimmungsgrenzen von 0,1 µg/L erreicht wurden. Diese sind mit den Bestimmungsgrenzen der durch Schmidt *et al.* (2013) beschriebenen IC-ICP-MS Methode vergleichbar. Neben der Empfindlichkeitssteigerung erfolgte durch den Einsatz der Internen Standards gleichzeitig auch eine Steigerung der Spezifität gegenüber der IC-ICP-MS Methode, bei der die Identifizierung der Analyten ausschließlich anhand der Retentionszeit erfolgte. Dies ist als großer Vorteil der neuen Methode herauszustellen. Nun haben Co-Elutionen und mäßige Retentionszeitverschiebungen keine großen negativen Auswirkungen auf die Analyse. Besonders in stärker belasteten Proben (Abwasser, Sedimente, Schwebstoffe) ist dies von Vorteil. Da in Zu- und Abläufen von Kläranlagen sowie den meisten Feststoffextrakten Phosphonatgehalte im µg/L-Bereich vorlagen (vgl. Knepper *et al*., 2002; Nowack, 1998; Nowack, 2002a) erlaubte es die Nutzung der empfindlichen IC-ESI-MS/MS Methode auf den 50-fachen manuellen Anreicherungsschritt mit dem schwach basischen Ionentauscher zu verzichten. Durch die automatisierte Anreicherung der Oberflächenwasserproben wurde eine Vereinfachung der Vorbereitung von wässrigen Proben erreicht. Unter diesen Voraussetzungen wurden die wässrigen Proben vor der Injektion in die IC nur noch über den stark sauren Ionentauscher zur Entfernung der Kationen gegeben.

Summa summarum lässt sich aussagen, dass es sich bei Phosphonaten um ausgesprochen anspruchsvolle Analyten handelt. Dieser Charakter manifestiert sich besonders bei der Quantifizierung von Phosphonaten in Umweltproben. Die Synthese von isotopenmarkierten Phosphonaten zum Einsatz als Interne Standards (Ausgleich von Matrixeffekten) und eine extensive Methodenentwicklung (insbesondere bezüglich des Aufschlusses von Feststoffproben) stellten die Grundvoraussetzung zur Etablierung einer robusten und empfindlichen Analysemethode dar.

1.6.1 Referenzstandards und Interne Standards

Neben der Weiterentwicklung der analytischen Methodik stellte die Verfügbarkeit von über Zweifel erhabenen Referenzstandards eine essentielle Voraussetzung dar. Hierzu wurden die bereits am TZW vorhandenen Phosphonat-Standards um aktuell kommerziell verfügbare Muster und Referenzmaterialien erweitert. Von jedem Phosphonat (ATMP, DTPMP, EDTMP, HEDP und PBTC) wurden mehrere kommerzielle Standards erworben, durch die Bestimmung von ortho-Phosphat und Gesamtphosphor sowie durch IC-ICP-MS- und IC-ESI-TOF-Analysen charakterisiert und der jeweils reinste Standard ausgewählt.

Im Prozess der Methodenentwicklung wurde deutlich, dass die Matrixbelastung der Proben (Oberflächenwasser, Abwasser, Extrakte von Sediment, Schwebstoff und Abwasser-Feststoffen) starke Auswirkungen auf die Quantifizierung der Phosphonate haben kann. Die Matrixbelastung stammt dabei entweder aus der Probe selbst, oder wird über die Aufschlussreagenzien in die Probe eingetragen. Durch Optimierung des Elutionsgradienten konnte erreicht werden, dass die meisten Standardanionen und die Anionen aus dem Aufschlussmedium von den Phosphonaten chromatographisch getrennt wurden. Durch einen vorangestellten Waschschritt werden die unerwünschten Anionen nicht ins Massenspektrometer eingeleitet. Hierdurch werden Abweichungen bei der Ionisierung in der ESI-Quelle

durch unterschiedliche Matrixzusammensetzungen minimiert, die zu Fehlern bei der Quantifizierung führen würden; zudem wird einer Verschmutzung des Massenspektrometers vorgebeugt. Unabhängig davon üben die unterschiedlichen Matrices einen Einfluss auf die Retentionszeiten aus. Aus den Methodenoptimierungen wurde auch deutlich, dass Verbindungen in den Proben vorkommen, die sich chromatographisch wie die Ziel-Phosphonate verhalten, im gleichen Zeitfenster eluieren und teilweise Fragmente identischer Masse bilden. Diese Störionen ließen sich nicht vollständig abtrennen. Bei der Untersuchung von Sediment- und Schwebstoffextrakten mittels hochauflösender ESI-TOF-Detektion wurden Hinweise auf die Präsenz einer Vielzahl an unbekannten phosphorhaltigen Substanzen erhalten, die ein ähnliches Retentionsverhalten wie Phosphonate aufweisen. Die ESI-TOF-Analytik ermöglichte die Differenzierung dieser Stoffe, die jedoch zu Störungen bei der sensitiven Tandem-MS-Analytik führten. Bei matrixbedingten Retentionszeitverschiebungen und der gleichzeitigen Anwesenheit dieser Störsubstanzen ist die korrekte Identifizierung der Analyten nicht gewährleistet. Diese coeluierenden Ionen können ebenfalls zu unterschiedlichen Ionisierungsausbeuten führen und hierdurch die Quantifizierung der Analyten stören.

Aufgrund von Matrixeffekten, Detektordrift und dem Auftreten von Störionen, erwies sich die Verfügbarkeit von Internen Standards (IS) für alle projektrelevanten Phosphonsäuren als unerlässlich. Nach der Implementierung der Internen Standards in die Messmethode erfolgt die Identifizierung der Analyten jeweils durch das zeitgleiche Auftreten der Massenübergänge von Analyt und IS. Hierdurch gelingt die Analyse auch bei Retentionszeitverschiebungen und aus matrixbelasteten Proben. Die Internen Standards ermöglichten zudem eine Steigerung der Empfindlichkeit bei gleichzeitig auch nach oben erweitertem Messbereich. Ferner konnte die Effizienz der Extraktion von Phosphonaten aus Sediment- und Schwebstoffproben bilanziert werden.

1.6.2 Anpassung der Chromatographie

Bei der durch Schmidt *et al.* etablierten Methode erfolgt die chromatographische Auftrennung der Phosphonate über eine Anionenchromatographiesäule durch einen Natriumhydroxid (NaOH)-Gradienten von 36 mmol/L auf 120 mmol/L über 20 min. Bei diesem Verfahren eluiert Phosphat bei 5,2 min und die Phosphonate zwischen 7,5 min und 16 min.

In diesem Projekt wurden stark matrixbelastete Umweltproben untersucht. Die Feststoffextrakte enthielten zudem NTA im g/L-Bereich, ein Komplexbildner, der ähnliche Eigenschaften wie die Zielanalyten aufweist und sich deshalb nicht unmittelbar wieder aus der Probe entfernen lässt. Um eine möglichst weitgehende Vorselektion der Phosphonate bzw. Verbindungen mit phosphonatartigem Charakter von den übrigen Matrixbestandteilen zu gewährleisten, wurden Versuche zur Adaption der chromatographischen Trennung vorgenommen. Dies gelingt im Falle der Phosphonate über die starke Retardation an den Anionenaustauscher-Chromatographiesäulen. Dieses Vorgehen ist möglich, da Ionen mit geringerer Ladung und Wechselwirkung zur Säule (z. B. Chlorid, Phosphat und Sulfat) bei geringerer Ionenstärke eluieren. Da Phosphonate mehrfach negativ geladen sind, werden diese von einem Eluenten mit niedriger Ionenstärke nicht eluiert. Ein Waschschritt mit verdünntem Eluenten (NaOH mit 18 mmol/L) vor dem Einsetzen des Gradienten zur Elution der Phosphonate wurde in die Methode implementiert. Zunächst wird das Eluat der Trennsäule während des Waschschritts über ein Ventil, das zwischen IC und ESI-MS verbaut ist, in den Abfall geleitet. Erst nach der Elution der Störionen und vor der Elution der Phosphonate wird das Ventil umgeschaltet und das Eluat der Trennsäule wird ins Massenspektrometer geleitet. Im Zuge der weiterführenden Methodenentwicklung stellte sich heraus, dass EDTA beim Probenaufschluss durch das kurzkettigere Homolog NTA ersetzt werden kann. NTA zeigt bei der Unterstützung des Feststoffaufschlusses eine vergleichbare Wirkung, eluiert aber früher als EDTA und zeigt bei der Chromatographie weniger Signalverschleppung (Tailing). Eine Verringerung der Konzentration im Extraktionsmedium war nicht zielführend, da dadurch die Extraktionseffizienz geringer ausfiel. Die Elution von NTA ist jedoch bei der angepassten Chromatographievariante früher beendet als die von EDTA, zeitgleich mit der Elution des ersten Phosphonats (HEDP). Bis zur

Elution von HEDP wird das Eluat in den Abfall geleitet, so dass eine Verschmutzung des Massenspektrometers minimiert wird.

1.6.3 Automatische Anreicherung

Phosphonate weisen eine starke Retardation an Anionentauschchromatographiesäulen auf, da sie unter den alkalischen pH-Bedingungen des NaOH-Eluenten als mehrfach geladene Anionen vorliegen. Es bilden sich starke Wechselwirkungen zum Austauschermaterial der Trennsäule aus, die erst durch erhöhte Eluentkonzentrationen überwunden werden. Aufgrund dieses besonderen Verhaltens erwies es sich als möglich, mit einem Eluenten von geringer Ionenstärke mehrere Male hintereinander einen Phosphonatstandard zu injizieren und erst anschließend durch Start des eigentlichen Gradienten mit höherer Ionenstärke die Chromatographie der Phosphonate einzuleiten. Bei niedrigen Ionenstärken adsorbieren die Phosphonate vollständig an das Säulenmaterial, wodurch ein additiver Effekt der Einzelinjektionen erreicht werden kann, ohne dass eine Signalverbreiterung auftritt (OCE = on-column-enrichment, Anreicherung der Phosphonate auf dem Anionentauschermaterial der Chromatographiesäule).

Unter Einbindung der im vorherigen Abschnitt vorgestellten Chromatographiemethode zur Matrixabtrennung wurde eine Methode etabliert, die sich zur Quantifizierung von Phosphonaten aus Oberflächenwasser bis zu einer Bestimmungsgrenze von 0,1 µg/L eignet. Die Wiederfindungen der Anreicherung schwanken substanzspezifisch zwischen ca. 30 % (EDTMP) und > 80 % (DTPMP, HEDP, PBTC) und sind weitgehend unabhängig von der Matrix (HPLC-, Leitungs- und Oberflächenwasser). Die nachfolgende Implementierung der Internen Standards führte zu einer deutlichen Verbesserung der Datenqualität, da die durch die Injektion von größeren Probevolumina möglichen Matrixeffekte ausgeglichen wurden. Hierdurch wurden mit der von Schmidt *et al*. beschriebenen Methode vergleichbare Bestimmungsgrenzen erreicht, die einen manuellen 50-fachen Anreicherungsschritt voraussetzte.

1.6.4 Probenaufschluss

In Anlehnung an Bowman und Moir (1993) wurden Feststoffproben entsprechend der folgenden optimierten Methode aufgeschlossenen: 0,5 g Sediment oder Schwebstoff bzw. 0,05 g Abwasser-Feststoff (jew. Trockengewicht) wurden im Mörser homogenisiert und mit 7,5 mL HPLC-Wasser und Internem Standard versetzt. Nach einer Stunde wurde das Aufschlussreagenz zugefügt und für 1 h im Ultraschallbad extrahiert. Der Aufschluss erfolgte mittels NaOH (0,5 mol/L) und NTA (0,1 mol/L), wobei der Feststoff in insgesamt 15 mL Extraktionslösung aufgeschlossen wurde. Anschließend wurde die Suspension zentrifugiert, der klare Überstand abpipettiert und ohne erneuten Zusatz von Internem Standard ein weiteres Mal extrahiert. Die beiden Extrakte wurden zu gleichen Anteilen vereint und einem Ionentausch im Batchverfahren unterzogen. Dabei wurden 0,5 g eines starken Kationentauschers (AG MP-50, Bio-Rad Laboratories GmbH) eingesetzt, der für 60 min in der Probe suspendiert wurde. Nach einem weiteren Zentrifugationsschritt wurden die Überstände in Probengefäße überführt.

Unter Einsatz von Internen Standards wurde die NaOH und NTA-Konzentration des Aufschlussmediums optimiert und die Extraktionsausbeuten dreier konsekutiver Extraktionsschritte bilanziert. Dabei stellte sich heraus, dass über 95 % des extrahierbaren Phosphonats mit zwei Extraktionen mobilisiert wurde.

1.7 Phosphonatanalytik: Ergebnisse

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Spannweite der Phosphonatgehalte in den im Rahmen des Projekts nach SOP-02 analysierten Matrices, unabhängig vom Belastungsgrad der Probe (vor und hinter der Kläranlageneinleitstelle). Die Werte der Flüssigproben sind in µg/L angegeben, die der Feststoffproben in mg/kg (bezogen auf den gefriergetrockneten Feststoff).

Tabelle 1: Spannweite der Phosphonatgehalte in den im Rahmen des Projekts untersuchten Matrices (belastete und unbelastete Proben). Flusswasser: BG = 0,1 µg/L; KA-Zulauf und Ablauf NK: BG = 1 µg/L; Flusssediment und Flussschwebstoff: BG = 0,03 mg/kg; Feststoff (Abwasser): BG = 0,3 mg/kg.

Analyt	Flusswasser / (µg/L)	KA-Zulauf / (µg/L)	Ablauf NK / (µg/L)	Flusssediment / (mg/kg)	Fluss-Schwebstoff / (mg/kg)	Feststoff (Abwasser) / (mg/kg)
ATMP	<BG – 0,3	<BG – 15	<BG	<BG – 0,8	<BG – 46	6 – 21
DTPMP	<BG – 8	7 – 71	<BG – 10	0,1 – 5	1 – 141	4 – 312
EDTMP	<BG – 0,2	<BG – 11	<BG	<BG – 0,2	<BG – 7	<BG – 5
HEDP	<BG – 28	27 – 231	5 – 31	1 – 38	1 – 1401	149 – 768
PBTC	<BG – 13	22 – 119	5 – 27	0,1 – 17	0,4 – 211	13 – 84

1.7.1 Abwasser und Abwasser-Feststoffe

Generell erlaubten die Gehalte der Phosphonate ATMP, DTPMP, HEDP und PBTC die Quantifizierung von Abwasserproben per Direktmessung. EDTMP lag im Zulauf der Vorklärung häufig bereits unterhalb der Bestimmungsgrenze (1 µg/L) vor. ATMP trat in den Kläranlagenzuläufen in deutlich niedrigeren Konzentrationen (<15 µg/L) auf, als die Phosphonate DTPMP, HEDP und PBTC (zwischen 7 µg/L und 231 µg/L). Die Messergebnisse der Abwasserproben wiesen allgemein eine etwas geringere Kontinuität der absoluten Gehalte auf, als die der Schwebstoff- und Sedimentproben. Dennoch verhielten sich die relativen Analytkonzentrationen zueinander über den Jahresverlauf hinweg ähnlich. Bei der Auftragung der Konzentrationsprofile während den einzelnen Probenahmen (Zulauf Vorklärung, Ablauf Vorklärung, Ablauf Nachklärung und im Falle des Klärwerks Stuttgart-Mühlhausen zusätzlich auch Ablauf Sandfilter und Ablauf Aktivkohlefilter) wurden stets vergleichbare Ganglinien erhalten.

Während bei der Vorklärung keine Reduktion der Phosphonatkonzentration, in einigen Fällen sogar eine geringe Zunahme der Phosphonatgehalte stattfindet (ein Indiz dafür, dass zunächst an Feststoffpartikel adsorbiertes Phosphonat freigesetzt wird), ist im Ablauf der Nachklärung eine deutliche Reduktion der Phosphonatgehalte abzuleiten. Dieses verläuft weitgehend analog in beiden untersuchten Klärwerken und betrifft alle Analyten in vergleichbarer Weise. Die Phosphonatelimination durch Nachklärung in S-Mühlhausen lag bereits zwischen 80 % und 90 %. Die Elimination durch Nachklärung war in S-Möhringen etwas schwächer ausgeprägt, i .d. R. jedoch > 80 %. Durch die Sandfilterstufe in S-Mühlhausen wurde die Eliminierungsrate kaum erhöht, jedoch fand eine weitere Elimination durch die Aktivkohlestufe statt. Aktivkohle ist unpolar und somit eigentlich kein geeignetes Adsorbens für stark polare Phosphonate (Klinger *et al.*, 1998). Die bessere Elimination liegt wahrscheinlich darin begründet, dass zur Abtrennung der Aktivkohle ein metallhaltiges Flockungsmittel verwendet wird, sodass die Phosphonate an metallhaltigen, polaren Flocken adsorbieren. Diese Flocken werden in Gegenwart der feinen Pulveraktivkohle mit sehr großer spezifischer Oberfläche zurückgehalten.

Es zeigte sich, dass der Anteil von Phosphonat-P an der GUP-Fraktion in allen Abwasserproben i. d. R. durchweg in S-Mühlhausen zwischen 10 % und 30 % und in S-Möhringen zwischen 15 % und 40 % lag und somit signifikant ausfiel. Die über alle Proben hinweg ähnlichen Anteile zeigen auf, dass die Elimination von GUP in etwa mit der Elimination von Phosphonaten korreliert.

Ferner wurde ein möglicher Einfluss des Kläranlagendurchflusses, also der Einfluss von hohem oder geringem Anteil an Regenwasser, auf die Eliminationsleistung untersucht. Bei durchschnittlichem Durchfluss um 1,4 m^3/s unterlag die Elimination einer starken Streuung. Der Durchfluss scheint hier keine Rolle gespielt zu haben. In S-Möhringen variierte der Durchfluss weitaus stärker. Gerade die zwei Datenpunkte, die bei der Analyse auch hinsichtlich niedriger Abwassertemperatur (< 12 °C) auffielen, traten auch als die Punkte mit dem höchsten Durchfluss in Erscheinung. Da von einem größeren Einfluss der Temperatur gegenüber der Durchflussrate auf die Elimination der Phosphonate auszugehen ist, lässt sich aus den Ergebnissen nicht eindeutig schlussfolgern, dass bei starker Verdünnung des Kläranlagenzulaufs mit Regenwasser eine schlechtere Elimination von Phosphonaten einhergeht.

Die Feststoffe im Zulauf der Kläranlagen enthielten überraschend hohe Gehalte an Phosphonaten (unterer bis mittlerer mg/kg-Bereich). Dabei wiesen die Feststoffe in den Zuläufen der beiden untersuchten Kläranlagen ähnliche Gehalte auf. Die Feststoffgehalte in den Zulaufproben streuten über das Jahr verteilt stark. Typische Beladungen und Gelöst-Konzentrationen (Median) in S-Mühlhausen betrugen: 678 mg/kg Phosphonatbeladung der Feststoffe, 195 µg/L Phosphonat adsorbiert, 305 µg/L Phosphonat gelöst, 342 mg/L abfiltrierbare Stoffe (AFS). In S-Möhringen betrugen diese: 715 mg/kg Phosphonatbeladung der Feststoffe, 156 µg/L Phosphonat adsorbiert, 245 µg/L Phosphonat gelöst, 224 mg/L AFS.

Der Anteil adsorbierten Phosphonats im Zulauf von S-Mühlhausen variierte i. d. R. zwischen 30 % und 70 %. Im Zulauf von S-Möhringen variierte dieser zwischen 30 % und 50 %. S-Möhringen wies folglich geringere Schwankungen auf. Dies ist evtl. darauf zurückzuführen, dass sich das Abwasser der Kläranlage in S-Möhringen hauptsächlich aus kommunalem Abwasser zusammensetzt. Etwaige teilweise stark schwankende Einflüsse durch Industrieeinleitungen fallen somit nicht ins Gewicht.

HEDP machte sowohl für S-Mühlhausen als auch für S-Möhringen den größten Teil des adsorbierten Phosphonats aus. Dies spiegelt die Ergebnisse von Nowack und Stone (1999) wider, die feststellten, dass Phosphonate mit kleinerer Molekülmasse bzw. geringerer Anzahl an Phosphonogruppen stärker an Eisenhydroxid adsorbieren. Es ist sehr wahrscheinlich, dass das auch für die Mehrzahl anderer z. B. calciumhaltiger Adsorbentien gilt.

Der hohe Anteil adsorbierten Phosphonats ist beträchtlich und verdeutlicht, dass zur vollständigen Bilanzierung von Kläranlagenproben eine Bestimmung der an Feststoffen adsorbierten Phosphonate durchgeführt werden muss. Dies wurde während des Projekts nur für die Kläranlagenzuläufe durchgeführt.

1.7.2 Flusswasser

Im Neckarwasser wurden hinter der Einleitstelle keine signifikant erhöhten Phosphonatkonzentrationen festgestellt. Der Verdünnungseffekt durch den Neckar war folglich zu stark ausgeprägt (290 m^3/s Trockenwetterabfluss, bis 7,5 m^3/s Kläranlagenzufluss). Im Neckar wies PBTC mit 1,3 µg/L bis 5,1 µg/L die höchste Konzentration auf. Der Gesamtphosphonatgehalt lag zwischen 2,4 µg/L und 6,6 µg/L. Die im Neckarwasser während der zehn Beprobungen bestimmten Gehalte von HEDP (0,2 µg/L bis 2,0 µg/L) und DTPMP (0,1 µg/L bis 0,9 µg/L) fielen vergleichbar aus mit den durch Schmidt *et al.* (2013) im Rheinwasser bestimmten Gehalten an HEDP (0,3 µg/L bis 1,6 µg/L) und DTPMP (0,1 µg/L bis 1,3 µg/L).

Deutlich unterschiedliche Ergebnisse lieferte die Auswertung der Körschwasserproben. Für die Körsch wurde ein starker Einfluss der Kläranlage festgestellt. Durch die Kläranlageneinleitung erhöhte sich die PBTC-Konzentration auf 4,1 µg/L bis 13,4 µg/L (Minimumwert und Maximumwert), die HEDP-Konzentration sogar auf 10,1 µg/L bis 28,2 µg/L (Minimumwert und Maximumwert). Während die Gehalte vor der Einleitung bis auf eine einzige Ausnahme (1,2 µg/L HEDP in KW28) unterhalb 1 µg/L lagen, wurden nach der Einleitstelle moderat erhöhte DTPMP-Werte (Faktor 2,7) und deutlich erhöhte HEDP- und PBTC-Werte festgestellt (Faktor 29 bzw. 54; bezogen auf die Messwertmittelwerte

über den Jahresverlauf). Die Gehalte von ATMP und EDTMP lagen vor und hinter der Einleitstelle jeweils unterhalb der Bestimmungsgrenze.

Im Gegensatz zum Neckar korrelierten bei der Körsch die Phosphonatkonzentration sowie die Zunahme/Abnahme der Phosphonatkonzentration mit der Ablaufkonzentration der Kläranlage sehr gut. Dies erscheint plausibel, da sich die Körsch hinter der Einleitstelle überwiegend aus Kläranlagenablauf zusammensetzt. Die Phosphonatkonzentrationen in der Körsch hinter der Einleitstelle waren i. d. R. etwas geringer als im Kläranlagenablauf. Das hat zwei Gründe: 1. Der Kläranlagenablauf wurde durch die Körsch leicht verdünnt. 2. Ein Teil der Phosphonate des Kläranlagenablaufs konnte bis zur Probenahmestelle unterstrom der Kläranlage an Sediment und Schwebstoffe adsorbieren.

Bei der Auftragung der Phosphonatgehalte im Neckarwasser lässt sich ein Wellenprofil beobachten. Die höchsten Konzentrationen wurden im Winter und im Sommer festgestellt, während im Herbst und Frühling signifikant geringere Werte gemessen wurden. Ein analoger Verlauf konnte bei der Auftragung der Phosphonatgehalte im Körschwasser nicht abgeleitet werden.

1.7.3 Sediment

Bei den Sedimentbeprobungen galt es zunächst zu erörtern, ob die Phosphonatgehalte im Flussbett homogen ausfallen bzw. ob sie Schwankungen unterliegen. Aus diesem Grund wurden bei den ersten vier Neckarbeprobungen jeweils 5 bis 10 Einzelproben vor und nach der Einleitstelle genommen und separat analysiert. Dabei stellte sich heraus, dass die Phosphonatgehalte im Sediment sehr heterogen ausfielen. Anhand der Betrachtung einer Einzelprobe ließ sich nicht grundsätzlich ableiten, ob die Probe vor oder nach der Einleitstelle genommen wurde. Je nach Probenahmestelle im Flussbett variierten die Phosphonatgehalte stark. Belastete Proben vor der Einleitstelle konnten höhere Gehalte aufweisen als gering belastete Proben nach der Einleitstelle. Da sich die Matrix der einzelnen Proben zum Teil stark unterschied (sandig bzw. kieshaltig vs. „schlammig“), kam diese Beobachtung nicht überraschend. Eine signifikante Zunahme war jedoch bei der Betrachtung der Mittelwerte abzuleiten. Daher wurden ab der fünften Probenahme in S-Mühlhausen und der ersten Probenahme in S-Möhringen routinemäßig 5 Einzelproben genommen und nach der Lyophilisierung zu gleichen Teilen vermischt.

Im Neckar ergaben sich folgende Beladungen: Gesamtphosphonat: 12 mg/kg bis 21 mg/kg vorher vs. 23 mg/kg bis 38 mg/kg nachher; PBTC: 5 mg/kg bis 9 mg/kg vorher vs. 10 mg/kg bis 15 mg/kg nachher; HEDP: 6 mg/kg bis 13 mg/kg vorher vs. 13 mg/kg bis 22 mg/kg nachher; ATMP: < 1 mg/kg; EDTMP: < 0,16 mg/kg; DTPMP: < 5 mg/kg. Die Phosphonatbeladung war hinter der Einleitstelle für jedes Phosphonat signifikant erhöht. Selbst bei den niedrigen Beladungen durch die Aminophosphonate war ein signifikanter Einfluss durch die Kläranlage über verschiedenste Probenahmen hinweg erkennbar. Trotz großer Streuung der Ergebnisse kann also gesagt werden, dass die Kläranlage einen klaren Einfluss auf die Sedimentbelastung durch Phosphonate hat. Dies ist vor allem vor dem Hintergrund interessant, da sich die Flusswasserkonzentrationen vor und hinter der Einleitstelle nicht unterscheiden. Langfristig reichern sich die von der Kläranlage ausgetragenen Phosphonate folglich im Sediment an. Aus einer Nichtveränderung der Flusswasserkonzentration kann somit nicht geschlossen werden, dass die Kläranlage keinen Einfluss auf den Phosphonatgehalt im Neckar hat.

Im Kläranlagenablauf der Kläranlage S-Mühlhausen waren die HEDP- sowie die PBTC-Konzentrationen (jeweils 13,3 µg/L) viermal so hoch wie die DTPMP-Konzentration (3,4 µg/L) (jeweils Mediane). Im Sediment hinter der Einleitstelle fiel die Zunahme der PBTC- (4,1 mg/kg Median) bzw. der HEDP-Beladung (6,5 mg/kg Median) dagegen 4-mal bzw. 7-mal höher aus, als die Zunahme der DTPMP-Beladung (1,0 mg/kg Median). Dies impliziert, dass HEDP das Phosphonat mit der höchsten Adsorptionsaffinität darstellt. Nowack und Stone (1999) stellten fest, dass HEDP aufgrund seiner verglichen mit den Aminophosphonaten kleineren Molekülmasse besonders stark adsorbiert.

Bei der Beprobung der Körsch wurde ein gravierender Einfluss der Kläranlageneinleitung auf die Phosphonatbeladung des Sediments festgestellt. In allen Proben wurden hinter der Einleitstelle signifikant höhere Phosphonatbeladungen vorgefunden: 3 mg/kg bis 5 mg/kg Gesamtphosphonat vorher vs. 24 mg/kg bis 38 mg/kg Gesamtphosphonat nachher; 2,72 mg/kg HEDP vorher vs. 20,8 mg/kg HEDP nachher; 0,36 mg/kg DTPMP vorher vs. 1,92 mg/kg DTPMP nachher; 0,21 mg/kg PBTC vorher vs. 6,08 mg/kg PBTC nachher; < 0,04 mg/kg ATMP vorher vs. 0,45 mg/kg ATMP nachher; < 0,01 mg/kg EDTMP vorher vs. 0,05 mg/kg EDTMP nachher (für die einzelnen Phosphonate sind jeweils die Mediane angegeben). Vor der Einleitstelle war DTPMP das Phosphonat mit der zweithöchsten Beladung. Hinter der Einleitstelle war es PBTC.

Im Kläranlagenablauf war die PBTC- (10,0 µg/L) sowie die HEDP-Konzentration (19,9 µg/L) 4-mal bzw. 8-mal so hoch wie die DTPMP-Konzentration (2,5 µg/L) (in Klammern die Mediane). Im Sediment hinter der Einleitstelle war die Zunahme der PBTC- (5,9 mg/kg Median) bzw. der HEDP-Beladung (18,1 mg/kg Median) 4-mal bzw. 12-mal höher als die Zunahme der DTPMP-Beladung (1,6 mg/kg Median). HEDP adsorbiert also stärker als die beiden anderen Phosphonate.

Die Phosphonatbeladung sowie die Zunahme der Phosphonatbeladung im Neckar (= Phosphonatbeladung hinter minus Phosphonatbeladung vor der Kläranlage) korrelierte nur sehr schwach mit der Ablaufkonzentration der Kläranlage. Allerdings lag eine sehr große Streuung der Messwerte vor. Diese große Streuung der Phosphonatadsorption am Sediment unabhängig von der Phosphonatkonzentration im Ablauf zeigt, dass die Beladung von Sediment mit Phosphonaten ein dynamischer Prozess ist und vielen Einflüssen unterliegt.

Bei den Neckarbeprobungen wiesen die Proben vor der Einleitstelle bereits eine Belastung durch Phosphonate auf, während in den Sedimentproben an der Körsch vor der Einleitstelle nur sehr geringe Werte detektiert wurden. Die gegenwärtigen Ergebnisse lassen vermuten, dass die Phosphonate an Feststoffpartikel adsorbieren und eine ausreichende Stabilität aufweisen, um sich mit dem Partikelstrom längs entlang des Flussbetts über weite Strecken zu verteilen. Diese Hypothese wird durch die Ergebnisse eines Tiefenprofils über die Phosphonatgehalte eines Rheinsediments bis in 66 cm Tiefe bekräftigt. Phosphonatgehalte zwischen 5 mg/kg und 29 mg/kg (HEDP) und zwischen 3 mg/kg und 5 mg/kg (PBTC) wurden bis in eine Schichttiefe von über 50 cm festgestellt. Erst in der tiefsten untersuchten Probe (66 cm) wurden deutlich niedrigere Gehalte festgestellt. Der Gehalt von EDTMP befand sich in allen Proben unter der Bestimmungsgrenze, während ATMP und DTPMP in Gehalten von unter 1 mg/kg vorlagen.

Bei der Auftragung der Sedimentbeladungen im Neckar- und Körsch-Sediment über der realen Zeitachse lässt sich beim Neckar ein schwaches Wellenprofil mit den höchsten Gehalten im Frühjahr und im Herbst sowie für die Körsch ein schwaches Wellenprofil mit den höchsten Gehalten im Sommer und Herbst beobachten. Die wellenartigen Verläufe der Phosphonatbeladungen waren somit nicht kongruent. Beim Vergleich mit der bei der Auftragung der Phosphonatgehalte des Neckarwasser beobachteten Wellenform fällt ein entgegengesetzter Verlauf auf: hier wurden die höchsten Konzentrationen im Winter und im Sommer festgestellt, während im Herbst und Frühling signifikant geringere Werte gemessen wurden.

1.7.4 Schwebstoff

Die Phosphonatbeladungen der Neckar-Schwebstoffe streuten sehr stark. So wies die Schwebstoffbeladung durch Phosphonate vor der Einleitstelle einen Minimumwert von 6 mg/kg und einen Maximumwert von 187 mg/kg auf. Hinter der Einleitstelle betrug der Minimumwert 9 mg/kg und der Maximumwert 154 mg/kg. Im Gegensatz zu den Sedimentproben, für die durchweg bei jeder Probenahme eine Zunahme der Beladung durch die Einleitung beobachtet werden konnte, fielen bei den Schwebstoffen im Neckar nicht wenige Beladungen hinter der Einleitstelle geringer aus als vor der Einleitstelle. Im Neckar unterschied sich die Phosphonatbeladung vor der Einleitstelle zwischen Sedi-

ment und Schwebstoffen kaum: 12 mg/kg bis 21 mg/kg im Sediment, 12 mg/kg bis 28 mg/kg in Schwebstoffen (PBTC: 5 mg/kg bis 9 mg/kg im Sediment, 5 mg/kg bis 11 mg/kg in Schwebstoffen; HEDP: 6 mg/kg bis 13 mg/kg im Sediment, 4 mg/kg bis 11 mg/kg in Schwebstoffen; ATMP: 0,2 mg/kg bis 0,4 mg/kg im Sediment, 0,1 mg/kg bis 0,7 mg/kg in Schwebstoffen; EDTMP: 0,04 mg/kg bis 0,07 mg/kg im Sediment, 0,1 mg/kg bis 0,2 mg/kg in Schwebstoffen; DTPMP: 0,6 mg/kg bis 1,2 mg/kg im Sediment, 2 mg/kg bis 5 mg/kg in Schwebstoffen; jeweils erstes bis drittes Quartil angegeben). Dies deutet darauf hin, dass es sich bei den Schwebstoffen vor der Einleitstelle um aufgewirbeltes feines Sediment gehandelt haben könnte. Hinter der Einleitstelle fielen die Mediane der Phosphonatbeladung bei allen Analyten geringfügig höher als vor der Einleitstelle aus. Trotz der großen Streuung der Ergebnisse kann folglich geschlossen werden, dass die Kläranlage einen leichten Einfluss auf die Schwebstoffbelastung durch Phosphonate ausübt. Dies ist vor allem vor dem Hintergrund interessant, da sich die Gelöstkonzentrationen im Flusswasser vor und hinter der Einleitstelle nicht unterschieden. Vermutlich findet eine rasche Adsorption der Phosphonate an die Schwebstoffe statt.

Bei der Untersuchung der Körsch-Schwebstoffe fiel der Einfluss der Kläranlageneinleitung auf die Phosphonatbeladung beträchtlich stärker aus als im Neckar. So betrug diese 6 mg/kg bis 66 mg/kg Phosphonat vor der Einleitstelle und 66 mg/kg bis 1140 mg/kg Phosphonat nach der Einleitstelle (erstes bis drittes Quartil). Eine signifikant höhere Beladung lag bei allen Proben vor. Im Gegensatz zum Neckar fielen die Sedimentbeladungen und die Schwebstoffbeladungen vor der Einleitstelle sehr unterschiedlich aus: 3 mg/kg bis 4 mg/kg Phosphonat im Sediment, 6 mg/kg bis 66 mg/kg Phosphonat in Schwebstoffen. Ein analoger Unterschied betraf auch die Proben hinter der Einleitstelle: 24 mg/kg bis 38 mg/kg Phosphonat im Sediment, 66 mg/kg bis 1140 mg/kg Phosphonat in Schwebstoffen.

Die Multiplikation der Schwebstoffkonzentration mit der Beladung resultiert in der Massenkonzentration der adsorbierten Phosphonate. Auf diese Weise können der Schwebstoff-adsorbierte und gelöste Anteil der Phosphonate im Fluss miteinander verglichen werden. So stellte sich der Anteil Schwebstoff-adsorbierter Phosphonate im Neckar mit i. d. R. < 15 % sowohl vor als auch hinter der Einleitstelle als sehr gering heraus (Ausnahmen: KW19 und KW43). Der Anteil adsorbierter Phosphonate in der Körsch stellte sich selbst in Anbetracht der sehr hohen Beladungen als nahezu identisch heraus.

Aufgrund eines Zentrifugendefekts wurden sieben der Neckarbeprobungen und sechs der Körschbeprobungen vor und nach der Einleitstelle für mehrere Wochen bis zur Zentrifugation aufbewahrt. Da es bei der Lagerung im IBC teilweise zu Algenwachstum kam und ein Abbau der Phosphonate durch biologische Prozesse, Photolyse oder Hydrolyse möglich war, der zu Minderbefunden führen könnte, wurde eine etwaige Korrelation zwischen der Phosphonatkonzentration und der Dauer bis zur Zentrifugierung untersucht. Bei längeren Standzeiten der IBCs wurden sowohl für den Neckar als auch für die Körsch stets signifikant geringere Schwebstoffbeladungen durch Phosphonate festgestellt. Die Schwebstoffbeladungen durch Phosphonate in den belastbaren Proben aus dem Neckar vor der Einleitung betrug 20 mg/kg bis 187 mg/kg und hinter der Einleitung 27 mg/kg bis 154 mg/kg. Die Schwebstoffbeladung durch Phosphonate in den belastbaren Proben schwankte in den Körschproben vor der Einleitung sogar noch stärker zwischen 3,1 mg/kg und 201 mg/kg. Die Beladungen hinter der Einleitstelle waren mit 1000 mg/kg bis 1700 mg/kg sehr hoch. Allerdings lagen sowohl für den Neckar ober- und unterstrom der Kläranlage als auch für die Körsch oberstrom der Kläranlage belastbare (rasch zentrifugierte) Proben vor, die vergleichbar mit den Werten von Proben mit niedrigen Beladungen bei längeren Standzeiten ausfielen. Eine Aussage, ob sämtliche Proben mit längeren Standzeiten durch Algenabbau, Hydrolyse oder Photolyse erhebliche Minderbefunde aufweisen, lässt sich nicht zweifelsfrei ableiten.

Summary

1.8 Sampling concept

At two locations (wastewater treatment plant Stuttgart-Mühlhausen: 1.2 million inhabitant equivalents, 60 million m^3/a wastewater, inflow: up to 7.5 m^3/s, fast sand filtration stage and semi-technical activated carbon plant, bio-P elimination and P precipitation, receiving water Neckar: 290 m^3/s; wastewater treatment plant Stuttgart-Möhringen: 160 thousand inhabitant equivalents, 6 million m^3/a to 7 million m^3/a wastewater, dry weather inflow: 100 L/s to 200 L/s; predominantly municipal wastewater, bio-P elimination and P precipitation, very weak receiving water Körsch: 10 L/s to 20 L/s), the following samples were regularly taken at 10 different times in intervals of 1 to 2 months: Inflow of wastewater treatment plant (24-hour mixed sample & solids extract from centrifugation), outflow of preliminary sedimentation (24-hour mixed sample), outflow of secondary clarification (24-hour mixed sample), outflow of fast sand filter (24-hour mixed sample) (only S-Mühlhausen), outflow of activated carbon pilot plant (24-hour mixed sample) (only S-Mühlhausen), random liquid sample and sediment (Neckar: Gripper according to Lenz mounted on rubber dinghy, Körsch: sampling shovel) and suspended matter sample (centrifugation of 500 L to 1.000 L) upstream and downstream of the wastewater treatment plant discharge point. The random samples were taken with a sampling scoop, while the 24-hour mixed samples were taken with automatic samplers. S-Mühlhausen/Neckar was sampled in the calendar weeks 07, 14, 19, 23, 28, 31, 38, 40, 43, 47. S-Möhringen/Körsch was sampled in the calendar weeks 05, 13, 18, 23, 28, 33, 38, 43, 48, 50.

The following metadata was collected on site on each sampling expedition: GPS position, date/time, air/water temperature, water level of the river and flow of the wastewater treatment plant. In addition to the determination of the phosphonate content, the following parameters were determined from all liquid samples: pH, electrical conductivity, COD (chemical oxygen demand), total phosphorus, dissolved phosphorus, o-PO_4-phosphorus (c[particulate phosphorus (PP)] = c[total P] – c[dissolved P], c[dissolved unreactive phosphorus (DUP)] = c[dissolved P] – c[o-PO_4-P]) and solids content of the wastewater treatment plant inflow and suspended matter samples.

1.9 Details regarding sampling

On the first four sampling expeditions in the Neckar River, several sediment samples (5 to 6) were taken each upstream and downstream of the discharge point of the wastewater treatment plant. These samples were individually freeze-dried and individually analyzed for phosphonates (from the fifth sampling on, 5 to 6 samples were analyzed in the form of mixed samples). At three of the ten sampling times, the activated carbon pilot plant in S-Mühlhausen was inactive. In the Körsch River, at each sampling point, five sediment samples were taken with a sampling shovel. These were mixed with each other after lyophilization and then analyzed for the phosphonate content.

1.10 Challenges regarding sampling

The intended duration between the collection of the river samples upstream and downstream of the wastewater treatment plants (Neckar: approx. 70 min, Körsch: 40 min to 60 min) could only be met after the third sampling due to initial difficulties. The collection of the large quantities of river samples (500 L to 1,000 L) by means of a submersible pump and emergency power generator on site was largely problem-free. Due to the failure of ISWA's own suspended matter centrifuge at the beginning of the project, however, the period between sampling and centrifugation of the sample for some samples was several weeks delayed (up to 23 weeks). Since algae growth was visibly observed during this time, a slight error of the solids concentration can, therefore, be expected in case of some samples.

1.11 Results with regard to additional data collected

The wastewater temperatures were between 13 °C and 22 °C, a range still suitable for microorganisms. Only once a relatively low wastewater temperature of 8.8 °C was recorded in the wastewater treatment plant of S-Möhringen. The temperature-related deterioration of the bio-P elimination performance may have been compensated for by increased P precipitation. The river temperature was usually similar to the air temperature, whereas the wastewater temperature was significantly higher in spring, autumn and winter.

The water level and the water flow of the Neckar hardly varied at all sampling times (2.20 m; approx. 286 m^3/s). The S-Mühlhausen wastewater treatment plant constantly discharged less than 1% of the Neckar volume flow into the river. The S-Möhringen wastewater treatment plant, on the other hand, discharged 2- to 37-times the river volume flow into the Körsch river. In addition, in some cases slightly increased flow rates occurred in S-Möhringen (e. g., calendar weeks 05 and 18), which was due to rainy weather.

As a rule, the pH value in all samples was between 7 and 8, a range to be aimed at for microbial activity and P precipitation.

The discharge of the S-Mühlhausen wastewater treatment plant had no influence on the electrical conductivity of the Neckar river, while the electrical conductivity in the case of the Körsch river became even lower due to the wastewater treatment plant discharge.

The concentration of filterable substances in the inflow of the S-Mühlhausen wastewater treatment plant was generally between 250 mg/L and 400 mg/L, whereas that of the S-Möhringen wastewater treatment plant was generally between 190 mg/L and 280 mg/L. At rainy times, such as in calendar week 5, the solids concentration could only make up for 170 mg/L, whereas in the Körsch the solids concentration in the corresponding calendar week was significantly higher than in dry weather: at approx. 15 mg/L (calendar week 50: 2 mg/L to 3 mg/L). Observations have shown that increased algae growth occurred with extended standing periods of the IBCs (containers with 500 L to 1,000 L sample volume) due to delays caused by a defect of a suspended matter centrifuge. However, very long waiting periods did not have a considerable effect on the increase of the solids concentration. Still, it may be advisable to take a cautious look at the solid concentrations determined in the samples with a waiting period of 20 weeks and more, as in some of these cases slightly above-average solid concentrations were found. As an example, in calendar week 19 it was overserved that on the day with the highest solids concentration (approx. 50 mg/L) the Neckar also had the highest water level (2.40 m) as opposed to the average level between 2.12 m and 2.25 m, and thus the highest flow. The most resilient results derive from the samples that were centrifuged within one week (calendar weeks 31, 38 and 43) . Here it can be seen very clearly that the suspended matter concentration upstream and downstream of the wastewater treatment plant discharge point hardly changed. In case of the Körsch, samples from the calendar weeks with the lowest flow rate upstream of the wastewater treatment plant discharge were among the samples with the lowest solids concentrations. The solids concentration in the Körsch was prone to a stronger change due to the wastewater treatment plant discharge as compared to the solids concentration of the Neckar river. Furthermore, downstream of the wastewater treatment plant discharge point in the Körsch, the P concentration was significantly higher than upstream of the discharge point, so that increased algae growth may have been promoted in those samples with longer waiting durations before centrifugation. Due to the very short waiting duration of the IBCs, the suspended matter concentrations from calendar weeks 33, 38, 43 and 48 represent the most reliable results.

The chemical oxygen demand (COD) in the inflow of the S-Mühlhausen wastewater treatment plant was typically 630 mg/L to 790 mg/L, whereas in S-Möhringen it made up between 390 mg/L and 530 mg/L. In S-Möhringen, relatively low COD concentrations in the case of two calendar weeks (5 and

18) of 270 mg/L to 280 mg/L can be ascribed to dilution by rainwater. In the S-Mühlhausen wastewater treatment plant, only about 3% of the initial COD was present on average after biological treatment (approx. 97.1% elimination, 20 mg/L to 24 mg/L COD in the secondary clarifier effluent). The sand filter effluent still contained 16 mg/L to 19 mg/L COD (97.6% elimination) and the activated carbon filter effluent still contained 13 mg/L to 15 mg/L COD (98.0% elimination). With a median of 12 mg/L, the COD of the Neckar downstream of the wastewater treatment plant discharge point was only slightly higher than upstream of the discharge point (upstream: 11 mg/L COD). In the effluent of the secondary clarifier of the S-Möhringen wastewater treatment plant, 19 mg/L to 25 mg/L COD were present, which corresponds to a COD elimination degree of about 95%. With regard to the COD in the Körsch, it is important to distinguish between the rainy calendar weeks 5 and 18 and the dry calendar weeks 13, 23, 43 and 50. In dry phases, the COD of the Körsch was increased from an average of 12 mg/L to 23 mg/L by the wastewater treatment plant discharge. In the rainy calendar week 05 the COD was higher than downstream of the discharge point (52 mg/L upstream of the wastewater treatment plant discharge point, downstream: 37 mg/L).

With regard to the elimination performance of phosphorus, it is necessary to differentiate between the different phosphorus fractions. Thus, it is obvious that in S-Mühlhausen in the preliminary sedimentation mainly the particulate phosphorus fraction is eliminated. By contrast, the phosphate (91.6% elimination) and dissolved unreactive phosphorus (DUP) fractions (88.8% elimination) are only significantly eliminated by biological treatment. While the o-PO_4 and particulate phosphorus fraction (PP) are only eliminated by activated carbon treatment with additional 1.5% to 2.5%, in particular, this treatment shows a good effect on the DUP fraction by an additional 4.2% elimination. According to the median, 50 µg/L of the DUP and 90 µg/L of the PP fraction are still present in the secondary clarifier effluent and 23 µg/L of the DUP and 39 µg/L of the PP fraction are still present in the activated carbon effluent. Both fractions may contain phosphonates. The DUP concentration discharged into the Neckar is 31 µg/L P, the discharged PP concentration is only 16 µg/L (since the sand filter has a very good removal efficiency with regard to particles). The influence of wastewater treatment plant discharge on the Neckar River can be seen in the phosphate (increase of 9.8%) and PP fraction (increase of 25.0%). With an increase of 7.4%, the DUP fraction is also slightly affected by the discharge.

Based on the median, at the S-Möhringen wastewater treatment plant, a PP elimination extent of only 19% was observed by preliminary sedimentation. With 82.5% elimination, the DUP fraction is eliminated the least in the treatment plant, while both the phosphate and PP fractions are eliminated best at 93.9% and 91.1% on average. 42 µg/L of the DUP and 180 µg/L of the PP fraction are still present in the wastewater treatment plant effluent. The influence of the wastewater treatment plant discharge on the Körsch River is considerable. Thus, the phosphate concentration of the river is generally doubled or tripled as a result of the wastewater treatment plant discharge, whereas the DUP and PP concentrations are generally almost quintupled.

1.12 Results of the literature review

During the literature review an emphasis was put on sensitive analytical methods, which are suited for the differentiated determination of the phosphonates ATMP, EDTMP, DTPMP, HEDP and PBTC in trace quantities and in environmental samples. Through systematic search within a time frame between 2000 and 2015 using Google Scholar, Web of Science and Chemical Abstract Service, the current knowledgebase of literature was complemented.

Phosphonate analysis represents a challenge, since within drinking and wastewater samples the compounds are present as nonuniform complexes with metal cations (Nowack, 2003). Before quantification takes place, these complexes must be transformed into a consistent form prior to analysis. The compounds bear no chromophoric groups, are poorly soluble in organic solvents due to their polarity, possess little chemical reactivity and are not volatile. At the same time, matrix components of envi-

ronmental probes, which were also concentrated during enrichment steps, often proved to interfere with the subsequent analysis (Knepper *et al.,* 2002, Klinger *et al*., 1997, Nowack, 1997).

1.12.1 Determination methods

Numerous methods for the determination of phosphonates can be found in the literature. However, only a few of these are suitable for application to environmental samples and for quantification in the trace concentration range. Some examples of particular scientific interest are presented below.

The proportion of organic phosphonates within the total phosphorus content of sediment samples was determined by ^{31}P-solid-state-NMR (Ahlgrena *et al.,* 2006; Benitez-Nelson *et al.,* 2004; Bai *et al.,* 2009). However, no qualitative statement can be made regarding the phosphonates present by this method. The method is suitable for determining phosphonates as a sum parameter in mixtures with different organic phosphorus species. The limits of determination are in the mg/kg range. Sodium hydroxide (NaOH) and ethylenediaminetetraacetate (EDTA) were used for the extraction of phosphonates from soil samples.

Ortega-Gadea *et al.* (2006) and Bernabé-Zafón *et al.* (2007; same research group) established an analysis method for commercially used phosphonates using capillary zone electrophoresis separation coupled with detection by electrospray ionization and ion trap mass spectrometry (CZE-ESI-ITMS). Among others, the phosphonates ATMP, DTPMP, HEDP, EDTMP and PBTC were analyzed in technical formulations in a dilution of 100 mg/L. The limit of detection was not determined. Contaminations of technical ATMP, EDTMP and DTPMP with derivatives of incomplete substitution pattern were detected.

Nowack (1997) established a method for the determination of the phosphonates HEDP, ATMP, EDTMP and DTPMP in water samples by ion pair chromatography (IPC). The analytes were first converted into their free acids by cation exchange and then into uniform iron-III complexes prior to chromatography. Photometric detection at 260 nm enabled quantification limits in the range between 15 µg/L and 100 µg/L. By application of an upstream enrichment step by adsorption on calcium carbonate, the quantification limit could be extended down to the lower µg/L range, which made it possible to detect the substances in the inflows of sewage treatment plants. In the inflows of several wastewater treatment plants in Switzerland, Nowack (1998) detected ATMP and EDTMP in concentrations of up to 240 µg/L and 350 µg/L, respectively. The concentrations in the effluents were below the limits of quantification (LOQ) of 15 µg/L (ATMP) and 22 µg/L (EDTMP).

An IPC-ESI-MS method for the detection of phosphonates ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP and PBTC was described by Knepper *et al.* (2002). The analytes were separated on a C18 column using a water/acetonitrile gradient and the ion pair reagent tetraethylammonium acetate (10 mmol/L). Detection was performed after eluent suppression. No limits of determination were determined.

Schmidt *et al*. (2013) established the currently most sensitive IC-ICP-MS determination method at the TZW, which allows the quantification of the commercially used phosphonates ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP in surface water samples in concentrations of 0.1 µg/L. Metal-phosphonate complexes are first broken down by contact with a strongly acidic cation exchange resin, the metal cations are removed and the phosphonates are converted into the free phosphonic acids. After neutralization, these are enriched 50-fold by a weakly acid anion exchanger, separated by anion chromatography (Dionex IonPac AS16 column) and detected by mass spectrometry with inductively coupled plasma (ICP-MS).

Among the results of the literature search there are only two publications that meet the following criteria: LOQ in trace concentration range, differentiated quantification of the project-relevant analytes and quantification of samples with complex matrix (environmental samples): Nowack (1997; waste water samples, LOQ: 15 µg/L to 22 µg/L) and Schmidt *et al*. (2013; Rhine water, LOQ: 0.1 µg/L).

In summary, no fundamentally new analytical methods or monitoring data on the occurrence of phosphonates in the environment have been added to the more recent literature since then. This conclusion is confirmed through a current review on properties, use and environmental behavior of aminopolyphosphonates by Studnik *et al.* (2015).

1.12.2 Enrichment methods

Previous studies described an enrichment of phosphonates by evaporation of the aqueous matrix (Klinger, 1997, Klinger *et al.,* 1997, Knepper *et al.,* 2002) or adsorption on precipitated hydroxides, carbonates and phosphates (Daley-Yates *et al*., 1989; Frigge and Jackwerth, 1991; Nowack, 1997; Liggett, 1973; Flesch and Hauffe, 1989; Liggett and Libby, 1970) and their subsequent dissolution in acids. The simultaneous concentration of other non-volatile matrix components (e.g. salts and humic substances) in surface water samples led to uneven recovery rates for different phosphonates and posed a problem to the subsequent analysis (Frigge and Jackwerth, 1991; Klinger, 1997; Knepper *et al*., 2002).

Schmidt *et al*. (2013) established a successful sample preparation technique in which the phosphonates were first freed of metal cations via a strong cation exchanger and converted into their free acids. The phosphonates were then eluted by a 4% solution of ammonia in methanol. This was the first method by which the phosphonates ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP and HEDP could be simultaneously enriched from surface water with high recovery rates.

1.12.3 Sample preparation methods

For the determination of phosphonates in environmental samples in the trace concentration range (ng/L- to low µg/L-range), an effective sample preparation is required. During this process, the analytes present in the form of different complexes are to be converted into a uniform form, separated from matrix components and metal cations and, if necessary, concentrated. By contact with a strongly acid cation exchanger, the metal cations are exchanged by protons and the phosphonates are converted into the free acids.

In contrast to aminocarboxylate complexing agents (e.g. EDTA), aminophosphonates strongly adsorb onto most mineral surfaces in the surface water-relevant pH range (pH 6 to pH 8; Nowack, 2003). Calcium exerts an intensifying effect on the adsorption rate and the occupancy capacity of the surface. Fischer (2002) investigated the adsorption of HEDP on clay, river sediments and activated sludge. A generally strong, only partially reversible adsorption was determined.

Both acid and alkaline digestion variants were evaluated as part of the method development. Many literature sources deal with the characterization of organic phosphorus in soil and sediment. The most frequently mentioned method is a combined extraction with NaOH and EDTA. Extraction for 2 h at 85 °C was established by Bowman and Moir (1993). NaOH increases the solubility of phosphonates, while EDTA supports the desorption of phosphonates by complexing calcium (Nowack and Stone, 1999b). The method was used to determine organophosphorus compounds by ^{31}P-NMR (Cade-Menun and Preston, 1996).

1.13 Phosphonate analysis: Method development

The most important aspects and challenges during the method development consisted in the extraction of phosphonates from solid samples, the handling of probes with a complex matrix and the enrichment of phosphonates from surface water.

For this project, the established IC separation method was successfully coupled with an ESI-MS/MS mass spectrometer (AB Sciex 5500 Tripple Quad) for the first time. By implementing ^{13}C-labelled or deuterated Internal Standards (self-synthesis) of the phosphonates ATMP, DTPMP, EDTMP, HEDP and PBTC, determination limits (LOQ) of 1 µg/L per direct measurement were achieved and interferences

caused by matrix effects were minimized. For the quantification of surface water samples with low phosphonate contents, a method involving an automated 20-fold enrichment step was established, whereby determination limits of 0.1 µg/L were reached. These are comparable with the determination limits of the IC-ICP-MS method described by Schmidt *et al.* (2013). In addition to the increase in sensitivity, the use of Internal Standards also led to an increase of specificity compared to the IC-ICP-MS method, in which the analytes were identified solely on the basis of retention time. This is a noteworthy advantage of the new method. Now co-elutions and moderate retention time shifts have no major negative effects on the analysis. This is particularly advantageous in samples with higher levels of contamination (wastewater, sediments, suspended solids). Since phosphonate contents in the µg/L range were present in the inflows and outflows of sewage treatment plants and most solid extracts (cf. Knepper *et al.,* 2002; Nowack, 1998; Nowack, 2002a), the use of the sensitive IC-ESI-MS/MS method allowed direct quantification without the 50-fold manual enrichment step previously applied. The automated enrichment procedure for surface water samples has simplified the preparation of aqueous samples. Under these conditions, prior to injection into the IC, the aqueous samples were only treated with the strongly acidic cation exchanger to remove the cations.

All in all, phosphonates are extremely demanding analytes. This character manifests itself especially in the quantification of phosphonates in environmental samples. The synthesis of isotope-labelled phosphonates for application as Internal Standards (compensation of matrix effects) and extensive method development (in particular with regard to the digestion of solid samples) were the prerequisites for establishing a robust and sensitive analysis method.

1.13.1 Reference Standards and Internal Standards

In addition to the development of the analytical methodology, the availability of appropriate reference standards was an essential prerequisite. For this purpose, the phosphonate standard library already available at the TZW was extended by currently available commercial samples and reference materials. Several commercial standards of each phosphonate (ATMP, DTPMP, EDTMP, HEDP and PBTC) were acquired, characterized by the determination of ortho-phosphate and total phosphorus as well as by IC-ICP-MS and IC-ESI-TOF analyses and the purest standards were selected.

In the process of method development it became clear that the matrix of the samples (surface water, wastewater and extracts of sediment, suspended matter and wastewater solids) may exert strong effects on the quantification of phosphonates. The matrix load either derives from the sample itself or is introduced into the sample via the digestion reagents. By optimizing the elution gradient, most of the standard anions and the anions from the digestion reagent were separated chromatographically from the phosphonates. The introduction of unwanted anions into the mass spectrometer is prevented by a preceding washing step. This procedure minimizes fluctuations of the ionization in the ESI source due to different matrix compositions, which would lead to errors during quantification; in addition, contamination of the mass spectrometer is minimized. Irrespective of this, the different matrices have an influence on the retention times. It also became evident during the method optimization that environmental samples may contain compounds which behave chromatographically like phosphonates, elute in the same time frame and in some cases form fragments of identical mass. These interfering ions could not be completely separated. During the examination of sediment and suspended matter extracts using high-resolution ESI-TOF detection, indications on the presence of a large number of unknown phosphorus-containing substances were obtained, which exhibit retention behavior similar to phosphonates. ESI-TOF analysis made it possible to differentiate these substances, but they led to disturbances during the sensitive tandem MS analyses. In the case of matrix-induced retention time shifts and the simultaneous presence of these interfering substances, the correct identification of the analytes cannot be guaranteed. These co-eluting ions can also lead to different ionization yields and thus interfere with the quantification of the analytes.

Due to matrix effects, detector drift and the occurrence of interfering ions, the availability of Internal Standards (IS) for all project-relevant phosphonic acids proved indispensable. After the implementation of the Internal Standards into the measurement method, the identification of an analyte is defined by the simultaneous detection of the mass transitions of analyte and IS. This enables the analysis even with retention time shifts and from matrix-loaded samples. The Internal Standards also made it possible to attain lower limits of quantification while at the same time extending the quantification range upwards. Furthermore, the efficiency of the extraction of phosphonates from sediment and suspended matter samples could be assessed.

1.13.2 Adaptation of chromatography

In the method established by Schmidt *et al.,* phosphonates are separated chromatographically via an anion chromatography column by a sodium hydroxide (NaOH) gradient from 36 mmol/L to 120 mmol/L over 20 min. In this method, phosphate elutes 5.2 min and the phosphonates between 7.5 min and 16 min.

In this project, heavily matrix-loaded environmental samples were investigated. The solid extracts also contained NTA in the g/L range, a complexing agent that has similar properties to the target analytes and therefore cannot be removed from the sample immediately. In order to ensure the greatest possible pre-selection of phosphonates or compounds with phosphonate-like character from the other matrix components, tests were carried out to adapt the chromatographic separation. In the case of phosphonates, this is achieved by their strong retardation on the anion exchange chromatography columns. This procedure is possible because ions with a lower charge and lesser interaction with the column (e.g. chloride, phosphate and sulfate) elute at a lower ionic strength. Since phosphonates have multiple negative charges, they do not elute in an eluent with low ionic strength. A washing step with low eluent strength (18 mmol/L NaOH), before the gradient for the elution of the phosphonates starts, was implemented into the method. At the beginning of the chromatographic run, the eluate from the separation column is fed into the waste via a valve installed between IC and ESI-MS during the washing step. Only after the elution of the interfering ions and before the elution of the phosphonates, the valve is switched over and the eluate from the separation column is fed into the mass spectrometer. In the course of further method development, it was found out that EDTA can be replaced by the short-chain homolog NTA for the purpose of sample digestion. NTA has a comparable effect in supporting the extraction of solid samples, but elutes earlier than EDTA and shows less signal tailing during chromatography. A reduction of the concentration in the extraction medium proved not advantageous, as a reduction of extraction efficiency was observed. However, the elution of NTA in the adapted chromatography variant is completed earlier than that of EDTA, simultaneously with the elution of the first phosphonate (HEDP). Until HEDP is eluted, the eluate is fed into the waste to minimize contamination of the mass spectrometer.

1.13.3 Automated enrichment

Phosphonates exhibit a strong retardation at anion exchange chromatography columns because they are present as multiply-charged anions under the alkaline pH conditions of the NaOH eluent. Strong interactions with the anion exchange material of the separation column are only overcome by increased eluent concentrations. Due to this special behavior, it proved possible to inject a phosphonate standard repeatedly with an eluent of low ionic strength before initiation of the chromatographic separation of the phosphonates by starting the actual gradient with higher ionic strength. At low ionic strengths, the phosphonates adsorb completely to the column material, whereby an additive effect of the single injections can be achieved without signal broadening (OCE = on-column-enrichment).

In complementation with the chromatography method for matrix separation presented in the previous section, a method was established which is suitable for the quantification of phosphonates from surface water down to a determination limit of 0.1 µg/L. The recoveries of the enrichment procedure vary

between 30% (EDTMP) and > 80% (DTPMP, HEDP, PBTC) and are largely independent of the matrix (HPLC-, tap- and surface water). The subsequent implementation of the Internal Standards led to a significant improvement in data quality, as the matrix effects due to the injection of larger sample volumes were compensated. The resulting method achieved determination limits comparable with the method described by Schmidt *et al.,* which required a manual 50-fold enrichment step.

1.13.4 Sample digestion

Based on Bowman and Moir (1993), solid samples were digested according to the following optimised method: 0.5 g sediment or suspended matter or 0.05 g wastewater solid (dry weights) were homogenised in a mortar and mixed with 7.5 mL HPLC water and Internal Standard. After one hour, the digestion reagent was added and extracted in an ultra sonic bath for 1 hour. The digestion was carried out using NaOH (0.5 mol/L) and NTA (0.1 mol/L), whereby the solid was digested in a total of 15 mL extractant. The suspension was then centrifuged, the clear supernatant pipetted off and the solid residue extracted a second time without addition of Internal Standard. The two extracts were combined in equal proportions and subjected to a cation exchange in a batch process. 0.5 g of a strong cation exchanger (AG MP-50, Bio-Rad Laboratories GmbH) was used, which was suspended in the sample for 60 minutes. After a further centrifugation step, the supernatants were transferred into sample vessels. The NaOH and NTA concentrations of the digestion reagent were optimized and the extraction yields of three consecutive extraction steps were evaluated by the application of Internal Standards. It turned out that over 95% of the extractable phosphonate was mobilized with two extractions.

1.14 Phosphonate analysis: Results

Table 1 presents an overview of the phosphonate content ranges of the matrices analyzed during the project according to SOP-02, independent of the degree of sample loading (before and behind the wastewater treatment plant discharge point). The values of the liquid samples are given in µg/L, those of the solid samples in mg/kg (based on the freeze-dried solid).

Table 1: Range of phosphonate contents in the matrices investigated during the study (contaminated and uncontaminated samples). River water: LOQ = 0.1 µg/L; Wastewater treatment plant influent and Secondary clarification effluent: LOQ = 1 µg/L; River sediment and River suspended matter: LOQ = 0.03 mg/kg; Solids (wastewater): LOQ = 0.3 mg/kg.

Analyte	River water / (µg/L)	Wastewater treatment plant influent / (µg/L)	Secondary clarification effluent / (µg/L)	River sediment / (mg/kg)	River suspended matter / (mg/kg)	Solids (wastewater) / (mg/kg)
ATMP	<LOQ – 0.3	<LOQ – 15	<LOQ	<LOQ – 0.8	<LOQ – 46	6 – 21
DTPMP	<LOQ – 8	7 – 71	<LOQ – 10	0.1 – 5	1 – 141	4 – 312
EDTMP	<LOQ – 0.2	<LOQ – 11	<LOQ	<LOQ – 0.2	<LOQ – 7	<LOQ – 5
HEDP	<LOQ – 28	27 – 231	5 – 31	1 – 38	1 – 1401	149 – 768
PBTC	<LOQ – 13	22 – 119	5 – 27	0.1 – 17	0.4 – 211	13 – 84

1.14.1 Wastewater and wastewater solids

In general, the contents of the phosphonates ATMP, DTPMP, HEDP and PBTC allowed the quantification of wastewater samples by direct measurement. At the inlet of the pretreatment stage, EDTMP was frequently present below the limit of determination (1 µg/L). ATMP occurred at significantly lower concentrations (<15 µg/L) as the phosphonates DTPMP, HEDP and PBTC (between 7 µg/L and 231 µg/L). The dissolved concentrations of the wastewater samples generally showed less continuity as those of suspended solids and sediment samples from rivers. Nevertheless, the relative analyte concentrations remained similar over the course of the year. When plotting the concentration profiles of

the individual sampling dates (preliminary clarification influent, preliminary clarification effluent, secondary clarification effluent and, in the case of the wastewater treatment plant Stuttgart-Mühlhausen, additionally sand filter and activated carbon filter effluents), comparable diagrams were always obtained.

Whereas no reduction and in some cases even a slight increase of the phosphonate content occurred during preliminary clarification (an indication that phosphonates initially adsorbed on solid particles are released), a significant reduction of the phosphonate content was observed in the effluent of the secondary clarification. This is largely analogous in both investigated sewage treatment plants and affects all analytes in a comparable manner. Phosphonate elimination by secondary clarification in S-Mühlhausen accounted for 80% to 90%. Elimination by secondary clarification was somewhat less effective in S-Möhringen, but usually > 80%. The elimination rate was hardly increased by sand filtration in S-Mühlhausen, but a further elimination by the activated carbon filtration was observed. Activated carbon is nonpolar and therefore not a suitable adsorbent for the highly polar phosphonates (Klinger *et al.*, 1998). The observed elimination is probably due to the use of a metal-containing flocculant used for the removal of activated carbon. Phosphonates adsorb onto metal-containing polar flocks, which are are retained by the finely powdered activated carbon with a very large specific surface area.

It was found that the proportion of the phosphonate phosphorus in the DUP fraction in all wastewater samples was generally between 10% and 30% in S-Mühlhausen and between 15% and 40% in S-Möhringen and was therefore significant. The similar proportions across all samples show that the elimination of DUP correlates approximately with the elimination of phosphonates.

Furthermore, the possible influence of the wastewater treatment plant flow rate on the elimination performance was investigated, i.e. the influence of high or low rainwater content. With an average flow rate of around 1.4 m^3/s, the elimination was subject to strong variation. The flow rate seems to have played no role here. In S-Möhringen the flow rate varied even stronger. The two data points on which the highest flow rates were recorded also stood out with regard to the lowest wastewater temperature (< 12 °C). Since it can be assumed that the temperature has a greater influence on the elimination of phosphonates than the flow rate, it cannot be clearly concluded from the results whether a strong dilution of the wastewater treatment plant inflow is accompanied by a poorer elimination of phosphonates.

The solids in the influent of the wastewater treatment plants contained surprisingly high loads of phosphonates (lower to middle mg/kg-range). Similar loads were determined in the influents of both wastewater treatment plants. The solid contents of the inflow samples scattered strongly throughout the year. Typical solid loads and dissolved concentrations (median) in S-Mühlhausen were: 678 mg/kg phosphonate load of solid matter, 195 µg/L phosphonate adsorbed, 305 µg/L phosphonate dissolved, 342 mg/L filterable substances (AFS). In S-Möhringen these were: 715 mg/kg phosphonate load of solid matter, 156 µg/L phosphonate adsorbed, 245 µg/L phosphonate dissolved, 224 mg/L AFS.

The proportion of adsorbed phosphonate in the influent of S-Mühlhausen usually varied between 30% and 70%. In the inflow of S-Möhringen, it varied between 30% and 50%. S-Möhringen therefore showed less fluctuation. This may be due to the fact that the wastewater treatment plant S-Möhringen is mainly fed by municipal wastewater. Thus, influences caused by industrial discharges, some of which fluctuate considerably, are of no significance.

HEDP accounted for the largest proportion of adsorbed phosphonate for both S-Mühlhausen and S-Möhringen. This reflects the results of Nowack and Stone (1999), who found that phosphonates with a smaller molecular mass or lower number of phosphono groups adsorb more strongly to iron hydroxide. It is very likely that this also applies to the majority of other adsorbents, e.g. calcium-containing adsorbents.

The high proportion of adsorbed phosphonate is considerable and underlines the fact that in order to establish a comprehensive phosphonate-balancing of wastewater treatment plant samples, the phosphonates adsorbed on solids must be determined. During the project, this was only carried out for the wastewater treatment plant influents.

1.14.2 River water

No significantly increased phosphonate contents were determined in the Neckar water downstream of the discharge point. The dilution effect of the Neckar River was too strong (290 m^3/s dry weather discharge, up to 7.5 m^3/s sewage plant discharge). In the Neckar, PBTC had the highest concentration: between 1.3 µg/L and 5.1 µg/L. The total phosphonate concentration was between 2.4 µg/L and 6.6 µg/L. The contents of HEDP (0.2 µg/L to 2.0 µg/L) and DTPMP (0.1 µg/L to 0.9 µg/L) determined in the Neckar water during the ten sampling dates were comparable to those determined by Schmidt *et al.* (2013) of HEDP (0.3 µg/L to 1.6 µg/L) and DTPMP (0.1 µg/L to 1.3 µg/L) in Rhine water.

The evaluation of the Körsch water samples provided clearly different results. For the Körsch a strong influence of the sewage treatment plant was determined. The discharge of the treatment plant increased the PBTC concentration to between 4.1 µg/L and 13.4 µg/L (minimum and maximum record), the HEDP concentration even to between 10.1 µg/L and 28.2 µg/L (minimum and maximum record). While the levels before the discharge were below 1 µg/L (with one exception of 1.2 µg/L HEDP in calendar week 28), moderately elevated DTPMP contents (factor 2.7) and significantly increased HEDP and PBTC contents were found after the discharge (factor 29 and 54 respectively; based on the averaged records over the course of the year). The contents of ATMP and EDTMP before and behind the discharge point were below the limit of determination.

In contrast to the Neckar, the phosphonate concentration and the increase or decrease in phosphonate concentration of the Körsch correlated very well with the effluent concentration of the wastewater treatment plant. This appears plausible, since the Körsch downstream of the discharge point consists mainly of wastewater treatment plant effluent. The phosphonate concentrations determined in the Körsch behind the discharge point were usually slightly lower than in the effluent of the wastewater treatment plant. There are two reasons for this: 1. The sewage treatment plant effluent was slightly diluted by the river water. 2. A part of the phosphonates in the effluent adsorbed on sediment and suspended matter before reaching the sampling point downstream.

A wave profile was observed when plotting the phosphonate contents of the Neckar water. The highest concentrations were found in winter and summer, while significantly lower values were recorded in autumn and spring. An analogous tendency was not observed when plotting the phosphonate contents of the Körsch water.

1.14.3 Sediment

As a prerequisite for sediment sampling, it was necessary to investigate whether the phosphonate contents in the river bed behave homogeneously or whether they are subject to fluctuations. To this end, 5 to 10 individual samples were taken before and behind the discharge point and analysed separately during the first four Neckar samplings. It turned out that the phosphonate contents in the sediment were very heterogeneous. Upon the examination of a single sample's phosphonate content, it was not possible to discern whether the sample was taken before or after the discharge point. Depending on the sampling point in the river bed, the phosphonate contents strongly varied. In some strongly loaded samples drawn before the discharge point higher phosphonate contents were determined as in some weakly loaded samples drawn behind the discharge point. Since the matrix of the individual samples differed considerably (sandy or gravelly vs. "muddy"), this observation came as no surprise. However, a significant increase of phosphonate content of sediment after the discharge point was observed when looking at the mean values. Therefore, from sampling 5 in S-Mühlhausen and 1 in S-Möhringen on, 5 individual samples were routinely taken and mixed in equal parts after lyophilization.

The following loads were determined in the Neckar sediment: Total phosphonate: 12 mg/kg to 21 mg/kg before vs. 23 mg/kg to 38 mg/kg behind; PBTC: 5 mg/kg to 9 mg/kg before vs. 10 mg/kg to 15 mg/kg behind; HEDP: 6 mg/kg to 13 mg/kg before vs. 13 mg/kg to 22 mg/kg behind; ATMP: < 1 mg/kg; EDTMP: < 0.16 mg/kg; DTPMP: < 5 mg/kg. Behind the discharge point the phosphonate load was significantly increased for each phosphonate. Even though the aminophosphonates were generally present in minor concentrations, a significant influence of the wastewater treatment plant over a wide range of samples was evident. Despite the large scattering of the results, it can therefore be concluded that the wastewater treatment plant has a clear influence on the phosphonate load of the sediment. Considering that the river water concentrations of phosphonates before and behind the discharge point do not significantly differ, this observation is of particular interest. In the long term, phosphonates discharged by the wastewater treatment plant seem to accumulate in the sediment. Therefore, the absence of increased phosphonate levels in the aqueous phase behind the discharge point does not allow the conclusion that the wastewater treatment plant has no influence on the phosphonate content of the Neckar River.

In the effluent of the wastewater treatment plant S-Mühlhausen, the HEDP and PBTC concentrations (median: 13.3 µg/L each) were 4 times as high as the DTPMP concentration (median: 3.4 µg/L). In the Sediment downstream of the discharge point, however, the increase in PBTC (median: 4.1 mg/kg) and HEDP loading (median: 6.5 mg/kg) was 4 and 7 times higher than the increase in DTPMP loading (median: 1.0 mg/kg). This implies that HEDP is the phosphonate with the highest adsorption affinity. Nowack and Stone (1999) found that HEDP adsorbs particularly strongly due to its smaller molecular mass compared to the aminophosphonates.

During the sampling of the Körsch, a severe influence of the wastewater treatment plant discharge on the phosphonate load of the sediment was determined. In all samples, significantly elevated phosphonate loads were found behind the discharge point: 3 mg/kg to 5 mg/kg total phosphonate before vs. 24 mg/kg to 38 mg/kg total phosphonate behind; 2.72 mg/kg HEDP before vs. 20.8 mg/kg HEDP behind; 0.36 mg/kg DTPMP before vs. 1.92 mg/kg DTPMP behind; 0.21 mg/kg PBTC before vs. 6.08 mg/kg PBTC behind; < 0.04 mg/kg ATMP before vs. 0.45 mg/kg ATMP behind; < 0.01 mg/kg EDTMP before vs. 0.05 mg/kg EDTMP behind (medians stated). Before the discharge point, DTPMP represented the phosphonate with the second highest load. Behind the discharge point this applied to PBTC.

In the effluent of the wastewater treatment plant S-Möhringen, the PBTC (10.0 µg/L) and HEDP concentrations (19.9 µg/L) were 4 and 8 times higher as the DTPMP concentration (2.5 µg/L; medians stated). In the sediment behind the discharge point, the increase in PBTC (median: 5.9 mg/kg) and HEDP (median: 18.1 mg/kg) loading was 4 and 12 times higher, respectively, than the increase in DTPMP loading (1.6 mg/kg median). HEDP therefore adsorbs more strongly than the other two phosphonates.

The phosphonate load and the increase in the phosphonate load of the Neckar (defined as: phosphonate load behind minus phosphonate load before the wastewater treatment plant) correlated only weakly with the phosphonate load of the wastewater treatment plant effluent. However, the recorded data had strong variation. This large scattering of the sediment phosphonate load independent of the phosphonate concentration of the effluent implies that the loading of sediment by phosphonates is a dynamic process and subject to many influences.

During the Neckar sampling, moderate phosphonate loads were determined even in the samples before the discharge point, whereas only very low loads were detected in the sediment samples of the Körsch upstream the discharge point. The current results suggest that the phosphonates adsorb to particles and possess sufficient stability to spread with the particle flow along the river bed over long distances. This hypothesis is confirmed by the results of a depth profile of the phosphonate content in a Rhine sediment down to a depth of 66 cm. Phosphonate contents between 5 mg/kg and 29 mg/kg (HEDP) and between 3 mg/kg and 5 mg/kg (PBTC) were detected down to depth of more than 50 cm.

Only in the deepest sample examined (66 cm) significantly lower contents were determined. The levels of EDTMP in all samples were below the limit of determination, while the levels of ATMP and DTPMP were below 1 mg/kg.

After plotting the sediment phosphonate loading of Neckar and Körsch, a subtle wave profile with the highest concentrations in spring and in autumn and for the Körsch in summer and in autumn was observed. The wave-like progressions of the phosphonate loads were therefore not congruent. A comparison with the wave-profile observed when plotting the phosphonate content of the Neckar water reveals reverse behavior: there, the highest concentrations were found in winter and summer, while significantly lower concentrations were measured in autumn and spring.

1.14.4 Suspended matter

The phosphonate loads of the Neckar suspended solids scattered strongly. The suspended matter load before the discharge point had a minimum of 6 mg/kg and a maximum of 187 mg/kg. Behind the discharge point, the minimum was 9 mg/kg and the maximum 154 mg/kg. In contrast to the sediment samples, for which an increase in the load due to the discharge could be observed throughout the study, several suspended matter loads determined behind the discharge point were lower than before. In the Neckar, the phosphonate load before the discharge point hardly differed between sediment and suspended matter: 12 mg/kg to 21 mg/kg in sediment, 12 mg/kg to 28 mg/kg in suspended matter (PBTC: 5 mg/kg to 9 mg/kg in sediment, 5 mg/kg to 11 mg/kg in suspended matter; HEDP: 6 mg/kg to 13 mg/kg in sediment, 4 mg/kg to 11 mg/kg in suspended matter; ATMP: 0.2 mg/kg to 0.4 mg/kg in sediment, 0.1 mg/kg to 0.7 mg/kg in suspended matter; EDTMP: 0.04 mg/kg to 0.07 mg/kg in sediment, 0.1 mg/kg to 0.2 mg/kg in suspended matter; DTPMP: 0.6 mg/kg to 1.2 mg/kg in sediment, 2 mg/kg to 5 mg/kg in suspended matter; first to third quartiles stated). This implies that the suspended matter before the discharge point likely consisted of swirled up fine sediment. The median of the phosphonate load behind the discharge point was slightly increased for each phosphonate as compared to the load before the discharge point. Despite the large scattering of results, it can therefore be concluded that the wastewater treatment plant exerts a slight influence on the phosphonate load of suspended solids. This is particularly interesting considering that the dissolved concentrations are not influenced by the discharge. It is assumed that the phosphonates adsorb rapidly to the suspended solids.

In case of the Körsch suspended solids, the influence of the wastewater treatment plant discharge on the phosphonate load was considerably greater than in the Neckar: 6 mg/kg to 66 mg/kg phosphonate before the discharge point and 66 mg/kg to 1140 mg/kg phosphonate after the discharge point (first to third quartile). Significantly increased loads were determined throughout all samplings. In contrast to the Neckar, the sediment load and the suspended matter load before the discharge point were very different: 3 mg/kg to 4 mg/kg phosphonate in the sediment, 6 mg/kg to 66 mg/kg phosphonate in suspended matter. An analogous difference also affected the samples behind the discharge point: 24 mg/kg to 38 mg/kg phosphonate in the sediment, 66 mg/kg to 1140 mg/kg phosphonate in suspended solids.

The multiplication of the suspended matter concentration by the phosphonate load results in the mass concentration of the adsorbed phosphonates. In this way, the fractions of adsorbed and dissolved phosphonate in the river can be compared with each other. The proportion of adsorbed phosphonates of generally < 15%, both before and after the discharge point, turned out to be very low in the Neckar (exceptions: calendar weeks 19 and 43). The proportion of adsorbed phosphonates in the Körsch turned out to be almost identical even in view of the very high loads.

Due to a centrifuge defect, 7 of the Neckar samples and 6 of the Körsch samples from before and after the discharge point were stored for several weeks until centrifugation. As some algae growth occurred during storage in the IBC and a degradation of the phosphonates by biological processes, photolysis or

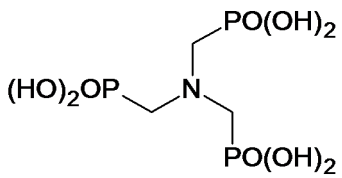
hydrolysis appeared likely, which could in return lead to decreased results, a possible correlation between the phosphonate concentration and the time before centrifugation was investigated. For both the Neckar and the Körsch, significantly reduced phosphonate loads of suspended matter samples were always observed in samples centrifuged after prolonged storage. The suspended matter load of phosphonates in the resilient samples from the Neckar before the discharge point was 20 mg/kg to 187 mg/kg and 27 mg/kg to 154 mg/kg behind the discharge point. The suspended matter load of phosphonates in the resilient samples varied even stronger: between 3.1 mg/kg and 201 mg/kg in the Körsch samples before the discharge point; whereas the loads behind the discharge point were very high: 1000 mg/kg to 1700 mg/kg. However, in some of the rapidly centrifuged samples from both Neckar before and behind the wastewater treatment plant as well as Körsch before the wastewater treatment plant, phosphonate loadings were determined, which were comparable to the phosphonate content of samples with low loads determined after prolonged standing periods. The assertion that a prolonged storage periods before centrifugation would consequently lead to reduced results due to algae degradation, hydrolysis or photolysis cannot be formulated without any doubt.

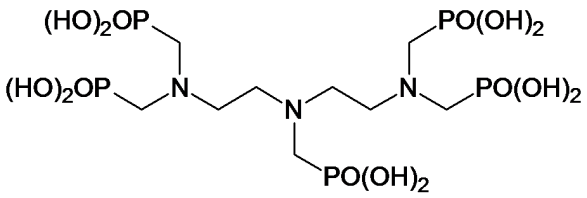
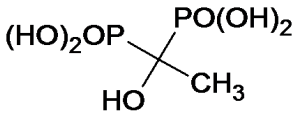
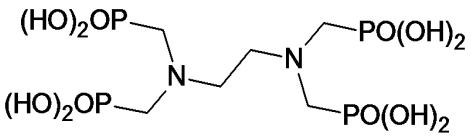
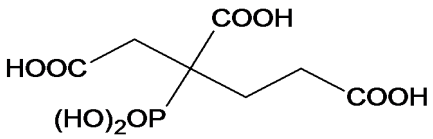
2 Einleitung

Mit steigender Tendenz werden die biologisch schwer abbaubaren Phosphonate als Komplexbildner in Wasch-, Pflege- und Reinigungsmitteln (WPR) eingesetzt. Als Folge einer freiwilligen Vereinbarung verschiedener deutscher Industrieverbände im Jahr 1991 (BMU, 1991), mit dem Ziel, den Eintrag von EDTA in die Umwelt zu verringern, ist der Einsatz der als Ersatzstoffe eingesetzten Phosphonate gestiegen. Dabei entfällt der größte Teil auf Waschmittel, Maschinengeschirrspülmittel und Oberflächenreiniger, sowohl im privaten als auch im industriellen Bereich, wobei der Einsatz im industriellen Bereich nur etwa 20 % des Gesamtanteils beträgt (Groß *et al.,* 2012). Die in WPR-Produkten am häufigsten enthaltenen Phosphonate sind ATMP, HEDP und DTPMP (HERA, 2004), sowie EDTMP und PBTC (EPA, 2015). ATMP wird überwiegend in Oberflächenreinigern eingesetzt, HEDP in Oberflächenreinigern, Maschinengeschirrspülmitteln und in Pulverwaschmittel, wohingegen DTPMP vor allem in Flüssigwaschmitteln und in industriellen Reinigern Verwendung findet (Groß *et al.,* 2012). Zwischen 2001 und 2008 nahm der Einsatz von Phosphonaten in WPR-Produkten um 44 % zu und betrug im Jahr 2008 deutschlandweit ca. 4.900 t. Zusammen mit dem Einsatz bei anderen Anwendungen, wie z. B. bei der Wasserbehandlung, Oberflächenbeschichtung, in der Zellstoff- und Papierindustrie, Textilindustrie und Kosmetikindustrie, ergibt sich eine geschätzte jährliche Gesamteinsatzmenge von 9.800 t innerhalb Deutschlands. Davon werden schätzungsweise 90 % wieder ins Abwasser entlassen (Groß *et al.,* 2012). Derzeit kann davon ausgegangen werden, dass Phosphonate durch Adsorption an Belebtschlamm bei der Abwasserreinigung effektiv entfernt werden: Bei der Abwasserreinigung mittels des Belebtschlammverfahrens ohne Phosphatfällungsstufe ermittelten Gledhill and Feijtel (1992) Eliminierungsraten zwischen 50 % und 90 % für die Phosphonate ATMP, HEDP, DTPMP und EDTMP. Nowack (2002a) ermittelte unter analogen Bedingungen Eliminierungsraten von 93 % und 95 % für die Phosphonate ATMP bzw. DTPMP bei Ausgangskonzentrationen im unteren mg/L-Bereich.

Das Ziel des Forschungsvorhabens *Phosphonate in Wasch- und Reinigungsmitteln und deren Verbleib in der Umwelt* ist die Entwicklung von Analyseverfahren und deren praktische Anwendung auf Umweltproben, einschließlich Oberflächenwasser, Abwasser, Sediment- und Schwebstoffproben. Die Planung zur Gewinnung der Wasserproben der Kläranlagenzuläufe und -abläufe sowie der Fließgewässer oberhalb und unterhalb der Einleitstelle einschließlich deren Schwebstoff- und Sedimentbeprobung wurde von Mitarbeitern des ISWA der Universität Stuttgart durchgeführt. Die Aufgabe zur Entwicklung von geeigneten Probenvorbereitungstechniken und Analyseverfahren zur Quantifizierung der Phosphonate Aminotrismethylenphosphonsäure (ATMP), Diethylentriaminpenta(methylenphosphonsäure) (DTPMP), Hydroxyethandiphosphonsäure (HEDP), Ethylendiamintetra(methylenphosphonsäure) (EDTMP) und Phosphonobutantricarbonsäure (PBTC; Tabelle 2) unterlag dem TZW:DVGW Technologiezentrum Wasser.

Tabelle 2: Übersicht der in diesem Projekt untersuchten Phosphonate, die u. a. in Wasch- und Reinigungsmitteln enthaltenen sind.

Phosphonat	Struktur
ATMP bzw. **NTMP** Aminotrismethylenphosphonsäure Nitrilotris(methylenphosphonsäure) CAS 6419-19-8 Formel $C_3H_{12}NO_9P_3$ MW 299,1 g/mol	

DTPMP bzw. **DETAPMP** Diethylentriaminpenta(methylen-phosphonsäure) CAS 15827-60-8 Formel $C_9H_{28}N_3O_{15}P_5$ MW 573,2 g/mol	
HEDP Hydroxyethandiphosphonsäure 1-Hydroxyethan(1,1-diphosphon-säure) CAS 2809-21-4 Formel $C_2H_8O_7P_2$ MW 206,0 g/mol	
EDTMP bzw. **EDATMP** Ethylendiamintetra(methylen-phosphonsäure) CAS 1429-50-1 Formel $C_6H_{20}N_2O_{12}P_4$ MW 436,1 g/mol	
PBTC Phosphonobutantricarbonsäure CAS 37971-36-1 Formel $C_7H_{11}O_9P$ MW 270,1 g/mol	

Phosphonate stellen anspruchsvolle Analyten dar und sind für ihre ausgesprochen hohe Adsorptionsaffinität an mineralischen Oberflächen bekannt (Frigge und Jackwerth, 1991; Fischer, 1991, 1992; Liu *et al.*, 2000; Zenobi und Rueda, 2012; Nowack und Stone, 1999), sodass sie in natürlichen Gewässern hauptsächlich im adsorbierten Zustand vorliegen. Folglich ist gerade mit Hinblick auf Phosphonate eine fraktionierte Betrachtung (gelöst in wässriger Phase, partikulär vorliegend in Schwimm- und Schwebstoffen und absetzbaren Sedimentstoffen) interessant.

Ausgangspunkt der gegenwärtigen Methodenentwicklung am TZW stellte die Arbeit von Schmidt *et al.* (2013) dar. Im Rahmen des UBA-Forschungsvorhabens sollten die Bestimmungsgrenzen verbessert und die Probenvorbereitungsschritte möglichst vereinfacht werden. Zusätzlich sollten Methoden zur

Analyse von Phosphonaten aus Sediment und Schwebstoffen entwickelt und mögliche Transformationsprodukte der Phosphonate in der Umwelt beschrieben und ggf. analytisch erfasst werden. Anhand der optimierten Methodik sollten Wasser- und Feststoffbeprobungen (Sedimente und Schwebstoffe) von Zu- und Abläufen von Kläranlagen, sowie Beprobungen von Oberflächengewässern durchgeführt werden.

Auf der Basis einer Literaturrecherche (AP1) wurden Probenvorbereitungstechniken entwickelt, die die Extraktion von Phosphonaten aus Feststoffproben (Flusssediment und Schwebstoffen aus Fluss- und Abwasser) ermöglicht. Die Probenvorbereitung wurde so angepasst, dass mit den erhaltenen Extrakten in analoger Weise wie mit einer Wasserprobe verfahren werden kann. Im Anschluss daran wurde eine einheitliche Analysenmethode etabliert, die sich zur Bestimmung von Phosphonaten aus wässrigen Proben und aus Feststoffextrakten eignet (AP2). Hierzu wurde eine Weiterentwicklung der Spurenmethode nach Schmidt *et al*. (2013) angestrebt. Diese ursprüngliche Methode umfasst einen Kationentausch, eine sich anschließende 50-fache manuelle Anreicherung und die Bestimmung mittels IC-ICP-MS. Sie stellte zum Projektbeginn die empfindlichste publizierte Methode zur Bestimmung von Phosphonaten aus wässrigen Proben dar. Zum Ausgleich von Matrixeffekten, die Einfluss auf Intensität und Retentionszeit ausüben, und zur Identifikation der Analyten in Gegenwart von Störionen wurden alle projektrelevanten Phosphonate als isotopenmarkierte Interne Standards in Eigensynthese hergestellt und diese in die Methode implementiert. Die aktuelle IC-ESI-MS/MS Methode erlaubt Bestimmungsgrenzen von 1 µg/L aus Abwasserproben und Feststoffextrakten via Direktmessung. Für Oberflächenwasserproben, in denen Phosphonate häufig in niedrigeren Gehalten vorliegen, wurde eine empfindlichere Methode mit einem automatisierten Anreicherungsschritt erarbeitet (AP4). Diese ermöglicht die Quantifizierung bis zu einer Bestimmungsgrenze von 0,1 µg/L. Durch den Einsatz von NTA anstatt EDTA und ein günstigeres Verhältnis des Aufschlussmediums gegenüber der Probeeinwaage konnte die Methode zum Aufschluss von Feststoffproben optimiert werden. Durch zwei konsekutive Extraktionen lassen sich über 95 % der Phosphonate aus Fluss-Schwebstoff, Abwasser-Feststoff- und Sedimentproben extrahieren.

In diesem Bericht wird zunächst das Probenahmekonzept mitsamt der beiden Probenahmestandorte S-Mühlhausen (Neckar) und S-Möhringen (Körsch) dargestellt (Kapitel 3; AP3). Die Durchführung der Beprobungen (Stichproben, 24-h-Mischproben, Sedimentbeprobung, Schwebstoffbeprobung) wird im Anschluss daran in Kapitel 4 erläutert. Neben der Analytik von Phosphonaten, wurden Stich- und 24-h-Mischproben auf Parameter wie den chemischen Sauerstoffbedarf (CSB), pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit und die Phosphorkonzentration hin analysiert. Die Durchführung dieser Bestimmungsmethoden ist in Kapitel 7 wiedergegeben. Kapitel 9 und 10 bieten einen Überblick über die Ergebnisse zu den in den Stich- und 24-h-Mischproben erfassten Parametern sowie wichtige Beobachtungen während der Probenahmen.

3 Probenahmekonzept

3.1 Überblick

An 10 Zeitpunkten im Abstand von 1 bis 2 Monaten wurden das Hauptklärwerk Stuttgart-Mühlhausen mit seinem Vorfluter Neckar und das Klärwerk Stuttgart-Möhringen mit seinem Vorfluter Körsch beprobt. An jedem Termin wurden je Kläranlage der Zulauf (+Feststoffextraktion, um den Anteil adsorbierter Phosphonate im Zulauf ermitteln zu können), der Ablauf der Vorklärung, der Ablauf der Nachklärung, ggf. der Ablauf weitergehender Behandlungsstufen sowie der Vorfluter vor und hinter der Einleitstelle beprobt. Ferner wurden aus den Vorflutern Schwebstoff- und Sedimentproben gewonnen. Zusammenfassend wurden folgende Proben von Kläranlagen bezogen:

Tabelle 3: Übersicht aller Probenahmestellen und Probenarten.

Bezeichnung der Probenahmestelle	S-Mühlhausen am Neckar	S-Möhringen an der Körsch
Zulauf Kläranlage	24-h-Mischprobe & Feststoffextraktion	24-h-Mischprobe & Feststoffextraktion
Ablauf Vorklärung	24-h-Mischprobe	24-h-Mischprobe
Ablauf Nachklärung	24-h-Mischprobe	24-h-Mischprobe & Stichprobe
Ablauf Schnellsandfilter	24-h-Mischprobe	*
Ablauf Aktivkohle-Versuchsanlage	24-h-Mischprobe	*
Fließgewässer oberstrom	Wasser (Stichprobe) Sediment (Mischprobe) Schwebstoffprobe	Wasser (Stichprobe) Sediment (Mischprobe) Schwebstoffprobe
Fließgewässer unterstrom	Wasser (Stichprobe) Sediment (Mischprobe) Schwebstoffprobe	Wasser (Stichprobe) Sediment (Mischprobe) Schwebstoffprobe

(*) Verfahren nicht vorhanden

Die Entnahmezeitpunkte und -stellen im Fließgewässer galt es anhand der Fließzeit abzustimmen. So sollte die Probenahmestelle unterstrom der Einleitung einen ausreichend großen Abstand zur Stelle oberstrom aufweisen, um eine hinreichend gute Durchmischung der zu untersuchenden Substanz bzw. des Kläranlagenablaufs mit dem Restwasser zu gewährleisten. Im Idealfall ist die mittlere Fließgeschwindigkeit des Flusses bekannt oder abschätzbar, wodurch die Probenahmezeitpunkte besser abgestimmt werden können. Bei jeder Probenahme wurden vor Ort folgende Metadaten erfasst:

- GPS-Position
- Datum und Uhrzeit
- Luft- und Wassertemperatur
- Wasserstand des Gewässers
- Abfluss der Kläranlage (Erfragung bei Kläranlagenbetreibern)

Neben der Bestimmung des Phosphonatgehalts aller genommenen Proben wurden von allen Flüssigproben (Fluss-Stichproben und Kläranlagen-24-h-Mischproben) folgende Parameter bestimmt:

- pH-Wert
- Elektrische Leitfähigkeit
- CSB (chemischer Sauerstoffbedarf)
- Gesamt-Phosphor, Gelöst-Phosphor, o-PO_4-Phosphor

Von den Kläranlagenzulaufproben sowie von den Flussproben wurde zudem der Feststoffgehalt ermittelt.

3.2 Kläranlage S-Mühlhausen am Neckar

3.2.1 Kläranlage S-Mühlhausen

Das Hauptklärwerk Stuttgart-Mühlhausen (Aldinger Str. 212, 70378 Stuttgart, Abbildung 1) wurde aus folgenden Gründen gewählt:

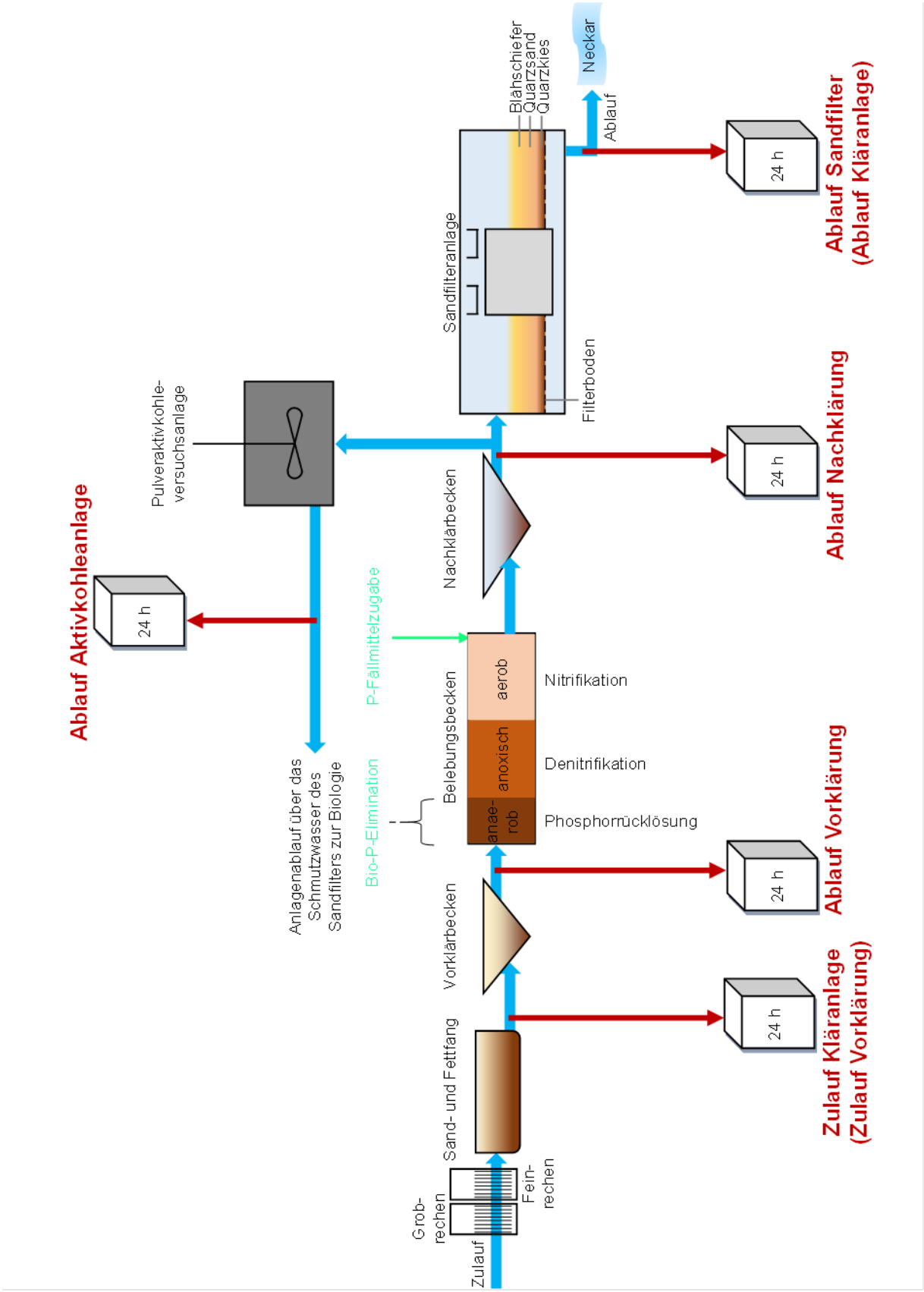
a) Mit einer Ausbaugröße von 1,2 Millionen Einwohnerwerten (60 Mio. m^3/a Abwasser, Zufluss: bis 7,5 m^3/s) gehört die Anlage zu den zehn größten Kläranlagen in Deutschland und weist daher eine hohe Übertragbarkeit auf andere sehr große Klärwerke in Deutschland auf.
b) Die Phosphorelimination in dieser Kläranlage erfolgt mithilfe von der Denitrifikation vorgeschalteter Anaerobbecken zur Bio-P-Elimination (in-Stress-Versetzung der Mikroorganismen durch anaerobes Milieu; dadurch erhöht sich die Phosphataufnahmekapazität der Mikroorganismen signifikant im darauffolgenden aeroben Bereich). Zusätzlich zur Bio-P-Elimination wird in die Nitrifikationsbecken Fällmittel zugegeben, um Phosphat zu fällen. Die P-Elimination auf dieser Kläranlage wird folglich nach dem Stand der Technik angewendet (durchschnittlich erreichte Gesamt-P-Ablaufkonzentration: 0,4 mg/L).
c) Die Anlage besitzt zur weitgehenden Abtrennung von Feinflocken u. a. aus der P-Fällung eine zusätzliche Schnellsandfiltrationsstufe. Insofern bot diese Anlage neben der bloßen Beprobung von Zu- und Abläufen auch die Möglichkeit, mit minimalem Mehraufwand bei der Beprobung zusätzliche Proben vor dem Schnellsandfilter zu gewinnen. Über diese konnten zusätzliche Rückschlüsse auf die Leistung dieser Stufen hinsichtlich der Phosphonateliminierung gezogen werden.
d) In dieser Anlage wurden langfristig angelegte halbtechnische Versuchsreihen zur Spurenstoffelimination mittels Aktivkohle durchgeführt. Insofern bot diese Anlage neben der bloßen Beprobung von Zu- und Abläufen die Möglichkeit, mit minimalem Mehraufwand bei der Beprobung zusätzliche Proben nach der Aktivkohlestufe zu nehmen und daraus zusätzliche Rückschlüsse auf die Eliminationsleistung dieser Technologie hinsichtlich der Phosphonate ziehen zu können.
e) Die Anlage leitet in den Neckar ein (mittlerer Abfluss: 290 m^3/s; WSA, 2016). Der Neckar ist einerseits aufgrund seiner relativ geringen Wasserführung und aufgrund der Stauregelung auch geringen Fließgeschwindigkeit sehr gut zur Beprobung insgesamt und insbesondere zur Beprobung der Schwebstoffe und Sedimente geeignet und weist andererseits aufgrund seiner starken Eutrophierung insbesondere in den Sommermonaten im Unterlauf erhebliche Folgeprobleme auf (Algenblüten). Infolgedessen werden hier schon seit Jahrzehnten erhebliche Zusatzanstrengungen insbesondere auch zur P-Elimination in den Kläranlagen betrieben.

Abbildung 2 bietet eine Übersicht über die einzelnen Verfahrensschritte und Stellen der 24-h-Mischprobenehmer der Kläranlage S-Mühlhausen. Das Abwasser gelangt über eine Rechen- und Sandfanganlage (Mischprobe Zulauf Kläranlage) in zwei Vorklärbecken. Die Überstände der Vorklärbecken (Mischprobe Ablauf Vorklärung) werden auf zwei parallele biologische Straßen verteilt. Die Belebungsbecken bestehen jeweils aus einem anaeroben (Bio-P-Elimination), einem Denitrifikations- und einem Nitrifikationsbereich. Der Ablauf der biologischen Behandlungsstufen wird zur P-Fällung zusätzlich mit Fällmittel versetzt und in die jeweils angeschlossenen Nachklärbecken geleitet. Deren Überstände (Mischprobe Ablauf Nachklärung) gelangen in eine Sandfilteranlage, deren Ablauf (Mischprobe Ablauf Sandfilter/Ablauf Kläranlage) in den Neckar geleitet wird. Ein kleiner Teil des Nachklärbeckenablaufs wird in eine halbtechnische Versuchsanlage zur Spurenstoffelimination mittels Pulveraktivkohle geleitet, deren Ablauf ebenfalls mit 24-h-Mischproben beprobt werden kann. Der Ablauf der Versuchsanlage wird nicht in den Neckar geleitet, sondern über das Schmutzwasser des Sandfilters dem Zulauf der Belebungsbecken zugeführt.

Abbildung 1: Luftaufnahme des Hauptklärwerks in Stuttgart-Mühlhausen.

(Quelle: Google Earth)

Abbildung 2: Verfahrensübersicht des Hauptklärwerks in Stuttgart-Mühlhausen.

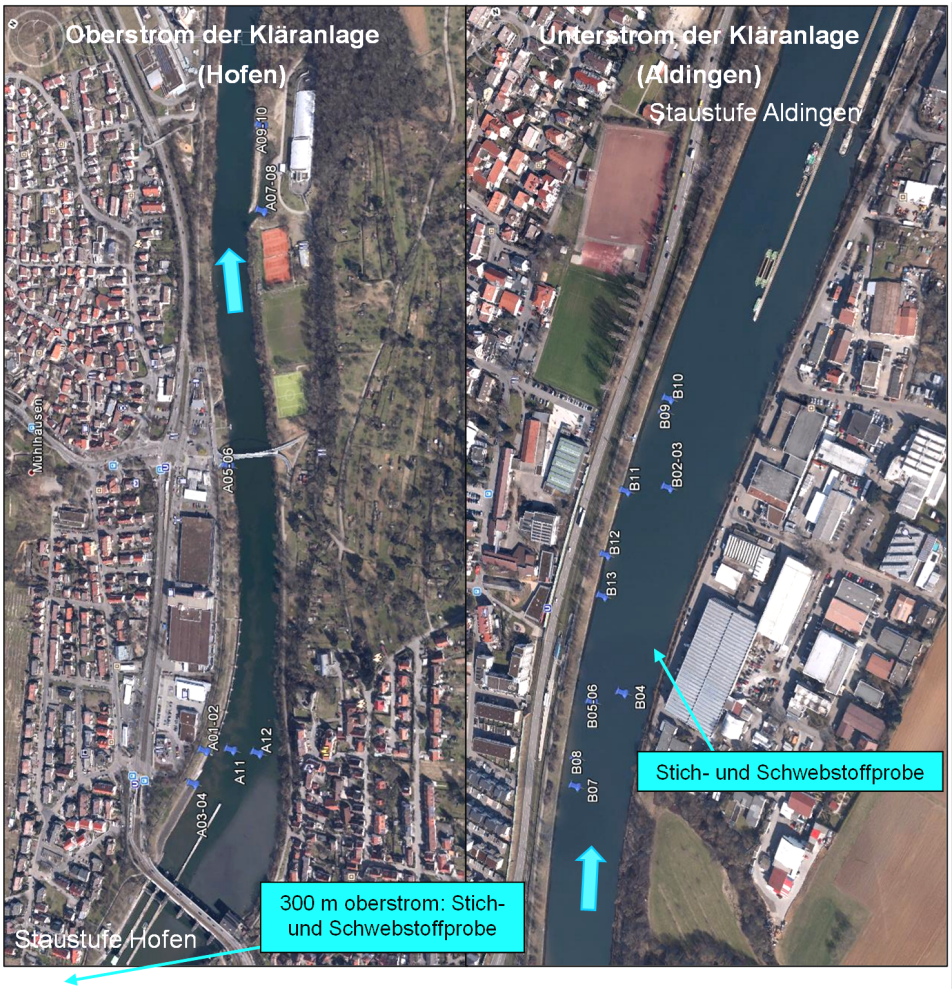


(Eigene Graphik, adaptiert nach SES, 2009)

3.2.2 Probenahmestellen am und im Neckar

Abbildung 3 zeigt eine Übersicht über die Probenahmestellen im Neckar. Tabelle 4 liefert die GPS-Koordinaten dieser Probenahmestellen. Die Stelle für die Gewinnung der Schwebstoff- und Stichproben oberstrom der Kläranlage lag etwa 300 m oberhalb der Staustufe Hofen (in Abbildung 3 links unten). Diese Stelle wurde gewählt, da ein kleiner Steg mit Poller die Probenahme weiter im Flussinnern ermöglichte. Die Sedimentproben (A01 bis A12, s. Abbildung 3) wurden dagegen unterhalb der Staustufe Hofen genommen, da nur hier eine praktikable Betretung des Gewässers mit dem Schlauchboot und eine problemlose Überfahrt zu den Probenahmestellen unterhalb der Kläranlage möglich war (keine Staustufe dazwischen). Der Abstand zwischen diesen Sedimentproben bis zur Kläranlageneinleitstelle betrug 890 m bis 1.820m. Die Probenahmestellen (Sedimentproben B02 bis B13 sowie Stich- und Schwebstoffproben) unterstrom der Kläranlageneinleitung lagen oberhalb der Staustufe Aldingen (in Abbildung 3 rechts oben nicht vollständig zu sehen). Der Abstand zwischen diesen Sedimentproben bis zur Kläranlageneinleitstelle betrug 1.520 m bis 1.890 m (Probe B01 lag mit 950 m näher zur Kläranlage). Der Abstand zwischen der Stelle zur Gewinnung der Stich- und Schwebstoffproben bis zur Kläranlageneinleitstelle betrug 1.650 m. Eine vollständige Durchmischung des Kläranlagenablaufs im Neckar bis zu dieser Probenahmestelle ist zu erwarten. Der Abstand in Fließrichtung zwischen den Stichprobenahmestellen oberstrom und unterstrom der Einleitstelle im Neckar betrug etwa 4 km. Bei einer Fließgeschwindigkeit von durchschnittlich 1 m/s (WSA, 2016), sollte die Dauer zwischen den Probenahmen beider Probenahmestellen somit ungefähr 70 min (4.000 m/(1 m/s)≈70 min) betragen.

Abbildung 3: Sediment- und Schwebstoffprobenahmestellen im Neckar.



(Quelle: Google Maps)

Tabelle 4: GPS-Koordinaten aller Probenahmestellen im Neckar.

Probe	GPS-Koordinaten	
Stich- und Schwebstoffprobe (vor Einleitung)	48°50'18.200"N	9°13'03.600"E
Sedimentproben A1 & A2	48°50'20.550"N	9°13'36.110"E
Sedimentproben A3 & A4	48°50'20.200"N	9°13'33.560"E
Sedimentproben A5 & A6	48°50'26.520"N	9°13'53.650"E
Sedimentproben A7 & A8	48°50'31.250"N	9°14'09.510"E
Sedimentproben A9 & A10	48°50'33.200"N	9°14'14.330"E
Sedimentprobe A11	48°50'18.430"N	9°13'35.560"E
Sedimentprobe A12	48°50'18.470"N	9°13'38.370"E
Einleitstelle der Kläranlage	48°50'53.900"N	9°14'44.100"E
Stich- und Schwebstoffprobe (nach Einleitung)	48°51'42.300"N	9°15'19.200"E
Sedimentprobe B1 (näher zur Kläranlage)	48°51'21.300"N	9°15'03.990"E
Sedimentproben B2 & B3	48°51'46.820"N	9°15'20.850"E
Sedimentprobe B4	48°51'41.240"N	9°15'16.940"E
Sedimentproben B5 & B6	48°51'41.080"N	9°15'15.300"E
Sedimentproben B7 & B8	48°51'38.680"N	9°15'13.700"E
Sedimentproben B9 & B10	48°51'49.290"N	9°15'21.600"E
Sedimentproben B11	48°51'46.980"N	9°15'18.770"E
Sedimentproben B12	48°51'45.270"N	9°15'17.220"E
Sedimentproben B13	48°51'44.100"N	9°15'16.670"E

Abbildung 4: Sedimentprobengewinnung im Neckar oberstrom der Kläranlage mittels Schlauchboot.

(Quelle: E. Rott, ISWA)

Abbildung 5: Schwebstoffbeprobung des Neckars oberstrom der Kläranlage sowie Stichprobenahmestelle Schlauchboot.

(Quelle: E. Rott, ISWA)

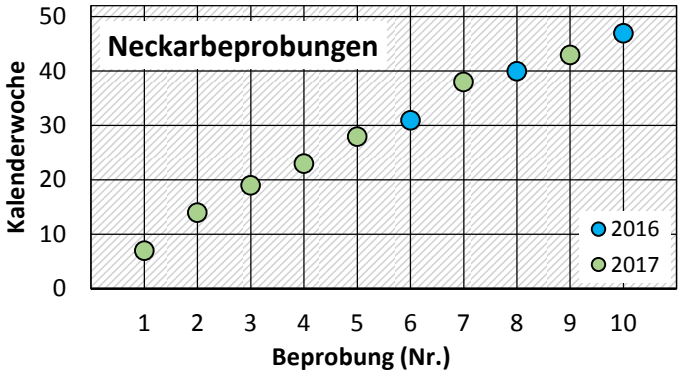
Abbildung 6: Schwebstoff-, Stichproben- und Sedimentprobenahmestelle des Neckars unterstrom der Kläranlage.

(Quelle: E. Rott, ISWA)

3.2.3 Zusammenfassung und Details zur Durchführung

Die insgesamt zehn Probenahmen wurden gleichmäßig über das Jahr verteilt in den Kalenderwochen 07, 14, 19, 23, 28, 31, 38, 40, 43, 47 durchgeführt (s. Abbildung 7). Drei Probenahmen wurden bereits im Jahr 2016, die restlichen im Jahr 2017 durchgeführt.

Abbildung 7: Verteilung der Neckarbeprobungen über die Jahre 2016 und 2017.



(Quelle: eigene Daten)

Im Folgenden sind stichpunktartig wichtige für die Probenahme im Neckar relevante Punkte aufgelistet:

- Entnommen wurden stets jeweils ca. 500 L bis 1.000 L Flussprobe oberstrom und unterstrom der Kläranlageneinleitung mittels Tauchpumpe für die Schwebstoffgewinnung sowie jeweils ca. 1 L bis 2 L Stichprobe oberstrom und unterstrom der Kläranlageneinleitstelle.
- Es wurden mithilfe der Unterstützung des IWS (Universität Stuttgart) stets mehrere Sedimentproben jeweils oberhalb und unterhalb der Kläranlageneinleitstelle genommen (i. d. R. wurden 5 bis 6 der 12/13 markierten Probenahmestellen in Abbildung 3 beprobt) und noch bis zur vierten Probenahme einzeln gefriergetrocknet und einzeln auf den Phosphonatgehalt hin analysiert. Ab der fünften Probenahme wurden die einzelnen Proben als Mischprobe analysiert.
- Die Mitarbeiter des Hauptklärwerks Stuttgart-Mühlhausen stellten 24-h-Mischproben bereit, die in den Zeitrahmen der Flussbeprobung fielen. Darin enthalten waren Proben des Zulaufs, Vorklärbeckenablaufs, Nachklärbeckenablaufs, Sandfilterablaufs (also Kläranlagenablaufs) und des Ablaufs einer Aktivkohleanlage, die den Nachklärbeckenablauf halbtechnisch weiterbehandelt. Zum Zeitpunkt von drei Probenahmen war die Aktivkohleanlage nicht aktiv (KW07, KW28, KW40), weshalb hier keine Proben vorlagen. Zusätzlich wurden von Seiten des Klärwerks Daten über die Ablauftemperatur und den Durchfluss der Kläranlage zum Zeitpunkt der Probenahme bereitgestellt.

3.3 Kläranlage S-Möhringen an der Körsch

3.3.1 Kläranlage S-Möhringen

Das Klärwerk Stuttgart-Möhringen (Körschwiesen 36, 70567 Stuttgart, Abbildung 8) wurde aus folgenden Gründen gewählt:

f) Mit einer Jahresabwassermenge von 6 Mio. m^3 bis 7 Mio. m^3 und einer Ausbaugröße von 160.000 Einwohnerwerten (Trockenwetterzufluss: 100 L/s bis 200 L/s) gehört sie zu den mittelgroßen Kläranlagen. Sie ist nach dem klassischen Prinzip aufgebaut (Vorklärung, Belebung, Nachklärung, ohne weitergehende Behandlung) und ist somit sehr repräsentativ.

g) Der Zulauf der Kläranlage setzt sich mit Anschlussanteilen von 80 % aus Stuttgart und 20 % aus Leinfelden-Echterdingen überwiegend aus kommunalem Abwasser zusammen. Der Indirekteinleiteranteil ist verschwindend gering, sodass davon ausgegangen werden kann, dass Phosphonate überwiegend über Wasch- und Reinigungsmittel aus den privaten Haushalten eingetragen werden.

h) Die Phosphorelimination in dieser Kläranlage erfolgt mithilfe von der Denitrifikation vorgeschalteter Anaerobbecken zur Bio-P-Elimination (in-Stress-Versetzung der Mikroorganismen durch anaerobes Milieu; dadurch erhöht sich die Phosphataufnahmekapazität der Mikroorganismen signifikant im darauffolgenden aeroben Bereich). Zusätzlich zur Bio-P-Elimination wird in die Nitrifikationsbecken Fällmittel zugegeben, um Phosphat zu fällen. Die P-Elimination auf dieser Kläranlage wird folglich nach dem Stand der Technik angewendet (durchschnittlich erreichte Gesamt-P-Ablaufkonzentration: 0,6 mg/L).

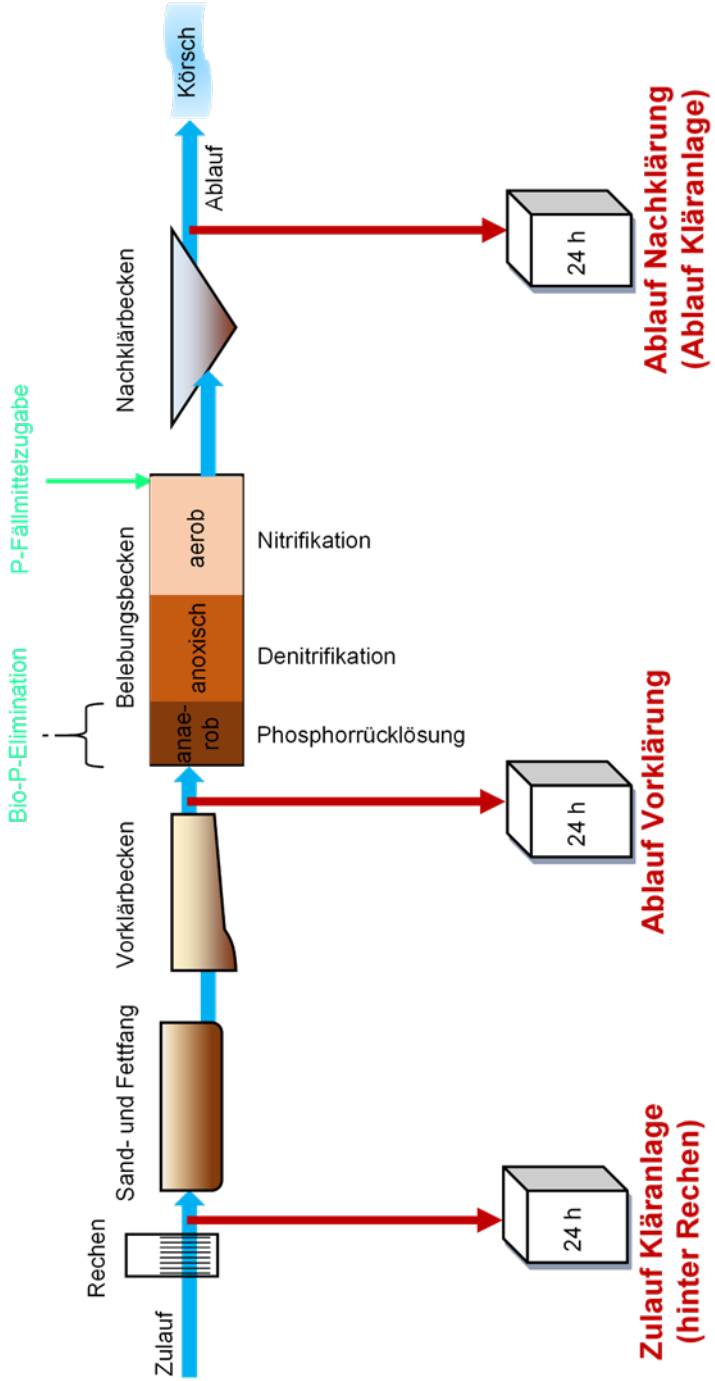
i) Die Kläranlage leitet den Ablauf ihrer Nachklärbecken in die Körsch ein. Deren Trockenwetterabfluss beträgt 10 L/s bis 20 L/s und ist somit bis zu zwanzigmal niedriger als der durchschnittliche Abfluss der Kläranlage. Aufgrund des sehr schwachen Vorfluters war davon auszugehen, dass die Einleitung der Kläranlage S-Möhringen einen sehr großen Einfluss auf die Beschaffenheit der Körsch hat.

Abbildung 9 bietet eine Übersicht über die einzelnen Verfahrensschritte und Stellen der 24-h-Mischprobenehmer der Kläranlage S-Möhringen. Der Kläranlagenzulauf gelangt über eine Rechenanlage und einen Sand-Fett-Fang in die Vorklärung. Der Probenehmer für die 24-h-Mischprobe (Mischprobe Zulauf Kläranlage) befindet sich hinter der Rechenanlage. Der Ablauf der Vorklärung (Mischprobe Ablauf Vorklärung) gelangt über Anaerob-/Denitrifikationsbecken in Nitrifikationsbecken, in die das Fällmittel zur Phosphatfällung zugegeben wird. Der Belebtschlamm wird in Nachklärbecken abgetrennt. Der Überstand dieser Nachklärbecken (Mischprobe Ablauf Kläranlage) gelangt direkt in die Körsch.

Abbildung 8**:** Luftaufnahme der Kläranlage S-Möhringen.

(Quelle: Google Earth)

Abbildung 9: Verfahrensübersicht der Kläranlage S-Möhringen.



(eigene Graphik, adaptiert nach SES, 2013)

Probenahmestellen an und in der Körsch

Abbildung 10 zeigt eine Übersicht der Probenahmestellen in der Körsch. Tabelle 5 liefert die GPS-Koordinaten dieser Probenahmestellen. Die Schwebstoffprobenahmestelle oberstrom der Kläranlageneinleitung befand sich auf dem Gelände der Kläranlage. Hier fließt die Körsch – noch unbelastet vom Ablauf der Kläranlage – in einem Kanal (hier kein Sediment) unterhalb einer Brücke durch, die sehr gut einen direkten Zugang durch die Tauchpumpe ermöglichte. Die Stich- und Sedimentproben wurden etwa 250 m weiter oberhalb von dieser Stelle genommen (s_1 = 470 m von der Einleitstelle entfernt). In diesem naturbelassenen Bereich konnte ausreichend Sediment gefunden werden, die Stelle war jedoch nicht zugänglich für die Tauchpumpe zur Schwebstoffgewinnung. Die Schwebstoff-, Stich- und Sedimentprobenahmestelle unterstrom der Kläranlageneinleitung befand sich 700 m (s_2) von der Einleitstelle entfernt. Diese Entfernung war ausreichend für eine vollständige Durchmischung des Kläranlagenablaufs im Fluss. Hier befand sich ebenfalls eine Brücke, von der aus gut im mittleren Bereich des Flusses Proben mittels Tauchpumpe entnommen werden konnten. Bei einem Durchfluss der Körsch von etwa 15 L/s (Q_1) vor und etwa 100 L/s bis 200 L/s (Q_2) hinter der Einleitstelle sowie eines Fließquerschnitts A von etwa 0,05 m^2 (A_1) vor und etwa 0,25 m^2 (A_2) hinter der Einleitstelle, sollte die Dauer zwischen den Probenahmen beider Probenahmestellen somit ungefähr 40 min bis 60 min ($=\sum s/Q \cdot A$) betragen haben.

Abbildung 10: Übersicht über die Stich-, Sediment- und Schwebstoffprobenahmestellen in der Körsch.

(Quelle: Google Earth)

Tabelle 5: GPS-Koordinaten aller Probenahmestellen in der Körsch.

Probe	GPS-Koordinaten	
Stich- und Sedimentproben (vor Einleitung)	48°43'00.508"N	9°09'47.454"E
Schwebstoffprobe (vor Einleitung)	48°43'01.855"N	9°10'00.306"E
Einleitstelle der Kläranlage	48°43'00.437"N	9°10'10.558"E
Schwebstoff-, Stich- und Sedimentprobe (nach Einleitung)	48°42'48.829"N	9°10'30.507"E

Abbildung 11: Sediment- und Stichprobenahmestelle der Körsch oberstrom der Kläranlage.

(Quelle: E. Rott, ISWA)

Abbildung 12: Sediment- und Stichprobenahmestelle der Körsch oberstrom der Kläranlage (nähere Betrachtung).

(Quelle: E. Rott, ISWA)

Abbildung 13: Schwebstoffprobenahmestelle der Körsch oberstrom der Kläranlage auf dem Kläranlagengelände.

(Quelle: E. Rott, ISWA)

Abbildung 14: Schwebstoffbeprobung der Körsch unterstrom der Kläranlage (Ostseite der Brücke).

(Quelle: E. Rott, ISWA)

Abbildung 15: Sediment- und Stichprobenahmestelle der Körsch unterstrom der Kläranlage (Westseite der Brücke).

(Quelle: E. Rott, ISWA)

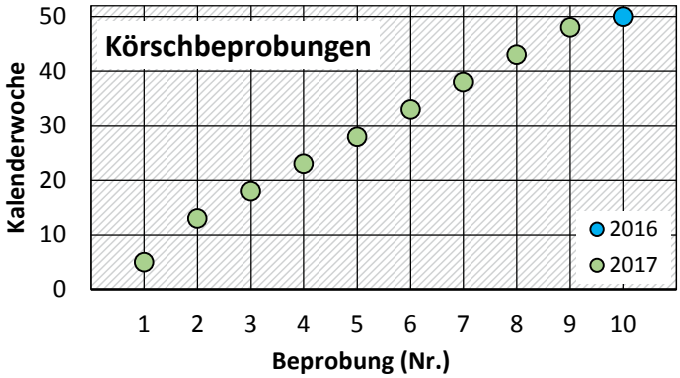
Abbildung 16: Sediment- und Stichprobenahmestelle der Körsch unterstrom der Kläranlage (nähere Betrachtung).

(Quelle: E. Rott, ISWA)

3.3.2 Zusammenfassung und Details zur Durchführung

Die insgesamt zehn Probenahmen wurden gleichmäßig über das Jahr verteilt in den Kalenderwochen 05, 13, 18, 23, 28, 33, 38, 43, 48, 50 durchgeführt (s. Abbildung 17). Eine Probenahme wurde bereits im Jahr 2016, die restlichen im Jahr 2017 durchgeführt.

Abbildung 17: Verteilung der Körschbeprobungen über die Jahre 2016 und 2017.



(Quelle: eigene Daten)

Im Folgenden sind stichpunktartig wichtige die Probenahmen in der Körsch relevante Punkte wiedergegeben:

- Die Mitarbeiter des Klärwerks S-Möhringen stellten 24-h-Mischproben (Proben des Zulaufs, Vorklärbeckenablaufs und Nachklärbeckenablaufs) bereit, die in den Zeitraum der Flussbeprobung fielen. Ferner lieferten sie Daten über die Ablauftemperatur und den Durchfluss der Kläranlage.
- Je Probenahmestelle wurden fünf Sedimentproben mit einer Probenahmeschaufel genommen. Diese wurden nach der Gefriertrocknung vermischt und als Mischprobe auf den Phosphonatgehalt hin analysiert.
- Entnommen wurden stets jeweils ca. 500 L bis 1.000 L Flussprobe oberstrom und unterstrom der Kläranlageneinleitung mittels Tauchpumpe für die Schwebstoffgewinnung sowie jeweils ca. 1 L bis 2 L Stichprobe oberstrom und unterstrom der Kläranlageneinleitung.

4 Durchführung der Probenahmen

4.1 Flüssigprobenahmen

4.1.1 Generelles

Im vorliegenden Vorhaben war abhängig von der Probenahmestelle die Entnahme von Stich- und Mischproben vorgesehen. Eine Stichprobe ist eine „Einzelprobe, die zufällig (hinsichtlich Zeit und/ oder Ort) einem Wasserkörper entnommen wird“ (DIN 38402-11:2009). In diesem Vorhaben wurden von Fließgewässern Stichproben genommen. Die Mischprobe beschreibt dagegen „zwei oder mehrere Proben oder Teilproben, die in geeigneten, bekannten Anteilen (entweder einzeln oder kontinuierlich) gemischt werden, um ein Durchschnittsergebnis für eine bestimmte Kenngröße zu erhalten. Die Anteile beruhen üblicherweise auf Zeit- oder Strömungsmessungen.“ (DIN 38402-11:2009). In diesem Vorhaben wurden Kläranlagenproben in Form von 24-h-Mischproben genommen.

Automatische Standardprobennehmer könnten theoretisch auch für die Gewinnung von Flussproben verwendet werden. Dieser „Außeneinsatz“ über 24 Stunden wird jedoch durch fehlende Stromanschlüsse und erfahrungsgemäß auch durch Vandalismus erschwert. Ein bewährtes ISWA-Konzept für die Analyse des Einflusses einer Kläranlageneinleitung in einen Fluss ist folglich die Verwendung von Stichproben oder qualifizierten Stichproben vor und hinter der Einleitstelle des Kläranlagenablaufs, während zur Bestimmung der Kläranlageneliminationsleistung 24-h-Mischproben u. a. des Kläranlagenzulaufs und -ablaufs analysiert werden.

Die Lagerung der Proben bis zur Phosphonatanalyse erfolgte bei 4 °C. Phosphonate sind bei diesen Temperaturen sehr stabil (Fürhacker *et al.*, 2005).

4.1.2 Stichproben

Die ordnungsgemäße Probenahme von Flüssigproben ist in der DIN 38402-11:2009 („Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Allgemeine Angaben (Gruppe A) – Teil 11: Probenahme von Abwasser (A 11)“) geregelt. Unter anderem müssen bei der Probenahme mit einem Probenschöpfer folgende Punkte beachtet werden:

- Wahl eines guten Probenbehälters (hohe Bruchresistenz, gute Dichtheit, Resistenz gegenüber extremen Temperaturen, Kompatibilität zum Analyten usw.)
- Sauberer Probenbehälter und Probenschöpfer
- Entnahme einer möglichst homogenen Probe
- Festlegung einer repräsentativen Probenahmestelle

Ferner schreibt die DIN 38402-11:2009 folgendes vor: „Die Probe sollte möglichst unterhalb der Wasseroberfläche entnommen werden, um aufschwimmende Materialien oder Flüssigkeiten, die nicht repräsentativ beprobt werden können, nicht mit zu erfassen.“ Die Stichproben wurden mit dem Probenschöpfer stets so weit wie möglich im Flussinnern genommen.

4.1.3 24-h-Mischproben

Für eine qualitativ hochwertige und somit repräsentative Vergleichbarkeit der Kläranlagenzulauf und -ablaufkonzentration einer zu untersuchenden Substanz ist die Analyse von 24-h-Mischproben erforderlich. Bei Entnahme durchflussproportionaler 24-h-Mischproben sind ferner Substanzfrachten ermittelbar. Abbildung 18 zeigt beispielhaft einen automatischen Probenehmer, wie er am LFKW (ISWA-Kläranlage) und an verschiedenen Probenahmestellen der am Projekt teilnehmenden Kläranlagen vorliegt. Mit solchen Probenehmern können z. B. zwölf durchflussäquivalente 2-h-Proben gezogen werden. Im Probenehmer wird die Mischprobe während dieser 24 h gekühlt. Die Gewinnung der 24-h-Mischproben im Klärwerk S-Mühlhausen erfolgte von 6 Uhr bis 6 Uhr des Folgetages, im Klärwerk S-Möhringen entsprechend von 8 Uhr bis 8 Uhr.

Abbildung 18: Automatischer Probenehmer für durchflussproportionale Probenahme, gekühlt.

(Quelle: E. Rott, ISWA)

4.2 Feststoffgewinnung

4.2.1 Generelles

Phosphonate weisen eine hohe Tendenz zur Adsorption an mineralischen Oberflächen auf (u. a. Frigge und Jackwerth, 1991; Fischer, 1991, 1992; Nowack und Stone, 1999). In diesem Vorhaben war infolgedessen die Untersuchung des Phosphonatanteils an Schwebstoffpartikeln in Fließgewässern vorgesehen. Kläranlagenzuläufe weisen eine hohe Konzentration von Feststoffen (i. d. R. 200 mg/L bis 700 mg/L) auf. Diese Partikel werden überwiegend im Sandfang, der Vorklärung und spätestens in der Nachklärung nahezu vollständig abgetrennt (i. d. R. > 98 %). Um ein möglichst vollständiges Bild über die Phosphonatkonzentration in Kläranlagenzuläufen zu bekommen (gelöstes Phosphonat + partikulär gebundenes Phosphonat), wurden zusätzlich die Feststoffe aus den Kläranlagenzulaufproben extrahiert und in getrockneter Form auf Phosphonate hin analysiert.

4.2.2 Schwebstoffgewinnung aus Flussproben

Definitionsgemäß sind Schwebstoffe organische und mineralische Feststoffe, die schwebend im Fluss fortgetragen werden, ohne das Flussbett zu berühren. Sie unterscheiden sich somit vom grobkörnigeren Geschiebe, welches sich gleitend, rollend oder springend in der Nähe der Sohle fortbewegt (Lange und Lecher, 1993). Der Grenzkorndurchmesser zwischen Schwebstoffen und Geschiebe entspricht laut Literatur zwischen 0,2 mm und 1 mm (Lange und Lecher, 1993). Schwimmstoffe weisen eine geringere Dichte als Wasser auf und befinden sich auf der Wasseroberfläche.

Die Menge gewonnener Schwebstoffe ist sehr stark abhängig von der Schwebstoffkonzentration und damit von der Wasserführung, von der Wetterlage, der Fließgeschwindigkeit und der Zusammensetzung des Flussbetts. So kann die Konzentration der abfiltrierbaren Stoffe (AFS) zwischen 10 mg/L und 1000 mg/L extrem stark variieren. Der größere Anteil der abfiltrierbaren Stoffe setzt sich in der Regel aus sedimentierbaren Feststoffen höherer Korngrößen zusammen, weshalb mit Schwebstoffkonzentrationen im unteren ppm-Bereich (< 1 mg/L bis 20 mg/L) gerechnet werden muss. Sollen demgemäß bis zu 1 g Schwebstoff gewonnen werden, müssen etwa 500 L bis 1 m^3 Probe genommen werden.

Schwebstoffextraktionen wurden am ISWA zunächst mit der Schnellzentrifuge Z101H von CePa (Padberg) durchgeführt (14.000 Umdrehungen/min, Durchsatz von 0,5 m^3/h bis 1 m^3/h, vorgeschaltete Exzenterschneckenpumpe). Der Zentrifuge vorgeschaltet war ein Vorfilter mit 100 µm Porendurchmesser. Vorfilter mit kleineren Porendurchmessern erwiesen sich bei der Anwendung von Flusswasser als unbrauchbar, da sehr früh Verstopfung auftrat. Für dieses Vorhaben wurde ferner eine Zentrifuge der Marke Z61 von Padberg (900 L/h bei 17.000 Umdrehungen/min) eingesetzt. Diese der Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg (LUBW) gehörende Zentrifuge war fest in einem Autoanhänger verankert. Die meisten Proben wurden mit der Zentrifuge Padberg CEPA Z41 (100 L/h bis 200 L/h bei 20.000 Umdrehungen/min) (Abbildung 19) zentrifugiert. Diese sowie die Zentrifuge des LUBW wiesen keinen Vorfilter auf.

Da die ISWA-eigenen verwendeten Zentrifugen auf dem ISWA-Gelände fest verankert waren, wurden zur Schwebstoffgewinnung stets 500 L bis 1.000 L Flusswasser in zuvor gespülten IBCs (Intermediate Bulk Container) mittels Tauchpumpe und Notstromaggregat abgefüllt und im Anhänger oder Lastwagen ans Institut transportiert. Die Zentrifuge wurde dann mit dem Wasser aus den Probensammlern unter Rühren beschickt. Abbildung 20 zeigt beispielhaft die gewonnene Schwebstoffmasse bei einem Durchsatz von 4,5 m^3 Bachwasser. Diese noch sehr wasserhaltige Schwebstoffmasse musste vor der Analyse gefriergetrocknet werden (Christ-Gefriertrocknungsanlage Alpha 2-4).

Abbildung 19: Zentrifuge Padberg CEPA Z41 zur Schwebstoffgewinnung.

(Quelle: O. Happel, TZW)

Abbildung 20: Schwebstoffmasse bei 4,5 m³ Durchsatz eines Baches (ungetrocknet ca. 100 g).

(Quelle: E. Rott, ISWA)

4.2.3 Feststoffgewinnung aus Kläranlagenzulaufproben

Etwa 500 mL der homogenisierten Kläranlagenzulaufprobe wurde mithilfe einer Laborzentrifuge (Sorvall RC-5B Refrigerated Superspeed Centrifuge, Thermo Fisher Scientific) bei 20.000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde bis zur Feststoffphase dekantiert. Letztere wurde anschließend mithilfe der Christ-Gefriertrocknungsanlage Alpha 2-4 gefriergetrocknet. Sämtliche Feststoffe wurden in Plastikdöschen bei Raumtemperatur gelagert.

4.3 Sedimentbeprobung

Phosphonate stehen unter Verdacht, Schwermetalle in Gewässern aus Sediment zu remobilisieren. Ihre ausgesprochen hohe Affinität zur Adsorption an Feststoffen wie Flusssediment oder Belebtschlamm und das Mobilisationsverhalten verschiedener Schwermetalle aus Flusssediment sind daher Gegenstand vieler Veröffentlichungen wie Fischer (1991 und 1992); Günther *et al.* (1987); Metzner (1990); Müller *et al.* (1984); Bordas und Bourg (1998).

Die Gewinnung von Sedimentproben im Neckar wurde mittels Schlauchboot und einem auf einem „Kran“ montierten Greifer nach Ekman-Birge bzw. nach Lenz (Abbildung 21) durchgeführt. Insbesondere im Neckar, der eine stark ausgeprägte kanalähnliche Struktur aufweist und somit überwiegend grobes Sediment enthält, war es unabdinglich, mehrere Stellen im Abstand von mehreren Metern (bis zu 200 m) zu beproben, um ein repräsentatives Bild des Sediments zu bekommen (5 bis 10 Proben jeweils ober- und unterstrom der Kläranlageneinleitstelle). Jede einzelne Probe wurde durch Dekantieren vom überstehenden Wasser abgetrennt und der Feinanteil an Feststoffen gefriergetrocknet (Christ-Gefriertrocknungsanlage Alpha 2-4). Zu Beginn des Vorhabens wurden diese unterschiedlichen Proben noch getrennt voneinander auf Phosphonate hin analysiert. Ab der fünften Probenahme wurden die einzelnen Proben, sobald gefriergetrocknet, in einem ähnlichen Volumenverhältnis miteinander vermischt und als Mischprobe analysiert.

Die Körsch ist ein sehr flaches Gewässer, weshalb in diesem Fall das Feinsediment einfacherweise mittels Probenschaufel gewonnen wurde. Sowohl oberhalb als auch unterhalb der Kläranlageneinleitstelle wurden jeweils fünf Proben im Umkreis von ca. 10 m genommen. Jede Probe wurde einzeln gefriergetrocknet und im Anschluss daran in einem ähnlichen Volumenverhältnis miteinander vermischt, sodass für die Phosphonatanalytik eine Sedimentmischprobe oberhalb der Kläranlageneinleitung sowie eine Sedimentmischprobe unterhalb der Kläranlageneinleitung vorlagen.

Abbildung 21: Auf Schlauchboot montierter Greifer nach Ekman-Birge bzw. nach Lenz.

(Quelle: O. Happel, TZW)

5 Literaturübersicht zur Phosphonat-Analytik

5.1 Vorgehensweise

Als Leitfaden zur Strukturierung der aktuellen Literatur diente das Review *Analysis of Aminopolycarboxylates and Organophosphonates* (Schmidt und Brauch, 2005), in dem eine Vielzahl etablierter Analysetechniken zusammengefasst und erläutert wird. Bei der vorliegenden Zusammenfassung wurde ein Schwerpunkt auf empfindliche analytische Methoden gelegt, die sich dafür eignen, um Phosphonate differenziert und in Spurenkonzentrationen in Umweltproben zu bestimmen. Die Analysetechniken wurden durch einen Abgleich mit jüngerer Literatur aktualisiert. Eine Literaturrecherche erfolgte durch systematische Suche mittels *Google Scholar*, *Web of Science* und dem *Chemical Abstract Service* nach jedweden Kombinationen der Begriffe unter **(A)** und **(B)** innerhalb eines Publikations-Zeitraums zwischen 2000 und 2015. Ausgewertet wurden jeweils die ersten 30 Suchergebnisse.

(A)

- (Alkyl-, Organo-)Phosphonates
- Chelators
- Complexing agents
- HEDP
- DTPMP
- ATMP
- EDTMP
- PBTC

(B)

- Analysis
- Trace
- Determination
- Environment
- Sediment
- Soil
- Particulate
- Activated Sludge
- Water
- Ion Chromatography
- Mass Spectrometry

5.2 Gegenwärtiger Stand der Phosphonatanalytik

Die Phosphonatanalytik erweist sich generell als Herausforderung, da die Verbindungen in Abwasser, Trinkwasser und in natürlichen Gewässern in Form von uneinheitlichen Komplexen mit Metallkationen vorliegen (Nowack, 2003), die vor dem Nachweis in eine einheitliche Form überführt werden müssen. Eine speziesspezifische Analytik im Spurenbereich stellt aufgrund der zusätzlichen Aufspaltung von Messsignalen eine noch größere Herausforderung dar. Die Verbindungen besitzen keine chromophoren Gruppen, lösen sich aufgrund ihrer starken Polarität schlecht in organischen Lösungsmitteln, besitzen eine geringe chemische Reaktivität und sind nicht flüchtig. Gleichzeitig erwiesen sich Matrixbestandteile in Umweltproben, die bei Anreicherungsschritten abhängig von der angewandten Methode ebenfalls aufkonzentriert wurden, häufig als Störfaktoren für die nachfolgende Analytik (Knepper *et al.*, 2002, Klinger *et al.*, 1997, Nowack, 1997).

5.2.1 Titration und Spektrophotometrie

Während sich die Titration und colorimetrische Nachweisreagenzien lediglich zur Charakterisierung von Lösungen von Phosphonatstandards oder zur Bestimmung der Konzentration von Phosphonaten als Summenparameter eignen, kann durch Spektrophotometrie in Kombination mit einer vorgeschalteten Chromatographie eine analytische Differenzierung der Phosphonate erreicht werden. Da die Phosphonate keine chromophoren Gruppen tragen, muss zur photometrischen Detektion eine Derivatisierung stattfinden. Dabei werden die Phosphonate in absorbierende Komplexe überführt. Dies kann durch Komplexierung mit Eisen-III-Ionen erfolgen, oder indirekt durch die Detektion der Phosphate mittels unterschiedlicher Molybdatreagenzien nach einem oxidativen Aufschluss. Weitere Möglichkeiten der photometrischen Detektion im Zusammenhang mit chromatographischen Methoden sind in Kapitel 5.2.6 *Ionenchromatographische Techniken* erläutert.

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Phosphonaten wurde durch Cembella und Antia (1986) beschrieben. Dabei konnte eine Differenzierung zwischen Phosphonaten und Phosphorsäureestern nach saurer oder enzymatischer Hydrolyse getroffen werden, da Phosphonate gegen Hydrolyse stabil sind. Nach vollständiger Oxidation wurden Phosphonate indirekt als Phosphat detektiert. Durch die Überführung in blaues Phosphomolybdat konnten Nachweisgrenzen im unteren µg/L-Bereich erreicht werden.

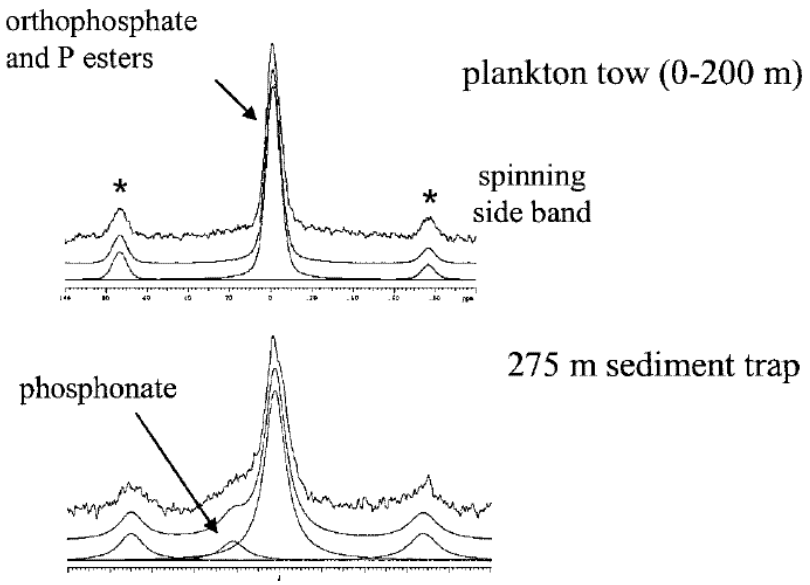
5.2.2 Dünnschichtchromatographie (TLC)

Taulli (1967) beschrieb die dünnschichtchromatographische Auftrennung von HEDP und ATMP auf Cellulose- und Silicagel-Dünnschichtchromatographieplatten. Eine Auswertung erfolgte durch Färbung mit Molybdatreagenz nach oxidativem Aufschluss durch Natriumhypochlorit. Snyder und Law (1970) beschrieben die Chromatographie von Aminomethylenphosphonsäure (AMPA), eines bekannten Abbauprodukts von Glyphosat, auf Silicagel-Dünnschichtchromatographieplatten mit einem polaren Laufmittel aus Isopropanol, Aceton, Ammoniaklösung und Wasser (5:2:4:3). Die Detektion erfolgte durch die Farbreaktion mit Ninhydrin.

5.2.3 NMR-Analyse

Durch ^{31}P-solid-state-NMR konnte der Anteil organischer Phosphonate am Gesamtphosphorgehalt von Sedimentproben bestimmt werden (Ahlgrena *et al.*, 2006; Benitez-Nelson *et al.*, 2004; Bai *et al.*, 2009). Durch die Methode kann jedoch keine qualitative Aussage bezüglich der vorhandenen Phosphonate getroffen werden. Die Methode eignet sich, um Phosphonate im Gemisch mit unterschiedlichen organischen Phosphorspezies als Summenparameter zu bestimmen. Die fehlende Spezifizität der Methode impliziert, dass die ^{31}P-NMR-Analytik nicht zum Nachweis von einzelnen Phosphonaten im Spurenbereich geeignet ist. Die untersuchten Proben wiesen nach einem Anreicherungsschritt und Lyophilisierung einen Gesamtphosphorgehalt im unteren g/kg-Bereich auf, während Phosphonate im Bereich zwischen 1 mg/kg und 22 mg/kg nachgewiesen wurden. Ein spezifischer Nachweis der einzelnen Stoffe sowie eine Unterscheidung zwischen biogenen und anthropogenen Phosphonaten würde eine stärkere Aufreinigung der Stoffe erfordern. In Abbildung 22 ist ein Beispiel einer ^{31}P-NMR-Messung abgebildet, aus der hervorgeht, dass bei dieser Methode keine ausreichende Spezifität vorhanden ist.

Abbildung 22: Beispiel einer ^{31}P-NMR-Messung zur Unterscheidung zwischen Phosphorsäureestern und Phosphonaten in marinen Feststoffproben. Im oberen Bild wurde partikuläres Material aus dem Meerwasser gemessen, im unteren Bild marines Sediment.



(Aus Benitez-Nelson et al., 2004; Copyright © 2004 by John Wiley Sons, Inc. Reprinted by permission of John Wiley & Sons, Inc.)

Oromí-Farrús *et al.* (2013) bestimmten Verunreinigungen in technischen ATMP-, HEDP-, EDTMP- und DTPMP-Produkten durch ^{31}P-NMR. Die Methode erlaubte Detektionsgrenzen im unteren mg/L-Bereich (1,7 mg/L bis 3,4 mg/L).

5.2.4 Gas- und flüssigchromatographische Methoden

Um eine Analyse von Organophosphonaten per Gaschromatographie (GC) zu ermöglichen, ist es notwendig, die Verbindungen in eine flüchtige Form zu überführen. Dies gelang Klinger durch vollständige Methylierung mit Diazomethan (Klinger, 1997; Klinger *et al.*, 1997). Jedoch erwies sich von den methylierten Phosphonaten PBTC, HEDP, ATMP, EDTMP und DTPMP lediglich das HEDP als flüchtig genug für die Analyse mittels GC-MS. GC-MS-Methoden nach Derivatisierung werden erfolgreich zur Bestimmung von Kampfstoff-Abbauprodukten eingesetzt (Riches *et al.*, 2005). Dabei handelt es sich um Methylphosphonsäure und kleine höher alkylierte Phosphonsäurederivate, die leicht in flüchtige Derivate umgewandelt werden können.

Yuzawaa *et al.* (2009) entwickelte ein Verfahren zur Bestimmung von HEDP in Kühlflüssigkeit mittels Pyrolyse-GC. Nach Erhitzen von 10 µL der Probe mit einem Überschuss an Tetramethylammoniumhydroxid wurde über das entstehende Pyrolyseprodukt Trimethylphosphat quantifiziert. Dabei wurden Bestimmungsgrenzen im unteren mg/L-Bereich erreicht.

Eine Auftrennung der derivatisierten polyvalenten Phosphonate gelang Klinger *et al.* (1997) durch Flüssigkeitschromatographie über eine LiChrospher-100-Diol-Trennsäule mit einem n-Hexan/Isopropanol-Gradienten, sowie massenspektrometrischer Detektion nach Kopplung mit einem Particle-Beam-Interface via Elektronenstoßionisation (EI) oder chemischer Ionisation (CI). Ein Anreicherungsschritt durch vollständige Verdampfung der Wasserprobe ermöglichte Nachweisgrenzen im unteren µg/L-Bereich. Durch die gleichzeitige Anreicherung ionischer Bestandteile aus Trinkwasserproben wurde die Derivatisierung jedoch negativ beeinflusst.

Padilla-Sánchez *et al.* (2012) analysierten Organophosphonat-Herbizide in Bodenproben, unter anderem Glufosinat (2-Amino-4-(hydroxy-methyl-phosphoryl)butansäure). Die Auftrennung erfolgte auf einer Reversphasen (RP)-Säule (Hypersil Gold Phenyl, Thermo) mit einem Wasser-Methanol Gradienten, die Detektion durch hochauflösende Orbitrap-Massenspektrometrie. Dabei eluierten die polaren Analyte bereits zwischen 1 min und 1,5 min. Als Detektionsgrenzen, bei denen noch mindestens ein charakteristischer Massenübergang pro Analyt gemessen werden konnte, wurden 10 µg/kg bis 50 µg/kg bestimmt.

In eigenen Vorstudien am TZW konnte eine Auftrennung der Phosphonate PBTC und HEDP, die nur eine bzw. zwei Phosphonsäuregruppen aufweisen, über eine RP-Säule (Zorbax Eclipse Plus, Agilent) und einen Wasser-Methanol Gradienten erreicht werden. Für die Phosphonate mit mehr als zwei Phosphonsäuregruppen wurden durch eine RP-HPLC Methode jedoch keine Signale erhalten.

5.2.5 Elektrophoretische Methoden

HEDP, ATMP, EDTMP und DTPMP wurden durch Isotachophorese und Leitfähigkeitsdetektion bestimmt (Stover und Wagenknecht, 1982; Fitzgerald, 1983). Eine erfolgreiche Trennung von HEDP, ATMP, EDTMP, HDTMP und DTPMP via Kapillarelektrophorese (CE) wurde durch Shamsi und Danielson (1995) berichtet. Die indirekte photometrische Detektion erlaubte Bestimmungsgrenzen im unteren bis mittleren mg/L-Bereich.

Eine Kapillarzonenelektrophorese-Methode (CZE) mittels indirekter UV-Detektion bei 280 nm, die sich u. a. zur Quantifizierung des Arzneistoffes Alendronsäure (4-Amino-1-hydroxybutyliden-1,1-diphosphonsäure) in pharmazeutischen Formulierungen eignet, wurde durch Prutthiwanasan und Suntornsuk (2010) beschrieben. Die Methode erlaubte eine Detektionsgrenze im unteren mg/L-Bereich. Als Grundelektrolyt diente eine Lösung aus Benzoesäure (30 mmol/L), Salicylsäure (5 mmol/L) und Cetyltrimethylammoniumbromid (0,5 mmol/L), welches mit Tris(hydroxymethyl)-aminomethan auf pH 3,8 eingestellt wurde.

Ortega-Gadea *et al.* (2006) und Bernabé-Zafón *et al.* (2007; gleiche Arbeitsgruppe) etablierten eine Analysemethode für kommerziell eingesetzte technische Phosphonate durch eine CZE-Elektrospray-Ionisation-Ionenfallenmassenspektrometrie-Kopplung (CZE-ESI-ITMS). Die Trennungen wurden bei 25 °C und 20 kV durchgeführt, wobei ein wässriger Puffer aus Trichloressigsäure (10 mmol/L mit pH 2,2 durch Zugabe von Ammoniak) als Grundelektrolyt verwendet wurde. In der späteren Veröffentlichung wurde eine Lösung mit Adenosintriphosphat (10 mmol/L des Dinatriumsalzes) bei einem identischen pH-Wert verwendet. Das Verhalten der Phosphonate bei ihrer Ionisation, Fragmentierung und Detektion im Massenspektrometer wurde in den Veröffentlichungen ausgiebig untersucht und diskutiert. Natriumaddukte, die Abspaltung von Wasser, Kohlendioxid und Phosphonsäuregruppen (detektierbar als PO_3^--Ion) wurden beobachtet. Unter anderem wurden die Phosphonate ATMP, DTPMP, HEDP, EDTMP und PBTC in technischen Formulierungen in einer Verdünnung von 100 mg/L analysiert. Eine Nachweisgrenze wurde nicht bestimmt. Verunreinigungen der technischen ATMP-, EDTMP- und DTPMP-Produkte mit niedersubstituierten Derivaten wurden detektiert. Diese wiesen ein- oder mehrere Methyl- anstatt Methylphosphonogruppen auf, bei anderen fehlten auch vollständige Methylphosphonogruppen. Teilweise wurden auch vollständig substituierte Phosphonate mit abweichenden Alkylamin-Grundgerüsten detektiert.

Varenne *et al.* (2012) beschreiben eine CE-ICP-MS-Kopplung zur Bestimmung der Affinität von phosphororganischen Liganden, einschließlich Phosphonaten, gegenüber Europium(III) im wässrig-organischen Medium. Dabei konnte der Phosphorgehalt der Liganden bis in den unteren µmol/L-Konzentrationsbereich detektiert werden. Somit entspräche z. B. ein Phosphorgehalt von 1 µmol/L im Falle des ATMP einer Nachweisgrenze von > 100 µg/L. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass auf Grundlage dieser Angaben die CE-Techniken gegenwärtig nicht zur Analyse von Phosphonaten im Spurenbereich geeignet zu sein scheinen.

5.2.6 Ionenchromatographische Techniken

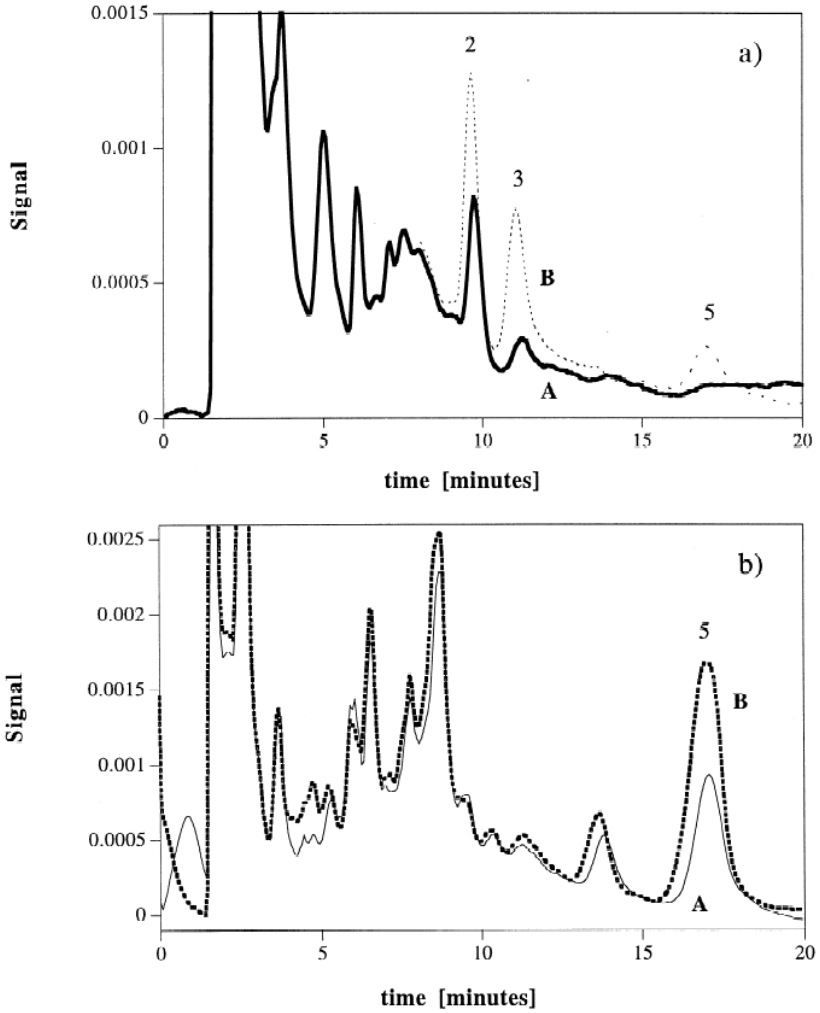
Zahlreiche Methoden zur Quantifizierung von Organophosphonaten im Spurenbereich involvieren die Auftrennung auf Reversed-Phase-Säulen (RP) mittels Ionenpaar-Reagenzien (quarternären Ammoniumverbindungen) und eines Wasser/Methanol- bzw. eines Wasser/Acetonitril-Gradienten (Reichert, 1995; Knepper *et al.*, 2002; Chester, 1980; Li *et al.*, 1997; Nowack, 1997; Nowack und Stone, 2000) oder die Auftrennung mittels Ionenaustauschchromatographie und eines ionischen Gradienten (Ammann, 2002a; Frigge und Jackwerth, 1991; Schmidt *et al.*, 2013). Die Analysenmethoden erlauben die Auftrennung von Organophosphonatkomplexen bzw. Organophosphonatanionen mit Nachweisgrenzen im unteren µg/L-Bereich. Sie erwiesen sich jedoch allgemein als anfällig gegenüber der Gegenwart von Metallkationen, sowie Schwankungen des pH-Wertes. Eine Probenvorbereitung von Umweltproben ist erforderlich.

Eine weitere technische Herausforderung bei der Kopplung ionenchromatographischer Analysemethoden mit der Massenspektrometrie besteht darin, dass die Chromatographie Eluenten mit hoher Ionenstärke voraussetzt. Da der Eluent in der Ionenquelle des Massenspektrometers verdampft, ist man auf den Einsatz von flüchtigen Eluenten (z. B. Ameisensäure) oder Eluenten, die sich durch Suppression in eine flüchtige Form umwandeln lassen (z. B. Formiat, Carbonat, Hydrogencarbonat, Hydroxid), beschränkt. Von der bei der Ionenchromatographie häufig angewandten Zugabe nicht-flüchtiger Komponenten (z. B. EDTA, Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Trimesinsäure) oder korrosiven Stoffen (z. B. Salpetersäure) zum Eluenten ist abzusehen. Die Suppressionstechnik nutzt einen der chromatographischen Trennung nachgeschalteten Kationenaustausch-Schritt gegen Protonen, bei dem Metallkationen entfernt und hierüber Anionen, einschließlich der Phosphonate, in ihre freien Säuren überführt werden. Ohne Suppression würde es bei der Verdampfung des Eluenten zur Verkrustung in der Ionenquelle kommen. Gleichzeitig kann die Ionisation des eigentlichen Analyten im ICP oder der ESI-Quelle durch die Salzfracht gestört und die Bildung von Addukten begünstigt werden. Letztere würde durch Aufspaltung der durch den Analyten verursachten Signale zu einer Erniedrigung der Sensitivität führen.

Ionenpaarchromatographie (IPC)

Um eine photometrische Detektion zu ermöglichen, können die Phosphonate vor der chromatographischen Trennung in UV-absorbierende Metallkomplexe überführt werden (Vorsäulenderivatisierung) (Li *et al.*, 1997; Nowack, 1997; Nowack und Stone, 2000). Eine erfolgreiche Kopplung zur Detektion via ESI-MS wurde ebenfalls beschrieben (Knepper *et al.*, 2002). Nowack (1997) etablierte eine Methode zur Detektion der Phosphonate HEDP, ATMP, EDTMP und DTPMP in Wasserproben mittels IPC. Die Analyte wurden dabei zunächst durch einen Kationenaustausch in ihre freien Säuren und anschließend vor der Chromatographie in einheitliche Eisen-III-Komplexe überführt. Die photometrische Detektion bei 260 nm ermöglichte Nachweisgrenzen im Bereich zwischen 15 µg/L und 100 µg/L. Mittels eines vorgeschalteten Anreicherungsschritts durch Adsorption an Calciumcarbonat konnte die Nachweisgrenze bis in den unteren µg/L-Bereich erweitert werden, wodurch ein Nachweis der Stoffe in Zu- und Abläufen von Kläranlagen ermöglicht wurde (Abbildung 23). In den Zuflüssen von mehreren Kläranlagen in der Schweiz konnte Nowack (1998) ATMP und EDTMP in Konzentrationen von bis zu 240 µg/L bzw. 350 µg/L nachweisen. Die Konzentrationen in den Abläufen lagen unterhalb der Detektionsgrenzen von 15 µg/L (ATMP) bzw. 22 µg/L (EDTMP). In einem mit Abwasser aus der Textilindustrie belasteten Kläranlagenzulauf konnte DTPMP in einer Konzentration von über 1 mg/L nachgewiesen werden, während im entsprechenden Ablauf noch ca. 70 µg/L detektiert wurden.

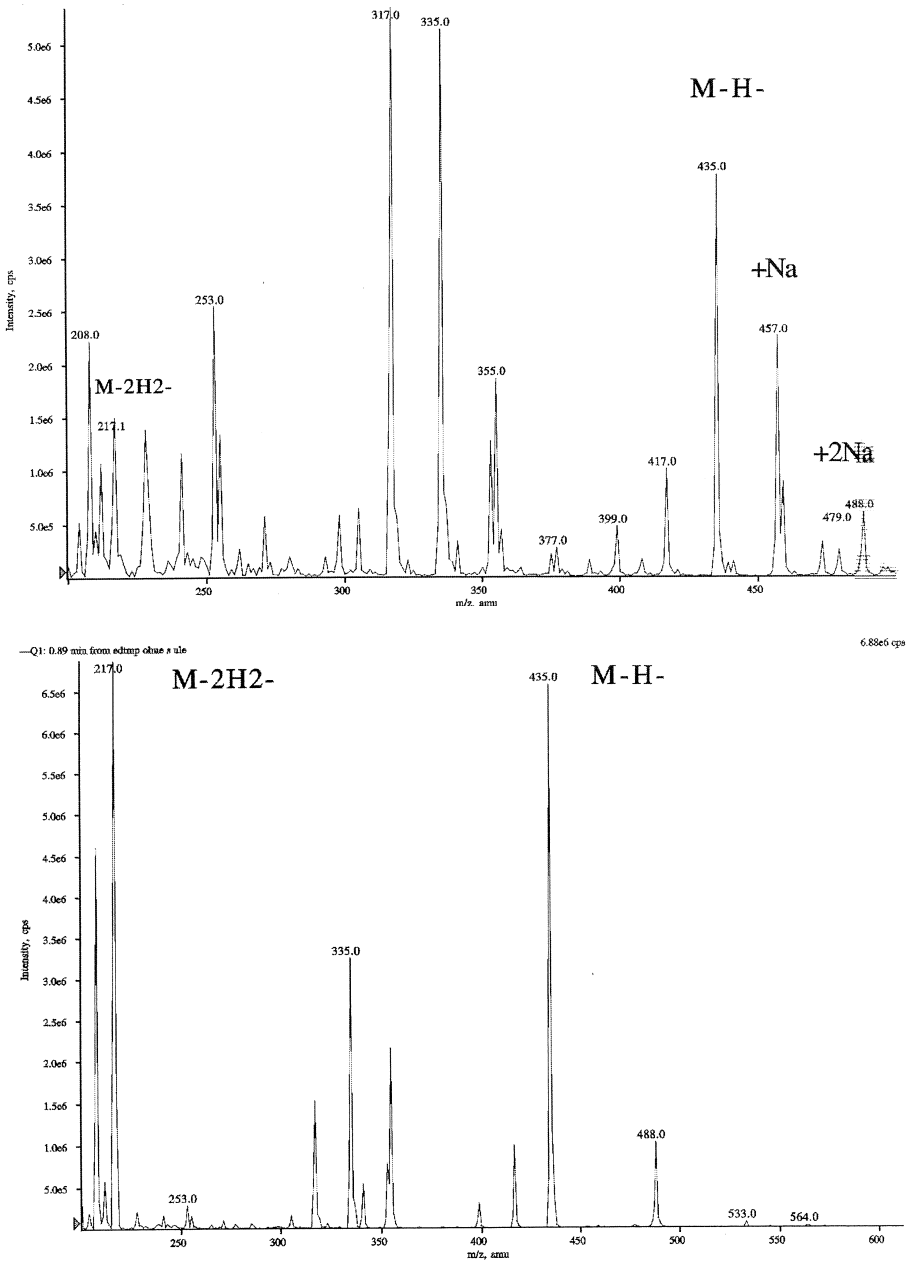
Abbildung 23: Bestimmung von Phosphonaten im Abwasser via IPC-UV. Oben: ATMP (2; 223 µg/L) und EDTMP (3; 65 µg/L) in einem KA-Zulauf (Schwarze Linie) und nach Standardaddition (gepunktete Linie); Unten: DTPMP (5; 1146 g/L) in einem anderen KA-Zulauf (schwarze Linie) und nach Standardaddition (gepunktete Linie); HEDP eluiert bei 8 min und wird durch andere Signale überlagert.



(Aus Nowack, 1997; Copyright © 1997 by Elsevier. Reprinted by permission of Elsevier)

Eine IPC-ESI-MS Methode zur Detektion der Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP und PBTC wurde durch Knepper *et al.* (2002) beschrieben. Die Auftrennung der Analyte erfolgte auf einer C18-Säule mittels eines Wasser/Acetonitril-Gradienten und dem Ionenpaar-Reagenz Tetraethylammoniumacetat (10 mmol/L). Mittels eines regenerativen Suppressors (Firma Metrohm) wurde das Tetraethylammonium nach der Chromatographie wieder entfernt. Während EDTMP bei unsuppressierter Direktinjektion als einfach und zweifach deprotoniertes Molekülion, sowie in Form mehrerer Natrium-Addukte ($[M-2H+Na]^-$, $[M-3H+2Na]^-$) auftrat (Abbildung 24, oben), waren nach suppressierter Direktinjektion keine Natrium-Addukte mehr vorhanden (Abbildung 24, unten).

Abbildung 24: Massenspektren eines EDTMP-Standards (20 mg/L) durch eine IPC-ESI-MS Methode. Oben: Spektrum ohne Suppression (Natrium-Addukte vorhanden). Unten: Spektrum nach Suppression (Detektion von EDTMP als einfach und zweifach geladenes Molekülion).

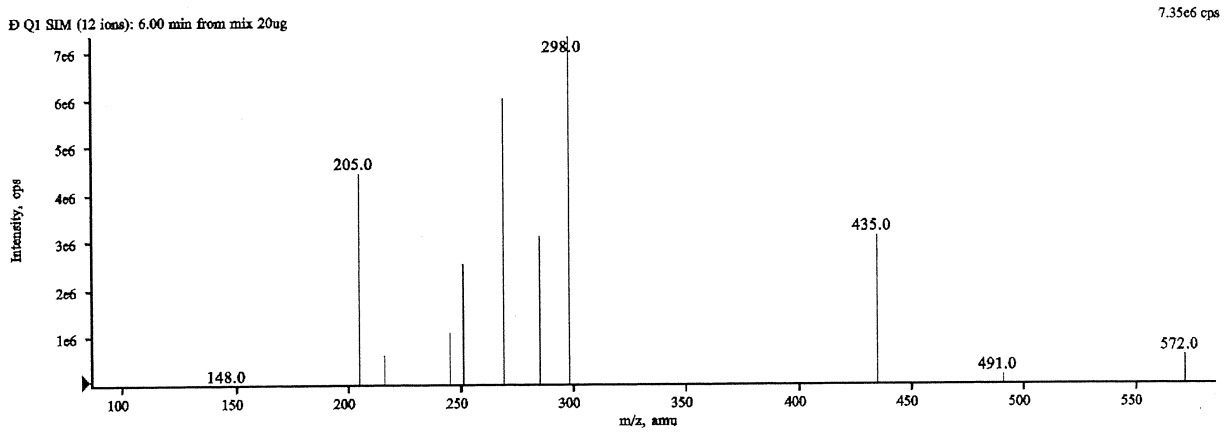


(Mit Erlaubnis aus Knepper et al., 2002)

Durch die eingesetzte chromatographische Methode eluierten alle 6 Phosphonate gleichzeitig nach 6 min. Die unterschiedlichen Intensitäten bei der Direktinjektion eines Multistandards mit gleicher Ausgangskonzentration (20 mg/L) in Reinstwasser sind in Abbildung 25 dargestellt. Die Rangfolge der Intensitäten liegt jedoch nicht ausschließlich in der substanzspezifischen Ionisierbarkeit, sondern auch in der unterschiedlichen Molarität der einzelnen Analyte begründet. Sie spiegelt sich deshalb in Grundzügen in den Molekulargewichten wider: ATMP (299 g/mol) > PBTC (270 g/mol) > HEDP (206 g/mol) > EDTMP (436 g/mol) > DTPMP (573 g/mol) > HDTMP (492 g/mol) und impliziert, dass die tatsächlichen Ionisierbarkeiten weniger stark voneinander abweichen. Obwohl keine Bestimmungsgrenzen ermittelt wurden, lassen die Intensitäten der Signale bei einer Direktinjektion von

20 mg/L pro Substanz Nachweisgrenzen für Phosphonate in HPLC-Wasser im mittleren bis unteren µg/L-Bereich erwarten.

Abbildung 25: Ionenspektrum eines Phosphonat-Multistandards (je 20 mg/L) durch die IPC-ESI-MS Methode nach Suppression. Detektion der Phosphonate als Molekülionen ($[M-H]^-$): ATMP (m/z 298), DTPMP (m/z 572), EDTMP (m/z 435), HDTMP (m/z 491), HEDP (m/z 205), PBTC (m/z 269).



(Mit Erlaubnis aus Knepper et al., 2002)

Nach Injektion eines analogen Standards in Rheinwasser wurden keinerlei Signale mehr erhalten. Interessanterweise beschrieben die Autoren jedoch, dass nach Durchlaufen einer RP-C18-Kartusche wieder Signale von fast vergleichbarer Intensität wie im HPLC-Wasser erhalten wurden. Ein störender Effekt durch Huminstoffe wurde postuliert. Anscheinend reichen die im Flusswasser enthaltenen Metallkationen nicht aus, um das Gemisch aus 120 mg/L an unterschiedlichen Phosphonaten (6-facher Multistandard mit jeweils 20 mg/L) zu komplexieren. Nach 10-facher Aufkonzentrierung des dotierten Flusswassers durch Einengung bei 60 °C im Polyethylengefäß wurden auch nach Aufreinigung über eine RP-C18-Kartusche keine Signale mehr erhalten. Da die relativen Konzentrationen zwischen Phosphonaten und Metallkationen beim Einengen gleich bleiben sollten, könnte dies ein Indiz dafür sein, dass die Ausbildung der Komplexe eine gewisse Kontaktzeit bzw. Erwärmung voraussetzt.

Anionenaustauschchromatographie (IEC)

Durch die vorhandenen Phosphonsäuregruppen und ihre hohe Ladungsdichte zeigen Aminophosphonate starke Wechselwirkungen mit Anionenaustauschern. Vor allem die höhergeladenen (polyvalenten) Spezies konnten nur mit starken Eluenten eluiert werden. Die Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP und PBTC konnten bei einem Anreicherungsschritt nicht mehr mittels Ameisensäure vom Anionentauscher und bei der Analytik nicht mittels eines Carbonat/Hydrogencarbonat-Eluenten (13 mmol/L Na_2CO_3 und 20 mmol/L $NaHCO_3$) von der Anionenchromatographiesäule eluiert werden (Knepper *et al.*, 2002; Bauer *et al.*, 1999).

Die Auftrennung von Phosphonaten via Anionenaustauschchromatographie erwies sich als sehr anfällig gegenüber der Gegenwart von Metallkationen, insbesondere Al(III), Fe(III), Mn(II), Ni(II) und In(III), während durch Bi(III), Ca(II), Cu(II), Mg(II) und Zn(II) nur geringfügigere Störungen verursacht wurden (Frigge und Jackwerth, 1991; Felber *et al.*, 1995). Die Einflüsse zeigten sich in Form von Signalverringerung, Retentionszeitverschiebungen und Peak-Tailing. Diese Störungen konnten durch stark saure Eluenten oder durch Zugabe von EDTA, DTPA oder Triethanolamin zum Eluenten verringert werden. Alternativ wurden Metallkationen durch Kationaustauscherkartuschen entfernt (Frigge und Jackwerth, 1991; Waldhoff und Sladek, 1985; Schmidt *et al.*, 2013). Die bei der Anreicherung der Analyte mitangereicherten anorganischen Anionen wie Chlorid, Phosphat und Sulfat können die

Chromatographie ebenfalls negativ beeinflussen (Tsai *et al.*, 1994; Weiss und Hägele, 1987; Reichert, 1995).

Drei etablierte photometrische Methoden der Detektion bestehen in der Komplexierung mit Fe(III) nach der chromatographischen Trennung, einem der Chromatographie angeschlossenen Oxidationsschritt und Färbung durch Molybdatreagenzien, sowie die indirekte photometrische Detektion durch einen absorbierenden Eluenten. Analog kann auch eine indirekte fluorimetrische Detektion durch Zugabe eines fluoreszierenden Reagenzes nach der Chromatographie durchgeführt werden. Die Ionenchromatographie wurde weiterhin erfolgreich mit ICP-MS Detektion gekoppelt, wodurch die bislang niedrigsten Quantifizierungsgrenzen erreicht wurden. (Ammann, 2002a und 2002b; Schmidt *et al.*, 2013).

Eine Überführung der Phosphonate in absorbierende Komplexe nach der Chromatographie wurde durch Zugabe von Eisen(III)Nitrat in Perchlorsäure realisiert. Die stabilen Komplexe ermöglichten die Detektion im Bereich um 300 nm bis 330 nm (Weiss und Hägele, 1987; Tschäbunin *et al.*, 1989a und b; Felber *et al.*, 1995; Reichert, 1995).

Alternativ können Phosphonate nach der Chromatographie mittels Persulfat und erhöhter Temperatur oxidativ aufgeschlossen werden. Anhand des freigesetzten Phosphats können die Phosphonate durch Zugabe von Molybdänreagenzien indirekt detektiert werden. Je nach Reagenz und Reaktionsbedingungen kann die Detektion von Phosphomolybdat (Absorption bei 820 nm; Daley-Yates *et al.*, 1989), Molybdänblau (Absorption bei 660 nm; Waldhoff und Sladek, 1985) oder Molybdovanadophosphorsäure (Absorption bei 410 nm; Vaeth *et al.*, 1987; Frigge und Jackwerth, 1991; Tschäbunin *et al.*, 1989b; Reichert, 1995) erfolgen.

Die dritte Möglichkeit zur photometrischen Detektion nach Anionenchromatographie erfolgt indirekt durch die Erfassung von negativen Signalen, verursacht durch die Phosphonate in einem stark absorbierenden Eluenten. Dabei werden absorbierende Anionen im Eluenten durch nicht absorbierende Phosphonate verdrängt. Als Eluenten wurden Salpetersäure (Tsai *et al.*, 1994) und Trimesinsäure (1,3,5-Benzoltricarbonsäure; Thompson und Grinberg, 1994) eingesetzt. Eine Methode zur indirekten fluorimetrischen Bestimmung besteht in der Zugabe eines fluoreszierenden Aluminium-Morin-Komplexes zum Eluenten nach der chromatographischen Trennung. Der fluoreszierende Komplex wird kompetitiv durch die Phosphonate zerstört, welche danach als negative Signale detektiert werden (Lovdahl und Pietrzyk, 1999; Meek *et al.*, 1988; Reichert, 1995).

Weitere Detektionstechniken in Kombination mit der Anionenaustauschchromatographie via Brechungsindex (Tschäbunin *et al.*, 1989b; Wong *et al.*, 1987) oder gepulster Amperometrie (Tewari und van Stroe-Bieze, 1997) ermöglichten Bestimmungsgrenzen im mg/L-Bereich.

Bauer *et al.* (1999) etablierten eine IC-ESI-MS Kopplung. Durch einen Carbonat-Hydrogencarbonat-Gradienten (Eluent A: Na_2CO_3 (1,3 mmol/L); Eluent B: Na_2CO_3 (12 mmol/L) und $NaHCO_3$ (20 mmol/L); 95 % A auf 50 % A innerhalb 23 min) wurde eine Auftrennung von Glyphosat, AMPA und EDTA aus Reinstwasser ermöglicht. In dotiertem Oberflächenwasser wurde eine Nachweisgrenze von < 1 µg/L für Glyphosat ohne Probenvorbereitung angegeben. Nach der Eluent-Suppression mit einem Metrohm Revolversuppressor wurden keine Na-Addukte detektiert. Die Suppression führte jedoch zu einer deutlichen Verbreiterung des AMPA-Signals. Eine Hypothese hierfür wurde wie folgt gegeben: durch Überführung der Na-Salze in die freie Säure während der Suppression erhält AMPA durch Protonierung seiner Aminofunktion eine positive Ladung. Dadurch kommt es zu einer Interaktion des AMPA-Kations mit dem Suppressor (Kationenaustauscher), welcher die Substanz zurückhält. Mit dem gleichen Eluenten konnten Knepper *et al.* (2002) keine Elution der höhergeladenen (polyvalenten) Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP und PBTC erwirken.

Eine phosphorspezifische Detektion von EDTMP mittels IC-ICP-MS wurde durch Ammann (2002a und 2002b) beschrieben. Durch Schmidt *et al.* (2013) wurde die gegenwärtig empfindlichste IC-ICP-MS

Bestimmungsmethode am TZW etabliert, mit der die kommerziell eingesetzten Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP in Konzentrationen von unter 0,1 µg/L in Gewässerproben nachgewiesen werden können. Dabei werden Metall-Phosphonat-Komplexe zunächst durch Kontakt mit einem stark sauren Kationenaustauscherharz aufgebrochen, die Metallkationen entfernt und die Phosphonate in die freien Phosphonsäuren überführt. Diese werden nach Neutralisation durch einen schwachen Anionenaustauscher 50-fach angereichert, durch Anionenchromatographie aufgetrennt (Säule: Dionex IonPac AS16) und durch Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) detektiert. Zur Elution dient ein Wasser/Natronlauge-Gradient. Die Zugabe des phosphorfreien Komplexbildners Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) zum Eluenten verbessert die Auftrennung. Die Anreicherung durch Einsatz rezenter Ionenaustauschermaterialien ermöglichte Wiederfindungsraten von nahezu 100 %. Ein Schema der in der Publikation beschriebenen Probenvorbereitung und Anreicherung ist in Tabelle 6 wiedergegeben.

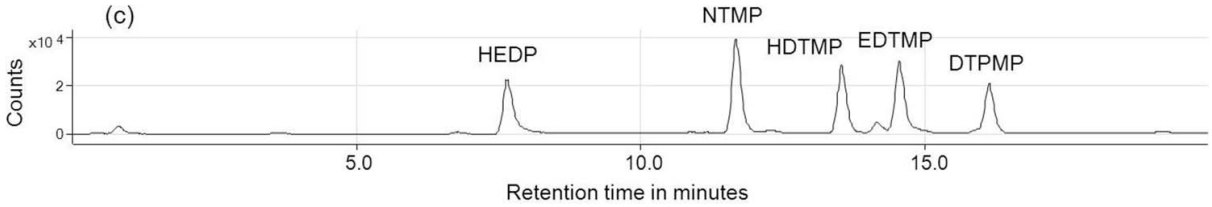
Tabelle 6: Schema der Probenvorbereitung, Anreicherung und Analytik zur Bestimmung von Phosphonaten im Spurenbereich.

#	Verfahrensschritt	Material / Reagenz
1	Wasserprobe	150 mL
2	Starker Kationenaustausch	1,5 g AG MP-50
3	Anpassen auf pH 6	0,5 mol/L NH_4HCO_3
4	Schwacher Anionenaustausch	0,2 g Strata X-AW
5	Elution der Phosphonate	Mit 5 mL 4%iger NH_4OH in MeOH
6	Reduktion des Volumens	Im Stickstoffstrom auf 100 µL
7	Auffüllen auf Endvolumen	Mit Reinstwasser auf 2 mL
8	IC-ICP-MS-Analyse	Injektionsvolumen: 200 µL

(nach Schmidt et al., 2013)

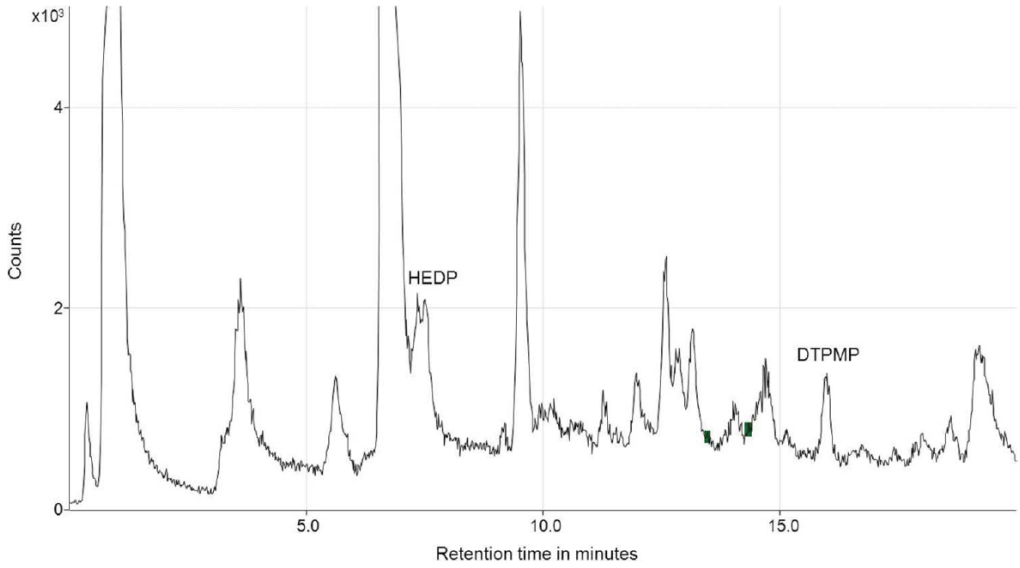
In Abbildung 26 ist das Chromatogramm einer mit Phosphonaten dotierten Trinkwasserprobe nach der von Schmidt *et al.* (2013) beschriebenen Methode dargestellt, während in Abbildung 27 das Potenzial dieser Methode zur Detektion der Phosphonate HEDP und DTPMP in Oberflächenwasser (Rheinwasser) aufgezeigt ist.

Abbildung 26: Chromatogramm einer aufkonzentrierten dotierten Trinkwasserprobe nach Ionenaustausch (Phosphonatgehalte: je 2 µg/L; Zugabe von 300 µg/L DTPA zum Eluenten).



(Aus Schmidt et al., 2013; Copyright © 2013 by Taylor and Francis. Reprinted by permission of Taylor and Francis)

Abbildung 27: Chromatogramm einer Oberflächenwasserprobe (Rhein bei Karlsruhe) nach Ionenaustausch und Anreicherung.



(Aus Schmidt et al., 2013; Copyright © 2013 by Taylor and Francis. Reprinted by permission of Taylor and Francis)

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass in der jüngeren Literatur seit den Publikationen von Schmidt aus 2005 und 2013 keine grundlegend neuen analytischen Methoden oder Monitoringdaten zum Vorkommen von Phosphonaten in der Umwelt hinzugekommen sind. Diese Schlussfolgerung wird bei der Lektüre des aktuellen Reviews über Eigenschaften, Einsatz und Umweltverhalten von Aminopolyphosphonaten von Studnik *et al*. (2015) bestätigt.

5.3 Probenvorbereitungstechniken

Zur Bestimmung von Phosphonaten aus Umweltproben im Spurenbereich (ng/L bis unterer µg/L-Bereich) ist eine Probenvorbereitung notwendig. Dabei sollen die in unterschiedlichen Komplexen vorliegenden Analyte in eine einheitliche Form überführt, von Matrixbestandteilen und Metallkationen getrennt und gegebenenfalls aufkonzentriert werden. Ein Nachteil der Probenvorbereitung besteht in einem teilweise hohen Zeit- und Personalaufwand. Insofern wurde eine Automatisierung der Anreicherung zur Quantifizierung von Proben mit niedrigem Analytgehalt angestrebt.

5.3.1 Aufbereitung wässriger Proben

Frühere Studien beschrieben eine Anreicherung von Phosphonaten durch Verdampfung der wässrigen Matrix (Klinger, 1997; Klinger *et al.*, 1997; Knepper *et al.*, 2002) oder Adsorption an präzipitierten Hydroxiden, Carbonaten und Phosphaten (Daley-Yates *et al.*, 1989; Frigge und Jackwerth, 1991; Nowack, 1997; Liggett, 1973; Flesch und Hauffe, 1989; Liggett und Libby, 1970) und ihre anschließende Wiederauflösung in Säuren. Dabei führte die gleichzeitige Aufkonzentration von anderen nichtflüchtigen Matrixbestandteilen (z. B. Salze und Huminstoffe) bei Oberflächenwasserproben zu uneinheitlichen Wiederfindungsraten bei verschiedenen Phosphonaten und stellte ein Problem bei der nachfolgenden Analyse dar (Frigge und Jackwerth, 1991; Klinger, 1997).

Eine erfolgreiche Methode zur simultanen Anreicherung der Phosphonate ATMP, EDTMP und DTPMP aus Abwasserproben wurde durch Nowack (1997) etabliert. Durch Adsorption an frischgefälltem Calciumcarbonat, Wiederauflösen des Niederschlags in Salzsäure (HCl) und einem nachgeschalteten Kationenaustausch-Schritt wurden bei der Anreicherung aus Trinkwasser und Kläranlagenabflüssen Wiederfindungsraten zwischen 79 % und 106 % nach Dotierung im µmol/L-Bereich beschrieben (30 µg/L bis 600 µg/L für ATMP; 57 µg/L bis 1146 µg/L für DTPMP; Tabelle 7). Die Detektion erfolgte photo-

metrisch nach Überführung in stabile Eisen-III-Komplexe und Auftrennung mittels Ionenpaarchromatographie. Durch die Anreicherung konnten ATMP, EDTMP und DTPMP im Bereich zwischen 3 µg/L (ATMP), 4,4 µg/L (EDTMP) und 6 µg/L (DTPMP) detektiert werden.

Tabelle 7: Wiederfindungsraten der Phosphonate ATMP, EDTMP und DTPMP nach Dotierung in Trinkwasser, sowie zu Kläranlagenabflüssen; Anreicherung durch Adsorption an Calciumcarbonat.

Probe	Dotierung / (µmol/L)	ATMP / %	EDTMP / %	DTPMP / %
Trinkwasser	2	101	106	98
Ablauf Kläranlage	0,2	97	100	79
Ablauf Kläranlage	0,1	96	90	88

(nach: Nowack, 1997)

Mittels Direktbestimmung der Phosphonate in Trinkwasser und Kläranlagenzuflüssen, sowie einem Kläranlagenabfluss konnten Quantifizierungsgrenzen von 15 µg/L (ATMP), 22 µg/L (EDTMP), 57 µg/L (DTPMP) und 103 µg/L (HEDP) ermittelt werden. Das HEDP-Signal wurde durch Matrixbestandteile gestört (Abbildung 23).

Verschiedene Autoren beschrieben eine Probenvorbereitung durch Anionentauscherharze (Klinger, 1997; Daley-Yates *et al.*, 1989; Frigge und Jackwerth, 1991; Wong *et al.*, 1987; Ammann, 2002a), von denen die Phosphonate durch starke Mineralsäuren eluiert wurden. Durch Ameisensäure oder Essigsäure fand keine Elution statt (Klinger, 1997; Knepper *et al.*, 2002). Der extreme pH-Wert der Eluate, verbleibende Metallkationen (Frigge und Jackwerth, 1991) und mitangereicherte Anionen (Daley-Yates *et al.*, 1989) störten die Analyse.

Schmidt *et al.* (2013) etablierte eine erfolgreiche Probenaufbereitungstechnik, bei der die Phosphonate zunächst über einen starken Kationentauscher von Metallkationen befreit und in ihre freien Säuren überführt wurden. Anschließend erfolgte eine 50-fache Anreicherung durch einen schwachen Anionentauscher, von dem die Phosphonate mit einer 4%igen Lösung aus Ammoniak in Methanol eluiert wurden. Dies stellte die erste Methode dar, durch die die Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP aus Gewässerproben gleichzeitig mit hohen Wiederfindungsraten angereichert werden konnten (Tabelle 8). Durch Zugabe von 300 µg/L des phosphatfreien Chelatbildners DTPA konnten die chromatographische Trennung und die Signalformen optimiert werden.

Tabelle 8: Wiederfindungen von Phosphonaten aus Oberflächenwasser nach Festphasenanreicherung (SPE) durch einen schwachen Anionentauscher (Strata X-AW).

Phosphonat	Wiederfindung bei Dotierung mit 0,1 µg/L / %	Wiederfindung bei Dotierung mit 0,5 µg/L / %	Wiederfindung bei Dotierung mit 1,0 µg/L / %
HEDP	27	26	40
ATMP	89	92	93
EDTMP	101	84	87
HDTMP	61	70	84
DTPMP	69	88	88

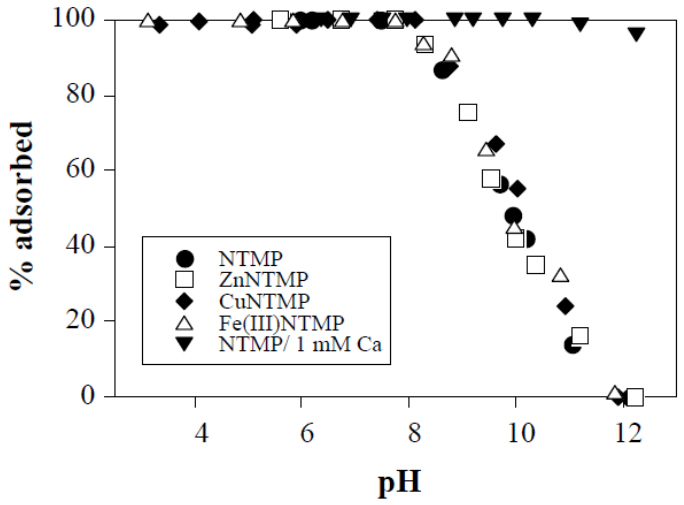
(nach: Schmidt et al., 2013)

5.3.2 Aufschluss und Bestimmung von Phosphonaten in Schwebstoff-, Sediment- und Bodenproben

Während die Alkalisalze der Phosphonsäuren gut wasserlöslich sind, weisen besonders die höhermolekularen freien Phosphonsäuren nur eine mäßige Wasserlöslichkeit auf. Die Löslichkeit von DTPMP in der Säureform bei 25 °C beträgt 4,8 g/L (Toxnet), während das in Handelsprodukten häufiger eingesetzte Heptanatriumsalz eine etwa 10-fach höhere Löslichkeit besitzt (DIN EN 15040). Während die sauren Eigenschaften der Substanzen bedingt durch die Phosphonsäuregruppen dominieren, findet im stark Sauren auch eine Protonierung der tertiären Stickstoffatome statt. Bei DTPMP tritt dies z. B. ab pH 7 ein (Gillard *et al.*, 1989).

Im Gegensatz zu den Aminocarboxylat-Komplexbildnern adsorbieren Aminophosphonate im oberflächenwasserrelevanten pH-Bereich (pH 6 bis pH 8) stark an die meisten mineralischen Oberflächen (Nowack, 2003). Die Adsorption an Calcit (Xyla *et al.*, 1992), Ton (Fischer, 1991; Morillo *et al.*, 1997), Aluminiumoxide (Liu *et al.*, 2000), Eisenoxide (Day *et al.*, 1997; Nowack und Stone, 1999a und b), Zinkoxid (Nowack und Stone, 1999b), Hydroxylapatit (Jung *et al.*, 1973; Chirby *et al.*, 1988) und Barit (Black *et al.*, 1991) wurde ausgiebig untersucht. Gleichfalls wurde starke Adsorption an Belebtschlamm (Steber und Wierich, 1986 und 1987; Nowack, 2002a; Fischer, 1992), Sediment (Fischer, 1992 und 2002) und Erdboden beschrieben (Cade-Menun *et al.*, 2002). Calcium übt einen verstärkenden Effekt auf die Adsorptionsrate, sowie die Besetzungskapazität der Oberfläche aus. Dieser wurde u. a. im Zusammenhang mit der Adsorption von ATMP an Goethit (Eisen-III-Oxid-Hydroxid) untersucht (Nowack und Stone, 1999b; Abbildung 28). In Abwesenheit von Calcium war unterhalb von pH 8 die gesamte Menge an ATMP einer 10 µmol/L-Lösung an die Oberfläche adsorbiert, oberhalb pH 12 befand sich alles in Lösung. In Gegenwart von 1 mmol/L Calcium war auch bis pH 12 nahezu eine vollständige Adsorption zu beobachten.

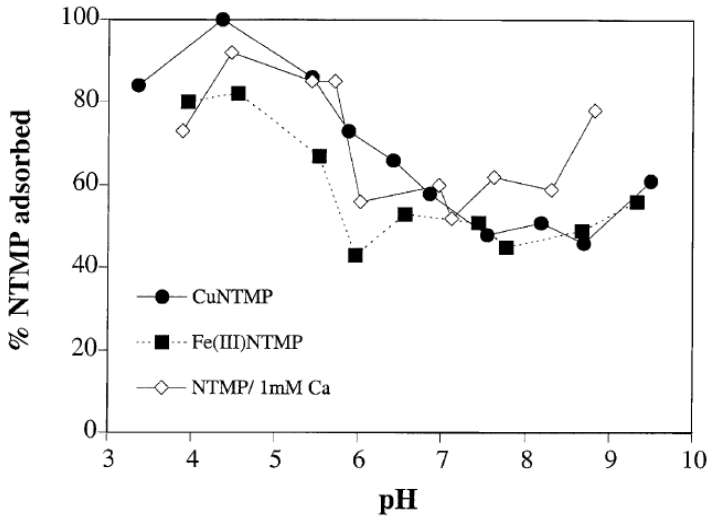
Abbildung 28: Adsorption von ATMP (10 µmol/L) an Goethit als Funktion des pH in Ab- und Anwesenheit von Zn, Cu oder Fe(III) (äquimolar) bzw. Ca (1 mmol/L).



(Aus Nowack, 2003; Copyright © 2003 by Elsevier. Reprinted by permission of Elsevier)

Eine analoge pH- bzw. Calcium-Abhängigkeit der Adsorption von ATMP an Belebtschlammpartikel wurde nicht beobachtet (Nowack, 2002a; Abbildung 29), allerdings wurde hier nicht das volle pH-Spektrum untersucht.

Abbildung 29: Adsorption von ATMP-Metallkomplexen an Belebtschlamm als Funktion des pH-Werts (1 g/L Belebtschlamm, 1 mmol/L NaCl, 3,7 µmol/L ATMP).



(Aus Nowack, 2002a; Copyright © 2002 by Elsevier. Reprinted by permission of Elsevier)

Fischer (2002) untersuchte die Adsorption von HEDP an Ton, Flusssedimente und Belebtschlamm. Eine generell starke, nur partiell reversible Adsorption wurde festgestellt. Die Adsorption an Flusssedimente wies eine positive Abhängigkeit mit dem Metalloxid-Hydroxid-Gehalt der Sedimente auf.

Bezüglich der Extraktion von Phosphonaten aus Feststoffproben sind verschiedene theoretische Aspekte zu beachten: die Löslichkeit in Abhängigkeit vom pH-Wert und Calcium-Gehalt, sowie die Möglichkeit des Auftretens von Phosphonaten im adsorbierten oder eingebetteten Zustand. Phosphonate, die durch ionische Wechselwirkungen an der Oberfläche adsorbiert werden, können analog einer Elution vom Anionentauscher durch ein Extraktionsmittel mit hoher Ionenstärke eluiert werden. Im Alkalischen wird die Löslichkeit der Phosphonate erhöht, während ein saurer Aufschluss die gleichzeitige Auflösung der Matrix bewirken kann. Eine Elution mit neutralen Salzen (Kaliumchlorid und Kaliumsulfat) führte zu keiner effektiven Mobilisierung (Nowack, 2002a). Nowack und Stone (1999b) beobachteten eine nahezu quantitative Desorption von ATMP ab pH 12 in Abwesenheit von Calcium. Dies impliziert die Effektivität eines alkalischen Aufschlusses in Gegenwart von EDTA, wie häufig in der Literatur beschrieben (s. nachfolgender Abschnitt). Gleichzeitig bringt Nowack (1997) die durch einen Anreicherungsschritt an Calciumcarbonat adsorbierten Phosphonate durch vollständiges Auflösen des Niederschlags in HCl mit 6 mol/L wieder in Lösung. Bei diesem Ansatz wurde einerseits das Adsorbens vollständig aufgelöst, weshalb keine Adsorption mehr möglich ist; gleichzeitig ist durch Protonierung der tertiären Stickstoffatome im stark sauren Milieu ebenfalls eine Erhöhung der Löslichkeit stickstoffhaltiger Alkylphosphonate zu erwarten. Phosphonate sind stabil gegen saure und alkalische Hydrolyse. Durch eine Kombination konsekutiver alkalischer und saurer Extraktionsschritte könnte eine effektivere Mobilisierung erreicht werden. Eine Differenzierung von adsorbiertem und eingebettetem Phosphonat könnte ermöglicht werden, indem durch den alkalischen Aufschluss nur Phosphonate von der Oberfläche desorbiert werden, währenddessen durch einen sauren Aufschluss alle in der mineralischen Matrix eingebetteten Phosphonate freigesetzt werden. Im Rahme der Methodenentwicklung wurden sowohl saure als auch alkalische Aufschlussvarianten evaluiert.

Viele Literaturquellen beschäftigen sich mit der Charakterisierung von organischem Phosphor in Boden und Sediment. Bei der am häufigsten beschriebenen Methode handelt es sich um eine kombinierte Extraktion mit Natriumhydroxid (NaOH) und EDTA. Die Extraktion für 2 h bei 85 °C wurde durch Bowman und Moir (1993) etabliert und erwies sich um 30 % effizienter als frühere Methoden mit

konsekutiven Extraktionsschritten mit konz. Schwefelsäure, einem Verdünnungsschritt und anschließender Extraktion mit verd. NaOH (Bowman, 1989). Die Detektion von organischem Phosphor erfolgte als Summenparameter nach Oxidation zu ortho-Phosphat mit Persulfat. Die Autoren begründeten die Extraktionseffizienz dadurch, dass NaOH die Löslichkeit der Phosphorverbindungen erhöht, während EDTA durch Komplexierung von Metallionen kationische Bindungen aufspaltet und somit die Mobilisierung von organischen Bodenbestandteilen erhöht. Später wurde die Methode erfolgreich zur Bestimmung von phosphororganischen Verbindungen mittels ^{31}P-NMR eingesetzt (Cade-Menun und Preston, 1996). Die NaOH-EDTA-Methode stellte einen guten Kompromiss zwischen optimaler Extraktion von Phosphorverbindungen und geringer Mobilisierung paramagnetischer Ionen (z. B. Mn, Fe) dar, die die NMR-Spektroskopie negativ beeinflussen. Der Probenaufschluss involviert generell die Extraktion der lyophilisierten und homogenisierten Feststoffproben mit 0,25 mol/L NaOH und 0,05 mol/L Na_2EDTA, bei Raumtemperatur oder unter Erwärmung der Probe. Nach Filtration und Zentrifugation wird der Überstand erneut lyophilisiert. In Anlehnung an diese Methode bestimmten verschiedene Arbeitsgruppen Phosphonate mittels ^{31}P-NMR in Schwebstoffen, Sediment- und Bodenproben.

Organische Phosphonate sind in marinen Sedimenten weit verbreitet, wobei ein biogener Ursprung angenommen wird (Kolowith *et al.*, 2001). Auch in Sedimenten von Süßwasserseen wurden Phosphonate detektiert. Durch ^{31}P-NMR kann jedoch nicht zwischen verschiedenen Phosphonaten unterschieden werden, d. h. es ist auch keine Unterscheidung zwischen biogenen oder anthropogenen Phosphonaten möglich. Ein Gesamtphosphorgehalt von 0,015 µmol/L bis 0,090 µmol/L wurde in der durch Ultrafiltration gewonnenen Fraktion (1 nm bis 100 nm) aus Wässern von Pazifik, Atlantik und der Nordsee bestimmt (Kolowith *et al.*, 2001). Dieser setzte sich aus nahezu konstanten Anteilen von ca. 75 % Phosphatester und ca. 25 % Phosphonaten zusammen. In der partikulären Phase (0,1 µm bis 60 µm) wurden hingegen ausschließlich Phosphatester als einzige Phosphorverbindung detektiert. Benitez-Nelson *et al.* (2004) bestimmten Phosphonatkonzentrationen von 4 mmol/kg bis 7 mmol/kg im anoxischen Sediment des Golf von Cariaco (Karibik). Dies entsprach einem Anteil von 13 % bis 23 % des Gesamtphosphorgehalts. Weiterhin wurden Phosphonate neben Orthophosphat, Pyrophosphat, Polyphosphat, Orthophosphatmonoester, Phospholipiden und DNA-Bestandteilen als signifikanter Bestandteil der Sedimente von Süßwasserseen identifiziert. Bai *et al.* (2009) konnten eine Phosphonatkonzentration von bis zu 5,8 mg/kg im Sediment eines eutrophen Süßwassersees in China bestimmen, welche einen Anteil von 0,32 % des Gesamtphosphorgehalts ausmachte. In den Sedimenten von drei oligotrophen Bergseen in Schweden wurden durch Ahlgrena *et al.* (2006) Gesamtphosphorgehalte zwischen 0,8 g/kg und 0,9 g/kg bestimmt. Phosphonate machten dabei einen Anteil zwischen 1,2 % und 2,7 % aus. Tabelle 9 zeigt die jeweiligen Anteile der Phosphonate am Gesamtphosphorgehalt und zeigt weiterhin die Unterscheidung der verschiedenen organischen Phosphorspezies.

Tabelle 9: Daten zur ^{31}P-NMR-Analyse der Sedimente dreier oligotropher schwedischer Bergseen: Angaben des relativen Anteils unterschiedlicher organischer Phosphorverbindungen, einschließlich Phosphonaten, am Gesamtphosphorpool.

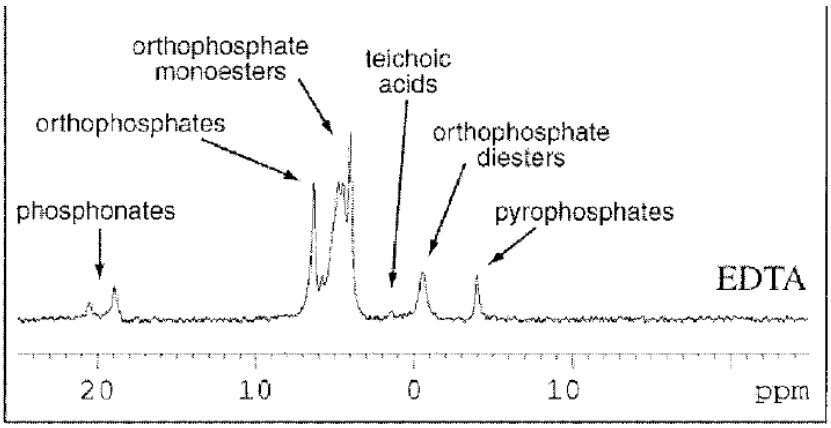
Parameter	Lake Ånnsjön	Lake Mjölkvattnet	Lake Burvattnet
DW / %	10,6 ± 0,9	7,9 ± 2,2	12,2 ± 1,7
LOI / %	11,4 ± 0,6	19,0 ± 2,4	17,5 ± 1,6
TP / (mg P / g DW)	0,88 ± 0,06	0,87 ± 0,06	0,83 ± 0,09
Extrahierter Gehalt / (mg P / g DW)	0,30 ± 0,05	0,46 ± 0,05	0,33 ± 0,03
Phosphonate / %	1,2 ± 0,3	2,0 ± 0,5	2,7 ± 0,2
Orthophosphate / %	38,5 ± 4,7	39,1 ± 4,1	34,4 ± 4,6
Mono-P / %	34,4 ± 2,2	31,6 ± 1,6	39,4 ± 4,2
P-Lipide mikrobiellen Ursprungs / %	2,6 ± 0,4	4,9 ± 2,9	5,3 ± 1,0
DNA / %	12,0 ± 1,5	14,0 ± 1,2	17,1 ± 1,9
Pyrophosphate / %	6,7 ± 1,3	5,2 ± 1,2	1,5 ± 1,7
Polyphosphate / %	4,6 ± 1,1	3,0 ± 1,4	ND

Hinweis: Es handelt sich um die Mittelwerte von 5 Proben jedes Sees. ND = Nicht detektiert.

(nach: Ahlgrena et al., 2006)

Die beschriebene Methode wurde außerdem zur Charakterisierung von phosphororganischen Verbindungen in Streu (L-Horizont) und mineralischen Böden eingesetzt (Cade-Menun *et al.*, 2002). Die Unterscheidung der einzelnen organischen und anorganischen Phosphorspezies anhand der chemischen Verschiebung ist in Abbildung 30 wiedergegeben. Phosphonate machten einen Anteil von rund 3 % an den organischen Phosphorverbindungen in den untersuchten Streuproben aus, während in den mineralischen Böden kein Phosphonat detektiert wurde.

Abbildung 30: Differenzierung unterschiedlicher organischer Phosphorspezies, einschließlich Phosphonaten, in Streu (L-Horizont) durch ^{31}P-NMR. Extraktion durch eine 1:1-Mischung aus 0,5 mol/L NaOH und 0,1 mol/L EDTA.



(Aus Cade-Menun et al., 2002; Copyright © 1972 by American Society of Agronomy Inc. Reprinted by permission of American Society of Agronomy Inc.)

Da sich die diskutierten Veröffentlichungen mit der Charakterisierung des Organophosphorpools als Ganzes beschäftigen und die Mitbestimmung des Phosphonatanteils lediglich einen Teilaspekt darstellt, ist es möglich, dass der Probenaufschluss für die Extraktion von Phosphonaten weiter optimiert werden kann. Da keine Analytik mittels ^{31}P-NMR angestrebt wurde, erfolgte im Rahmen dieses Forschungsvorhabens die Evaluation zusätzlicher anderer Aufschlussverfahren, zum Beispiel konsekutive Extraktionsschritte mit sauren und alkalischen Extraktionsmitteln.

Hinedi *et al.* (1987) extrahierte Gesamtphosphor aus Belebtschlamm mittels konsekutiver Trichloressigsäure/Kaliumhydroxid-Extraktion. Condron *et al.* (1990) beschrieb eine nahezu quantitative Extraktion von anorganischem Phosphor und Phosphorsäureestern aus Erdboden durch eine zweitägige Sequenz von sauren und alkalischen Extraktionsschritten unter Anwendung von Ultraschall und Ultrafiltration. Folgende Sequenz an Extraktionsschritten wurde angewandt: 0,5 mol/L NaOH; H_2O; 1 mol/L HCl; 0,5 mol/L NaOH; H_2O. In den durch saure Extraktion gewonnenen Fraktionen wurden ausschließlich anorganische Phosphorverbindungen gefunden. Beide Autoren analysierten die Proben mittels ^{31}P-NMR, während der Fokus auf der Detektion von Phosphorsäureestern und nicht auf Phosphonaten lag. Saure Extraktionsschritte könnten sich insofern als nützlich erweisen, da dadurch potentiell auch in die anorganische Matrix (z. B. Carbonate, Hydroxide) eingeschlossene Phosphonate erfasst würden.

Fischer (2002) beschrieb eine starke Adsorption von HEDP an Flusssedimente. Durch verschiedene wässrige und ionische Extraktionsmittel (H_2O, Chlorid, Sulfat, Carbonat/Iodid, HCl, Nitrat) konnte nur durch 50 mmol/L Salpetersäure (3 %) oder 50 mmol/L HCl (2 %) eine signifikante Mobilisierung erreicht werden: ca. 60 % bei Extraktion von Neckarsediment und ca. 50 % bei Rheinsediment. Durch eine äquimolare Lösung von Kaliumchlorid wurde keine vergleichbare Extraktionseffizienz erreicht. Möglicherweise hängt die Effizienz der Desorption von Phosphonaten mit dem Aufschluss der mineralischen Sedimentbestandteile zusammen.

5.4 Ähnlichkeiten und Unterschiede zur EDTA-Analytik

Die Aminopolycarboxylate NTA, EDTA und DTPA stellen die Carbonsäureanaloga von ATMP, EDTMP und DTPMP dar und werden industriell in großen Mengen eingesetzt. Aufgrund ihrer Substitution durch Phosphonate ist die Anwendung in domestischen WPR-Produkten stark zurückgegangen. Im Gegensatz zu den Phosphonaten wurde keine signifikante Adsorption von EDTA an Belebtschlammpartikel beobachtet (Kari und Giger, 1996; Nowack, 2002c). Nur 4 % bis 10 % des gesamten NTA wurden an Belebtschlammpartikel adsorbiert (Alder *et al.*, 1989). Während NTA bei der Abwasserbehandlung mittels des Belebtschlammverfahrens weitestgehend biologisch abgebaut wird, wurde als Hauptabbauweg der biologisch schwer abbaubaren Stoffe EDTA und DTPA die Photolyse der Eisen-III-Komplexe beschrieben. EDTA wird in Kläranlagen kaum zurückgehalten (Kari und Giger, 1996; Nowack, 1998) und liegt in Gewässern in Form unterschiedlicher Komplexe mit Metallkationen vor, meist mit Calcium-, Zink- und Nickel-Ionen, während es in Kläranlagenausläufen zunächst vorrangig als kinetisch stabiler, aber photolabiler Eisen-III-Komplex vorliegt (Xue *et al.*, 1995; Nowack *et al.*, 1996).

Nowack *et al.* (1996) detektierten EDTA-Kozentrationen zwischen 1,6 µg/L und 5,0 µg/L in zwei Flüssen, zwischen 5,6 µg/L und 6,1 µg/L in zwei Seen und zwischen 19,3 µg/L und 205 µg/L in Kläranlagenabflüssen in der Schweiz (Tabelle 10). Der an Sediment adsorbierte Teil machte 0,04 % bis 1,3 % im Flusssediment, 1,3 % bis 3,6 % im Seesediment und 0,04 % bis 2,4 % im Sediment der Kläranlagenabflüsse aus.

Tabelle 10: Detektion von EDTA in verschiedenen Flüssen und Seen sowie Kläranlagenabflüssen in der Schweiz: Konzentrationen in der wässrigen Phase und im Sediment, einschließlich relativer Adsorptionsraten.

Probe	EDTA (aq.) / (nmol/L)	EDTA (ads.) / (nmol/L)	EDTA (ads.) / (nmol/g Partikel)	Adsorbiert / %
Chriesbach	17	0,065	36	0,4
River Glatt	5,3	0,068	18	1,3
Greifensee (2,5 m)	19	0,68	200	3,6
Greifensee (30 m)	21	0,27	180	1,3
WWTP Zürich	66	1,6	260	2,4
WWTP Dübendorf	702	0,257	290	0,04

WWTP = Abwasserreinigungsanlage

(nach: Nowack et al., 1996)

Die Verteilung von EDTA in Seesedimentproben wurde bis in eine Sedimentschicht von 20 cm Tiefe analysiert. In der obersten Schicht betrug der EDTA-Gehalt ca. 0,6 µg/kg, wobei sich dieser Gehalt nach 5 cm bzw. 10 cm jeweils um ca. die Hälfte verringerte.

EDTA wurde vor der Chromatographie bei pH 3,3 in einen stabilen absorbierenden Eisenkomplex überführt. Nach isokratischer Auftrennung durch Ionenpaarchromatographie über eine RP-18 HPLC-Säule (Eluent: Tetrabutylammoniumbromid 1 mmol/L, Formiat-Puffer 20 mmol/L, Acetonitril 8 %; pH 3, Wasser) erfolgte die Detektion photometrisch bei 258 nm. Durch doppelte Aufkonzentrierung mittels Evaporation erlaubte die Methode eine Quantifizierungsgrenze von 0,88 µg/L. EDTA wurde aus dem lyophilisierten und homogenisierten Sediment durch 2 µmol/L Phosphatlösung im Ultraschallbad extrahiert.

Im Rahmen von Laborexperimenten stellten Sillanpää und Rämö (2001) innerhalb eines Monats eine langsame Adsorption von EDTA und Cu-, Fe-III-, Hg-, Mn- und Ni-EDTA Komplexen an huminstoffreiches Sediment eines finnischen Sees fest. Mn-, Hg- und Fe-III-EDTA adsorbierten zu über 15 %, während bei Cu- und Ni-EDTA eine Adsorption von unter 10 % festgestellt wurde. Inwieweit die Experimente, die mit lyophilisiertem Sediment und Lösungen der EDTA-Komplexe in destilliertem Wasser durchgeführt wurden, natürliche Bedingungen repräsentieren, wurde nicht erörtert.

Allard *et al.* (1996) beobachteten innerhalb von 48 h weniger als 2 % Adsorption von Fe- und Mn-EDTA an natives Sediment eines schwedischen Sees. Der Ausgangsgehalt der EDTA-Komplexe in destilliertem Wasser betrug 150 µg/L.

5.5 Vor Projektbeginn am TZW durchgeführte Arbeiten im Bereich der Phosphonatanalytik

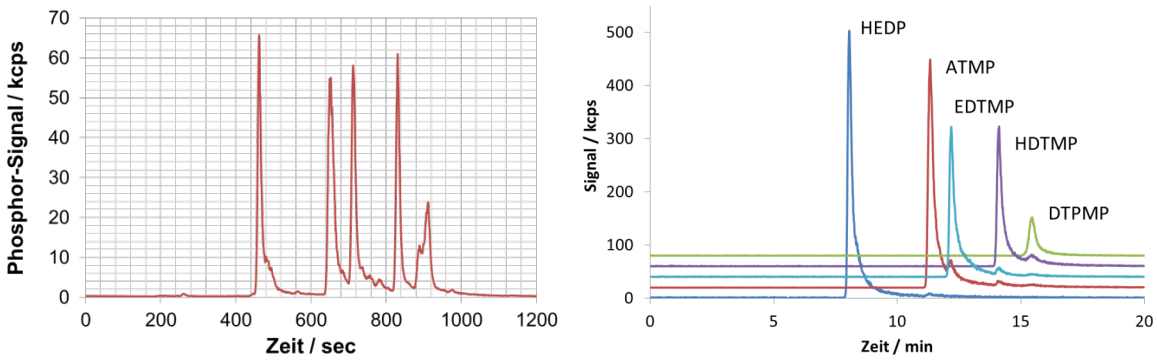
Das TZW kann auf rund zwanzig Jahre Erfahrung im Bereich der Phosphonatanalytik zurückblicken. Klinger beschäftigte sich im Rahmen seiner Dissertation (Klinger, 1997) mit dem Verhalten und dem Nachweis von Phosphonaten bei der Trinkwasseraufbereitung. Schmidt *et al.* (2013) etablierten die gegenwärtig empfindlichste Methode zur Bestimmung der Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP und HEDP mit Bestimmungsgrenzen von 0,1 µg/L. Die Methode eignet sich zur Anwendung auf Trinkwasser- und Gewässerproben und involviert die Überführung der Metall-Phosphonat-Komplexe in die freien Phosphonsäuren durch einen stark sauren Kationenaustauscher. Durch einen konsekutiven Anreicherungsschritt mittels eines schwachen Anionenaustauschers werden die Phosphonate 50-fach angereichert, durch Anionenchromatographie getrennt und mittels ICP-MS detektiert.

In damaligen Untersuchungen konnten die Phosphonate HEDP (0,3 µg/L bis 1,6 µg/L) und DTPMP (0,1 µg/L bis 1,3 µg/L) im Rheinwasser nachgewiesen werden. Diese Methode wird gegenwärtig im TZW zur Routineanalytik im Zusammenhang mit Membranfiltrationsanlagen (Phosphonate als Antiscalants) eingesetzt. Im Rahmen von Studien zur Charakterisierung technischer Antiscalant-Formulierungen (Happel *et al.,* 2017) wurde vor kurzem die etablierte Anionenaustauschchromatographie erfolgreich mit der hochauflösenden Flugzeitmassenspektrometrie (IC-ESI-TOF) gekoppelt. Durch diese Technik kann die exakte Masse von Molekülen bestimmt werden. Anhand dieser Daten können Substanzen im Gemisch spezifisch detektiert und mögliche Summenformeln von unbekannten Verbindungen errechnet werden. Per Direktinjektion wurden in der IC-ESI-TOF-Kopplung für die Phosphonate ATMP, DTPMP, HEDP, EDTMP und PBTC Nachweisgrenzen im Bereich zwischen 10 und 50 µg/L ermittelt. Da es bei dieser Entwicklung um die Charakterisierung hochkonzentrierter technischer Produkte ging, spielte die mäßige Nachweisgrenze keine wesentliche Rolle.

Die Kopplung der Ionenchromatographie an ESI-MS-Techniken gewinnt erst in jüngerer Zeit an Bedeutung. Als eines der wenigen Routinebeispiele kann die Bestimmung von Perchlorat über eine IC-ESI-MS-Kopplung erwähnt werden (EPA, 1999). Am TZW werden schon seit einigen Jahren verstärkt IC-ESI-MS-Kopplungen zur Aufklärung anionischer Transformationsprodukte in verschiedenen Forschungsprojekten eingesetzt. So konnten über diese Kopplung wertvolle analytische Daten zur Umsetzung von *N,N*-Dimethylsulfamid (DMS) mit Chlor oder zur Umsetzung des künstlichen Süßstoffs Acesulfam bei der Ozonung oder der UV-Bestrahlung von Wasser gewonnen werden (Happel *et al.*, 2012; Happel *et al.*, 2014; Scheurer *et al.,* 2012 und Scheurer *et al.*, 2014).

Die IC-ESI-TOF-Methode stellt einen Vorteil bzw. eine Ergänzung gegenüber der IC-ICP-MS-Methode dar, die nur auf den Phosphorgehalt einer Substanz anspricht. Eine entsprechend spezifische Analyse mit dem ICP-MS kann nur durch den Vergleich mit einem Referenzstandard über die Retentionszeit durchgeführt werden. Abbildung 31 (links) zeigt das Chromatogramm eines ATMP-, DTPMP-, EDTMP-, HDTMP- und HEDP-Multistandards in einer IC-ICP-MS-Methode, während in Abbildung 31 (rechts) die diesen Phosphonaten entsprechenden Massenspuren der IC-ESI-TOF-Analyse dargestellt sind.

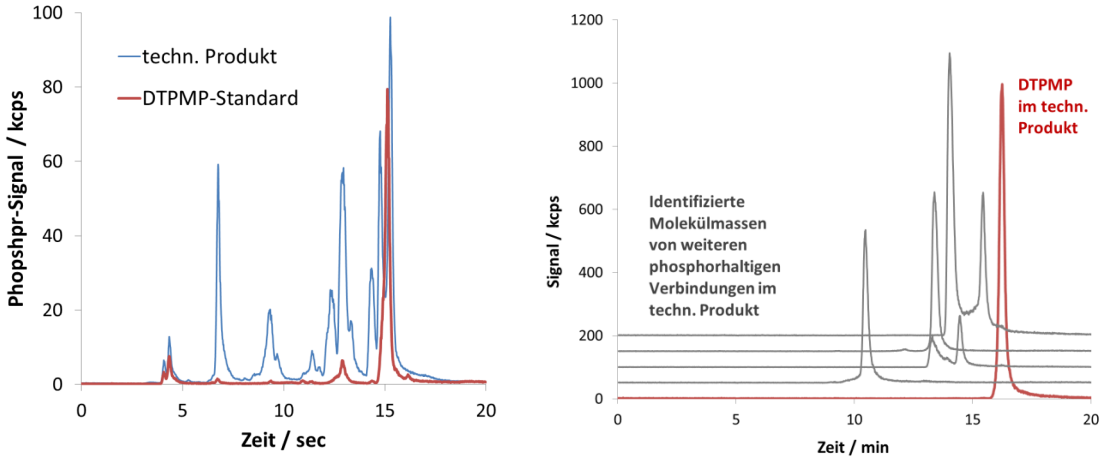
Abbildung 31: Links: Chromatogramm eines Phosphonat-Multistandards mittels IC-Trennung und ICP-MS-Detektion (Phosphonatgehalte: je 1 mg/L). Rechts: gleicher Standard und gleiche Chromatographie mit hochauflösender ESI-TOF-Detektion.



(Quelle: eigene Daten)

Bei Kombination beider Methoden gelingt die Detektion und Quantifizierung von Verunreinigungen in technischen DTPMP-haltigen Produkten. Die Analyse eines solchen technischen Produkts ist in Abbildung 32 (links; blaue Kurve) zusammen mit dem Chromatogramm eines DTPMP-Standards (rote Kurve) dargestellt. Auch in der IC-ESI-TOF-Analyse wurden die bereits mit dem ICP-MS gefundenen Signale detektiert und es war durch Ermittlung der exakten Massen möglich, Vorhersagen bezüglich der molekularen Struktur der Verbindungen zu erstellen.

Abbildung 32: Links: Chromatogramm mittels IC-Trennung und ICP-MS-Detektion eines DTPMP-Standards und eines Antiscalant-Handelsproduktes mit DTPMP als einzigen angegebenen phosphorhaltigen Wirkstoff. Rechts: gleiches Handelsprodukt und gleiche Chromatographie, jedoch mit hochauflösender ESI-TOF-Detektion.



(Quelle: eigene Daten)

5.6 Empfehlung zur Weiterentwicklung der Analytik sowie geplante Vorhaben zur Methodenerweiterung

Tabelle 11 fasst die bei der Literaturrecherche erfassten Methoden zur Phosphonatbestimmung mit den ermittelten Nachweisgrenzen bzw. Detektionsgrenzen und entsprechenden Referenzen zusammen.

Nach sorgfältiger Durchsicht der aktuellen wissenschaftlichen Literatur zur Phosphonatanalytik konnte keine Analysemethode ausfindig gemacht werden, die die durch Schmidt *et al.* (2013) etablierte Methode bezüglich Sensitivität und Anwendung auf Umweltproben übertrifft. Diese Schlussfolgerung wird bei der Lektüre des aktuellen Reviews über Eigenschaften, Einsatz und Umweltverhalten von Aminopolyphosphonaten von Studnik *et al.* (2015) bestätigt. Nach der durch Schmidt *et al.* (2013) publizierten Methode wurden für die relevanten Phosphonate Bestimmungsgrenzen von 0,1 µg/L in Gewässerproben erreicht. Durch die hohe Sensitivität in Kombination mit einer geeigneten Probenvorbereitung für wässrige Umweltproben, stellte diese Technik den besten Ausgangspunkt für zukünftige Weiterentwicklungen dar. Es war zu erwarten, dass durch die im Rahmen von Vorversuchen bereits erfolgreich auf ein ESI-MS/MS-System übertragene IC-Methode eine deutliche Steigerung der Sensitivität gegenüber der ICP-MS-Analytik ermöglichen würde.

Tabelle 11: Zusammenfassung der in der Literaturrecherche erfassten Methoden zur Phosphonatbestimmung.

Technik	Analyt(en)	Nachweis- bzw. Bestimmungsgrenze*	Referenz	Art der Proben und Matrix
Colorimetrie	Phosphonate als Summenparameter	Mittlerer bis unterer µg/L-Bereich	Cembella und Antia, 1986	Meerwasser
^{31}P-NMR	Summenparameter	Unterer mg/kg-Bereich	Ahlgrena *et al.*, 2006; Benitez-Nelson *et al.*, 2004; Bai *et al.*, 2009	Sedimentproben aus Meer und Süßwasserseen
Pyrolyse-GC-MS	HEDP	Ca. 10 mg/L (LOQ)	Yuzawaa *et al.*, 2009	HEDP in Kühlwasser
RP-HPLC (nach Derivatisierung)	PBTC, HEDP, ATMP, EDTMP DTPMP	Unterer µg/L-Bereich (LOQ)	Klinger *et al.*, 1997	Ungeeignet für Nachweis aus Trinkwassermatrix
RP-HPLC-ESI-Orbitrap-MS	Glufosinat	10 µg/kg (LOQ)	Padilla-Sánchez *et al.*, 2012	Bodenproben
CE-UV (indirekte photometrische Detektion)	HEDP, ATMP, EDTMP, HDTMP DTPMP	Oberer µg/L- bis mittlerer mg/L-Bereich (LOQ)	Shamsi und Danielson, 1995	Laborstandards
CZE-ESI-ITMS	ATMP, DTPMP, HEDP, EDTMP, PBTC	Nicht bestimmt; Charakterisierung erfolgte im mittleren mg/L-Bereich	Ortega-Gadea *et al.*, 2006; Bernabé-Zafón *et al.*, 2007	Technische Antiscalant-Produkte
CE-ICP-MS	Verschiedene niedermolekulare Phosphonsäuren	Nicht bestimmt; Schätzung: mittlerer µg/L-Bereich	Varenne *et al.*, 2012	Laborstandards
IPC-UV (Vorsäulenderivatisierung mit Fe(III))	HEDP, ATMP, EDTMP, DTPMP	Direkt: 15 µg/L - 100 µg/L; Nach Anreicherung über $CaCO_3$: unterer µg/L-Bereich (LOQ)	Nowack, 1997; Nowack, 1998	Zu- und Abläufe von Kläranlagen
IPC-ESI-MS	ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP, PBTC	Keine Angabe;. Schätzung: unterer µg/L-Bereich	Knepper *et al.,* 2002	Laborstandards
IC-UV (Nachsäulenderivatisierung mit Fe(III), Molybdänreagenzien oder indirekte photometrische Detektion)	ATMP, EDTMP, DTPMP, HEDP, HDTMP	Unterer mg/L-Bereich bis mittlerer µg/L-Bereich	Weiss und Hägele, 1987; Tschäbunin *et al.*, 1989a und b; Felber *et al.*, 1995; Tsai *et al.*, 1994; Meek *et al.,* 1988	Laborstandards, Reaktionsprodukte, Waschmittel, technische Produkte
IC-ESI-MS	Glyphosat, AMPA, EDTA	Nicht bestimmt; < 1 µg/L	Bauer *et al.*, 1999	Oberflächenwasser
IC-ICP-MS	EDTMP	Nicht bestimmt; < 1 mg/L	Ammann, 2002a und 2002b	Oberflächenwasser
IC-ICP-MS	ATMP, DTPMP, EDTMP, HDTMP, HEDP	0,1 µg/L (LOQ)	Schmidt *et al.*, 2013	Oberflächenwasser

*Die Begriffe Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze werden in der Literatur teilweise heterogen gehandhabt. Zudem lag der Fokus mehrerer Veröffentlichungen nicht im Austesten der niedrigsten Bestimmungsgrenzen für einzelne Phosphonate, sondern z. B. in der Bestimmung von Phosphonaten als Summenparameter oder der Quantifizierung von Phosphonaten in Produkten und Laborstandards. In den Fällen, in denen die Bestimmungsgrenzen in der jeweiligen Matrix explizit bestimmt wurden, ist dies durch LOQ gekennzeichnet.

6 Methodenentwicklungen zur Phosphonat-Analytik

Für dieses Projekts wurde die etablierte IC-Trennmethode erstmals erfolgreich mit einem ESI-MS/MS-Massenspektrometer gekoppelt (AB Sciex 5500 Tripple Quad). Durch die Implementierung von ^{13}C-markierten bzw. deuterierten Internen Standards (Eigensynthese) der Phosphonate ATMP, DTPMP, EDTMP, HEDP und PBTC wurden Bestimmungsgrenzen von 1 µg/L per Direktinjektion erreicht und Störungen durch Matrixeffekte minimiert. Zur Quantifizierung von Oberflächenwasserproben mit geringen Phosphonatgehalten wurde ein Verfahren zur automatisierten 20-fachen Anreicherung etabliert, wodurch Bestimmungsgrenzen von 0,1 µg/L erreicht wurden. Dies entspricht einer Empfindlichkeitssteigerung von Faktor 100 bis 500 gegenüber der IC-ESI-TOF Analytik und ist vergleichbar mit der durch Schmidt *et al.* (2013) beschriebenen IC-ICP-MS Methode. Neben der Empfindlichkeitssteigerung erfolgte durch den Einsatz der Internen Standards gleichzeitig auch eine Steigerung der Spezifität gegenüber der IC-ICP-MS Methode, bei der die Identifizierung der Analyten ausschließlich anhand der Retentionszeit der Phosphorsignale erfolgte. Da in Zu- und Abläufen von Kläranlagen Phosphonatkonzentrationen im µg/L-Bereich detektiert wurden (vgl. Knepper *et al.*, 2002; Nowack, 1998 und 2002a) erlaubte es die empfindliche IC-ESI-MS/MS Methode auf den Anreicherungsschritt mit dem schwach basischen Ionentauscher (50-fache Anreicherung) zu verzichten. Durch die automatisierte Anreicherung der Oberflächenwasserproben wurde eine Vereinfachung der Vorbereitung von wässrigen Proben erreicht. Unter diesen Voraussetzungen mussten die wässrigen Proben vor der Direktinjektion in die IC nur noch über den stark sauren Ionentauscher zur Entfernung der Kationen gegeben werden. Die aufwändige Extraktion von Feststoffproben erfolgte weiterhin manuell.

6.1 Charakterisierung von kommerziell verfügbaren Phosphonatstandards

Neben der Weiterentwicklung der analytischen Methodik stellte die Verfügbarkeit von über Zweifel erhabenen Referenzstandards eine essentielle Voraussetzung dar. Hierzu wurden die bereits am TZW vorhandenen Phosphonat-Standards um aktuell kommerziell verfügbare Muster und Referenzmaterialien erweitert. Der Nutzen dieser Erweiterung begründet sich darin, dass leider nur wenige der Phosphonate als zertifizierte Standards von renommierten Herstellern verfügbar sind. Technische Phosphonate sind, bedingt durch ihre Syntheseroute, häufig mit strukturell verwandten und daher schwer abtrennbaren Substanzen verunreinigt (Popov *et al.*, 2001; Voigt *et al.*, 2015; Happel *et al.*, 2017). In den meisten Fällen fehlen zudem Information bezüglich der Ermittlung der angegebenen Reinheit. Aus diesem Grund ist es vorteilhaft eine Auswahl verschiedener Standards der gleichen Substanz zur Verfügung zu haben, um nach ausführlicher Charakterisierung das reinste Produkt auszuwählen. Die Suche nach kommerziellen Quellen nahm überraschend viel Zeit in Anspruch, da die Liste der Hersteller sehr heterogen ausfällt und die Verfügbarkeit sowie die Qualität der gesuchten Phosphonate häufig erst durch Anfragen geklärt werden konnte.

Die Liste der Hersteller und die verfügbaren Substanzen sind im Folgenden aufgeführt (Gehalt: r = > 90 %, o = ohne Herstellerangabe, t = technisches Produkt):

- abcr GmbH (HEDP r),
- Alfa Aesar GmbH (HEDP r),
- Monsanto Agrar GmbH (ATMP o, DTPMP o, HEDP o, EDTMP o, PBTC r),
- Santa Cruz Biotechnology, Inc. (PBTC o),
- Sigma-Aldrich Chemie GmbH (DTPMP t, HEDP r, ATMP r),
- Tokyo Chemical Industry Co. Ltd. (PBTC t, HEDP t, EDTMP r),
- Zschimmer & Schwarz GmbH (EDTMP r, DTPMP r);

Von jedem Phosphonat (ATMP, DTPMP, EDTMP, HEDP und PBTC) wurden mehrere kommerzielle Standards erworben, charakterisiert und der jeweils reinste Standard ausgewählt. Die Charakterisierung erfolgte durch die Bestimmung des ortho-Phosphatgehalts via photometrischer Detektion (Mo-

lybdänblaumethode in Anlehnung an DIN 6878:2004) und durch die Bestimmung des Gesamtphosphorgehalts mittels zweier unterschiedlicher Methoden: ICP-MS und photometrischer Detektion nach einem Peroxodisulfat-Aufschluss. Weiterhin wurde die Reinheit durch die Auswertung der durch IC-ICP-MS und IC-ESI-TOF erhaltenen Chromatogramme überprüft. Die Eigenschaften der ausgewählten Standards sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 12: Kenngrößen der eingesetzten Phosphonatstandards: Hersteller, Reinheitsangabe, Phosphatgehalt (ermittelt via Colorimetrie und photometrischer Detektion) und Gegenüberstellung des theoretisch zu erwartenden Phosphorgehalts mit dem durch ICP-MS sowie durch oxidativen Aufschluss (Peroxodisulfat-Oxidation mit nachfolgender colorimetrischer Phosphatbestimmung) ermittelten Phosphorgehalt. Die Angaben beziehen sich jeweils auf eine 1000 mg/L Stammlösung.

Substanz	Hersteller	Reinheit (Hersteller-angabe) /%	Ortho-Phosphatgehalt (photometrisch) / (mg/L)	Theoretischer Gesamt-Phosphorgehalt / (mg/L)	Phosphor-gehalt via ICP-OES / (mg/L)	Phosphor-gehalt via oxidativem Aufschluss / (mg/L)
ATMP	Fluka	97	(89,9*)	310,7	303,0	321,6
DTPMP	Zschimmer & Schwarz	„p.a.“	1,8	270,2	240,7	264,9
EDTMP	Zschimmer & Schwarz	94,7	<12	284,1	276,5	282,1
HEDP	Alfa Aesar	96	0,7	300,7	295,8	329,0
PBTC	Santa Cruz	-	1,7	114,7	117,0	122,6

*) Die eingesetzte Phosphormolybdänblau-Methode zeigt eine Querempfindlichkeit mit ATMP, daher entspricht das Messergebnis nicht dem tatsächlichen ortho-Phosphatgehalt.

6.2 Eigensynthese von ^{13}C-markierten und deuterierten Internen Standards

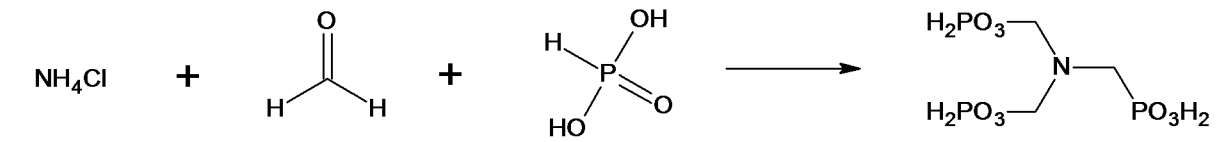
Im Prozess der Methodenentwicklung wurde deutlich, dass die Matrixbelastung der Proben Auswirkungen auf die Quantifizierung der Phosphonate haben kann. Die Matrixbelastung stammt dabei entweder aus der Probe selbst, oder wird über die Aufschlussreagenzien in die Probe eingetragen. Durch Optimierung des Elutionsgradienten konnte erreicht werden, dass die meisten Standardanionen und die Anionen aus Aufschlussmedien von den Phosphonaten chromatographisch getrennt werden können. Über den Waschschritt werden die unerwünschten Anionen nicht ins Massenspektrometer eingeleitet. Weiterhin wird hierdurch verhindert, dass unterschiedliche Matrixzusammensetzungen zu abweichender Ionisation in der ESI-Quelle und somit zu Fehlern bei der Quantifizierung führen. Aus den Methodenoptimierungen wurde aber auch deutlich, dass sich nicht alle Störionen vollständig abtrennen lassen (z. B. EDTA) und dass auch Verbindungen in den Proben sind, die sich chromatographisch wie Phosphonate verhalten und zu gleichen Zeiten eluieren. Diese co-eluierenden Ionen können ebenfalls zu unterschiedlichen Ionisierungsausbeuten führen und hierdurch die Analyse stören.

Aufgrund von Matrixeffekten, Detektordrift und dem Auftreten von Störionen, erwies sich die Implementierung von Internen Standards (IS) für alle projektrelevanten Phosphonsäuren als unerlässlich. In der massenspektrometrischen Detektionstechnik haben sich hierzu besonders deuterierte oder ^{13}C-markierte Verbindungen der untersuchten Analyte bewährt. Diese Verbindungen kommen in den natürlichen Proben nicht vor, haben aber das gleiche Retentionsverhalten und identische Ionisationseigenschaften wie die nicht-markierten Verbindungen. Von der Firma Sigma-Aldrich wird ATMP als markierter Standard mit drei ^{13}C-Atomen angeboten (10 mg Substanz für ca. 3000 €). Die anderen Phosphonate sind direkt nicht käuflich zu erwerben. Eine Anfrage für eine Auftragssynthese von EDTMP ergab einen Kostenvoranschlag von ca. 1500 € für 10 mg. Diese hohen Preise haben uns veran-

lasst, über eine eigene Herstellung der markierten Standards nachzudenken. Diese Möglichkeit entstand im Laufe der Projektarbeiten und war ursprünglich nicht als Projektaufgabe formuliert. Die Implementierung markierter Interner Standards zum Ausgleich von Matrixeinflüssen ist aber das gängige Verfahren in der ESI-MS/MS-Methodik und wurde auch für die Phosphonate realisiert. Zudem konnte durch den Einsatz von Internen Standards die Wiederfindung der Phosphonate beim Aufschluss von Sediment- und Schwebstoffproben überprüft werden (Kapitel 6.7.2.2).

In einer Veröffentlichung von Moedritzer und Irani (1965) wurde eine generelle Syntheseroute zur Herstellung der Phosphonate ATMP, EDTMP, DTPMP vorgestellt, die für dieses Projekt relevant sind. In Abbildung 33 wird am Beispiel des ATMP die Synthese beschrieben, wobei in halbverdünnter Salzsäure ein Amin (Ammoniumchlorid bei der ATMP-Synthese) mit Formaldehyd und Phosphonsäure (H_3PO_3) umgesetzt wird. Als markiertes Edukt wird ^{13}C-Formaldehyd eingesetzt, dass zu einem noch akzeptablen Preis erhältlich ist (1 g 20%ige Lösung für 400 €, Sigma-Aldrich). Durch Aufteilung dieses markierten Edukts können die vier genannten Phosphonate als markierte Standards in ausreichender Menge hergestellt werden. Analog zu ATMP können über den Einsatz von Ethylendiamin oder Diethylentriamin die anderen beiden Phosphonate hergestellt werden. Die jeweiligen Stöchiometrien sind anzupassen. Bei der Synthese der Aminomethylenphosphonsäuren durch Einsatz von Formaldehyd-^{13}C resultieren Phosphonsäurederivate, deren Methylensubstituenten ^{13}C-Atome aufweisen: drei beim ATMP, vier beim EDTMP und fünf beim DTPMP.

Abbildung 33: Syntheseschema mit adaptierten Mengenangaben zur Herstellung von ^{13}C-markiertem ATMP.



Ammonium-chlorid	Formaldehy-Lösung	Phospon-säure	Phosphonat ATMP
53,5 g/mol	30 g/mol	82 g/mol	299 g/mol
	(20%ig =0,2 g/mL)		
1 eq.	6 eq.	3 eq.	1 eq.
0,33 mmol	2 mmol	1 mmol	0,33 mmol
18 mg	60 mg = 300 µL	82 mg	99 mg

(Quelle: eigene Daten)

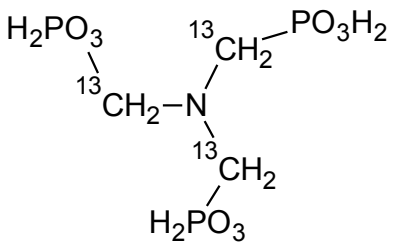
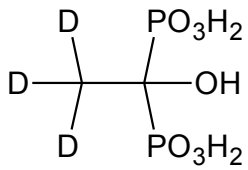
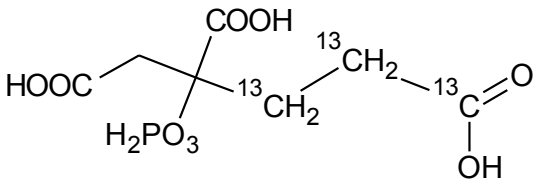
Bei einem quantitativen Umsatz können bis zu ca. 50 mg an Phosphonat in der Reaktionsmischung gebildet werden. Die Reaktionsmischungen wurden nach der Synthese einheitlich auf je 10 mL Volumen gebracht. Es wird eine hochkonzentrierte Stammlösung erhalten, die zur Dotierung eingesetzt werden kann.

In den Reaktionsansätzen konnte die Bildung der gewünschten Produkte per IC-ESI-TOF-Messungen bestätigt werden. Eine Quantifizierung der Phosphonate erfolgte über die Leitfähigkeitsdetektion und die Massenspektrometrie. Die exakten Gehalte der Phosphonate sind unkritisch, sie müssen nur für jede Probe einheitlich in einer gut detektierbaren Menge zugesetzt werden. Bei den Synthesen wurde für ATMP ein annähernd quantitativer Umsatz festgestellt, wohingegen die Ausbeuten für DTPMP und EDTMP deutlich geringer ausfielen. Es wird vermutet, dass diese schlechteren Ausbeuten durch die höhere Anzahl der Phosphonatgruppen pro Molekül bedingt werden.

Zunächst wurden die ^{13}C-markierten Derivate der Aminomethylensäuren ATMP, EDTMP und DTPMP (sowie zusätzlich HEMPA) durch Eigensynthese bereitgestellt. Diese homolog aufgebaute Substanz-

gruppe ist in Tabelle 13 stellvertretend durch ATMP-$^{13}C_3$ aufgeführt. Im weiteren Projektverlauf wurden auch die Phosphonate HEDP und PBTC als dreifach deuteriertes (HEDP-D_3) bzw. dreifach ^{13}C-markiertes (PBTC-$^{13}C_3$) Derivat synthetisiert, so dass alle projektrelevanten Phosphonate als Interne Standards zur Verfügung standen.

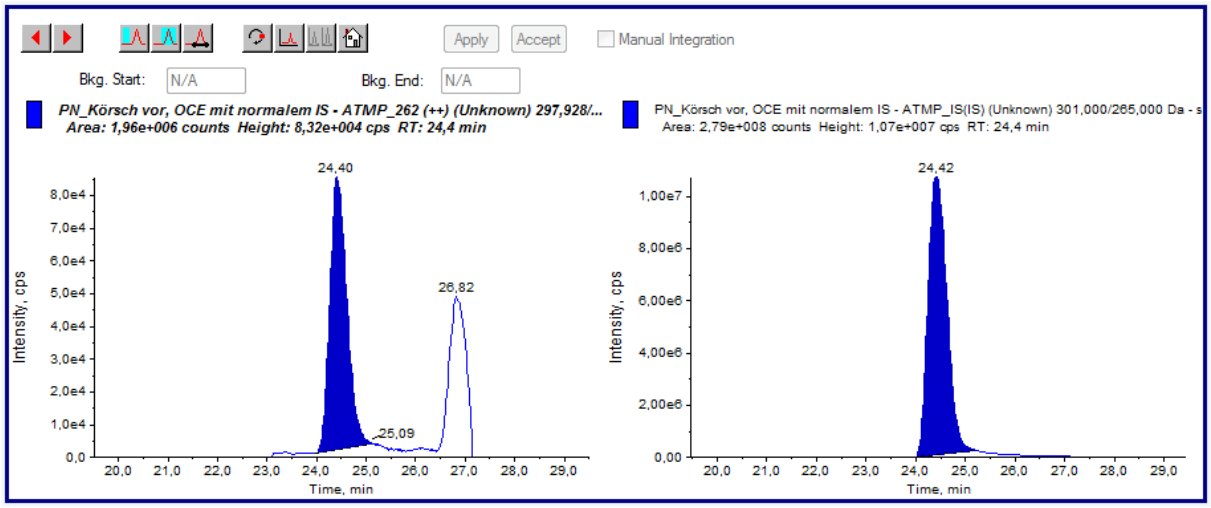
Tabelle 13: Übersicht der verfügbaren isotopenmarkierten Standards. Repräsentativ für die Gruppe der Aminomethylenphosphonsäuren ist ATMP-$^{13}C_3$ aufgeführt. Bei der Synthese der Aminomethylenphosphonsäuren durch Einsatz von Formaldehyd-^{13}C resultieren Phosphonsäurederivate, deren Methylensubstituenten ^{13}C-Atome aufweisen: 3 beim ATMP, 4 beim EDTMP und 5 beim DTPMP.

ATMP-$^{13}C_3$	
HEDP-D_3	
PBTC-$^{13}C_3$	

Die in Abbildung 34 und Abbildung 35 dargestellten Ionenchromatogramme verdeutlichen die Notwendigkeit der Arbeit mit Internen Standards aufgrund des Auftretens von Störsubstanzen bzw. Störionen. Störionen können sowohl die gleichen Massenübergänge des Analyten oder die des Internen Standards (nicht abgebildet) aufweisen. Nach der Implementierung der Internen Standards in die Messmethode erfolgt die Identifizierung der Analyten durch das zeitgleiche Auftreten der entsprechenden Massenübergänge von Analyt und IS.

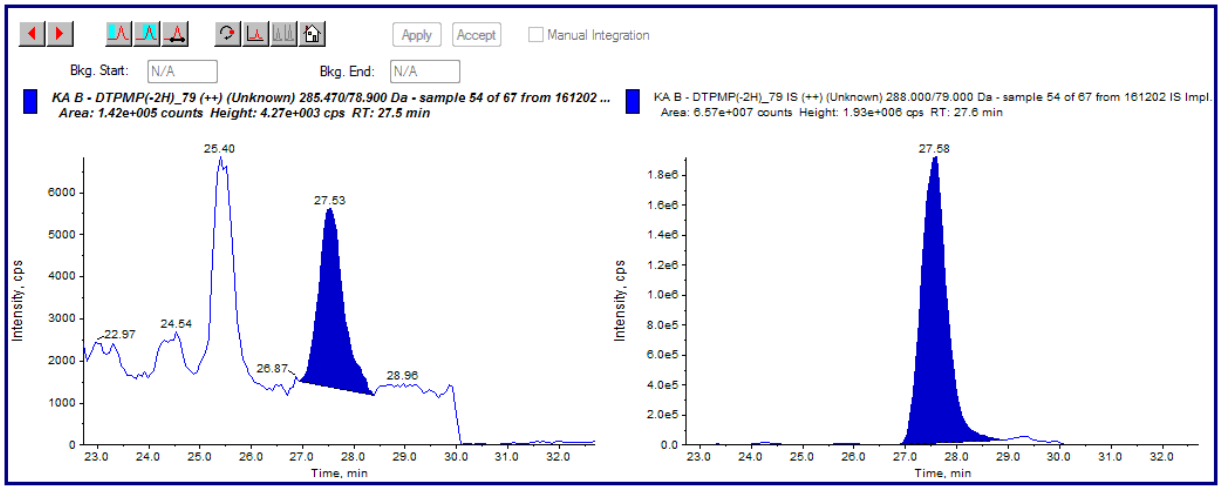
Bei der Untersuchung von Sediment- und Schwebstoffextrakten mittels hochauflösender ESI-TOF-Detektion wurden Hinweise auf die Präsenz einer Vielzahl an unbekannten phosphorhaltigen Substanzen erhalten, die ein ähnliches Retentionsverhalten wie Phosphonate aufweisen (Kapitel 10.5). Die ESI-TOF-Analytik ermöglichte die Differenzierung dieser Stoffe. Bei der sensitiven Tandem-MS-Analytik führen diese jedoch zu Störungen durch falsch-positive Signale. Das Auftreten von Störsubstanzen in Umweltproben, die teilweise phosphorhaltig sind und ähnliches Retentionsverhalten wie Phosphonate aufweisen, wurde bereits durch andere Autoren beobachtet (Abbildung 23 und Abbildung 27).

Abbildung 34: Störion (28,8 min) bei der Bestimmung von ATMP in einer Wasserprobe (Körsch). Links: stärkster Massenübergang des ATMP (24,4 min); rechts: entsprechender Massenübergang des IS. Blau markiert: ATMP.



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 35: Störion (25,4 min) bei der Bestimmung von DTPMP in einer Wasserprobe (Rhein). Links: stärkster Massenübergang des DTPMP (27,5 min); rechts: entsprechender Massenübergang des IS. Blau markiert: ATMP.



(Quelle: eigene Daten)

6.3 Anpassung der Chromatographie

Bei der durch Schmidt *et al.* etablierten Methode erfolgt die chromatographische Auftrennung der Phosphonate über eine Anionenchromatographiesäule durch einen Natriumhydroxid (NaOH)-Gradient von 36 mmol/L auf 120 mmol/L NaOH über 20 min. Bei diesem Verfahren eluiert Phosphat bei 5,2 min und die Phosphonate zwischen 7,5 min und 16 min.

In den folgenden Abschnitten werden die Versuche zur Anpassung der Chromatographie zur Analytik von Phosphonaten aus diversen Umweltproben vorgestellt. Diese Versuche zur Adaption der chromatographischen Trennung an die neuen Matrices erschienen aus mehreren Gründen notwendig:

- In diesem Projekt wurden stark matrixbelastete Umweltproben untersucht (Abwasser, Sedimente, Schwebstoffe). Obwohl durch die Nutzung der ESI-MS-Detektion bereits ein deutlicher

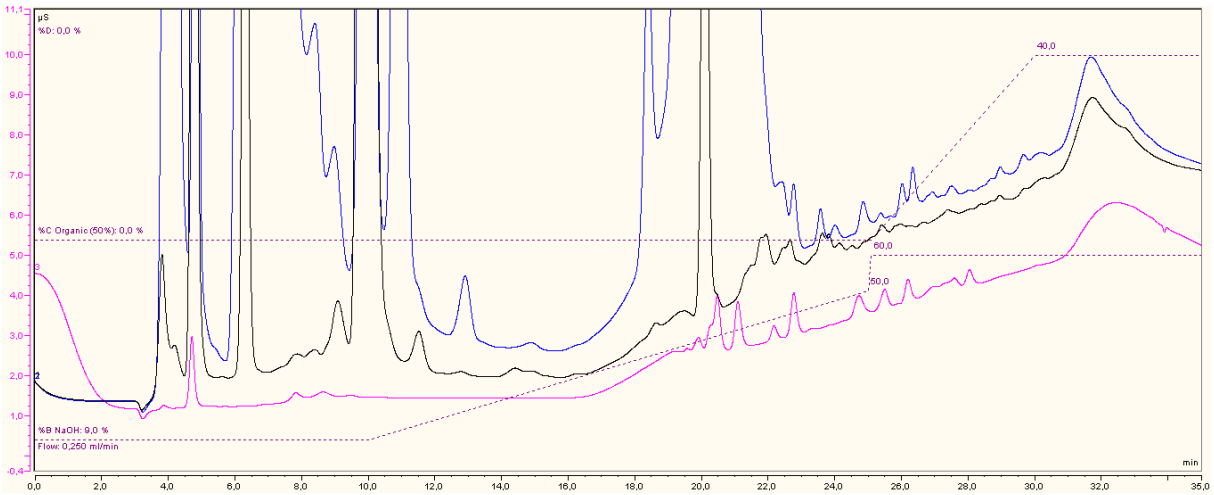
Selektivitätsgewinn im Vergleich zur ICP-MS-Detektion erzielt wird (es kann nun neben der Retentionszeit zusätzlich das Molekulargewicht statt des unspezifischen Phosphorsignals erfasst werden), werden in einer Probe teilweise gleiche Massenübergänge mehrfach beobachtet. Über die chromatographische Trennung sollte eine Vorselektion der Phosphonate bzw. Verbindungen mit Phosphonat-Charakter von den übrigen Matrixbestandteilen erreicht werden. Dies gelingt im Falle der Phosphonate über die starke Retardation an den Anionenaustauscher-Chromatographiesäulen.

- In der Literatur finden sich unterschiedliche Methoden zur Extraktion von Phosphonaten aus Feststoffproben, die im Zuge der Methodenentwicklung evaluiert wurden: mittels Natriumhydroxid und EDTA, Salzsäure, Salpetersäure oder Trichloressigsäure. Schlussendlich wurde NTA anstatt EDTA zum Feststoffprobenaufschluss eingesetzt. Nach dem Entfernen der Metallkationen verbleibt Nitrilotriacetat mit Gehalten im Gramm-pro-Liter-Bereich im Eluat zurück. Eine Direktmessung solcher Proben würde die Ionenquelle des Massenspektrometers beschädigen und zu einer raschen Verschmutzung des Massenfilters führen. Weiterhin würden die hohen Salzgehalte zu unerwünschten Effekten in der Ionisierungsausbeute der ESI-Quelle führen.
- Aus den ersten Untersuchungen von Oberflächenwasserproben konnten die Phosphonate DTPMP, HEDP und PBTC in Gehalten nachgewiesen werden, die mittels der IC-ESI-MS/MS-Methode teilweise direkt quantifiziert werden könnten. Im Gegensatz dazu wurden bei den Phosphonaten ATMP und EDTMP deutlich geringere Gehalte nachgewiesen, wodurch die Notwendigkeit von Anreicherungsschritten wahrscheinlich erschien. Die manuelle Anreicherung via Festphasenextraktion mit einem schwachen Anionentauscher wurde durch Schmidt *et al.* (2013) erfolgreich etabliert. Diese ist jedoch zeitaufwändig. Anstatt der Verwendung einer externen Anionentauscherkartusche wurde eine Anreicherung durch Adsorption der Phosphonate auf dem Anionentauschermaterial der Chromatographiesäule angestrebt. Diese sollte die Aufgabe eines größeren Probevolumens ermöglichen. Ein entsprechendes Anreicherungsverfahren für EDTA wurde durch Ammann (2002) und Wong *et al.* (1987) beschrieben.

6.3.1 Vorversuche

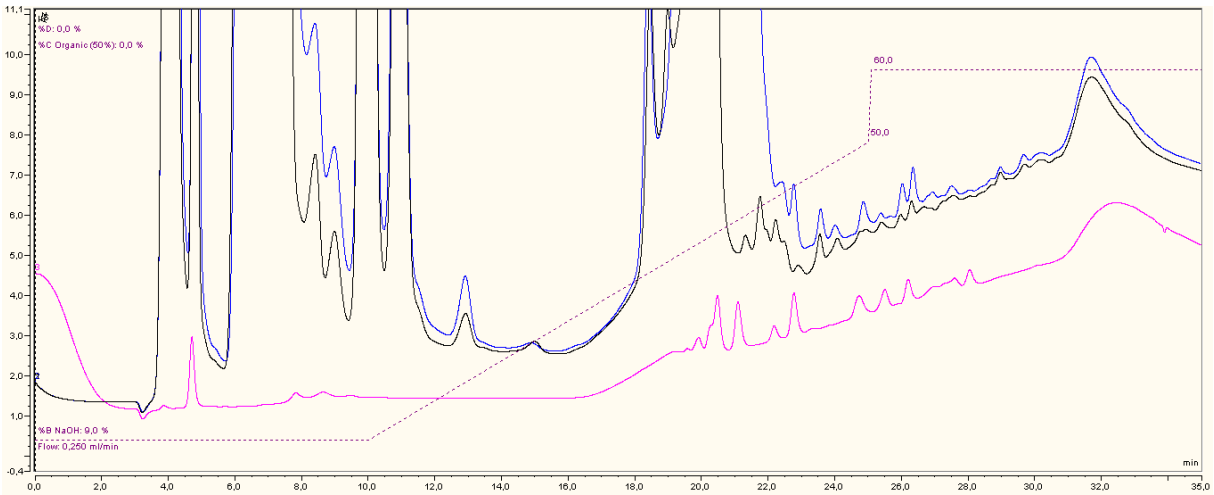
Zur Verdeutlichung der Notwendigkeit einer geeigneten Aufschlussmethode und Matrixabtrennung sind im folgenden Abschnitt Chromatogramme von Sedimentproben aufgeführt. In diesen werden Aufschlüsse mit NaOH und NaOH-EDTA nach der Einleitstelle des LFKW Stuttgart in den Katzenbach (Abbildung 36) bzw. Proben vor und hinter der Einleitstelle mit NaOH-EDTA-Aufschluss gegenübergestellt (Abbildung 37). Die Chromatographie umfasst einen zehnminütigen Wasch-Schritt mit verdünntem Eluenten (NaOH mit 18 mmol/L) zur Abtrennung von Matrixbestandteilen und von schwach adsorbierenden Anionen (blaue und schwarze Linien, zwischen 4 min und 14 min) vor dem Einsetzen des Gradienten zur Elution der Phosphonate. Bei dieser Chromatographie eluieren die zwei- und mehrfach geladenen Phosphonate (je 1 mg/L) zwischen 20 min und 28 min (pinke Linien), während EDTA (100 mmol/L = 29 g/L) zwischen 18 min und 22 min eluiert (blaue Linien). Es wird deutlich, dass der NaOH-EDTA Aufschluss (Abbildung 36, 1, blaue Linie) bereits in der Leitfähigkeitsdetektion mehr Signale im Bereich der erwarteten Retentionszeiten liefert als der NaOH-Aufschluss (Abbildung 36, schwarze Linie). Die detektierten Signale könnten von kommerziellen Phosphonaten, deren Umwandlungsprodukten, sowie biogenen Phosphonaten oder gänzlich anderen hochgeladenen Anionen stammen. Gleichzeitig ist nach Anwendung des NaOH-EDTA-Aufschlusses eine Zunahme mehrerer Signale im Bereich der zu erwartenden Retentionszeiten im Sediment hinter der Einleitstelle (Abbildung 37, blaue Linie) gegenüber dem Sediment vor der Einleitstelle (Abbildung 37, schwarze Linie) zu erkennen.

Abbildung 36: Beispieltrennungen mit erweiterter Spülmethode. IC-LF-Analyse von Sedimentaufschlüssen hinter der Einleitstelle mit zwei unterschiedlichen Aufschlusstechniken: Aufschluss mit NaOH (schwarz), Aufschluss mit NaOH-EDTA (blau) und Phosphonat-Multistandard in Reinstwasser mit 1 mg/L (pink).



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 37: Beispieltrennungen mit erweiterter Spülmethode. Leitfähigkeitsdetektion von Sedimentaufschlüssen mit NaOH-EDTA vor (schwarz) und hinter der Einleitstelle (blau), sowie eines Phosphonat-Multistandards mit 1 mg/L (pink).



(Quelle: eigene Daten)

6.3.2 Matrixabtrennung

Salze können im Prozess der ESI-Ionisation zu Schwankungen in der Empfindlichkeit führen. Aus diesem Grunde ist eine chromatographische Trennung von störenden Matrixbestandteilen wünschenswert. Zur Behebung dieser Störung durch Matrixbestandteile werden im folgenden Abschnitt Versuche zur Optimierung der chromatographischen Trennung vorgestellt. Es hat sich gezeigt, dass im Falle der Phosphonate ein längerer Waschschritt bei niedriger Eluentstärke nach Einfach- oder Mehrfachinjektionen zielführend ist. Dieses Vorgehen ist möglich, da Ionen mit geringerer Ladung und Wechselwirkung zur Säule (Chlorid, Nitrat, Phosphat oder Sulfat) bei geringerer Ionenstärke eluieren. Da Phosphonate mehrfach negativ geladen sind, werden diese von einem Eluenten mit niedriger Ionenstärke nicht eluiert. Problematische Analyte sind Phosphonate mit "nur" zweifach negativer Ladung (z. B.

HEDP) und störende Ionen mit mehrfach negativer Ladung (z. B. EDTA mit vierfach negativer und NTA mit dreifach negativer Ionenladung). Für diese Anionen mussten Tests mit verschiedenen Elutionsstärken und Waschzeiten durchgeführt werden, um Matrix und Anionen aus Umweltproben bzw. Aufschlussmedium möglichst effektiv abzutrennen, aber eine Elution bzw. Peakverbreiterung der Phosphonate zu umgehen. Der Waschschritt wird so in die Methode implementiert, dass das Eluat der Trennsäule während des Waschschritts über ein Ventil, das zwischen IC und ESI-MS verbaut ist, in den Abfall geleitet wird. Erst nach der Elution der Störionen und vor der Elution der Phosphonate wird das Ventil umgeschaltet und das Eluat der Trennsäule wird ins Massenspektrometer geleitet.

Um den Einfluss von Störionen aus der Probenmatrix und den während der Methodenentwicklung eingesetzten Aufschlussreagenzien abschätzen zu können, wurde ein Phosphonat-Multistandard (je 1 mg/L) mit den zu erwartenden maximalen Gehalten an möglichen Störionen (29 g/L EDTA, 3 g/L Nitrat, 18 g/L Chlorid, 82 g/L Trichloracetat) versetzt und gegen einen Multistandard in matrixfreiem Reinstwasser verglichen. In Abbildung 38 sind die übereinander gelegten Chromatogramme der beiden Multistandards mit Leitfähigkeitsdetektion zu sehen. Als Elutionsprofil wurde hier der von Schmidt *et al.* und im TZW verwendete Gradient in der IC-ICP-MS-Methode verwendet (Standardmethode). In Teilbild (A) sind große Signale von den hohen Gehalten der Aufschluss-Anionen zu sehen (schwarzes Chromatogramm). In der Ausschnittvergrößerung (B) können die Phosphonate der Multimischung in Reinstwasser mit Leitfähigkeitsdetektion nachgewiesen werden (blaues Chromatogramm). Das Chromatogramm der Aufschlusslösung (schwarz) enthält mehrere Signale, die zur gleichen Zeit wie die Phosphonate eluieren und in der Leitfähigkeitsdetektion die Signale der Phosphate unterdrücken. Die Co-Elution der hohen Gehalte an Störionen wird auch zu massiven Veränderungen während der ESI-Ionisation führen, was letztlich zu fehlerhaften Quantifizierungen führen kann. In Teilbild (C) sind die extrahierten Massenspuren des Multistandards in der IC-ESI-TOF-Kopplung zu sehen. Es handelt sich hierbei um einen Standard mit Phosphonatgehalten von je 1 mg/L. Es wurden die exakten Massenspuren extrahiert, wobei einheitlich ein Massenfenster von ±10 ppm gewählt wurde. Zur Verbesserung der Übersichtlichkeit sind in Teilbild (C) und in den folgenden Chromatogrammen den Phosphonaten in den Übereinanderlegungen spezielle Farben zugeordnet:

- Gelb = HEDP
- Rot = ATMP
- Grün = EDTMP
- Pink = PBTC
- Blau = DTPMP

In Abbildung 39 wurde das Elutionsprofil so verändert, dass es bereits zu einer weitgehenden Matrixabtrennung vor der Elution der Phosphonate kommt (Elutions-Modifikation I). Es wurde hier ein zusätzlicher 10-minütiger Waschschritt (Eluentkonzentration = 27 mmol/L) vorangestellt. Die höhergeladenen Phosphonate eluieren um die Dauer des Waschschritts ca. 10 min später, wohingegen die Phosphonate mit etwas geringerer Ladung (HEDP und ATMP) bereits geringfügig durch den Waschschritt eluiert werden. Die Retentionszeit von HEDP (18 min) überlagert sich geringfügig mit EDTA aus dem Aufschlussreagenz (bis 20 min). Für diese Elutions-Modifikation ist festzuhalten, dass es gelungen ist, bereits einen Teil der Phosphonate trotz sehr hoher Anionengehalte durch die Aufschlussreagenzien in der Leitfähigkeitsdetektion nachzuweisen.

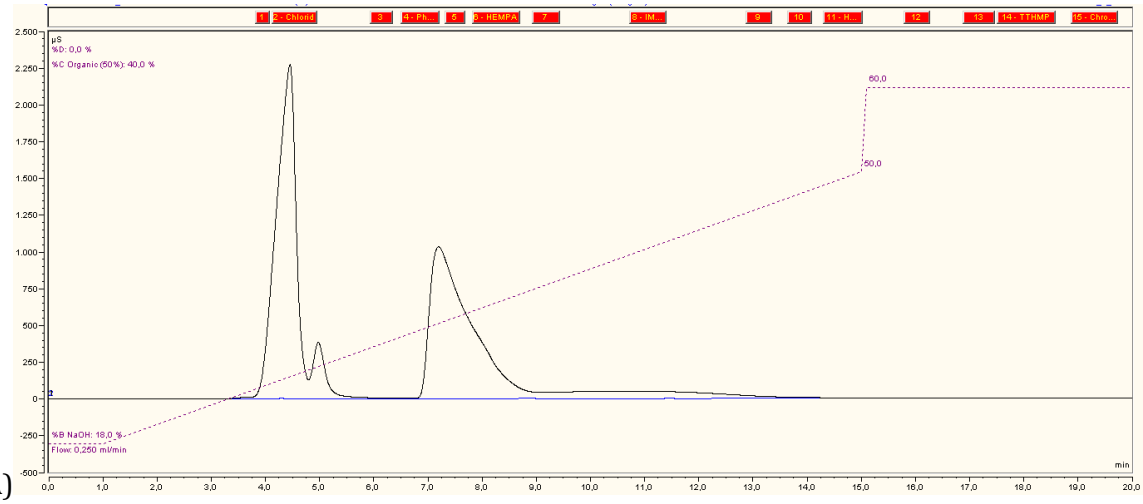
In der weiteren Elutions-Modifikation (II) wurde für 10 Minuten mit einer Eluentkonzentration von 18 mmol/L gewaschen (Abbildung 40). Unter diesen Bedingungen eluieren die Phosphonate ca. 13 min bis 20 min später. Die Elution von EDTA ist bei 22 min beendet, wobei HEDP bei 21 min eluiert. Dieses Elutionsprofil stellte den günstigsten Kompromiss dar, da hier nur noch geringe Gehalte des EDTA in das Massenspektrometer gelangen. Bei dieser Eluent-Modifikation eluiert zudem Sulfat bei 12,5 min. Da der Sulfatgehalt der Proben den Phosphonatgehalt teilweise um Größenordnungen über-

trifft, ist eine effektive chromatographische Abtrennung notwendig, damit es zu keiner Signalüberlagerung mit den Phosphonaten kommt.

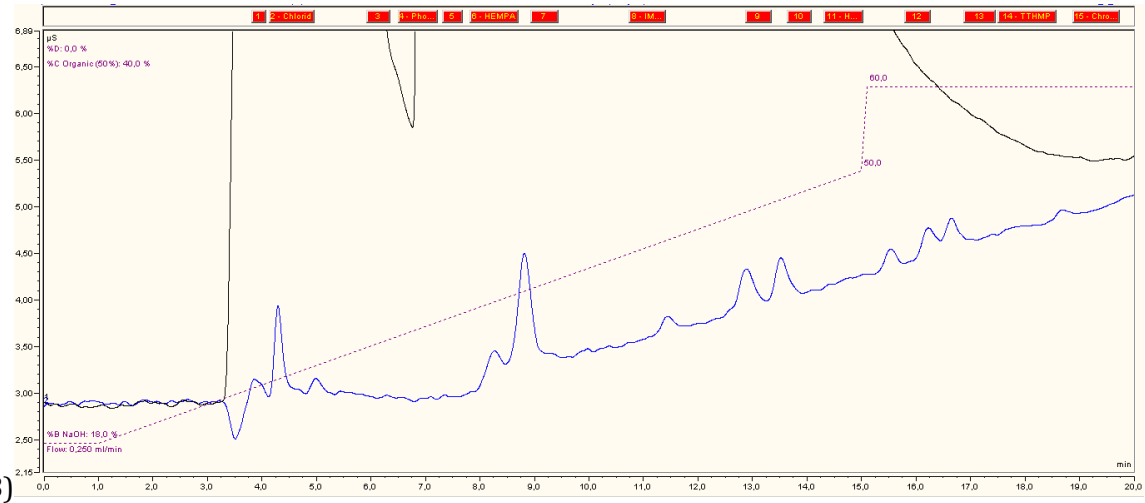
Eine Elutions-Variante (III) mit einem noch längeren Waschschritt bei 18 mmol/L NaOH brachte keine Verbesserung. Die Phosphonate eluierten entsprechend später und es kam noch zu keiner Signalverbreiterung. Leider eluierte auch das störende EDTA später, so dass in Summe hier keine Verbesserung erzielt werden konnte. Letztlich wurde eine Variante (IV) getestet, die einen 10-minütigen Waschschritt mit 36 mmol/L NaOH nutzt. In dieser Variante eluierte HEDP deutlich früher und co-eluierte nun mit EDTA.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Elutionsreihenfolge der Phosphonate in den Varianten gleich geblieben ist. Die größte Herausforderung bei den Matrixabtrennungen stellt EDTA dar. Dies liegt an der vierfach negativen Ladung des EDTA, was zu einem ähnlichen Retentionsverhalten führt. Im Zuge der weiterführenden Methodenentwicklung stellte sich heraus, dass EDTA durch das kurzkettigere Homolog NTA ersetzt werden kann. NTA zeigt bei der Unterstützung des Sedimentaufschlusses eine vergleichbare Wirkung, eluiert aber früher als EDTA und zeigt bei der Chromatographie weniger Signalverschleppung (*Tailing*). Eine Verringerung der Konzentration im Extraktionsmedium war nicht zielführend, da dadurch die Extraktionseffizienz geringer ausfiel. Die Elution von NTA ist jedoch bei der gewählten Chromatographievariante (II) ca. 1 min früher beendet als die von EDTA, zeitgleich mit der Elution des ersten Phosphonats (HEDP). Bis zur Elution von HEDP wird das Eluat in den Abfall geleitet, so dass die Verschmutzung des Massenspektrometers minimiert wird.

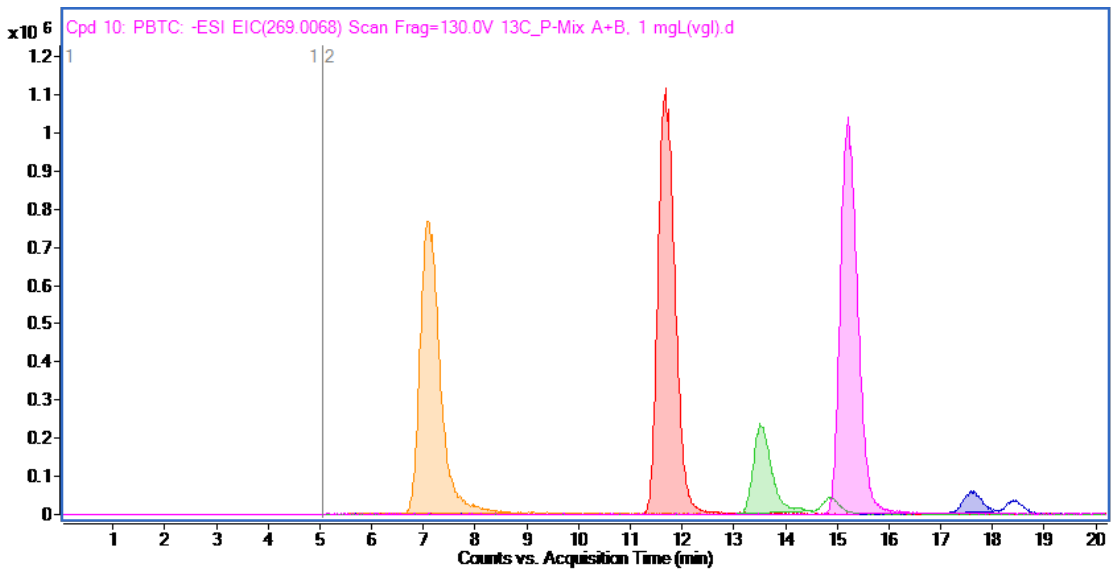
Abbildung 38: Standardeluent. Teilbilder (A) und (B): Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards (1 mg/L) in Reinstwasser (blau) und in einer Aufschlussmatrix mit den Maximalgehalten an möglichen Aufschlussmitteln (EDTA, Nitrat, Chlorid, Trichloracetat). Teilbild (C): Extrahierte Massenspuren des Phosphonat-Standards aus der IC-ESI-TOF-Kopplung.



(A)



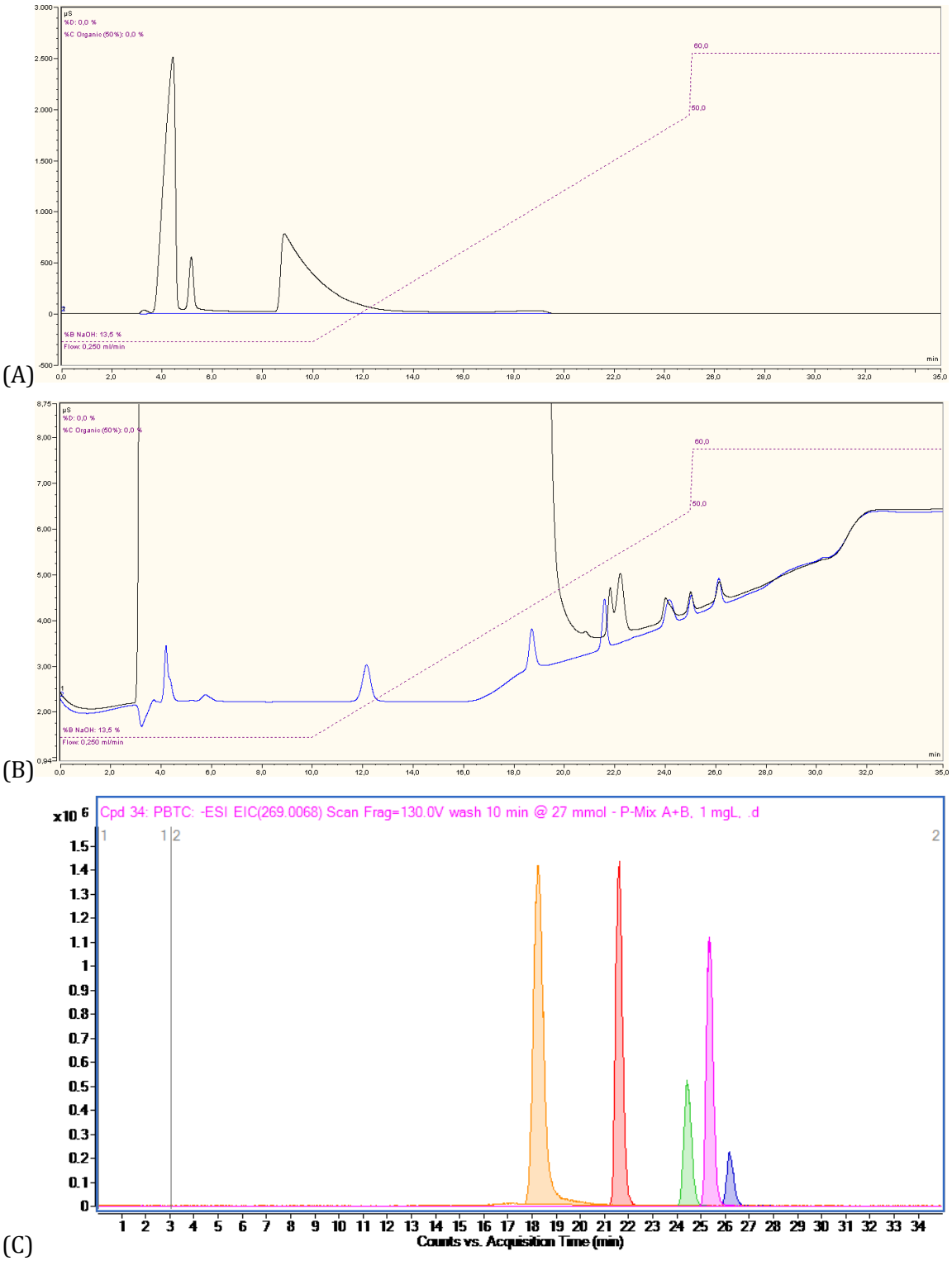
(B)



(C)

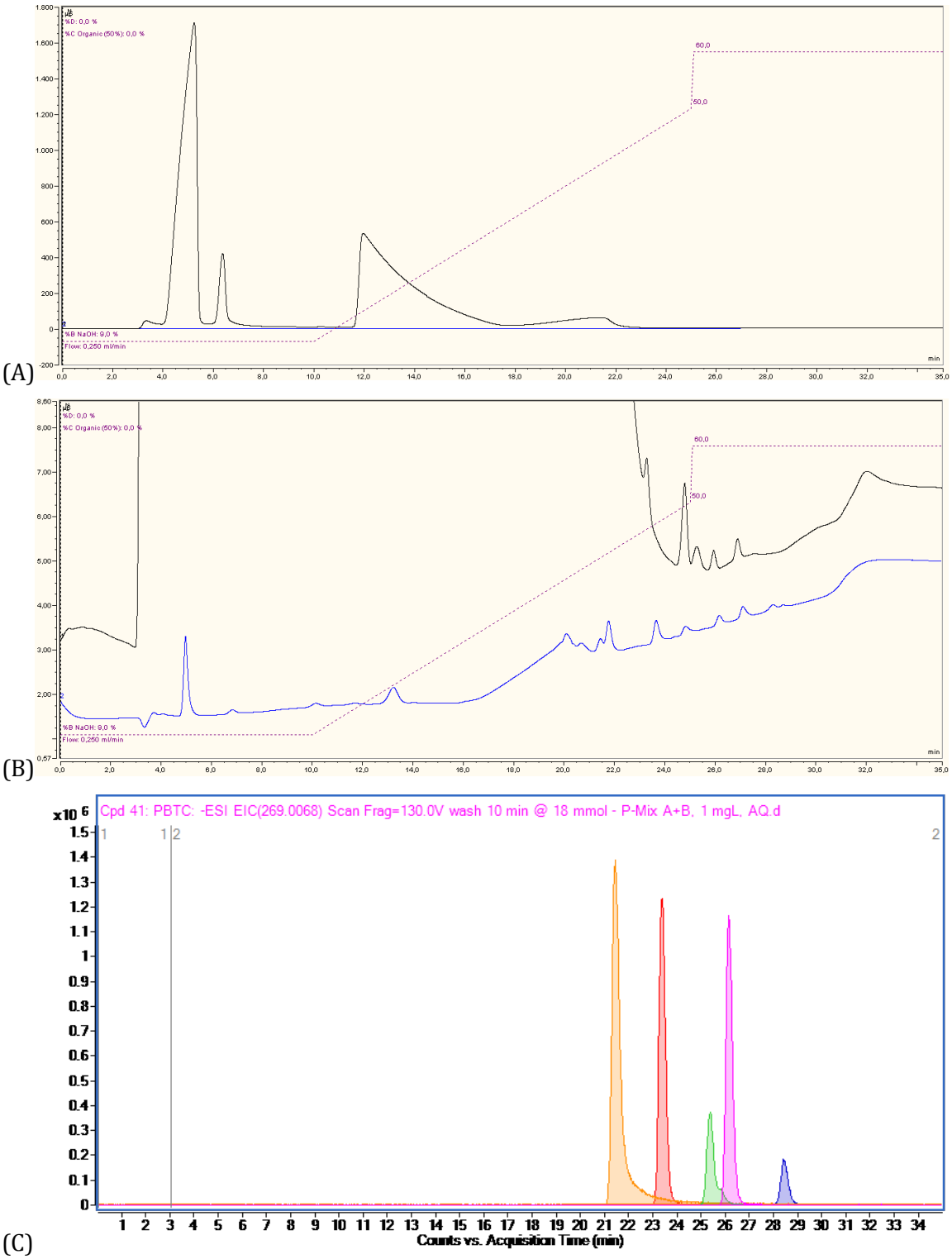
(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 39: Elutions-Modifikation (I). Teilbilder (A) und (B): Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards (1 mg/L) in Reinstwasser (blau) und in einer Aufschlussmatrix mit den Maximalgehalten an möglichen Aufschlussmitteln (EDTA, Nitrat, Chlorid, Trichloracetat). Teilbild (C): Extrahierte Massenspuren des Phosphonat-Standards aus der IC-ESI-TOF-Kopplung.



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 40: Elutions-Modifikation (II). Teilbilder (A) und (B): Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards (1 mg/L) in Reinstwasser (blau) und in einer Aufschlussmatrix mit den Maximalgehalten an möglichen Aufschlussmitteln (EDTA, Nitrat, Chlorid, Trichloracetat). Teilbild (C): Extrahierte Massenspuren des Phosphonat-Standards aus der IC-ESI-TOF-Kopplung.

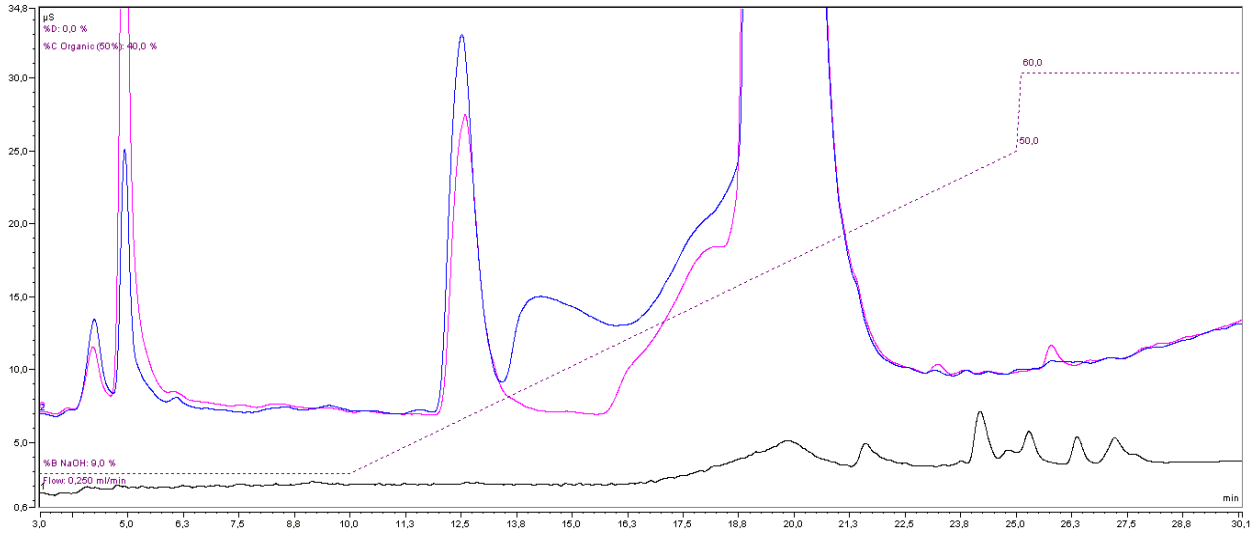


(Quelle: eigene Daten)

Aufgrund der stark matrixbelasteten Proben (Abwasser, Sediment und Schwebstoffe) ist zu vermuten, dass auch erhebliche Gehalte an organischen Marixbestandteilen auf der Trennsäule hängen bleiben. Aus diesem Grund war der Zusatz eines organischen Lösungsmittels zum Eluenten wünschenswert. Die Zugabe von Methanol in den Eluenten ist aus Sicht der ionenchromatographischen Trennung prinzipiell möglich und aus Sicht der ESI-MS-Detektionstechnik sogar erwünscht. Aus diesem Grund wurden entsprechende Tests mit methanolhaltigen Eluenten durchgeführt. Dabei wurden gute Signalformen bei der Anwendung eines Eluenten mit konstant 20 % Methanolanteil bei gleichzeitig signifikant erhöhter Empfindlichkeit erreicht. Durch Eluent-Modifikation II (10 min Waschschritt bei 18 mmol/L NaOH) mit 20 % Methanol eluiert Sulfat bei 12,5 min und die Elution von NTA ist bei 21,5 min abgeschlossen. Die Zielanalyten eluieren zwischen 22 min und 28 min. Ein Spülschritt mit 120 mmol/L NaOH für 10 min wird ergänzend am Ende des chromatographischen Laufs angehängt. Hierüber sollen besonders stark auf der Säule festsitzende Verunreinigungen entfernt werden.

Diese Chromatographie wurde zur Analyse aller Probenmatrices (Oberflächenwasser, Abwasser, Sediment- und Schwebstoffextrakte) einheitlich angewandt. Abbildung 41 zeigt die Chromatogramme (Leitfähigkeitsdetektion) eines Sedimentaufschlusses, eines Abwasser-Feststoffextrakts (beide unter Einsatz von NTA), sowie eines Phosphonat-Multistandards.

Abbildung 41: Chromatogramme (Leitfähigkeitsdetektion) eines Sedimentaufschlusses (blau), eines Abwasser-Feststoffaufschlusses (pink) und eines Phosphonat-Multistandards (schwarz) durch die überarbeitete Methode (Probenaufschluss mit NTA, Zusatz von 20 % Methanol zum Eluenten). Chlorid: 5 min, Sulfat: 12,5 min, NTA: 15 min bis 21,5 min. Phosphonat-Multistandard: HEDP (21,5 min), in zeitlicher Folge: ATMP, EDTMP, PBTC, DTPMP. Durch den starken Matrixeinfluss der Feststoffextrakte verschiebt sich die Retentionszeit des HEDP bei den Proben um ca. 0,5 min nach hinten (im Vergleich zum Multistandard aus HPLC-Wasser), sodass die Substanz zeitgleich mit Abklingen des NTA-Signals eluiert.



(Quelle: eigene Daten)

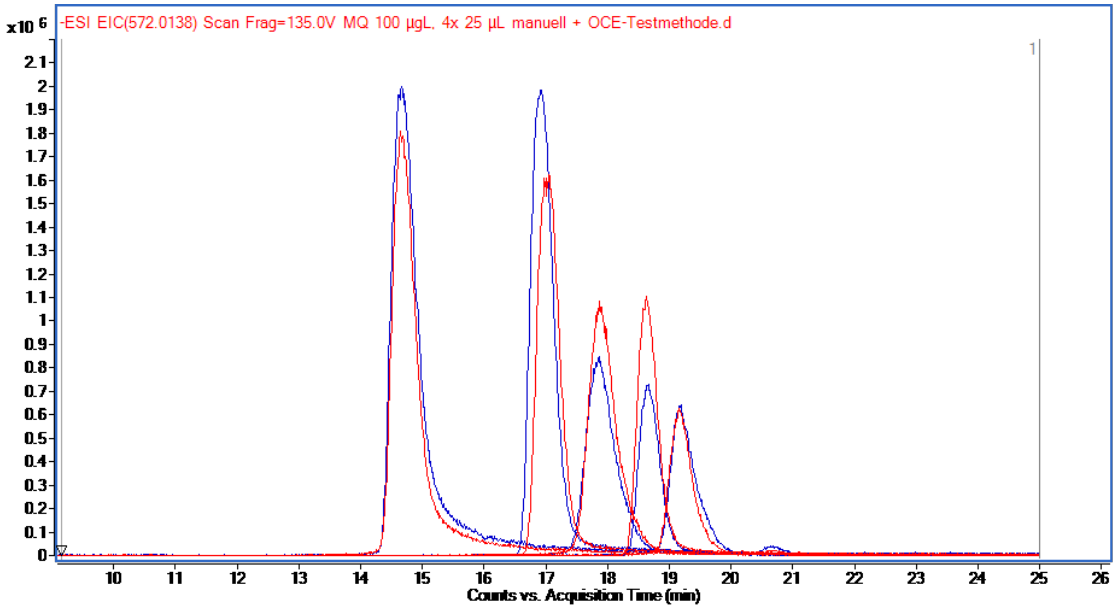
Da eine gute Abtrennung der Störionen und sonstigen Matrixbestandteilen aus dem Sedimentaufschluss von den Phosphonaten erreicht wurde, wurde eine erste IC-ESI-TOF Analyse mit der Schwebstoffprobe nach Elutions-Modifikation (II) durchgeführt. Die Methode ermöglichte die Detektion von HEDP und PBTC in der Schwebstoffprobe per Direktinjektion. Es wurde eine geringfügige matrixbedingte Erhöhung der Retentionszeiten festgestellt. Weiterhin wurden sehr schwache Massensignale von ATMP und DTPMP detektiert. Zur Quantifizierung von ATMP, DTPMP und EDTMP ohne vorherige Anreicherung ist die IC-ESI-TOF Methode jedoch nicht empfindlich genug. HEDP und PBTC konnten

auch nach Aufschluss durch Trichloressigsäure (TCA; 500 mmol/L) und HCl (500 mmol/L) detektiert werden (vgl. Kapitel 6.7.2), jedoch fielen die Intensitäten deutlich geringer aus.

6.3.3 On-Column-Enrichment (OCE)

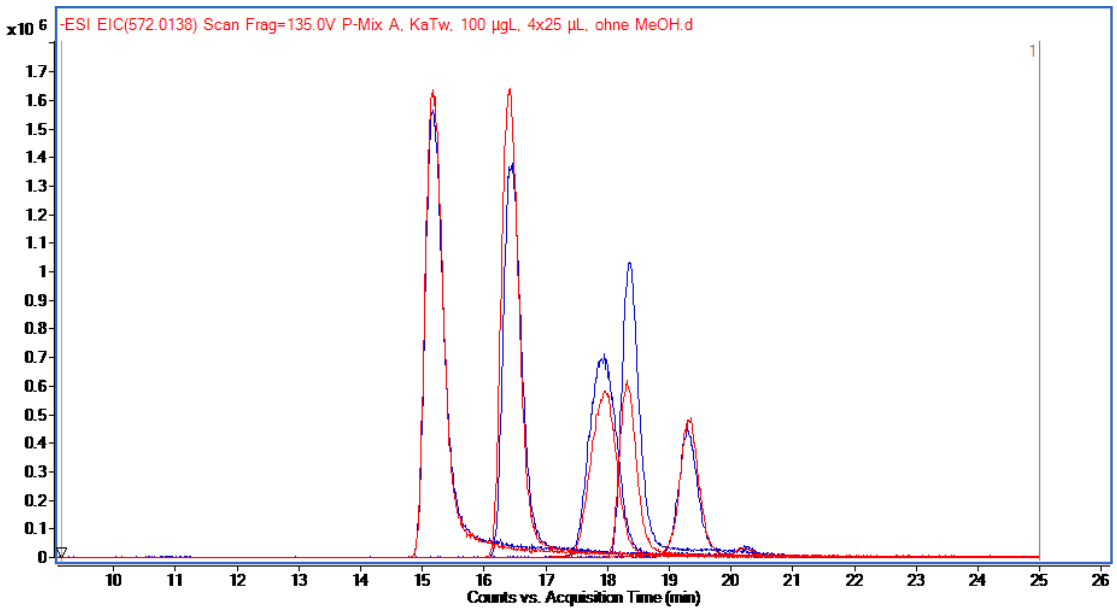
Phosphonate weisen eine starke Retardation an Anionentauschchromatographiesäulen auf, da sie unter den alkalischen pH-Bedingungen des NaOH-Eluenten als mehrfach geladene Anionen vorliegen. Entsprechend der Anzahl ihrer Phosphonsäuregruppen liegen die Ladungen im Bereich von –2 bis –5. Es bilden sich starke Wechselwirkungen zum Austauschermaterial der Trennsäule aus, die erst durch erhöhte Eluentkonzentrationen überwunden werden. Typische Eluentkonzentrationen bewegen sich im Bereich um 30 mmol/L bis 120 mmol/L. Aufgrund dieses besonderen Verhaltens erwies es sich als möglich, mit einem Eluenten von geringer Ionenstärke mehrere Male hintereinander einen Phosphonatstandard zu injizieren und erst anschließend durch Start des eigentlichen Gradienten mit höherer Ionenstärke die Chromatographie der Phosphonate einzuleiten. Bei niedrigen Ionenstärken adsorbieren die Phosphonate vollständig an das Säulenmaterial, wodurch ein additiver Effekt der Einzelinjektionen erreicht werden kann. Ein typisches Injektionsvolumen bei 2-mm-Säulen liegt bei 25 µL. In Vergleichsexperimenten wurde gefunden, dass die Injektion von 1x 100 µL und die Injektion von 4x 25 µL (mit dazwischengeschalteten Spülschritten) eines Standards aus Reinstwasser chromatographische Signale von annähernd gleicher Intensität und gleicher Signalbreite liefern (Abbildung 42). Auch die beiden anderen durch Matrix belasteten Testwässer (Leitungswasser und Rheinwasser) zeigen bei der Vierfachinjektion eine ähnliche chromatographische Trennung (Abbildung 43 und Abbildung 44).

Abbildung 42: Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards in Reinstwasser mit 100 µg/L. Injektion von 1x 100 µL (blau) und 4x 25 µL (rot). Extraktion der exakten Massen mit ±10 ppm.



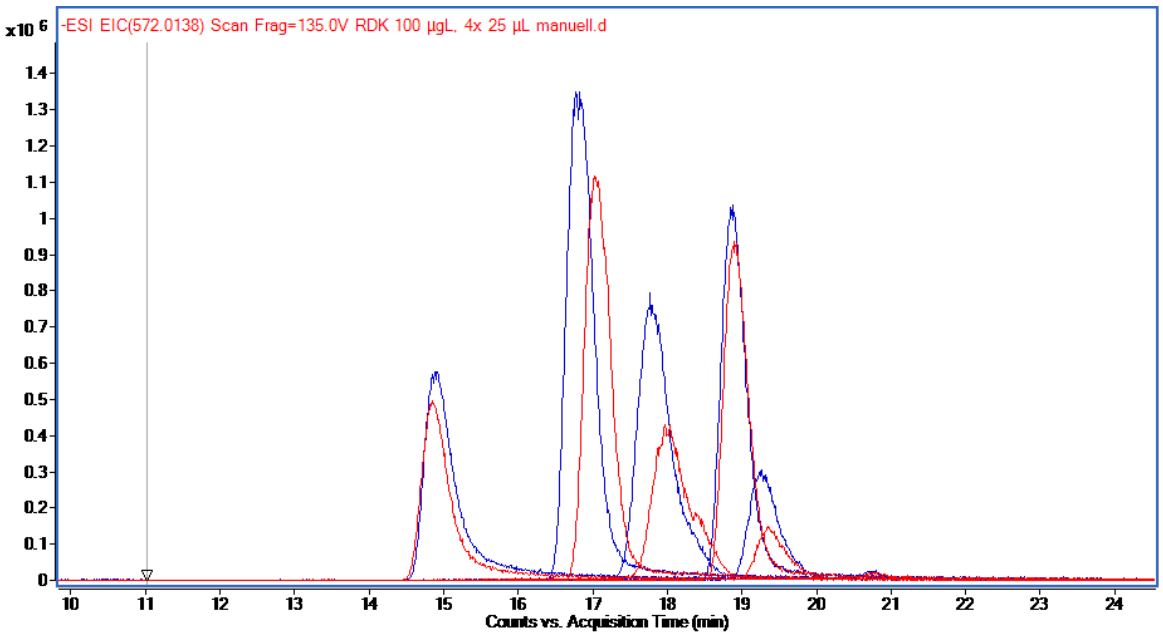
(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 43: Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards in Karlsruher Trinkwasser mit 100 µg/L. Injektion von 1x 100 µL (blau) und 4x 25 µL (rot). Extraktion der exakten Massen mit ±10 ppm.



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 44: Chromatogramme eines Phosphonat-Multistandards in Oberflächenwasser (Rhein) mit 100 µg/L. Injektion von 1x 100 µL (blau) und 4x 25 µL (rot). Extraktion der exakten Massen mit ±10 ppm.

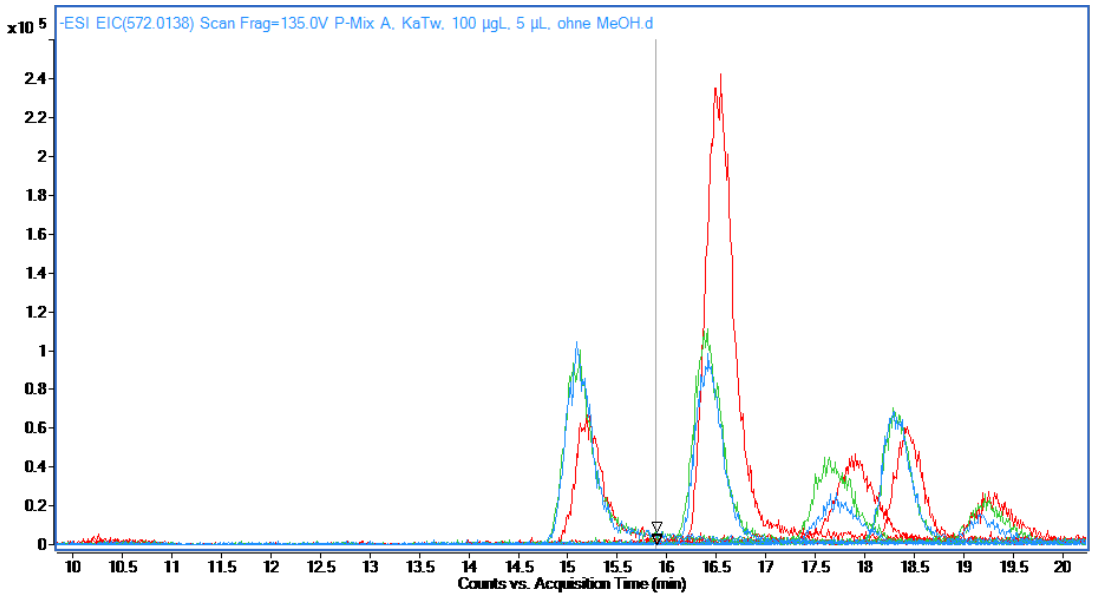


(Quelle: eigene Daten)

Aus diesen Versuchen lässt sich festhalten, dass eine gute Proportionalität aus HPLC-Wasser und Leitungswasser besteht. Im Rheinwasser wird ein größerer Matrixeinfluss gefunden, der sich in geringeren Signalintensitäten zeigt. Nach der 4-fach-Injektion fällt der additive Effekt außerdem teilweise geringer aus. Es ist aber festzuhalten, dass es zu keiner Signalverbreiterung kommt. Diese Versuchsergebnisse waren Grundlage für ergänzende Versuche, deren Ergebnisse in Abbildung 45 zu finden sind. Bei dieser Serie wurden drei Phosphonatstandards in Trinkwasser auf die Trennsäule gegeben. Die

absolute Aufgabemenge der Phosphonate blieb dabei gleich, verteilte sich jedoch auf variierende Injektionsvolumen und Gehalte. Da die Versuche ohne Anwendung der Spülmethode durchgeführt wurden wird angenommen, dass die größeren Abweichungen und das stärkere Rauschen bei diesem Experiment durch die Matrix des Karlsruher Trinkwassers bedingt werden. Diese These wurde bei der Betrachtung des Gesamtionenchromatogramms (Total-Ion-Chromatogram, TIC) des TOF-Detektors untermauert. Es co-eluieren noch andere Anionen (z. B. Sulfat), die die darunterliegenden Phosphonat-Signale beeinflussen (z. B. durch Beeinflussung der Ionisierungsausbeute in der ESI-Quelle).

Abbildung 45: IC-ESI-TOF-Chromatogramme von Phosphonat-Multistandards in Karlsruher Trinkwasser. Injektionsvolumen und Gehalte: 500 µL mit 1 µg/L (rot), 50 µL mit 10 µg/L (grün) und 5 µL mit 100 µg/L (blau). Extraktion der exakten Massen mit ±10 ppm (Reihenfolge der Analyten v.l.n.r.: HEDP, ATMP, EDTMP, PBTC, DTPMP).



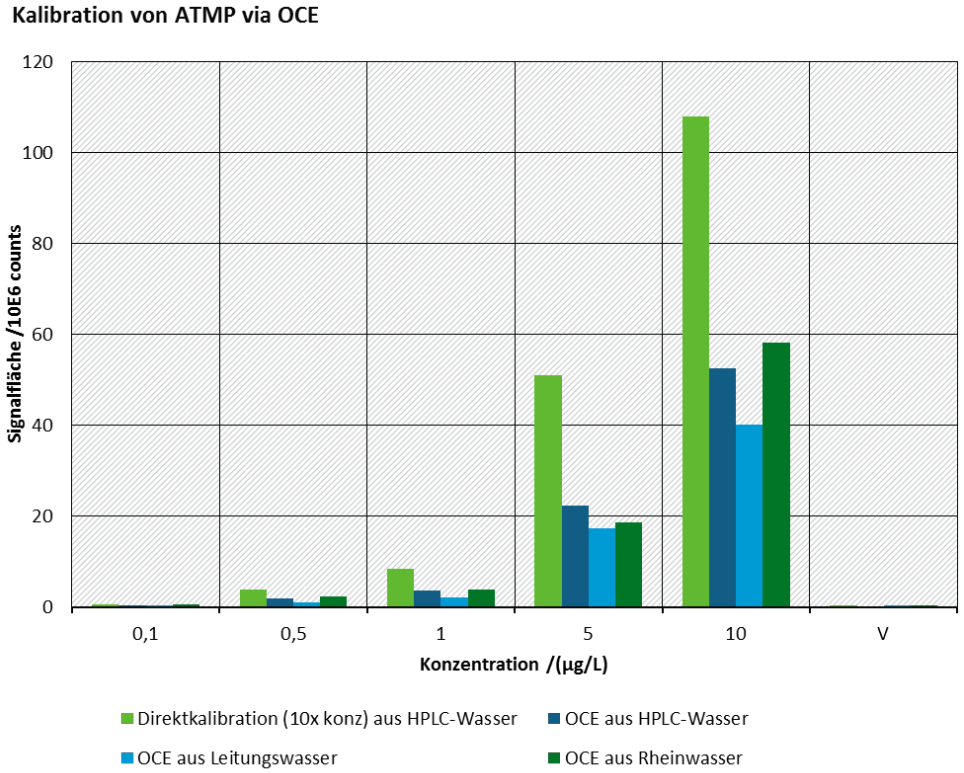
(Quelle: eigene Daten)

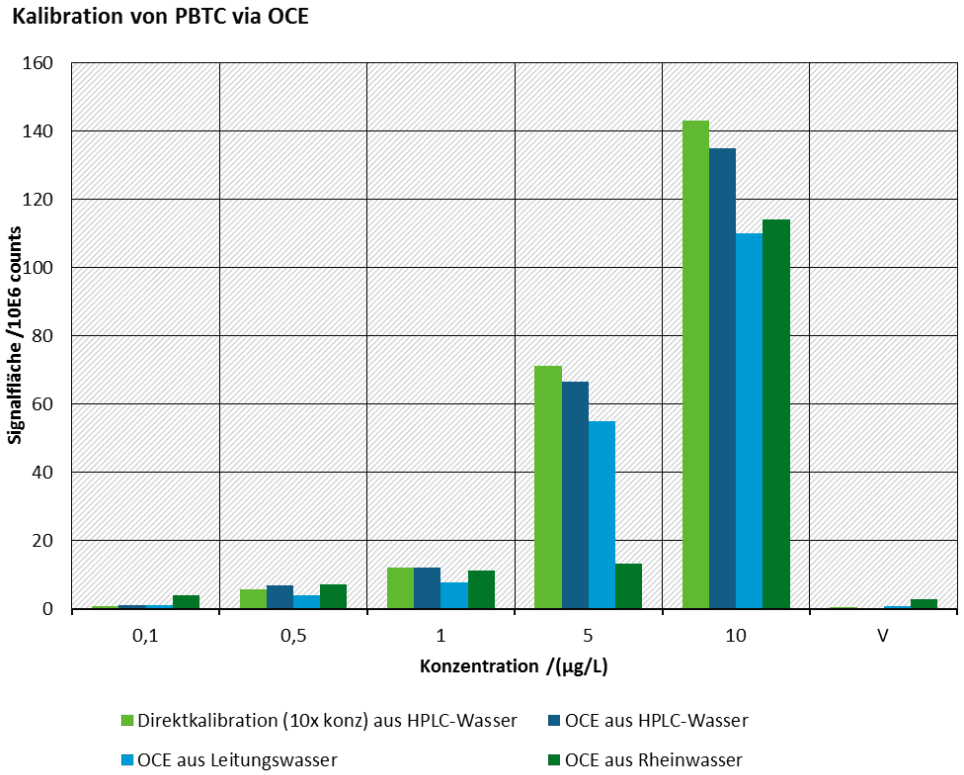
Aus den vorgestellten Messungen wird deutlich, dass Phosphonate eine gute Retardation auf der Trennsäule erfahren, jedoch Matrixbestandteile zu gleichen Retentionszeiten co-eluieren und hierüber die Signalintensitäten bei der ESI-MS-Detektion ungünstig beeinflussen können. Unter Einbindung der im vorherigen Abschnitt vorgestellten Spülmethode zur Matrixabtrennung wurde die Methode signifikant verbessert.

Durch Kalibrationen mit einem Phosphonat-Multistandard wurde die folgende Methode bezüglich ihrer Signalqualität und Sensitivität aus unterschiedlichen Matrices (HPLC-Wasser, Trinkwasser und Oberflächenwasser (Rhein)) evaluiert: Die Kalibration erfolgte in einem Bereich von 0,001 µg/L bis 10 µg/L unter Einsatz der Trennmethode mit Spülschritt und kontinuierlicher Methanolzugabe. Beim Vergleich der Integralflächen nach fünf konsekutiven 100-µL-Injektionen (Summe = 500 µL) mit den Integralen aus den Einfachinjektionen (50 µL der 10-fach höher konzentrierten Standards) sollten im Idealfall die gleichen Flächen gefunden werden. Die tatsächlichen Wiederfindungen schwanken substanzspezifisch zwischen ca. 30 % (EDTMP) und > 80 % (DTPMP, HEDP, PBTC) und sind weitgehend unabhängig von der Matrix. In Abbildung 46 und Abbildung 47 sind beispielhaft die Ergebnisse der Quantifizierung von ATMP und PBTC durch die on-column-enrichment-Methode (OCE) aus unterschiedlichen Matrices und via Direktinjektion gegenübergestellt. Da der Vergleich ohne Einbindung von Internen Standards erfolgte, verhält sich die Korrelation exponentiell. Abbildung 46 (lineare Auftragung; Darstellung ab 0,1 µg/L) dient der Ermittlung der Wiederfindungsraten und Abbildung 47 (logarithmische Auftragung, Darstellung ab 0,001 µg/L) der Ermittlung der Bestimmungsgrenzen. Bei

dieser Darstellung ist außerdem zu erkennen, dass PBTC im Rheinwasser bereits in einer Konzentration von ≤0,1 µg/L vorlag (gelb).

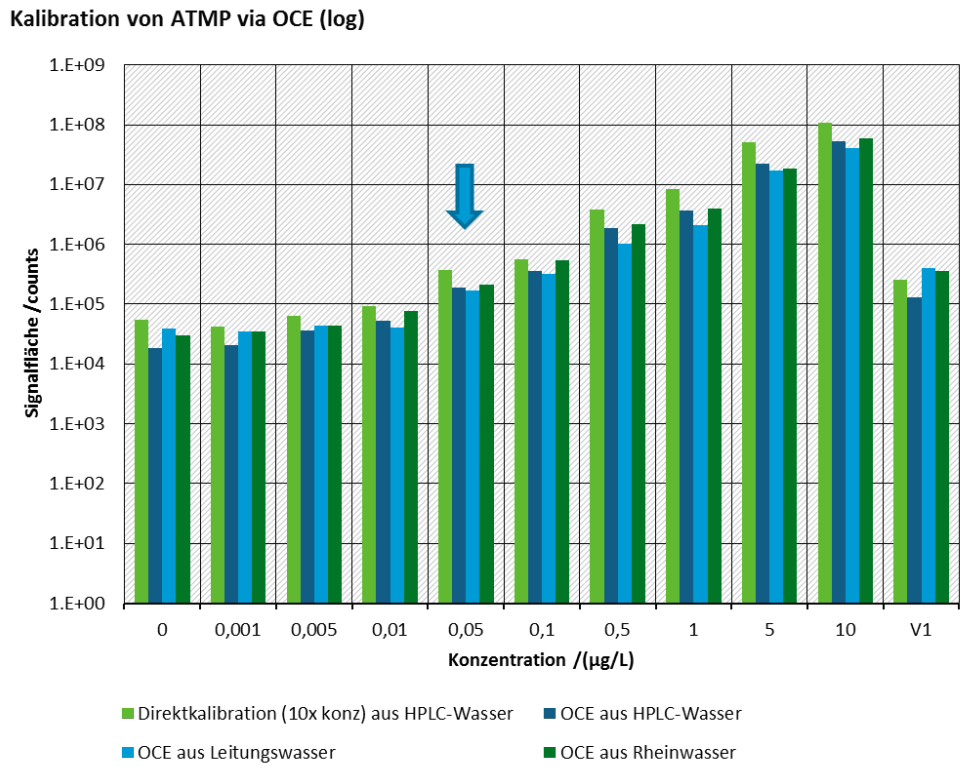
Abbildung 46: Lineare Darstellung der OCE-Kalibration (5x 50 µL) aus unterschiedlichen Matrices. Hellgrün: Einfachinjektion (50 µL) des 10-fach höher konzentrierten Standards. Dunkelblau, hellblau und dunkelgrün: Konzentrationen entsprechend der x-Achsenbeschriftung.

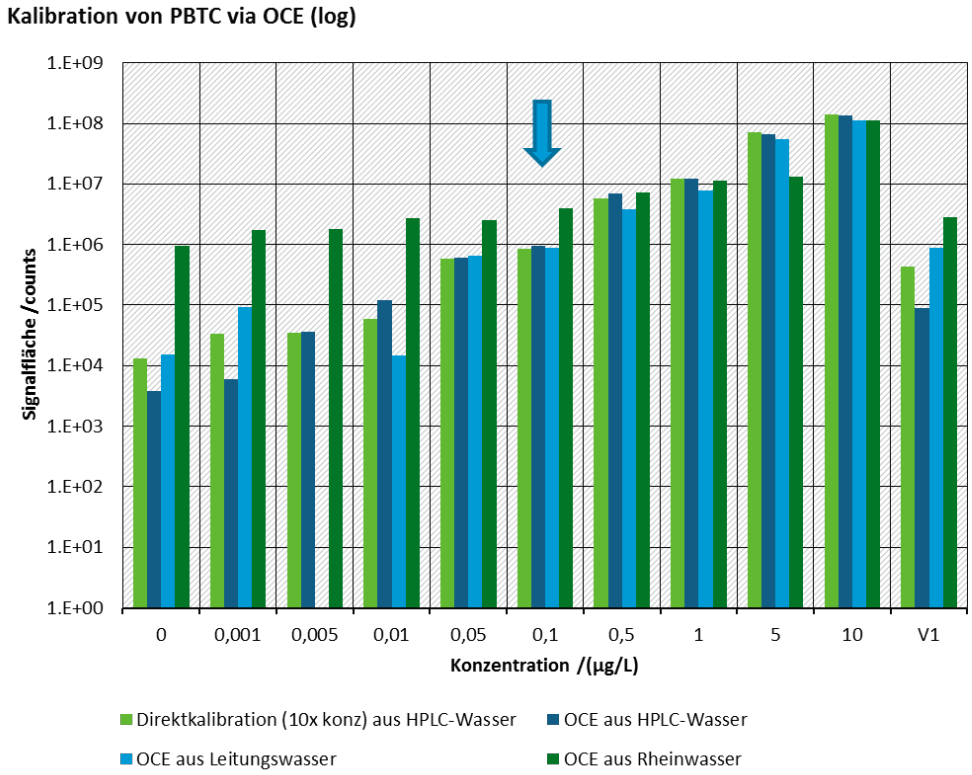




(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 47: Logarithmische Darstellung der OCE-Kalibration (5x 100 µL) aus unterschiedlichen Matrices. Hellgrün: Einfachinjektion (50 µL) des 10-fach höher konzentrierten Standards. Dunkelblau, hellblau und dunkelgrün: Konzentrationen entsprechend der x-Achsenbeschriftung. Die Bestimmungsgrenzen aus Leitungswasser sind markiert. PBTC lag im Rheinwasser bereits in einer Konzentration von ca. 0,1 µg/L vor.





(Quelle: eigene Daten)

Die nachfolgende Implementierung der Internen Standards in die OCE-Methode führte zu einer deutlichen Verbesserung der Datenqualität, da durch die Injektion von größeren Probevolumina mögliche Matrixeffekte ausgeglichen wurden. Die Kalibrierfunktionen verhielten sich nahezu linear und erlaubten Bestimmungsgrenzen von 0,1 µg/L (Abbildung 51, Kapitel 6.5), vergleichbar mit der von Schmidt *et al*. beschriebenen Methode, die jedoch einen manuellen 50-fachen Anreicherungsschritt voraussetzte (Kapitel 5.2.6).

6.4 Entwicklung der IC-ESI-MS/MS-Kopplung

Nachdem Methoden zur Anreicherung, Feststoffextraktion und Matrixabtrennung via IC-LF und IC-ESI-TOF etabliert waren, fanden erste Tests zur ESI-MS/MS-Kopplung statt. Durch diese Detektion war eine Steigerung der Sensitivität zu erwarten. Durch ein Tuning wurden die stärksten Massenübergänge für die Phosphonate bestimmt, die als Qualifier bzw. Quantifier bei der Analyse dienen. Bei diesem Tuning werden die optimalen Geräteparameter (Spannungen) und die intensivsten Fragmentionen der jeweiligen Analyte ermittelt und in die Methode übernommen. Nach diesem notwendigen ersten Schritt wurde nach einem Kationentausch aus HPLC-Wasser, Leitungswasser und Oberflächenwasser (Rheinwasser) kalibriert. Dies erlaubte eine Abschätzung der Bestimmungsgrenzen. In Tabelle 14 sind die beiden stärksten Massenübergänge sowie die primär abgeschätzten Bestimmungsgrenzen der einzelnen Phosphonate aufgeführt. Analog zur IC-ESI-TOF-Analytik wurde auch bei der MS/MS-Detektion die geringste Sensitivität beim DTPMP beobachtet, da das Signal zu etwa gleichen Anteilen zwischen den Ionenspezies $[M-H]^-$ und $[M-2H]^{2-}$ aufgespleißt wird.

Tabelle 14: Stärkste Massenübergänge und primäre Bestimmungsgrenzen (BG) mittels IC-ESI-MS/MS-Kopplung mittels Direktinjektion ohne Einsatz Interner Standards.

Analyt	Mutterion / (m/z)	Quantifier (stärkster Übergang)	Qualifier (bestätigender Übergang)	BG aus Reinstwasser / (µg/L)	BG aus Oberflächen-wasser / (µg/L)
ATMP	298	262	79	0,1	0,5
DTPMP-H	572	472	186	0,5	1,0
DTPMP-2H	285,5	79	-	n.d.	n.d.
EDTMP	435	335	399	0,5	1,0
HEDP	205	63	123	0,1	0,5
PBTC	269	207	63	0,1	0,5

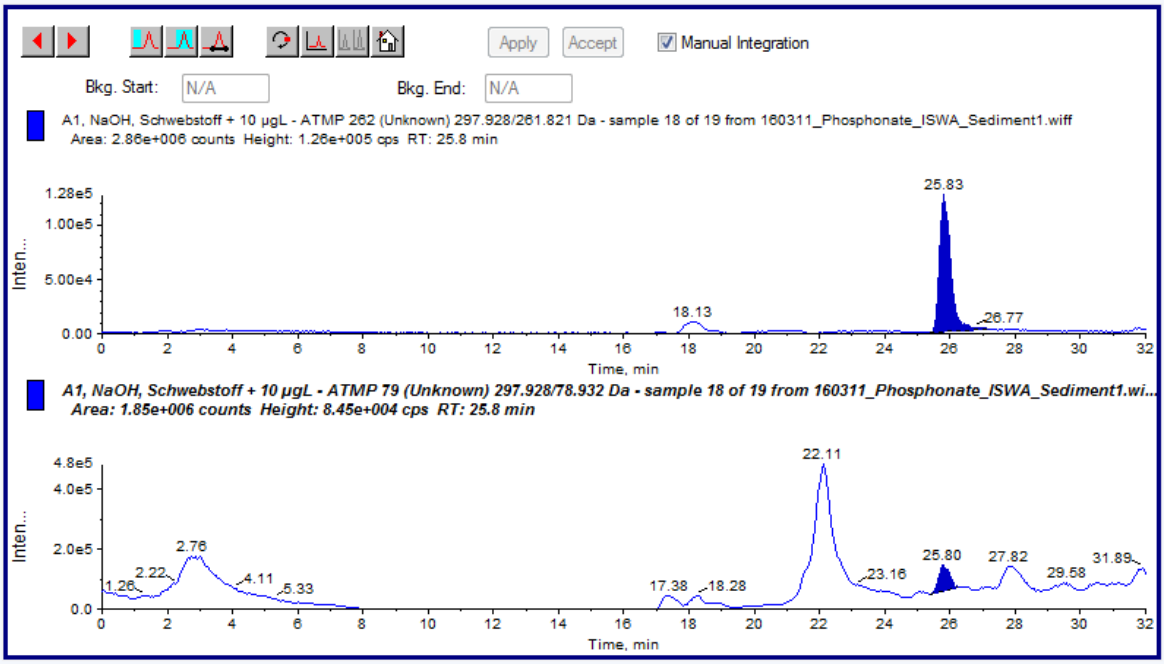
Die Quantifizierung anhand des Quantifier-Übergangs bei gleichzeitiger Detektion eines zweiten spezifischen Qualifier-Übergangs war zunächst notwendig, da in matrixbelasteten Proben teilweise identische Massenübergänge zu unterschiedlichen Retentionszeiten beobachtet werden. Nur wenn beide Übergänge zur spezifischen Retentionszeit beobachtet werden, kann die Identität eines Analyten bestätigt werden. Im Fall von ATMP und DTPMP-2H gehörte der Übergang auf m/z 79 zu den beiden stärksten und dient als Quantifier bzw. Qualifier. Bei allen getesteten Phosphonaten trat jedoch der Übergang auf m/z 79 zu unterschiedlichen Intensitäten auf. Bei diesem Fragmention handelt es sich um das Fragment PO_3^-, welches durch die Abspaltung von Phosphonsäuregruppen entsteht. Durch die Ermittlung der exakten Masse mittels ESI-TOF-Detektion (m/z 78,9591) wurde die Identität bestätigt.

Wie bereits bei den IC-LF-Analysen beobachtet wurde (vgl. Kapitel 6.2), eluieren beim Anstieg des NaOH-Gradienten zusätzlich zu den bekannten Phosphonaten weitere Stoffe mit Phosphonat-Charakter (hohe Affinität zur Säule). Bei ersten MS/MS-Messungen von Umweltproben wurde der Übergang der Target-Masse auf m/z 79 auch häufig zu Retentionszeiten beobachtet, die nicht mit de-

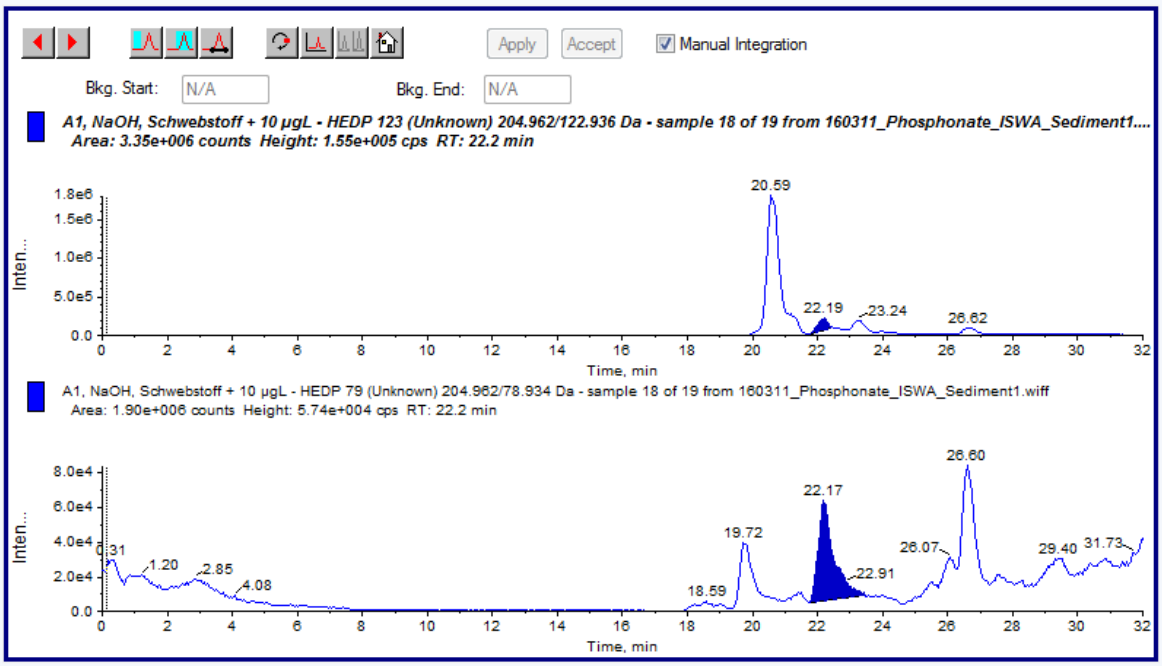
nen der bekannten Phosphonate übereinstimmen. In den folgenden Beispielen sind die Chromatogramme von ATMP und HEDP aus einer Schwebstoffprobe dargestellt (Abbildung 48). Der Übergang von m/z 298 (ATMP) auf m/z 262 (Quantifier; Abbildung 48 A, oben) tritt nur einmal bei 26 min in signifikanter Intensität auf, während der Übergang auf m/z 79 (Qualifier) bei 22 min, 26 min und 28 min beobachtet werden kann (Abbildung 48 A, unten). Eine Zuordnung ist nur durch die Retentionszeit und das Auftreten des zweiten spezifischen Übergangs möglich. Bei HEDP kann der Übergang von m/z 205 auf m/z 123 (Qualifier) bei 20,6 min, 22,2 min und 23,4 min beobachtet werden (Abbildung 48 B, oben). Der Quantifier fällt spezifischer aus und ist nicht dargestellt. Der Übergang auf m/z 79 ist bei 19,7 min, 22,2 min und 26,6 min zu beobachten (Abbildung 48 B, unten). Dies bedeutet, dass bei 19,7 min und 26,6 min Substanzen mit hoher Ladung eluieren, die möglicherweise Phosphonsäuregruppen und eine ähnliche Masse wie HEDP aufweisen (±0,5 amu).

Während Massenübergänge auf größere Fragmente während der Chromatographie häufig nur ein- oder wenige Male beobachtet werden können, treten Massenübergänge auf das Fragment m/z 79 häufiger auf. Aus diesem Grund ist das synchrone Auftreten beider Massenübergänge zur spezifischen Retentionszeit für die Identifikation einer Substanz notwendig. Dieser Sachverhalt unterstützt zudem die Hypothese, dass in Umweltproben verschiedene phosphororganische Substanzen vorhanden sind, bei denen es sich um Transformationsprodukte von kommerziellen Phosphonaten oder um biogene Phosphonate handeln könnte.

Abbildung 48: Auftreten spezifischer (A, oben) und unspezifischer (A, unten; B, oben und unten) Massenübergänge in Schwebstoffproben.



(A)



(B)

(Quelle: eigene Daten)

Analysen von Trinkwasser- und Oberflächenwasserproben zeigten, dass die beiden intensivsten Massenübergänge aus HPLC-Wasser nicht immer auch für matrixbelastete Proben geeignet sind. Bei einigen Übergängen können teils starke Störungen wie erhöhte oder unebene Basislinien bzw. zusätzliche Störsignale zu abweichenden Retentionszeiten auftreten. Auch wird die Intensität durch die Matrix beeinflusst. Aus diesem Grunde wurden die Massenübergänge anhand der Auswertung von Oberflächenwasser-, Abwasser-, Sediment- und Schwebstoffproben nochmals auf die möglichst stärksten Übergänge mit dem gleichzeitig geringsten Störpotential selektiert. Im Falle des DTPMP wurden die entsprechenden Übergänge des zweifach geladenen Mutterions ausgewählt.

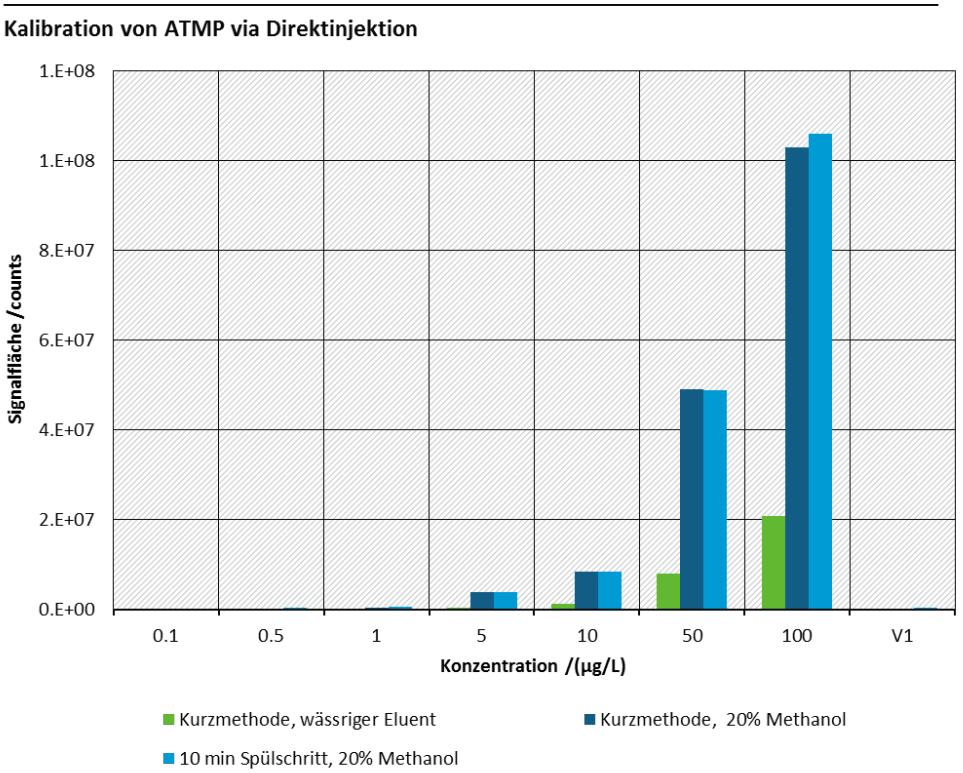
Die Spezifität der Methode wurde gleichfalls durch die Implementierung Interner Standards erhöht. Bei den folgenden Analysen wurden nicht mehr nur Qualifier und Quantifier des Analyten, sondern auch die entsprechenden Übergänge des Internen Standards ausgewertet. Die zur Quantifizierung herangezogenen Übergänge sind in der Arbeitsanweisung SOP-02 aufgelistet. Die den Proben zudotierte IS-Menge wurde so angepasst, dass die Signale des IS und die der Analyten Intensitäten in vergleichbarer Größenordnung aufwiesen.

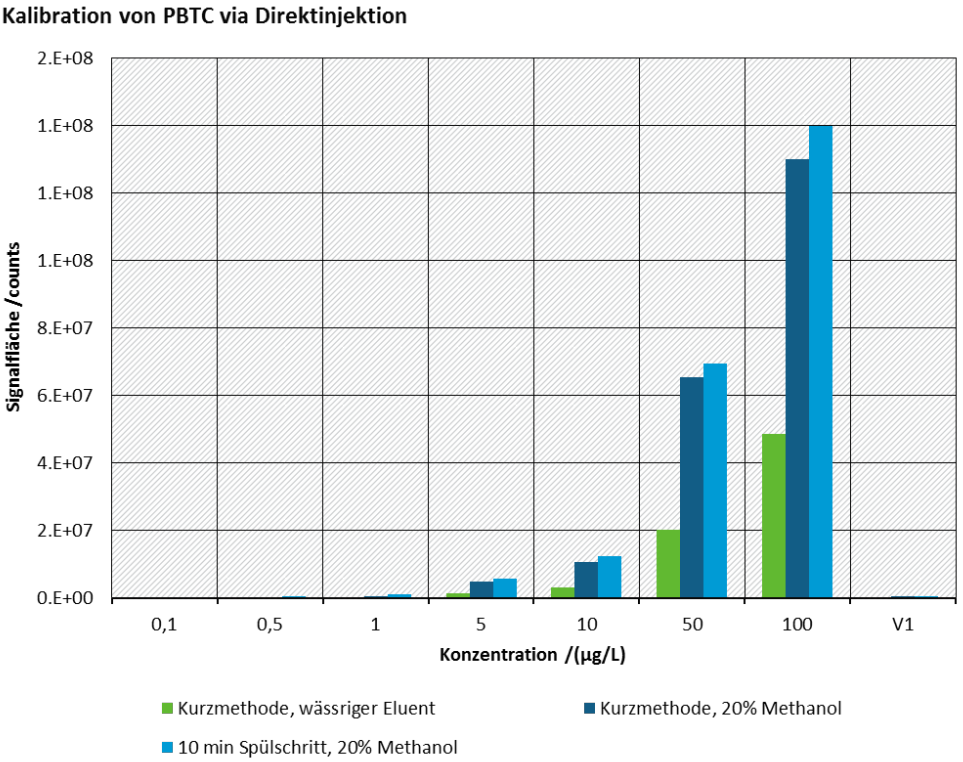
Die Internen Standards ermöglichten ferner eine Steigerung der Empfindlichkeit bei gleichzeitig auch nach oben erweitertem Messbereich. Die Direktmessung erlaubt die Bestimmung von Gehalten zwischen 1 µg/L und 200 µg/L. Gegenüber der IC-ESI-TOF Methode wurde eine Empfindlichkeitssteigerung um Faktor 10 bis Faktor 50 erreicht, jedoch nicht gegenüber der durch Schmidt *et al.* (2013) etablierten Methode, die eine 50-fache Anreicherung nutzt. Durch Einsatz der im vorherigen Abschnitt beschriebenen OCE-Methode wurden jedoch mit Schmidt *et al.* vergleichbare Bestimmungsgrenzen erzielt. Mittels der OCE-Methode lassen sich Gehalte zwischen 0,1 µg/L und 10 µg/L erfassen (Empfindlichkeitssteigerung von Faktor 100 bis 500 gegenüber der IC-ESI-TOF Methode).

6.5 Kalibration und Bestimmungsgrenzen

In der Anfangsphase der Methodenentwicklung wurden die ersten Kalibrationen noch ohne die Verwendung von Internen Standards durchgeführt. Die Kalibration erfolgte aus HPLC-Wasser, wobei ein Arbeitsbereich von 0,01 µg/L bis 100 µg/L abgedeckt wurde. Es wurde eine Einfachinjektion mit jeweils 50 µL Injektionsvolumen auf die Trennsäule aufgegeben. Neben dem rein wässrigen Eluenten nach Schmidt *et al.* (2013) wurde auch eine Variante mit konstantem 20 % Methanol-Zusatz getestet. Auch ein zusätzlicher 10-minütiger Spülschritt bei schwacher Eluentstärke vor der eigentlichen chromatographischen Trennung wurde in die Methode implementiert. Die Intensitäten der durch die verschiedenen Chromatographiemethoden erhaltenen Signale wurden miteinander verglichen. Die Phosphonate verhielten sich bei den Vergleichen weitgehend analog. In Abbildung 49 sind die Signalflächen beispielhaft für ATMP und PBTC graphisch gegenübergestellt.

Abbildung 49: Lineare Auftragung der Direktkalibration. Vergleich der Signalflächen bei der Kalibration von ATMP und PBTC zwischen 0,01 µg/L (nicht dargestellt) und 100 µg/L durch drei Chromatographievarianten: Nach Schmidt *et al.* (hellgrün), nach Schmidt *et al.* mit zusätzlich 20 % Methanol (dunkelblau) und mit 20 % Methanol und einem zusätzlichen 10-minütigen Spülschritt bei verdünntem Eluenten (hellblau). Probe V1: Überprüfung der Verschleppung nach dem höchsten Kalibrierpunkt.





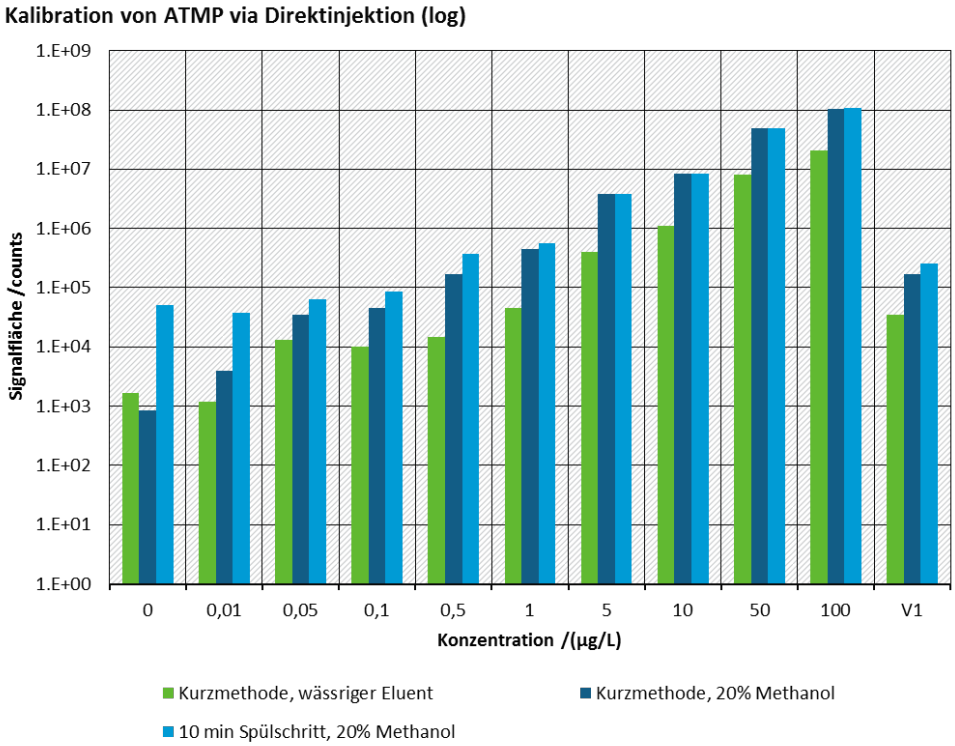
(Quelle: eigene Daten)

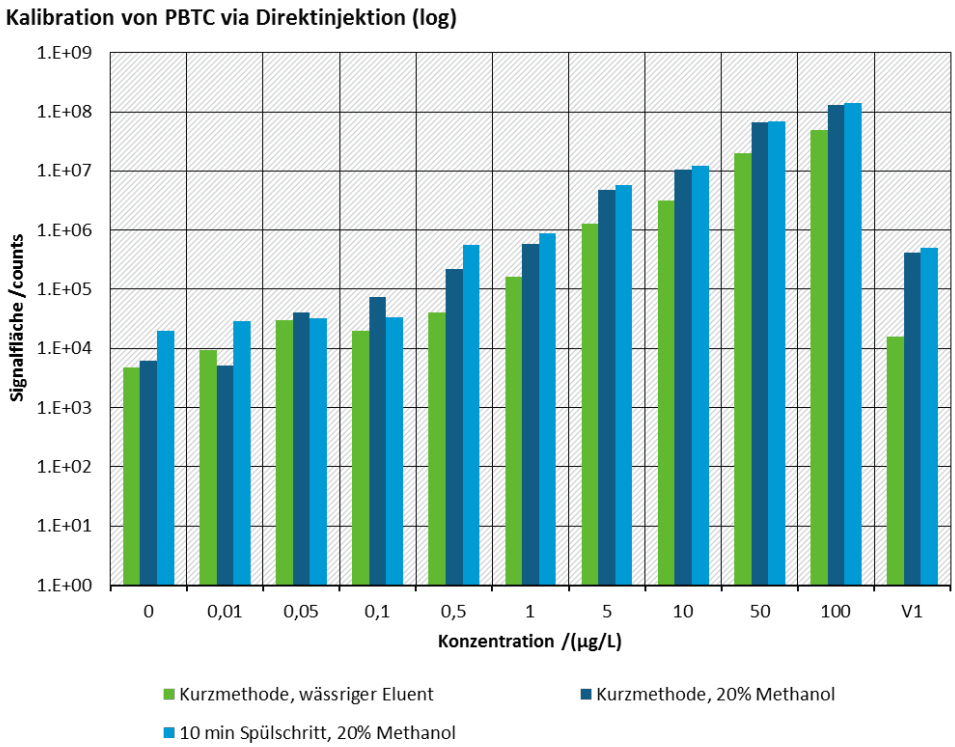
Durch die Zugabe von 20 % Methanol zum Eluenten konnte ein deutlicher Empfindlichkeitsgewinn erzielt werden. Der zusätzliche Spülschritt mit verdünntem Eluenten führte zu keinem signifikanten Intensitätsverlust. Teilweise wurde durch den Spülschritt sogar eine bessere Signalform erhalten. Wahrscheinlich werden hier störende Matrixbestandteile abgetrennt. Als Detektionsgrenzen in dieser Kalibrierung aus HPLC-Wasser (50 µL Probe per Einfachinjektion; 20 % MeOH, Spülschritt) haben sich ergeben:

ATMP	0,1 µg/L
DTPMP	1,0 µg/L
EDTMP	1,0 µg/L
HEDP	0,1 µg/L
HEMPA	0,1 µg/L
PBTC	1,0 µg/L

Die Signalflächen der Phosphonsäuren weisen in diesem Arbeitsbereich eine exponentielle Korrelation zur Konzentration auf. Folglich lassen sich die Bestimmungsgrenzen besser durch logarithmische Auftragung erfassen (Abbildung 50). Die Verschleppung in der Blindprobe unmittelbar nach dem höchsten Kalibrierpunkt entspricht in etwa dem Signalwert an der Bestimmungsgrenze.

Abbildung 50: Logarithmische Auftragung der Direktkalibration. Vergleich der Signalflächen bei der Kalibration von ATMP und PBTC zwischen 0,01 µg/L und 100 µg/L durch drei Chromatographiemethoden: Nach Schmidt *et al.* (hellgrün), nach Schmidt *et al.* mit zusätzlich 20 % Methanol (dunkelblau) und mit 20 % Methanol und einem zusätzlichen 10-minütigen Spülschritt bei verdünntem Eluenten (hellblau). Probe V1: Überprüfung der Verschleppung nach höchstem Kalibrierpunkt.





(Quelle: eigene Daten)

Tabelle 15 enthält eine ausführliche Übersicht der Bestimmungsgrenzen der Phosphonate aus HPLC-Wasser durch die verschiedenen Chromatographiemethoden vor der Implementierung der Internen Standards. Dabei definieren sich die Bestimmungsgrenzen durch Gaussform des Signals und gleichzeitiger Korrelation mit der Kalibrierkurve.

Tabelle 15: Übersicht der Bestimmungsgrenzen der Phosphonate aus HPLC-Wasser durch unterschiedliche Chromatographiemethoden via Einfachinjektion (50 µL). Mit Ausnahme des PBTC werden die niedrigsten Bestimmungsgrenzen durch die Methode mit 10-min Spülschritt und 20 % Methanol erreicht.

Analyt	Methode	LOQ /(µg/L)
ATMP	Kurzmethode, wässriger Eluent	1
	Kurzmethode, 20 % Methanol	0,5
	10 min Spülschritt, 20 % Methanol	**0,1**
DTPMP	Kurzmethode, wässriger Eluent	5
	Kurzmethode, 20 % Methanol	5
	10 min Spülschritt, 20 % Methanol	**1**
EDTMP	Kurzmethode, wässriger Eluent	5
	Kurzmethode, 20 % Methanol	1
	10 min Spülschritt, 20 % Methanol	**1**
HEDP	Kurzmethode, wässriger Eluent	5
	Kurzmethode, 20 % Methanol	5
	10 min Spülschritt, 20 % Methanol	**0,1**
PBTC	Kurzmethode, wässriger Eluent	1
	Kurzmethode, 20 % Methanol	0,5
	10 min Spülschritt, 20 % Methanol	**1**

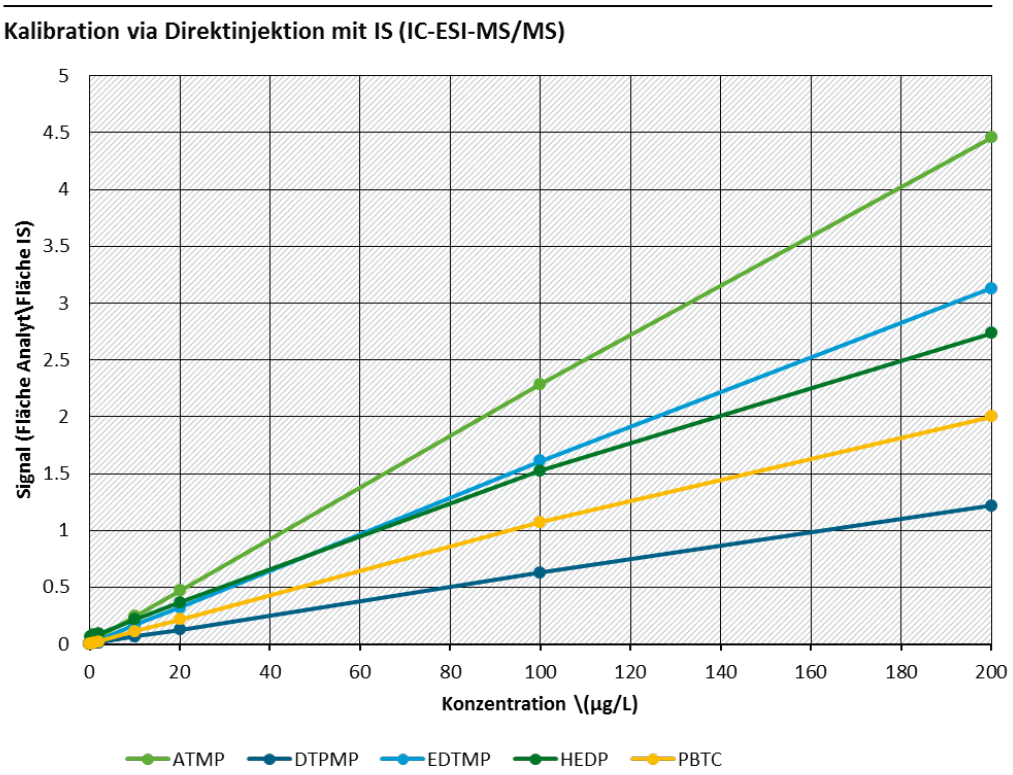
Bei der Kalibration aus Leitungswasser bzw. Flusswasser ergaben sich jedoch höhere Bestimmungsgrenzen (zwischen 0,5 µg/L und 2 µg/L). Die aktuelle MS/MS-Methode läuft unter Einbeziehung der Internen Standards. Bei der Kalibration mit Internen Standards erfolgt die Korrelation nicht über die absoluten Signalflächen, sondern über das Verhältnis der Signalfläche des Internen Standards zur Signalfläche des korrespondierenden Analytsignals (SOP-01). In Folge ergeben sich lineare Kalibrierfunktionen (Abbildung 51). HEDP und PBTC weisen bei Direktinjektion eine Korrelation bis 500 µg/L auf, die Aminomethylenphosphonsäuren ATMP, EDTMP und DTPMP bis 200 µg/L. Für die IC-ESI-MS/MS Methode existieren 2 Varianten, für die jeweils eine separate Kalibration angefertigt wird:

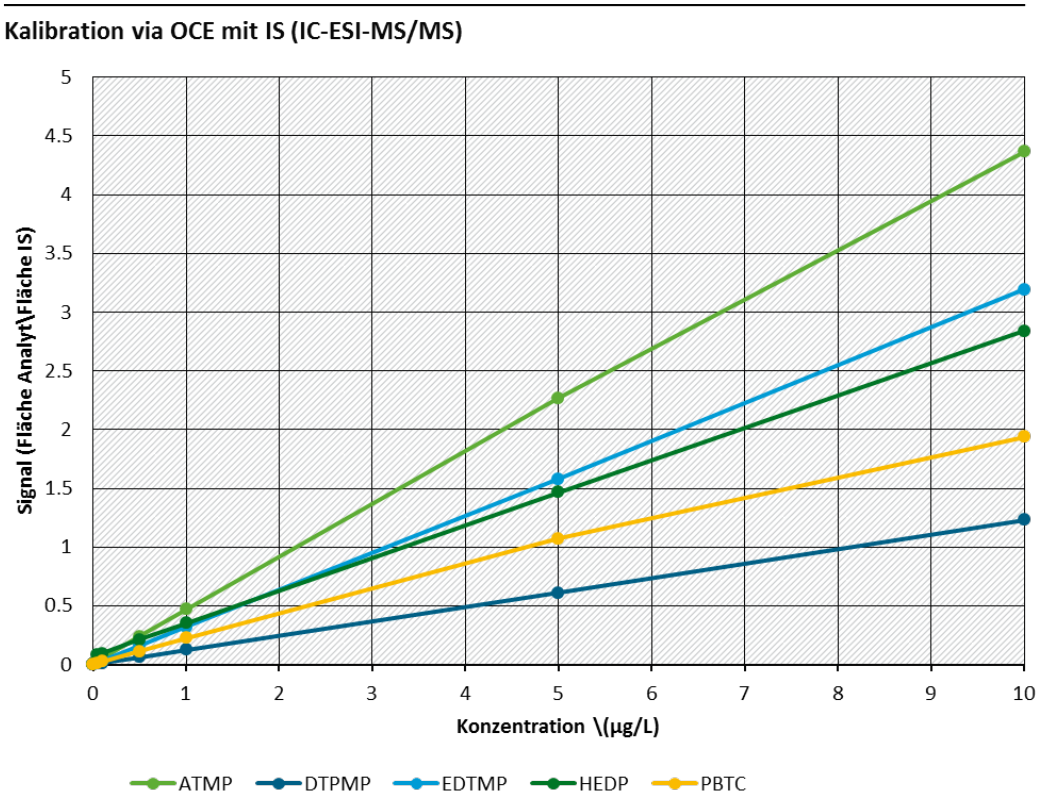
1) Direktinjektion von 25 µL (DIR-Methode)

2) Fünf konsekutive Injektionen von je 100 µL (OCE-Methode)

Die DIR-Methode eignet sich zur Bestimmung von Phosphonatgehalten zwischen 1 µg/L und 200 µg/L aus matrixbelasteten Proben (Abwasserproben), während die OCE-Methode zur Bestimmung zwischen 0,1 µg/L und 10 µg/L von matrixarmen Proben (Flusswasserproben) eingesetzt wird.

Abbildung 51: Kalibration mit IS-Korrektur aus Leitungswasser: DIR und OCE-Methode. y-Achse: Quotient aus der Integralfläche des Analytsignals und der Integralfläche des korrespondierenden IS-Signals.





(Quelle: eigene Daten)

Folgerungen

Die Selektivität der Methode konnte durch Nutzung der ESI-MS/MS-Kopplung deutlich erhöht werden. Dies ist ein großer Vorteil der neuen Methode gegenüber der ICP-MS-Kopplung. Nun haben Co-Elutionen und mäßige Retentionszeitverschiebungen keine großen negativen Auswirkungen auf die Analyse. Besonders in stärker belasteten Proben (Abwasser, Sedimente, Schwebstoffe) ist dies von Vorteil. Über die Einbindung von isotopenmarkierten Internen Standards wird die Richtigkeit der Analyse deutlich erhöht. Dies ist auch deshalb wichtig, da eine stärkere Gerätedrift in der Empfindlichkeit, sowie starke Matrixeffekte bei Abwasserproben und Sedimentextrakten festgestellt wurden. Durch die Einbeziehung der Internen Standards ließen sich durch die OCE-Methode vergleichbare Bestimmungsgrenzen wie mit der IC-ICP-MS-Methode (Schmidt *et al.*) erreichen, ohne dass ein zusätzlicher Anreicherungsschritt erforderlich ist. Aufgrund der vorgefundenen Konzentrationen kann die Quantifizierung der Analyten aus Abwasser per Direktmessung erfolgen.

6.6 Abbauprodukte von Phosphonaten

Die IC-ESI-TOF-Kopplung bietet die Möglichkeit zur Identifizierung potentieller Umwandlungsprodukte von Phosphonaten. Durch die Ermittlung der exakten Masse von unbekannten Stoffen ist es möglich, deren Summenformel zu berechnen. Weiterhin können Ionen fragmentiert und deren Fragmentmuster erfasst werden. Diese Informationen ermöglichen es, erste Aussagen über die chemische Struktur eines Stoffes bzw. von Umwandlungsprodukten zu treffen. Hierbei ist dennoch auf die geringere Empfindlichkeit des ESI-TOF-Detektors hinzuweisen. Da sich bereits der Erwerb einiger Standards kommerziell eingesetzter Phosphonate als schwierig erwies, ist eine kommerzielle Verfügbarkeit von Abbauprodukten unwahrscheinlich. Weiterhin ist die Konzentration von Phosphonat-Abbauprodukten in Gewässern als niedrig einzuschätzen. Die Detektion von Abbauprodukten sollte in stark Phosphonat-belasteten Proben zu erwarten sein.

Über den Abbau von Phosphonaten in der Umwelt existiert eine überschaubare Anzahl von Veröffentlichungen. Als Hauptabbauweg in natürlichen Gewässern wird der photolytische Abbau von Fe(II)- und Mn(II)-Komplexen, sowie der mikrobiologische Abbau im Sediment beschrieben. Der photolytische Abbau des Fe(II)-Komplexes von EDTMP führte zur Bildung von *N*-Methylaminomethylenphosphonsäure (Matthus *et al*., 1989). Als Produkte des oxidativen Abbaus von ATMP in Gegenwart von Mn(II)-Ionen wurden Formiat, Orthophosphat, Imino(dimethylen)phosphonsäure (IMPA) und *N*-Formylimino(dimethylen)phosphonsäure identifiziert (Nowack, 2002b; Nowack und Stone, 2000).

Im Rahmen der Methodenentwicklung konnten erste Indizien für das Auftreten phosphonatartiger Stoffe in Umweltproben, insbesondere in Feststoffextrakten, gefunden werden (Kapitel 6.3). Von den untersuchten Massenübergängen erwies sich der auf das Ion mit m/z 79 (PO_3^-) jeweils am unspezifischsten. Übergänge auf diese Masse wurden bei mehreren Retentionszeiten beobachtet, die nicht ursächlich mit denen der untersuchten Phosphonate übereinstimmen. Besonders auffällig ist dies beim HEDP, das von den projektrelevanten Phosphonaten die geringste Masse aufweist. Anscheinend besitzen verschiedene phosphororganische Verbindungen dieselbe nominale Masse (± 0,5 amu) und bilden das Fragment m/z 79. Diese Beobachtungen unterstützen die Hypothese, dass sich potenzielle Umwandlungsprodukte von Phosphonaten, die auch zur Stoffgruppe der Phosphonsäuren gehören, an diesem Fragment erkennen lassen.

6.7 Probenvorbereitung von Umweltproben

Die Probenvorbereitung für Feststoffproben wurde so gestaltet, dass mit den erhaltenen Extrakten in analoger Weise wie mit einer Wasserprobe verfahren werden kann.

6.7.1 Analyse von wässrigen Proben (Abwasser und Flusswasser)

Erste orientierende Untersuchungen mittels Direktinjektion wurden mit der Standard-Elutionsmethode von Schmidt *et al.* durchgeführt. Dabei lag PBTC in Abwasser und Feststoffproben in Konzentrationen vor, die eine Bestimmung via IC-ESI-TOF zuließen. Für die übrigen Analyten waren die sensitivere Detektion via IC-ESI-MS/MS oder ein Anreicherungsschritt notwendig.

Mittels der IC-ESI-MS/MS Analytik war es möglich, Phosphonate in Abwasserproben mittels Direktbestimmung nach Elutions-Variante II zu quantifizieren. Die Proben wiesen in der Regel ausreichend hohe Gehalte auf und mussten in Einzelfällen sogar verdünnt werden (SOP-02 und 05). Die Flusswasserproben hingegen wiesen mit Ausnahme des HEDP und PBTC meist sehr geringe Gehalte auf (<1 µg/L), die nicht mittels Direktbestimmung ermittelt werden konnten. Aus diesem Grund erfolgte die Quantifizierung der Flusswasserproben mittels der in Kapitel 6.3.3 vorgestellten automatisierten Anreicherung (OCE-Methode; SOP-02 und 03).

6.7.2 Analyse von Feststoffproben (Sediment und Schwebstoffe)

Erste orientierende Ergebnisse der Untersuchung von Sedimentproben vor und nach der Einleitstelle, sowie Schwebstoffproben vor der Einleitstelle im Katzenbach via NaOH- und NaOH-EDTA-Aufschluss sind in Kapitel 6.3 aufgeführt. Orientierend an Literaturquellen wurden verschiedene Probenaufschlusstechniken getestet (Tabelle 16). In der Literatur sind neben der alkalischen Extraktion (mittels NaOH und EDTA) auch saure Aufschlussverfahren beschrieben (Kapitel 5.3.2). Durch die konsekutiven Aufschlussmethoden (Tabelle 16: AS1 und AS2) wurde eine Differenzierung zwischen adsorbiertem Phosphonat (Mobilisierung von der Oberfläche durch NaOH-EDTA) und in die Partikel eingebettetem Phosphonat erhofft (Auflösung des Sediments durch Salzsäure oder Trichloressigsäure). Im Rahmen der Methodenentwicklung wurden mehrere Anläufe zur Etablierung einer alternativen sauren Aufschlussmethode getestet. Alle Varianten führten zu unbrauchbaren Ergebnissen und zu einer dauerhaften Verschmutzung der Trennsäule (SOP-08). Die Trennsäule musste nach solchen Läufen zur Wiederherstellung mit Säure regeneriert werden. Da sich die Extraktion mittels NaOH-NTA jedoch als sehr effektiv erwies, wurde auf den Einsatz von sauren Aufschlussverfahren verzichtet. Sowohl die Proben-

vorbereitung (Mörsern, Sieben, Einwiegen, Dotieren: ca. 10 min; Aufschluss: 2x 1 h, Zentrifugation: 2x 10 min, Überführen, Pipettieren, Resuspendieren: ca. 10 min; Ionentausch: 1 h; zzgl. Vorbereitung und Nacharbeit) als auch die chromatographische Trennung (52 min pro Probe) sind ausgesprochen zeitintensiv.

Tabelle 16: Durchgeführte Probenaufschlusstechniken in Anlehnung an Literaturquellen.

Aufschluss	Medium	Referenz
A1	NaOH (0,5 mol/L)	-
A2	NaOH (0,5 mol/L) und EDTA (0,1 mol/L)	Bowman und Moir, 1993; Cade-Menun *et al.*, 2002
S1	HCl (0,05 mol/L)	Fischer, 2002
S2	HNO_3 (0,05 mol/L)	Fischer, 2002
AS1	NaOH (0,5 mol/L) - HCl (0,5 mol/L) - H_2O - NaOH (0,5 mol/L) - H_2O	Condron *et al.*, 1990
AS2	NaOH (0,5 mol/L) - TCA (0,5 mol/L) - H_2O - NaOH (0,5 mol/L) - H_2O	Hinedi *et al.*, 1987

6.7.2.1 Aufschluss und Auswertung der primär untersuchten Feststoffproben

Die Feststoffproben der Probenahme (PN) 1, 2 und 3 (Neckar bei Stuttgart-Mühlhausen) und PN1 (Körsch bei Stuttgart-Möhringen) wurden entsprechend der im zweiten Zwischenbericht empfohlenen Methode aufgeschlossen: 0,5 g Feststoff (Trockengewicht) wurden im Mörser homogenisiert und mit 0,75 mL HPLC-Wasser und internem Standard versetzt. Nach einer Stunde wurde das Aufschlussreagenz zugefügt und für 1 h im Ultraschallbad (80 kHz, 50 °C) behandelt. Der Aufschluss erfolgte mittels NaOH (0,5 mol/L) und NTA (0,1 mol/L), wobei 0,5 g Feststoff in insgesamt 1,5 mL Extraktionslösung aufgeschlossen wurden. Anschließend wurde die Suspension zentrifugiert (10 min bei 13.000 rpm), die klaren Überstände abpipettiert und einem Ionentausch im Batchverfahren unterzogen. Dabei wurde 0,5 g eines starken Kationentauschers (AG MP-50, Bio-Rad Laboratories GmbH) eingesetzt, der über 10 min in der Probe suspendiert wurde. Nach einem weiteren Zentrifugationsschritt wurden die Überstände in Probengefäße überführt. Bei Annahme einer quantitativen Extraktion und Vernachlässigung möglicher Matrixeffekte entspricht die gemessene Konzentration im Überstand von Feststoffproben (Masse/Volumen) einem Drittel der Konzentration in der Probe. Um die Effizienz der Extraktion abzuschätzen, wurden die Rückstände im Anschluss daran ein zweites Mal extrahiert. Der erste Extrakt wurde quantifiziert, während der zweite Extrakt lediglich der Überprüfung diente, ob nach der ersten Extraktion noch signifikante Analytmengen mobilisiert werden.

Während zu Beginn des Projekts noch die eventuelle Notwendigkeit einer Anreicherung der Phosphonate aus Sediment- und Schwebstoffproben diskutiert wurde, erwiesen sich die Phosphonatgehalte der einfachen Extrakte dieser Proben als überraschend hoch belastet. Dies betrifft besonders die Extrakte der Feststoffe aus Abwässern. Besonders stark vertreten waren die Phosphonate HEDP, PBTC und DTPMP. Die Messwerte der ersten Proben (PN1 bis PN3) lagen teilweise weit oberhalb des linearen Detektorbereichs. Daher wurden die Proben schrittweise verdünnt, bis die Konzentrationen der stärksten Signale im linearen Bereich lagen. Da die Verdünnung alle Analyten betrifft, wurde eine möglichst geringe Verdünnung angestrebt, um alle Stoffe in einer Messung erfassen zu können. Bei zu starker Verdünnung lagen die Gehalte von EDTMP und DTPMP dann teilweise unter der Bestimmungsgrenze. Bei der optimierten Verdünnung von 1:10 (Sediment- und Fluss-Schwebstoffproben) bzw. 1:50 bis 1:100 (Abwasser-Feststoffproben) lagen die meisten der Messergebnisse der beiden Standorte Stuttgart-Mühlhausen und Stuttgart-Möhringen im linearen Bereich.

Da die Verdünnung der Probenextrakte gleichzeitig die Verdünnung des Internen Standards bewirkt, nimmt der Messfehler bei diesem Verfahren zu (Info: Die Internen Standards werden zu den Proben

vor der Extraktion zugegeben). Daher wurde die Extraktionsmethode zur Quantifizierung der folgenden Probensätze angepasst, so dass von Anfang an größere Volumina des Extraktionsmediums im Verhältnis zur Probeeinwaage vorlagen. Damit einher erfolgte eine angepasste Dotierungen des Internen Standards, so dass der Extrakt direkt gemessen werden kann.

Es zeigte sich, dass auch im zweiten Extrakt noch eine signifikante Analytmenge freigesetzt wurde. Die Signalflächen der Folgeextrakte entsprachen zwischen 30 % und 70 % der Signalflächen des ersten Extrakts. Da der Interne Standard jedoch vor der ersten Extraktion zugefügt wurde, war die separate Quantifizierung des zweiten Extrakts nicht möglich. Bei der Auswertung fallen die Ergebnisse der Feststoffproben von PN1-3 (Neckar) und PN1 (Körsch) darum teilweise geringfügig niedriger aus. Für die folgenden Analysen wurde das Extraktionsverfahren optimiert, um zukünftig auch die durch die zweite Extraktion freigesetzten Analytmengen erfassen zu können.

6.7.2.2 Optimierung des Extraktionsverfahrens für die Feststoffproben

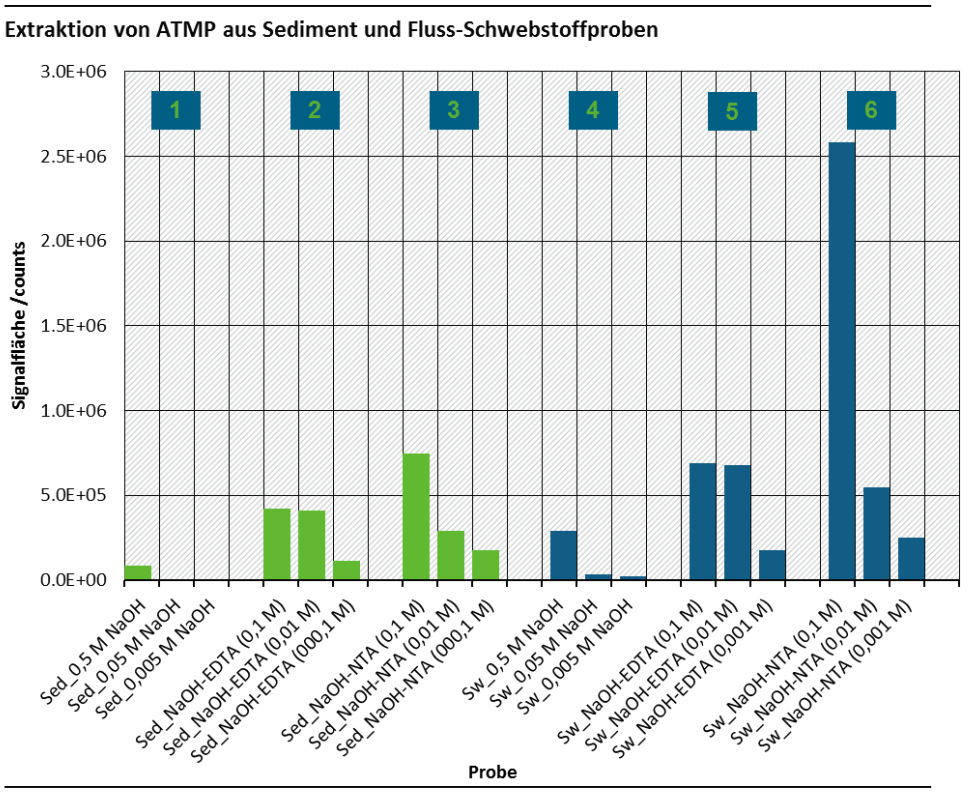
Um ab PN4 Neckar bei Stuttgart-Mühlhausen bzw. PN1 bei Stuttgart-Möhringen die Verdünnung der Feststoffextrakte zu umgehen und direkt quantifizierbare Extrakte zu erhalten, wurde die Feststoffextraktion charakterisiert und optimiert. Das Verfahren wurde gleichzeitig so angepasst, dass die durch den ersten und zweiten Extraktionsschritt freigesetzten Analytmengen durch eine einzige Messung erfasst werden können. Weiterhin wurde überprüft, ob es möglich ist, den bei der Chromatographie störenden Komplexbildner EDTA in geringerer Konzentration einzusetzen oder durch die weniger störende Nitrilotriessigsäure (NTA) zu ersetzen. Für die Versuche während der Methodenentwicklung wurde eine moderat belastete Sedimentprobe ausgewählt.

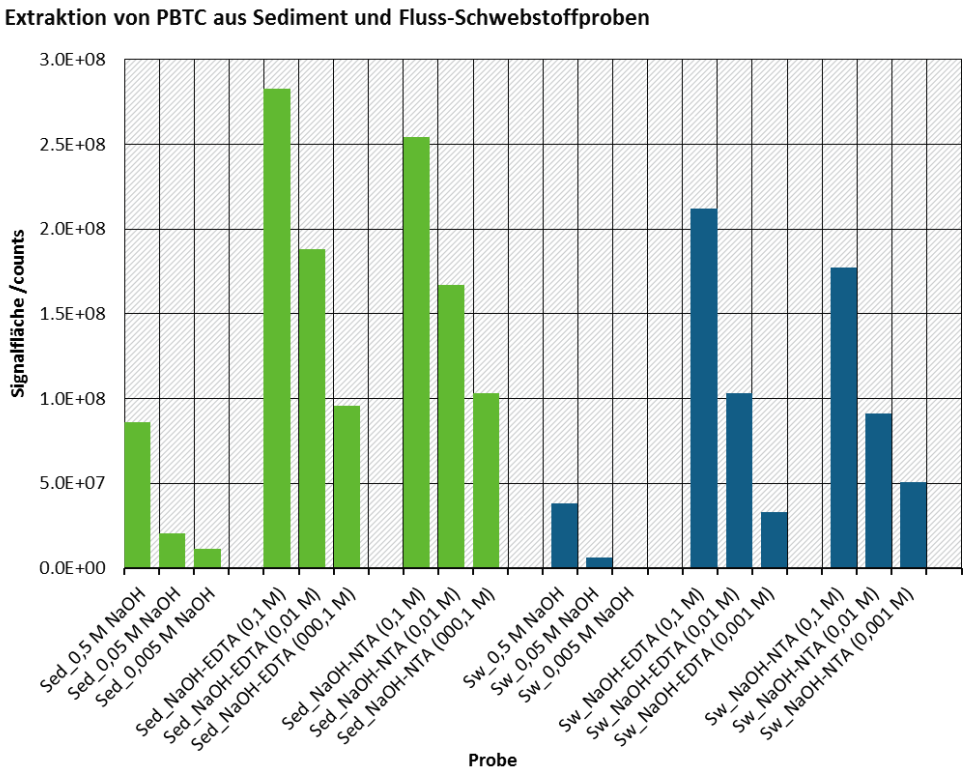
6.7.2.3 Vergleich der Einfach-Extraktion mit unterschiedlichen Extraktionsmitteln

Es wurden zunächst Einfach-Extraktionen von Schwebstoff- und Sedimentproben nach dem primären Protokoll durchgeführt: 0,5 g Feststoff werden mit 1,5 mL Aufschlussmedium extrahiert. Zur Auswertung erfolgt ein Vergleich der Analyt-Integralflächen. Natronlauge ohne Komplexbildner wurde in Konzentrationen von 0,5 mol/L, 0,05 mol/L und 0,005 mol/L eingesetzt. Bei kombinierter NaOH-EDTA- oder NaOH-NTA-Extraktion lag die NaOH-Konzentration konstant bei 0,5 mol/L. In diesen Proben wurden dafür die Konzentrationen der zusätzlichen Komplexbildner variiert (0,1 mol/L, 0,01 mol/L, 0,001 mol/L). Die beste Extraktionseffizienz wurde jeweils bei der höchsten NaOH-Konzentration bzw. bei 0,5 mol/L NaOH in Kombination mit der höchsten Konzentration des Komplexbildners (0,1 mol/L) festgestellt. Noch höhere Konzentrationen des Komplexbildners konnten nicht eingesetzt werden, da sie die Chromatographie stören würden.

Die Ergebnisse der Extraktion von ATMP (als Repräsentant für die Gruppe der Aminomethylenphosphonsäuren) und von PBTC aus Schwebstoff- und Sedimentproben sind in Abbildung 52 graphisch dargestellt. In einigen Fällen eignet sich EDTA besser (z. B. beim PBTC), in anderen Fällen NTA (z. B. beim ATMP). Generell verhält sich die Extraktionseffizienz durch den Einsatz der beiden Komplexbildner aber ähnlich. Dabei lieferten die Kombinationen NaOH-NTA und NaOH-EDTA vergleichbare Ergebnisse und mobilisierten größere Analytmengen als nur NaOH.

Abbildung 52: Ausbeuten der Einfachextraktion von Sedimentproben (Sed; grün) und Fluss-Schwebstoffproben (Sw; blau). Dreierblöcke jeweils v.l.n.r. zeigen NaOH-, NaOH-EDTA-, NaOH-NTA-Extraktion; NaOH-Gruppen: NaOH-Konzentration variiert (0,5 mol/L, 0,05 mol/L, 0,005 mol/L); NaOH-EDTA & NaOH-NTA-Gruppen: NaOH-Konzentration konstant bei 0,5 M, Konzentration des zusätzlichen Komplexbildners variiert (0,1 mol/L, 0,01 mol/L, 0,001 mol/L).



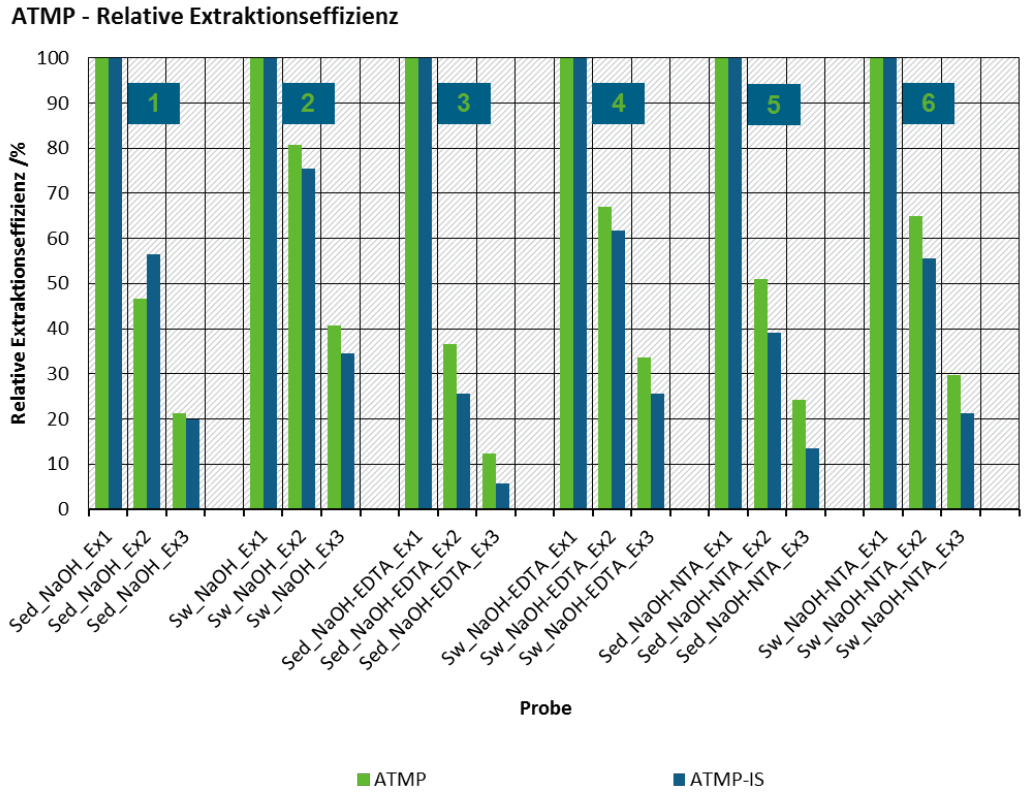


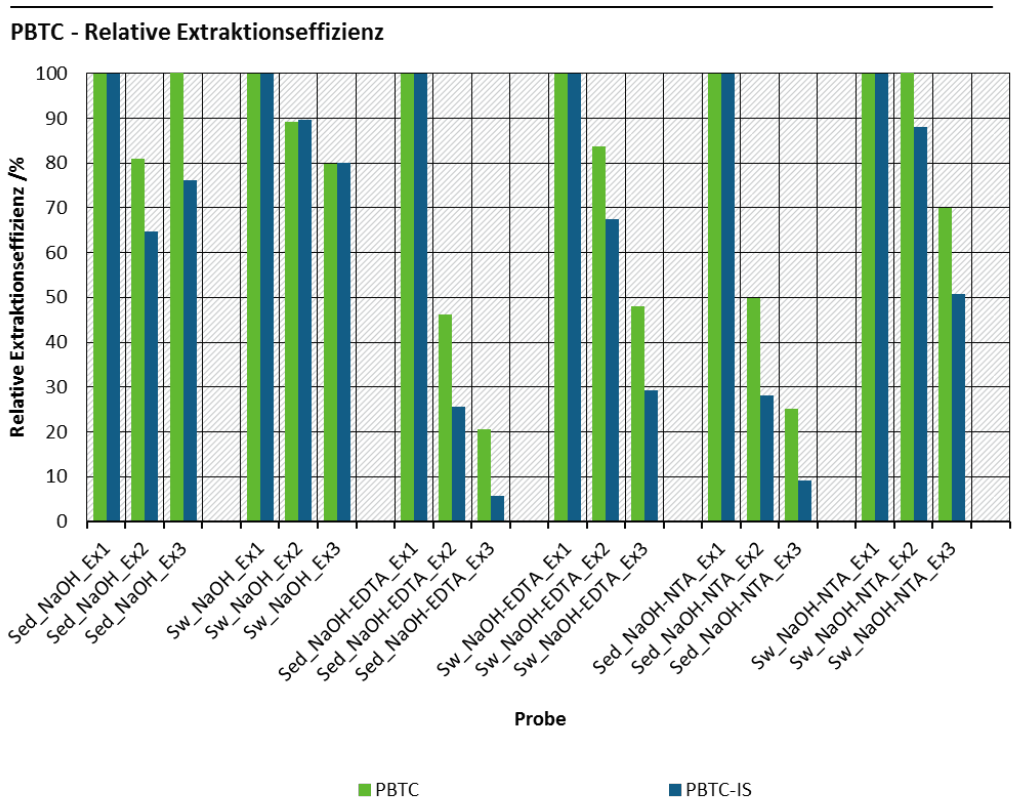
(Quelle: eigene Daten)

6.7.2.4 Vergleich der Dreifach-Extraktion mit optimierten Extraktionsmitteln

Ergänzend zu den gezeigten Extraktionsversuchen wurden auch Dreifachextraktionen von Schwebstoff- und Sedimentproben durchgeführt. Hierbei wurden als Extraktionsmedien Natronlauge (0,5 mol/L) in Kombination mit EDTA oder NTA (jeweils 0,1 mol/L) eingesetzt. Die Extraktion erfolgte nach dem früheren Protokoll unter Verwendung von 0,5 g Feststoff und 1,5 mL Aufschlussmedium. Der Feststoff wurde vor der Extraktion mit Internem Standard dotiert. Zum Vergleich der Extraktionseffizienz von Analyt und IS wurden die Integralflächen des ersten Extrakts jeweils auf 100 % normiert. Die Flächen der zweiten und dritten Extraktion wurden hierzu in Relation gesetzt (Abbildung 53; Analyt in grün, IS in blau). In der zweiten Extraktion werden noch signifikante Mengen an Analyten mobilisiert (zwischen 30 % und 70 % der Signalfläche des vorherigen Extraktes). Die Extraktionseffizienz des Analyten korreliert zudem gut mit der Extraktionseffizienz des entsprechenden IS. Die absoluten Analytmengen wurden nicht quantifiziert. Aus den Experimenten konnte aber abgeleitet werden, dass eine einfache Extraktion nicht ausreichend ist. Aufgrund der hohen Analytgehalte lagen die Signalintensitäten mit Ausnahme des EDTMP bei den ersten Extrakten außerhalb des linearen Detektorbereichs. Aus diesem Grund wurde eine erneute Anpassung des Extraktionsverfahrens nötig, wobei eine geringere Einwaage bzw. ein größeres Volumen des Extraktionsmediums einzusetzen war. Im Vergleich der untersuchten Matrices geht außerdem hervor, dass die Extraktionseffizienz bei Schwebstoffen etwas geringer ist als die bei Sedimentproben.

Abbildung 53: Effizienz dreier konsekutiver Extraktionen von ATMP, PBTC und dem korrespondierenden Internen Standard aus Sediment (Sed) und Fluss-Schwebstoff (Sw); 3er-Blöcke 1 und 2 = 0,5 mol/L NaOH; 3er Blöcke 3 und 4 = 0,5 mol/L NaOH + 0,1 mol/L EDTA; 3er Blöcke 5 und 6 = 0,5 mol/L NaOH + 0,1 mol/L NTA.





(Quelle: eigene Daten)

6.7.2.5 Dreifach-Extraktion von Sediment und Abwasser-Feststoff mit optimiertem Extraktionsvolumen

Die Feststoffproben (0,5 g Sediment bzw. 0,05 g Abwasser-Feststoff) wurden mit 15 mL Extraktionsmedium (0,5 mol/L NaOH mit 0,1 mol/L NTA) versetzt. Die neuen Verhältnisse haben sich ergeben, da bei den vorherigen Versuchen eine 10-fache Verdünnung der Fluss-Schwebstoff- und Sedimentproben erforderlich war. Bei Abwasser-Feststoffproben war sogar eine 50-fache bis 100-fache Verdünnung nötig. Der volumenoptimierte Aufschluss sollte diesen Verdünnungsschritt überflüssig machen.

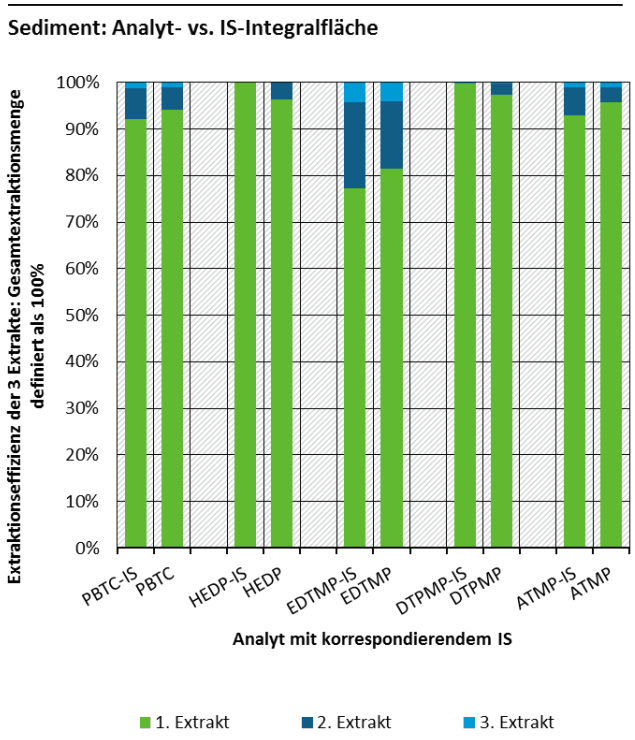
Aus den Vorversuchen kann geschlossen werden, dass sich Fluss-Schwebstoffe und Sedimente ähnlich verhalten und vergleichbare Gehalte an Phosphonaten aufweisen. Dagegen werden in Abwasser-Feststoffproben deutliche Unterschiede festgestellt. Es handelt sich um eine faserige Probenmatrix, die ca. 10-fach höhere Gehalte gegenüber den zu Projektbeginn untersuchten Sediment- und Fluss-Schwebstoffproben enthält.

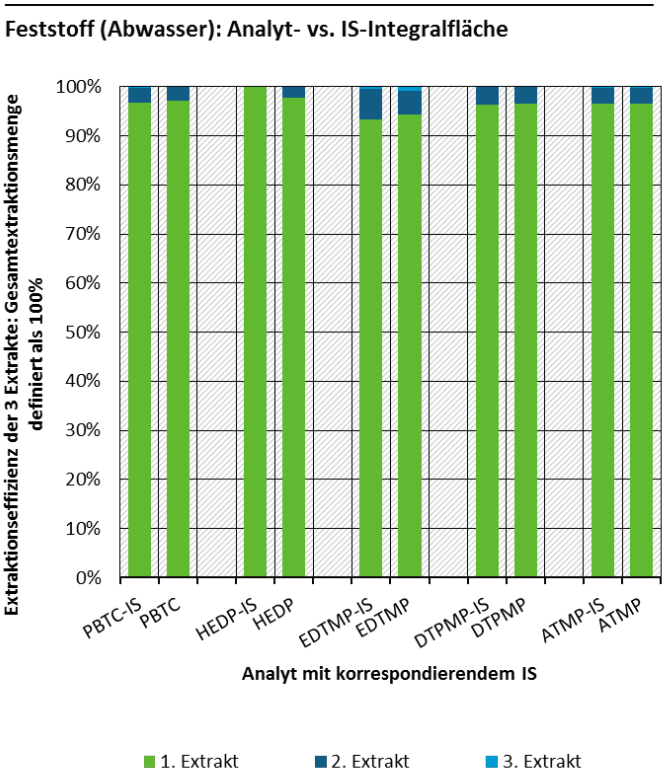
Zum Methodenvergleich der Dreifachextraktionen wurden eine stark belastete Sedimentprobe und eine Abwasser-Feststoffprobe ausgewählt. In diesem Experiment wurden die absoluten Analytgehalte über das Verhältnis zum Internen Standard bestimmt. Hierzu wurden zwei Verfahren miteinander verglichen:

- Variante 1 (ähnlich der SOP-06 bzw. SOP-07):
  Der Interne Standard wurde vor der Extraktion zum Sediment gegeben. Die Gehaltsbestimmung erfolgte nach Vereinigung aller Extrakte: Hierüber wurde der erste Extrakt durch Zugabe gleicher Volumina des zweiten und dritten Extrakts zwar verdünnt, aber in gleichem Maße erfuhr dies auch der Interne Standard. Da über das Verhältnis des Internen Standards zum Analyten quantifiziert wurde, blieb die Proportionalität erhalten.
- Variante 2:
  Die Zugabe des Internen Standards zum Überstand erfolgte erst nach der Abtrennung vom Feststoff. Über dieses Verfahren konnte der absolute Gehalt der Phosphonate in den drei Extrakten separat ermittelt werden. Es wurden ähnliche Ergebnisse erhalten (Tabelle 17), aber Adsorptions-/Desorptionsgleichgewichte des Internen Standards und der Analyten an die Feststoffphase (wie bei der ersten Variante) blieben bei diesem Verfahren unberücksichtigt.

Der Einsatz eines größeren Volumens an Extraktionslösung gegenüber der Probeneinwaage führte, wie erhofft, zu verbesserter Extraktionseffizienz. Das Verhältnis der Signalflächen von Analyt und korrespondierendem IS nach Extraktionsvariante 1 ist in Abbildung 54 (relative Extraktionseffizienz von IS und Analyt) aufgetragen. Im ersten Extrakt machte die Integralfläche des extrahierbaren Phosphonats beim EDTMP > 80 % und bei allen anderen Analyten > 90 % der Gesamtintegralfläche aller drei Extraktionen aus. Beim EDTMP wurden in den ersten beiden Extrakten > 95 %, bei allen anderen Phosphonaten > 98 % der Gesamtintegralfläche festgestellt. Durch die dritte Extraktion wurden lediglich noch sehr geringe Signale erhalten. Gleichzeitig wiesen die Extrakte Analytgehalte auf, die die direkte Bestimmung ohne zusätzliche Verdünnungsschritte ermöglichte. Bei den Extraktionen wurden stets gute Korrelationen zwischen Analyt und Internem Standard gefunden. Für die nachfolgenden Feststoffextraktionen wurden stets zwei Extraktionsschritte vorgenommen (SOP-06 und SOP-07). In Abbildung 56 sind die in den drei Extrakten nach Extraktionsvariante 2 separat bestimmten absoluten Analytmengen aufgetragen.

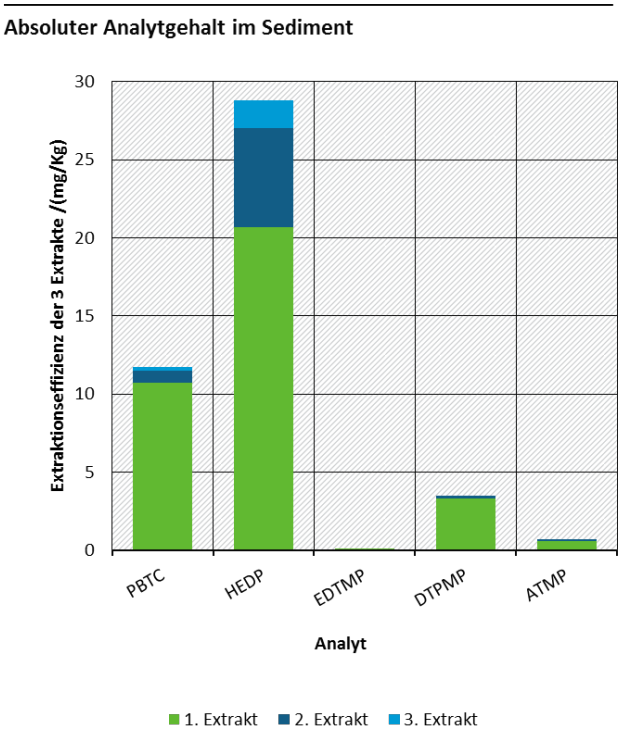
Abbildung 54: Relative Extraktionseffizienz der drei Extraktionsschritte einer Sediment und einer Abwasser-Feststoffprobe nach Variante 1: Auftragung der Integralflächen von Analyt und korrespondierendem IS. Die aufsummierten Integrale von Extrakt 1, 2 und 3 wurden als 100 % definiert.

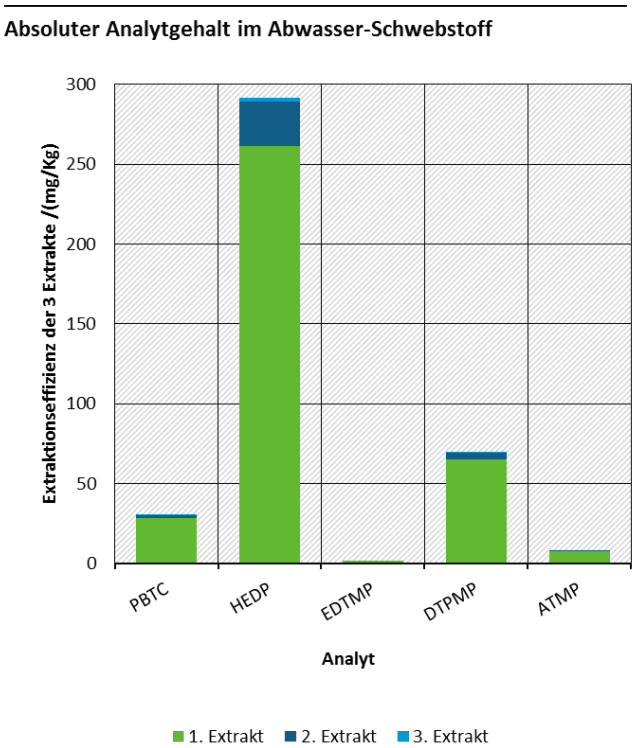




(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 55: Absolute Analytmengen in den drei Extraktionsschritten einer Sediment und einer Abwasser-Feststoffprobe nach Variante 2 (Angaben in mg/kg lyophilisiertem Feststoff). Konzentrationsreihenfolge im Sediment HEDP > PBTC > DTPMP > ATMP > EDTMP; im Abwasser-Feststoff: HEDP > DTPMP > PBTC > ATMP > EDTMP. Die Gehalte von EDTMP und HEMPA lagen in einem Bereich nahe der Bestimmungsgrenze.





(Quelle: eigene Daten)

Gegenüber der Sedimentprobe wurden deutlich höhere Phosphonatgehalte in der Abwasser-Feststoffprobe gefunden. An PBTC wurden 2,6-fach, an ATMP 13-fach, an HEMPA 14-fach und an EDTMP und DTPMP 20-fach höhere Gehalte detektiert.

Aus dem Vergleich des Analytgehalts in den vereinten Extrakten nach Variante 1 und der Quersumme des Analytgehalts in den separat quantifizierten Extrakten nach Variante 2 ergeben sich die in Tabelle 17 gegenübergestellten Befunde (Angaben in mg/kg). Die Abweichungen von bis zu 30 % erklären sich wahrscheinlich durch die Adsorptions- und Desorptionsgleichgewichte des Internen Standards und der Analyten an der Feststoffoberfläche, die lediglich bei Variante 1 berücksichtigt werden.

Tabelle 17: Gegenüberstellung der Befunde durch die Quantifizierung von Sediment und Abwasser-Feststoffen nach Variante 1 (Zugabe des Internen Standards zum Sediment vor der Extraktion und Quantifizierung der vereinten Extrakte) und Variante 2 (Zugabe des Internen Standards zu den einzelnen Extrakten nach der Extraktion und separate Quantifizierung der Gehalte der einzelnen Extrakte).

Extraktionsverfahren	PBTC / (mg/kg)	HEDP / (mg/kg)	EDTMP / (mg/kg)	DTPMP / (mg/kg)	ATMP / (mg/kg)
Sediment Extr. 1 (V2)	10,7	20,7	0,1	3,3	0,6
Sediment Extr. 2 (V2)	0,8	6,3	<BG	0,2	0,1
Sediment Extr. 3 (V2)	0,2	1,8	<BG	<BG	<BG
Summe der Einzelextraktionen (V2)	**11,6**	**28,7**	**0,1**	**3,5**	**0,6**
Vereinte Extrakte (V1)	**13,0**	**22,5**	**<BG**	**4,5**	**0,6**
Abweichung (in %)	12,0	-21,6	-	29,3	-1,7
Abw. Schwebst. Extr. 1 (V2)	28,5	261,0	1,5	65,1	7,6
Abw. Schwebst. Extr. 2 (V2)	1,3	28,4	<BG	4,1	0,3
Abw. Schwebst. Extr. 3 (V2)	0,1	2,4	<BG	0,2	<BG
Summe der Einzelextraktionen (V2)	**30,0**	**291,9**	**1,5**	**69,4**	**8,0**
Vereinte Extrakte (V1)	**29,3**	**327,0**	**<BG**	**60,6**	**7,8**
Abweichung (in %)	-2,0	12,0	-	-12,6	-2,5

6.8 Herausforderungen bei der Methodenentwicklung

Die Methodenentwicklung stieß auf verschiedene im Folgenden erläuterte Herausforderungen, die schließlich erfolgreich gelöst werden konnten. Der Umgang mit Calcium-belasteten Proben, sowie Matrixeffekten und Störsubstanzen stellte dabei besonders wichtige Aspekte dar.

6.8.1 Hohe Calcium-Konzentrationen

Beim Aufschluss des Sediments gehen Calcium und andere Metallkationen (z. B. Magnesium) in die Aufschlusslösung über. Je höher die Konzentration dieser Kationen ausfällt, desto stärker zeigt sich ein negativer Einfluss auf die Chromatographie. Dieser macht sich durch Verschiebungen der Retentions-

zeiten, Verschleppungen zwischen den Läufen, Verbreiterung bzw. Verschmieren der chromatographischen Signale (betrifft besonders HEDP), Peaksplitting (betrifft v. a. EDTMP, DTPMP, seltener auch PBTC und HEDP), sowie eine deutliche Verschlechterung der Bestimmungsgrenzen bemerkbar.

Die Probleme traten besonders deutlich bei Tests mit den sauren Aufschlussverfahren (SOP-08) in Erscheinung, weshalb die untersuchten Proben schließlich alkalisch aufgeschlossen wurden (mittels NaOH- und NTA-Zusatz). Gelangt auch nur ein einziges Mal ein Überschuss an Calciumionen auf die Trennsäule, sind auch die Resultate der nachfolgenden Läufe davon betroffen. Die Säule muss zur Wiederherstellung durch zeitintensive Spülschritte regeneriert werden.

6.8.2 Matrixeffekte und Störsubstanzen

Unabhängig von der Calcium-Problematik üben die unterschiedlichen Matrices (Oberflächenwasser, Abwasser, Extrakte von Fluss-Sediment, Fluss-Schwebstoff und Abwasser-Feststoff) einen Einfluss auf die Chromatographie aus. Dieser betrifft sowohl die Retentionszeit als auch die Signalintensität. Weiterhin finden sich in den Proben phosphonatähnliche Substanzen (d. h. sie weisen eine sehr hohe Affinität zum Anionentauschermaterial der Chromatographiesäule auf und eluieren im gleichen Zeitfenster wie die Analyte), die sowohl teilweise dasselbe nominale Molekulargewicht wie die Zielanalyten aufweisen als auch Fragmente mit derselben Nominalmasse liefern. Die hochauflösende ESI-TOF-Detektion ermöglichte die Differenzierung dieser Stoffe, nicht jedoch die sensitive Tandem-MS-Analytik. Bei matrixbedingten Retentionszeitverschiebungen und der gleichzeitigen Gegenwart dieser Störsubstanzen ist die korrekte Identifizierung der Analyten nicht gewährleistet. Aus diesem Grunde wurden die zu Projektbeginn noch fehlenden isotopenmarkierten Phosphonate HEDP und PBTC zur Verwendung als Interne Standards (IS) synthetisiert (Eigensynthese: HEDP-D_3 bzw. PBTC-$^{13}C_3$). Durch Nutzung der isotopenmarkierten Standards für alle untersuchten Phosphonate gelingt die Analyse auch bei Retentionszeitverschiebungen und matrixbelasteten Proben.

7 Eingesetzte Verfahren der Probenvorbereitung und Analytik

7.1 Abfluss der Flüsse

Die Durchflüsse der Kläranlagen zum Zeitpunkt der Probenahmen wurden bei den Betreibern der Kläranlagen erfragt. Bei jeder Neckarprobenahme wurde der Wasserstand unterhalb der Staustufe Hofen anhand eines sich dort befindlichen Lattenpegels (GPS: 48.838982, 9.225984) notiert. Hier befand sich ebenfalls die Anlegestelle für das Schlauchboot für die Sedimentprobengewinnung. Im nahen Umkreis der Probenahmestellen wird der Durchfluss offiziell nicht erfasst. Die nächstgelegene Durchflussmessung von behördlicher Seite geschieht in Plochingen ca. 30 km unterstrom der Staustufe Hofen. Bis zu dieser Stelle weist der Neckar jedoch zahlreiche Zu- und Abflüsse auf, weshalb es sinnvoller war, anhand der abgelesenen Werte des Lattenpegels den Durchfluss abzuschätzen. Bei Annahme, die Höhe des Pegels (h) verhält sich proportional zum Abfluss, konnte unter Annahme einer Fließgeschwindigkeit von ca. 1 m/s (Angabe des Wasserstraßen- und Schifffahrtsamts Stuttgart) und der Flussbreite von 130 m (vereinfachte Annahme eines Rechteckquerschnitts) der Durchfluss mittels folgender Gleichung berechnet werden. Der errechnete Wert ist allerdings nur ein Anhaltswert.

$$Q = 1\frac{m}{s} \times h[m] \times 130\ m$$

Zur Abflussbestimmung der Körsch wurde zwischen der Körschstichprobenahme vor und hinter der Kläranlageneinleitstelle (KA: Kläranlage) auch stets eine Stichprobe des Kläranlagenablaufs genommen (zusätzlich zur 24-h-Mischprobe). Sowohl die Körschproben als auch die Kläranlagenstichprobe wurden auf die in Abschnitt 3.1 genannten Parameter hin analysiert (c). Ferner wurde der Kläranlagendurchfluss zum Stichprobenzeitpunkt erfragt (Q_{Ablauf}). Mithilfe einer Mischungsrechnung konnte gemäß folgenden Gleichungen der Durchfluss der Körsch berechnet werden. Für c konnte die Konzentration eines beliebigen Parameters, der für alle Ströme bestimmt worden war, eingesetzt werden (z. B. Gesamt-P oder CSB).

$$c_{Körsch,vorKA} \times Q_{Körsch,vorKA} + c_{Ablauf} \times Q_{Ablauf} = c_{Körsch,hinterKA} \times Q_{Körsch,hinterKA}$$

$$Q_{Körsch,hinterKA} = Q_{Ablauf} + Q_{Körsch,vorKA}$$

$$Q_{Körsch,vorKA} = Q_{Ablauf} \frac{c_{Körsch,hinterKA} - c_{Ablauf}}{c_{Körsch,vorKA} - c_{Körsch,hinterKA}}$$

7.2 pH-Wert und elektrische Leitfähigkeit

Der pH-Wert wurde mithilfe der WTW pH-Elektrode SenTix 41 unter Verwendung des Messgeräts WTW pH 340i bestimmt. Die elektrische Leitfähigkeit wurde mithilfe der WTW Messsonde TetraCon 325 unter Verwendung des Messgeräts WTW Multi 350i ermittelt.

7.3 Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)

Der CSB wurde mithilfe des HachLange-Küvettenschnelltests LCK 1414 ($\beta(O_2)$ = 5 mg/L bis 60 mg/L), LCK 614 ($\beta(O_2)$ = 50 mg/L bis 300 mg/L) und LCK 514 ($\beta(O_2)$ = 100 mg/ bis 2.000 mg/L) unter Verwendung des HachLange-Photometers DR2800 bestimmt. Der zweistündige Aufschluss bei 148 °C erfolgte entweder im HachLange-Thermostat HT200S oder im HachLange-Thermostat LT200.

7.4 Feststoffkonzentration

Die Bestimmung der Feststoffkonzentration der Kläranlagenzuläufe erfolgte gemäß DIN 38409-2:1987-03 („Bestimmung der abfiltrierbaren Stoffe“: Filtration eines bestimmten Probenvolumens mittels Cellulose-Nitrat-Filter mit 0,45 µm Porenweite; Wiegung des trockenen Filters mittels Feinwaage vor und nach der Benutzung; Bildung des Quotienten aus Beladung des Filters und Probenvolumen).

Für die Bestimmung der Schwebstoffkonzentration im Fluss wurde das für die Schwebstoffgewinnung zentrifugierte Wasservolumen notiert. Der Quotient aus der Masse (nach Gefriertrocknung) der gewonnenen Schwebstoffe und diesem Volumen ergab die Schwebstoffkonzentration dieser Probe.

7.5 Phosphor (Gesamt-P, Gelöst-P, o-PO_4-P, GUP, PP)

Phosphorkonzentrationen oberhalb von 0,05 mg/L wurden mithilfe der HachLange-Küvettenschnelltests LCK 349 (β(P) = 0,05 mg/L bis 1,50 mg/L), LCK 348 (β(P) = 0,5 mg/L bis 5,0 mg/L), LCK 350 (β(P) = 2 mg/L bis 20 mg/L) unter Verwendung des HachLange-Photometers DR2800 bestimmt. Für die Bestimmung des Gesamt-P wurden die Proben zwei Stunden lang bei 120 °C im Heizblock (HachLange HT200S oder HachLange LT200) aufgeschlossen. Messwerte β(P) < 0,05 mg/L wurden gemäß DIN 6878 ermittelt (Gesamt-P: Einstündiger Aufschluss mittels $H_2SO_4/K_2S_2O_8$ im Erlenmeyerkolben bei leichter Hitze; pH-Erhöhung mit NaOH auf 3 bis 10; Zugabe von Ascorbinsäure- und Molybdat-Lösung für die Bildung eines blauen Farbkomplexes. PO_4-P: Direkte Zugabe von Ascorbinsäure- und Molybdat-Lösung für die Bildung eines blauen Farbkomplexes. Bestimmung der Extinktion des blauen Farbkomplexes bei 880 nm Wellenlänge mithilfe einer 10-cm-Messküvette mittels UV/VIS-Photometer Jasco V-550).

Die Konzentration (β) des Gelöst-P entspricht der Gesamt-P-Konzentration in der membranfiltrierten Probe (0,45 µm Porenweite). Die o-PO_4-P-Konzentration wurde ebenfalls in der membranfiltrierten Probe bestimmt. Die Konzentration der partikulären Phosphorfraktion (PP) entspricht der Differenz aus Gesamt-P und Gelöst-P. Die Konzentration der gelösten unreaktiven Phosphorfraktion (GUP) entspricht der Differenz aus Gelöst-P und o-PO_4-P:

$$\beta(\text{PP}) = \beta(\text{Gesamt-P}) - \beta(\text{Gelöst-P})$$

$$\beta(\text{GUP}) = \beta(\text{Gelöst-P}) - \beta(\text{o-PO}_4\text{-P})$$

7.6 Methoden der Probenvorbereitung zur Phosphonat-Analytik

Die während des Projekts in Abwasserproben vorgefundenen Phosphonatgehalte erlaubten die Direktbestimmung nach Filtration, Dotierung mit internem Standard und Kationentausch der Probe (SOP-05). Zur Bestimmung der Oberflächenwasserproben (SOP-03) wurde nach der Dotierung mit verdünntem Internem Standard und Kationentausch eine automatische Anreicherung auf der Chromatographiesäule durchgeführt.

Feststoffproben wurden zunächst homogenisiert, mit Internem Standard versetzt und anschließend durch ein Extraktionsmedium mit Natriumhydroxid und NTA für 1 h bei 50 °C im Ultraschallbad aufgeschlossen. Nach Zentrifugation und Abtrennung des Überstands erfolgte ein weiterer Extraktionsschritt. Die Überstände wurden zu gleichen Teilen vereint und nach dem Kationentausch mittels Direktbestimmung quantifiziert. Da die Fluss-Schwebstoffproben Phosphonatgehalte in ähnlicher Größenordnung wie die Fluss-Sedimente aufwiesen, wurden die Proben gleichermaßen aufbereitet (Einwaage: 0,5 g; SOP-06). Die Abwasser-Feststoffproben enthielten meist deutlich höhere Gehalte und wurden unter Einsatz eines Zehntels der Einwaage nach analogem Verfahren aufbereitet (0,05 g; SOP-07).

7.7 Phosphonat-Analytik per IC-ESI-MS/MS

Die Analytik erfolgte via Anionentauschchromatographie in Anlehnung an die durch Schmidt *et al.* (2013) etablierte Methode. Zur Erhöhung der Signalintensität bei der ESI-MS/MS-Detektion und zum Schutz der Säule vor organischen Verunreinigungen wurde dem Eluenten konstant 20 % Methanol zugeführt. In die Methode wurde ein zehnminütiger Wasch-Schritt bei verdünntem Eluenten (18 mmol/L) unmittelbar nach der Injektion implementiert. Dieser diente der chromatographischen Abtrennung von störenden Kationen mit niedriger Ladung sowie NTA aus dem Extraktionsmedium der Feststoffproben. Der Eluentstrom wurde während der ersten 21 min der Chromatographie verworfen und anschließend, zeitgleich mit dem Ende der Elution des NTA und der Elution des ersten Phosphonats, dem Massenspektrometer zugeführt. Diese Chromatographie wurde für alle Proben einheitlich angewandt (SOP-02). Während die Abwasserproben und die Feststoffextrakte die Bestimmung der Analyten per Direktmessung bei einem Injektionsvolumen von 25 µL zuließen, wurden die Flusswasserproben mithilfe eines automatisierten Anreicherungsverfahrens unter Durchführung multipler Injektionen (5 x 100 µL) bei verdünntem Eluentfluss auf der Chromatographiesäule angereichert. Die Analytik erfolgte jeweils unter Einbindung von Internem Standard, der den Proben während der Probenvorbereitung entsprechend der jeweiligen SOP zugegeben wurde.

8 Herausforderungen bei den Probenahmen

8.1 Flüssigproben, Sedimentproben

Die Gewinnung von Flüssig- und Sedimentproben lief ohne große Probleme ab. Tabelle 18 bietet eine Übersicht über die Zeitpunkte der Stichprobenahmen im Neckar und in der Körsch und die daraus errechnete Dauer zwischen den Probenahmen ober- und unterstrom der Kläranlageneinleitstellen. Gemäß den überschlägigen Berechnungen in den Abschnitten 3.2.2 und 0 sollte zwischen diesen beiden Probenahmen im Neckar eine Dauer von ungefähr 70 min herrschen, während in der Körsch die Dauer zwischen 40 min und 60 min betragen sollte. Es ist zu erkennen, dass bei den ersten Neckarbeprobungen anfängliche Schwierigkeiten und unvorhergesehene Herausforderungen (Defekt der Tauchpumpe; mehrmalige Anfahrt zur entlegenen Probenahmestelle, da der Anhänger nur den Transport von einem IBC ermöglichte) noch zu längeren Zeiträumen zwischen den beiden Probenahmen führten (150 min bis 240 min). Durch den Einsatz eines LKWs ab der dritten Neckarprobenahme, der den Transport von zwei IBCs gleichzeitig ermöglichte, konnte diese Dauer auf den erstrebenswerten Zeitraum von 60 min gekürzt werden. Die Körschbeprobungen fielen überwiegend in den angestrebten Zeitrahmen. Dies war insofern einfacher zu bewerkstelligen, da der Standort S-Möhringen nur 10 km vom ISWA entfernt lag, während der Standort S-Mühlhausen 20 km entfernt war.

Tabelle 18: Zeitpunkte der Stichprobenahmen im Neckar und in der Körsch.

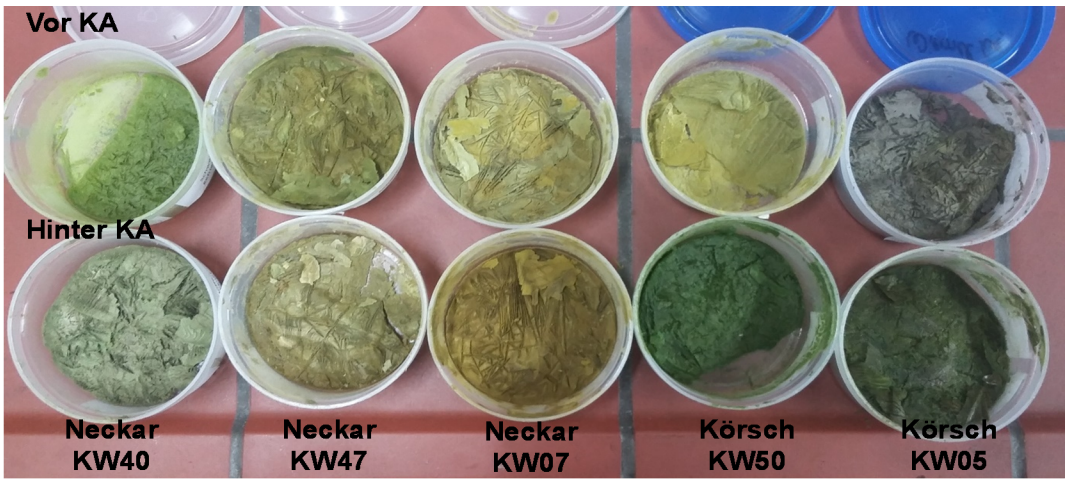
Proben-Nr.	Datum	Stichprobe vor Einleitung	Stichprobe hinter Einleitung	Zeitraum
Neckar 1	02.08.2016 (KW31)	13:15 Uhr	15:45 Uhr	150 min
Neckar 2	04.10.2016 (KW40)	10:00 Uhr	14:00 Uhr	240 min
Neckar 3	22.11.2016 (KW47)	09:40 Uhr	11:20 Uhr	100 min
Neckar 4	14.02.2017 (KW07)	09:40 Uhr	11:20 Uhr	100 min
Neckar 5	28.03.2017 (KW13)	10:00 Uhr	11:00 Uhr	60 min
Neckar 6	09.05.2017 (KW19)	09:40 Uhr	11:00 Uhr	80 min
Neckar 7	06.06.2017 (KW23)	09:40 Uhr	10:25 Uhr	45 min
Neckar 8	11.07.2017 (KW28)	08:50 Uhr	09:40 Uhr	50 min
Neckar 9	19.09.2017 (KW38)	08:35 Uhr	09:20 Uhr	45 min
Neckar 10	24.10.2017 (KW43)	09:45 Uhr	10:20 Uhr	35 min
Körsch 1	12.12.2016 (KW50)	10:45 Uhr	11:30 Uhr	45 min
Körsch 2	31.01.2017 (KW05)	10:30 Uhr	12:30 Uhr	120 min
Körsch 3	29.03.2017 (KW13)	10:20 Uhr	11:00 Uhr	40 min
Körsch 4	02.05.2017 (KW18)	09:50 Uhr	10:40 Uhr	50 min
Körsch 5	07.06.2017 (KW23)	09:40 Uhr	10:55 Uhr	75 min
Körsch 6	11.07.2017 (KW28)	13:25 Uhr	14:25 Uhr	60 min
Körsch 7	16.08.2017 (KW33)	09:30 Uhr	10:00 Uhr	30 min
Körsch 8	19.09.2017 (KW38)	13:45 Uhr	14:10 Uhr	25 min
Körsch 9	24.10.2017 (KW43)	13:20 Uhr	14:10 Uhr	50 min
Körsch 10	28.11.2017 (KW48)	10:45 Uhr	11:15 Uhr	30 min

8.2 Schwierigkeiten hinsichtlich der Schwebstoffgewinnung

Die Gewinnung der relativ großen Mengen an Flussproben (500 L bis 1.000 L) mittels Tauchpumpe und Notstromaggregat vor Ort erfolgte überwiegend problemfrei. Tabelle 19 bietet eine Übersicht über die Probenahmezeitpunkte und die Dauer zwischen Probenahme und Zentrifugierung dieser Proben. Die beiden Proben der ersten Neckarprobenahme („Neckar 1“ in KW31) wurden noch innerhalb einer Woche mit der ISWA-eigenen Schwebstoffzentrifuge (Padberg Z101H) zentrifugiert. Im Anschluss daran trat ein Schaden an der Zentrifuge auf, sodass weitere Zentrifugierungen nicht mehr zeitnah erfolgen konnten. Da lange Zeit nicht klar war, ob und wann die Schwebstoffzentrifuge wieder betriebsbereit sein würde, wurde nach einigen Wochen die Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg (LUBW) beauftragt, die Schwebstoffe aus den sich inzwischen auf dem ISWA-Gelände anhäufenden Proben („Neckar 2, 3, 4“ in KW 40, 47, 07; „Körsch 1, 2“ in KW 50, 05) mit ihrer Zentrifuge (Padberg Z61) zu extrahieren (in KW11). Die Proben Neckar 2 sowie 3 und Körsch 1 und 2 lagen über den Winter aufgrund der kalten Außentemperaturen in Stuttgart-Büsnau den größten Zeitraum über gefroren vor. In der Zwischenzeit hatte sich herausgestellt, dass die Zentrifuge Padberg Z101H nicht rechtzeitig repariert werden würde, weshalb Mitte August eine neue Zentrifuge (Padberg CEPA Z41) auf dem ISWA-Gelände installiert wurde. Einige sich in der Zwischenzeit erneut auf dem ISWA-Gelände angehäufte Proben („Neckar 5, 6, 7, 8“ in KW 13, 19, 23, 28; „Körsch 3, 4, 5, 6“ in KW 13, 18, 23, 28) wurden Mitte bis Ende August entsprechend verspätet zentrifugiert. Sämtliche später angefallenen Proben („Neckar 9, 10“ in KW 38, 43; „Körsch 7, 8, 9, 10“ in KW 33, 38, 43, 48) konnten allerdings innerhalb kürzester Zeit zentrifugiert werden.

Abbildung 56 verdeutlicht, dass eine zu lange Zeit zwischen der Probenahme und der Zentrifugierung zu Algenbildung (sichtbar anhand der Grünfärbung einiger Proben) in den Proben führen konnte (insbesondere Körsch-Proben hinter der Kläranlage). Das Algenwachstum stellt insofern ein Problem dar, da dieses zu einer Erhöhung der Schwebstoffkonzentration in den Proben führt. Bei der Bilanzierung der Phosphonatkonzentration anhand der Feststoffkonzentration (Gehalt adsorbierter Phosphonate in mg/L = Gewichtsanteil des Phosphonats am Schwebstoffanteil in mg/g × Schwebstoffgehalt in g/L), ist der errechnete Wert kritisch zu hinterfragen. In Abschnitt 9.5 wird diese Problematik unter Zuhilfenahme der Flussdurchflüsse und nachgewiesenen Feststoffkonzentrationen diskutiert.

Abbildung 56: Gefriergetrocknete Schwebstoffe verschiedener Probenahmen, bei denen die Schwebstoffextraktion teilweise mehrere Wochen nach Probenahme durchgeführt wurde. Sehr gut ist die Grünfärbung durch Algenbildung während der Standzeit der IBCs zu erkennen.



(Quelle: E. Rott, ISWA)

Tabelle 19: Dauer bis zur Zentrifugierung der Schwebstoffproben.

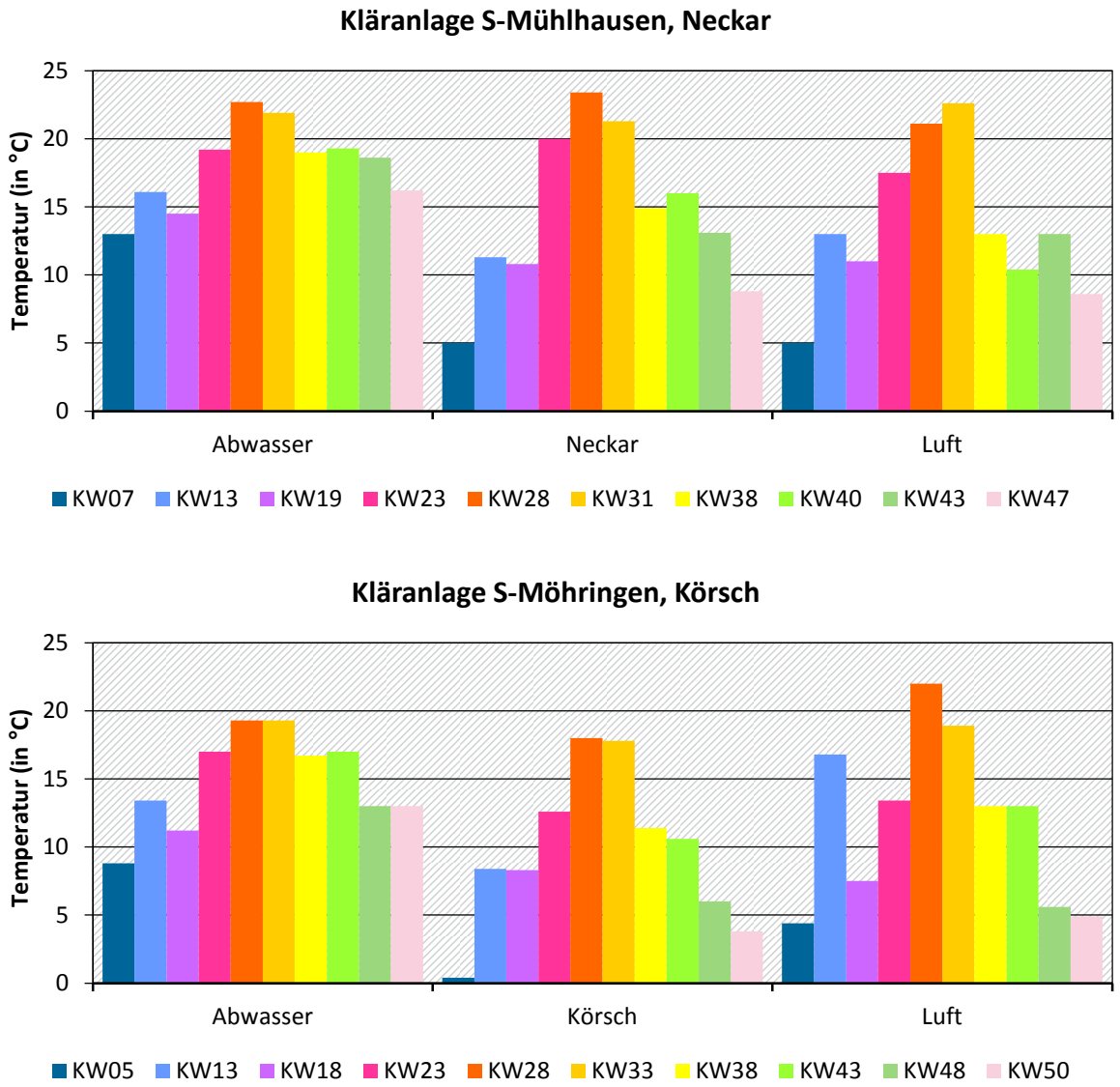
Proben-Nr.	Datum der Probenahme	Dauer bis Zentrifugierung
Neckar 1	02.08.2016 (KW31)	< 1 Woche
Neckar 2	04.10.2016 (KW40)	23 Wochen
Neckar 3	22.11.2016 (KW47)	16 Wochen
Neckar 4	14.02.2017 (KW07)	4 Wochen
Neckar 5	28.03.2017 (KW13)	(ca.) 20 Wochen
Neckar 6	09.05.2017 (KW19)	(ca.) 14 Wochen
Neckar 7	06.06.2017 (KW23)	(ca.) 10 Wochen
Neckar 8	11.07.2017 (KW28)	(ca.) 5 Wochen
Neckar 9	19.09.2017 (KW38)	< 1 Woche
Neckar 10	24.10.2017 (KW43)	< 1 Woche
Körsch 1	12.12.2016 (KW50)	13 Wochen
Körsch 2	31.01.2017 (KW05)	6 Wochen
Körsch 3	29.03.2017 (KW13)	(ca.) 20 Wochen
Körsch 4	02.05.2017 (KW18)	(ca.) 15 Wochen
Körsch 5	07.06.2017 (KW23)	(ca.) 10 Wochen
Körsch 6	11.07.2017 (KW28)	(ca.) 5 Wochen
Körsch 7	16.08.2017 (KW33)	< 1 Woche
Körsch 8	19.09.2017 (KW38)	< 1 Woche
Körsch 9	24.10.2017 (KW43)	< 1 Woche
Körsch 10	28.11.2017 (KW48)	< 1 Woche

9 Ergebnisse des Monitorings: Zusätzlich erfasste Parameter

9.1 Temperatur

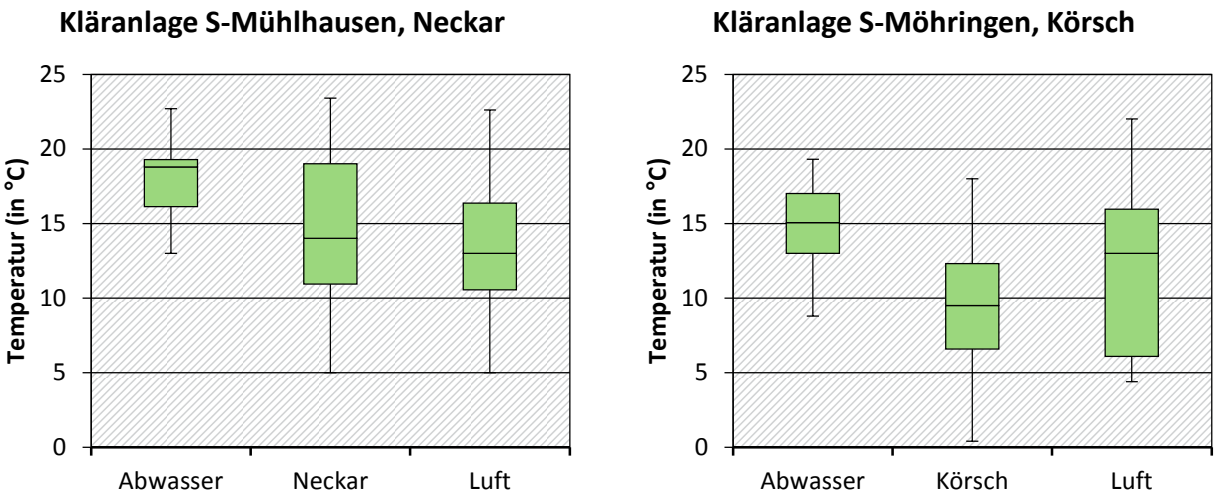
Abbildung 57 und Abbildung 58 fassen sämtliche vor Ort erfassten Temperaturen zusammen. Es lässt sich der typische Jahresgang sowohl für die Abwasser-, Fluss- also auch für die Lufttemperatur erkennen. Die Flusstemperatur war in der Regel ähnlich der Lufttemperatur, während die Abwassertemperatur im Frühjahr, Herbst und Winter signifikant darüber lag. Die erfassten Abwassertemperaturen in der Kläranlage S-Mühlhausen lagen zwischen 13 °C und 22 °C, einem für Mikroorganismen noch geeigneten Bereich. Lediglich in KW05 und KW18 wurden in der Kläranlage S-Möhringen mit 8,8 °C und 11,2 °C relativ niedrige Temperaturen vorgefunden. Eine temperaturbedingte Verschlechterung der Bio-P-Eliminationsleistung dürfte durch eine verstärkte P-Fällung auf den Kläranlagen kompensiert worden sein.

Abbildung 57: Gemessene Temperatur bei den einzelnen Probenahmen.



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 58: Boxplotdarstellungen der gemessenen Temperaturen (Quartile, Median, Minimum und Maximum).

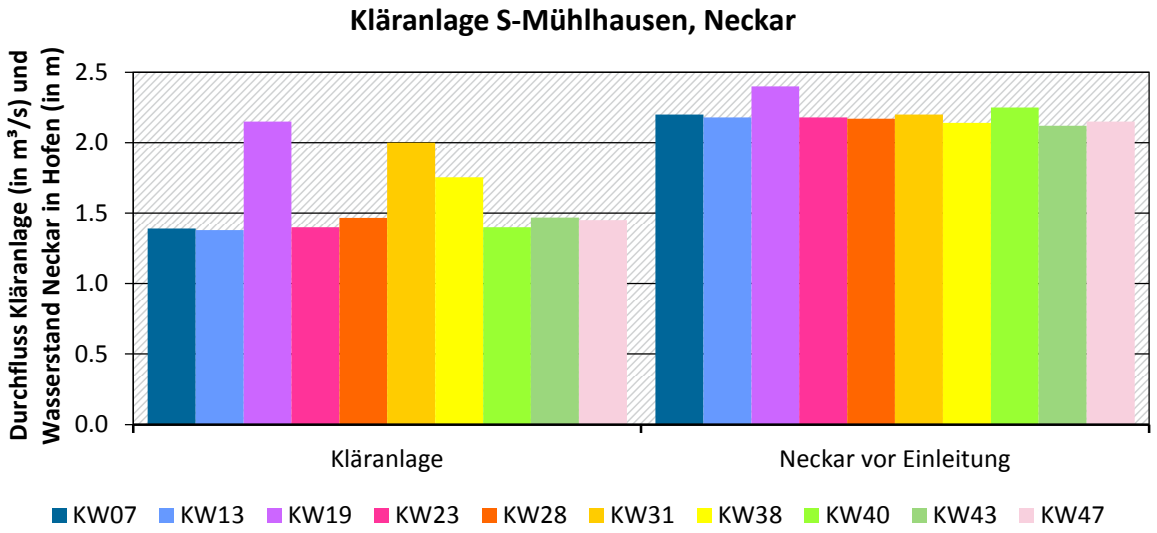


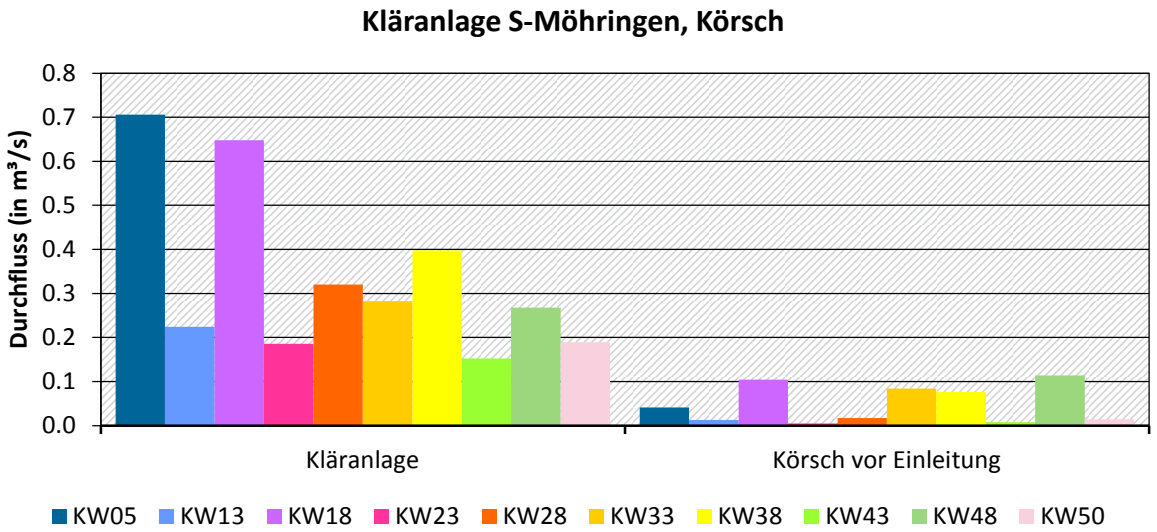
(Quelle: eigene Daten)

9.2 Durchfluss

Die Durchflüsse der Kläranlagen, der Wasserstand des Neckars sowie der berechnete Abfluss der Körsch sind in Abbildung 59 und Abbildung 60 wiedergegeben. Wie bereits in Abschnitt 7.1 erläutert, konnte aus dem von einem Lattenpegel abgelesenen Wasserstand in der Nähe der Staustufe Hofen der Durchfluss des Neckars überschlägig berechnet werden. Dieser Wasserstand variierte bei allen Probenahmen kaum. Bei einem durchschnittlichen Wasserstand von 2,20 m ergibt sich ein Durchfluss von etwa 286 m^3/s ($Q \approx 130\ m^2/s \times$ Wasserstand in m). Die Kläranlage S-Mühlhausen leitete demnach mit 1,38 m^3/s bis 2,15 m^3/s stets weniger als 1 % des Neckarvolumens in den Neckar ein. Im Standort S-Möhringen lag der gegenteilige Fall vor. Hier leitete die Kläranlage während der Probenahmen das 2- bis 37-fache Volumen des Flusses in die Körsch ein. Die Körsch veränderte nach der Kläranlageneinleitung ihren Durchfluss erheblich und setzte sich zwischen 70 % und 97 % aus Kläranlagenablauf zusammen. Teilweise traten leicht erhöhte Durchflüsse in S-Möhringen auf (z. B. KW05, KW18), was auf regenreiches Wetter zurückzuführen ist.

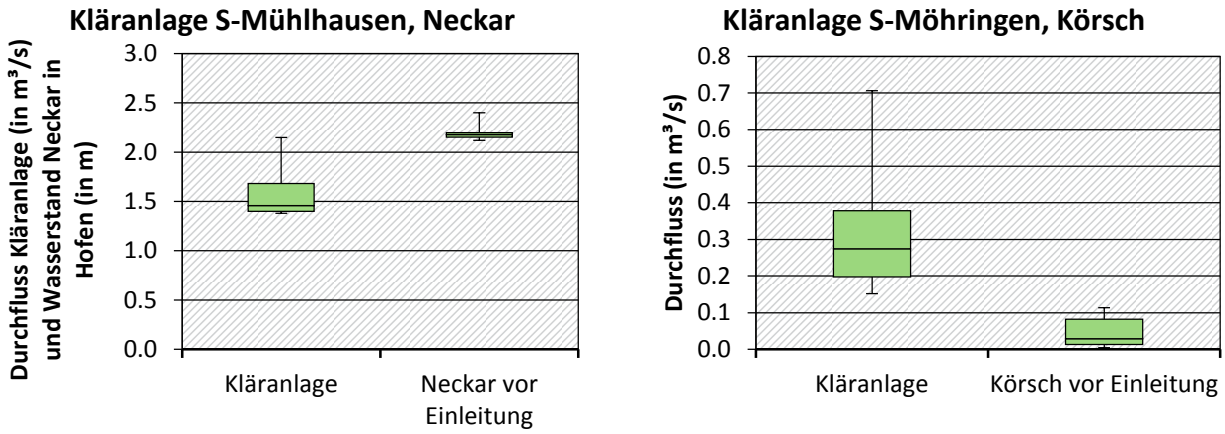
Abbildung 59: Durchflüsse der Kläranlagen zum Zeitpunkt der Flussbeprobungen, Abfluss der Körsch und Wasserstand des Neckars im Bereich der Probenahmestelle oberstrom der Kläranlage (Hofen).





(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 60: Boxplotdarstellungen der Kläranlagendurchflüsse und Abflüsse/Wasserstände der Vorfluter vor der Einleitstelle (Quartile, Median, Minimum und Maximum).

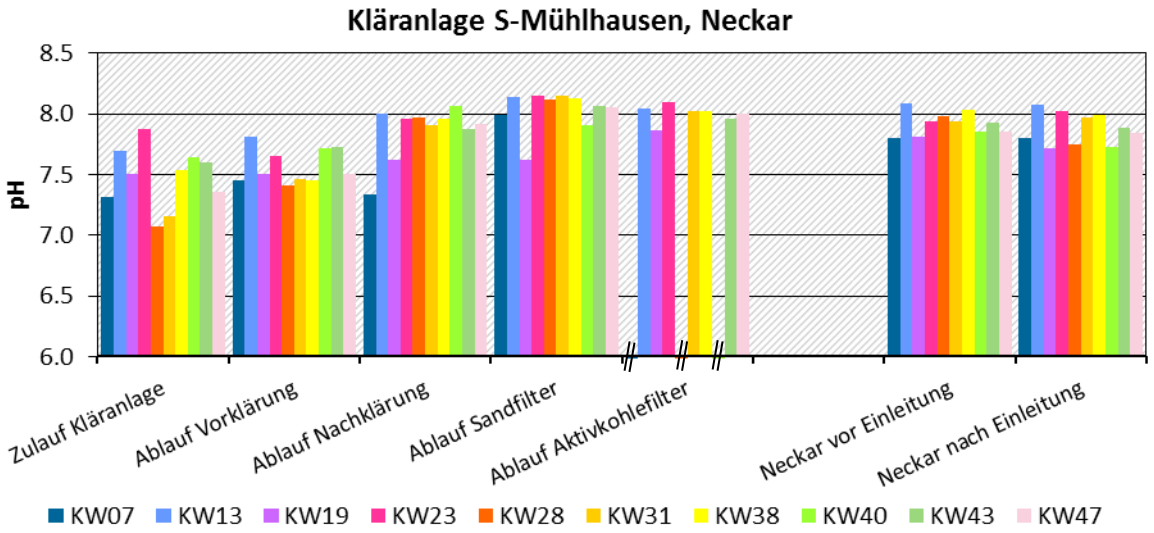


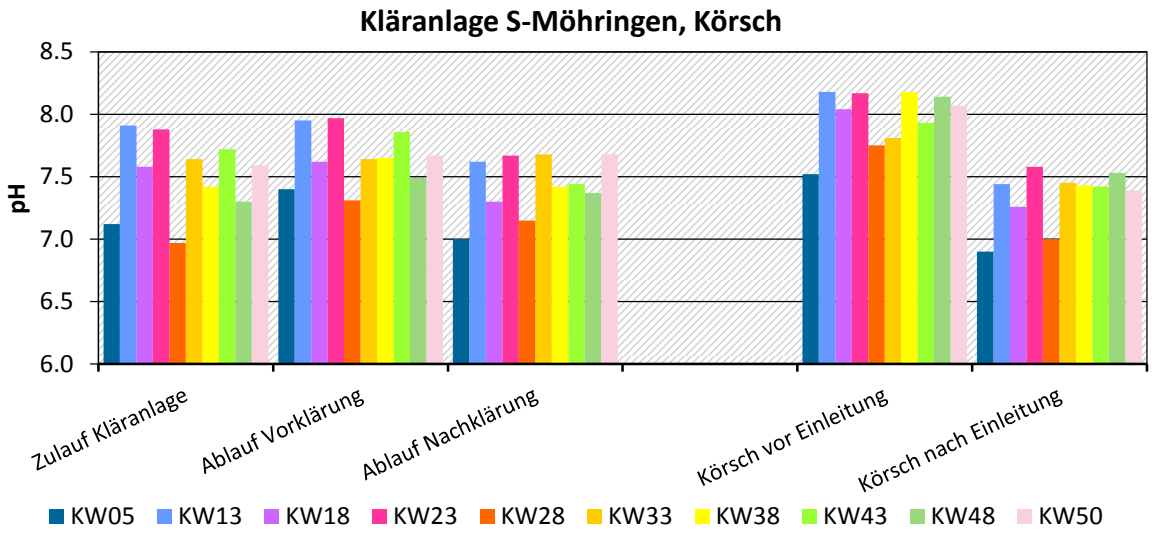
(Quelle: eigene Daten)

9.3 pH-Wert

Der pH-Wert in den Kläranlagen- sowie Fließgewässerproben ist in Abbildung 61 und Abbildung 62 wiedergegeben. In der Regel lag der pH-Wert in allen Proben im Bereich zwischen 7 und 8, einem für Mikroorganismen und die P-Fällung anzustrebenden Bereich. Einen signifikanten Einfluss der Kläranlageneinleitung auf den pH-Wert des Neckars gab es nicht, während ein Einfluss im Falle der Körsch dagegen sehr gut zu erkennen war (Absinken des pH-Werts).

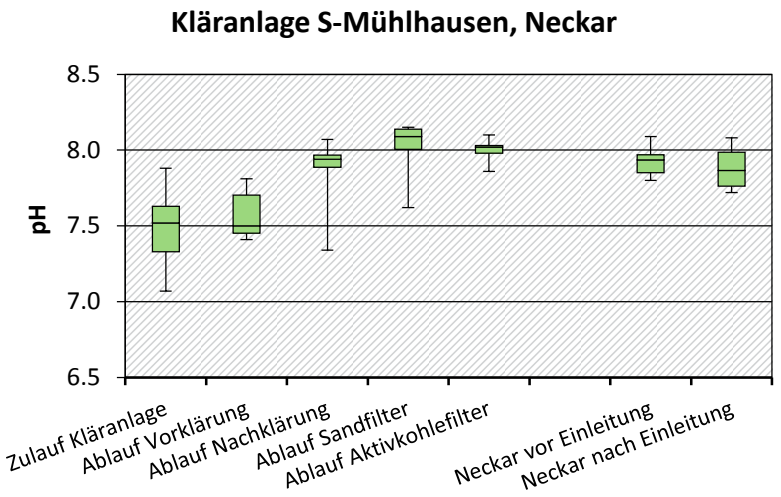
Abbildung 61: pH-Werte der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).

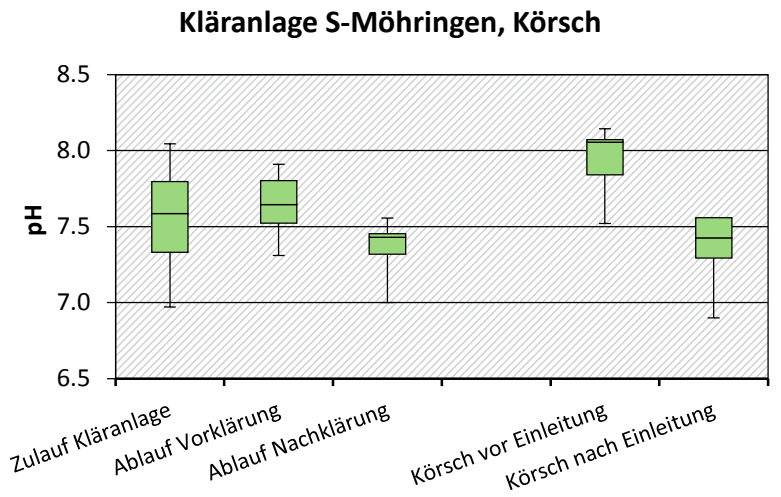




(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 62: Boxplotdarstellungen der pH-Werte der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Quartile, Median, Minimum und Maximum).



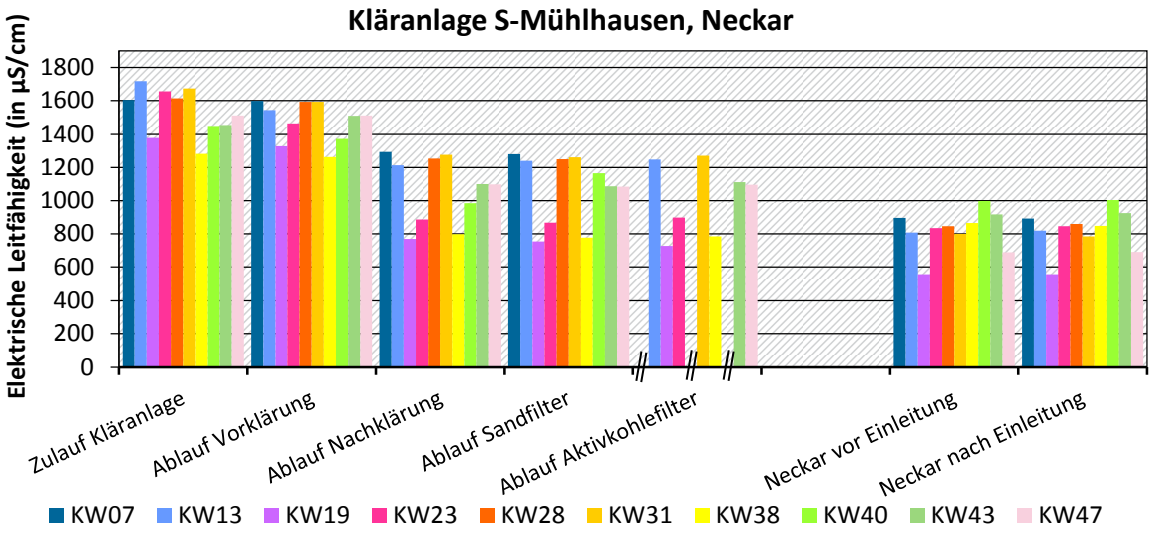


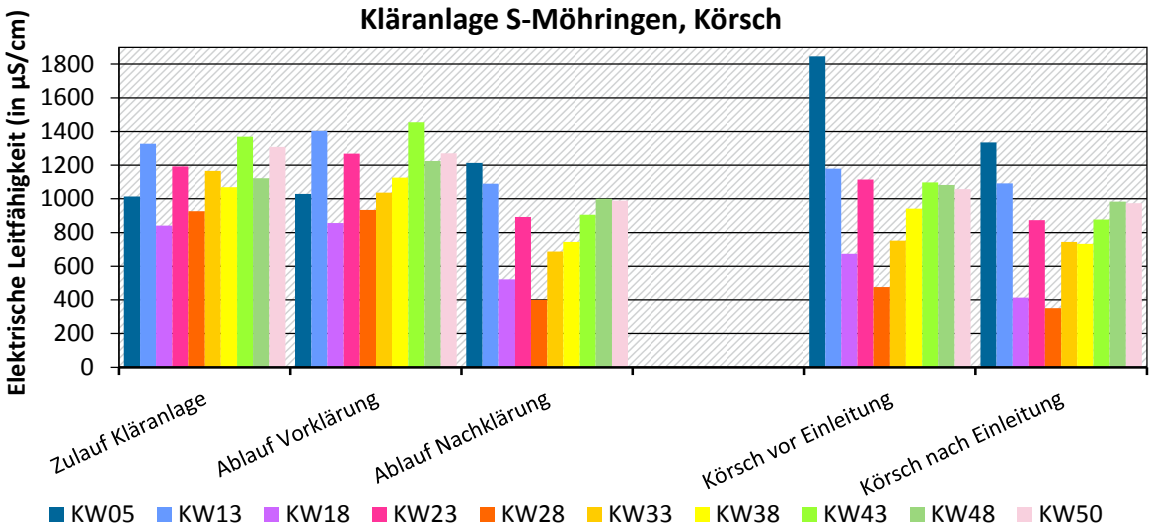
(Quelle: eigene Daten)

9.4 Elektrische Leitfähigkeit

Die elektrische Leitfähigkeit der Proben der Kläranlagen und Fließgewässer ist in Abbildung 63 und Abbildung 64 dargestellt. Insbesondere am Beispiel der Kläranlage S-Mühlhausen ist gut zu sehen, dass die elektrische Leitfähigkeit ein Summenparameter für gelöste Ionen ist, welche in der Vorklärung noch keiner stark ausgeprägten Elimination unterliegen. Erst durch die biologische Behandlung, d. h. durch die Inkorporation der Ionen in die Biomasse, verringert sich die elektrische Leitfähigkeit signifikant. Im Sandfilter bzw. dem Aktivkohlefilter werden Ionen nicht mehr erheblich eliminiert. Dies ist naheliegend, da anorganische Salze kaum an Aktivkohle adsorbieren (Klinger *et al.*, 1998). Ferner hatte die Einleitung der Kläranlage S-Mühlhausen keinen die elektrische Leitfähigkeit des Neckars verändernden Einfluss, während die elektrische Leitfähigkeit im Falle der Körsch sogar leicht geringer wurde, da der Kläranlagenablauf in der Regel eine etwas niedrigere Leitfähigkeit aufwies als die Körsch vor der Einleitstelle.

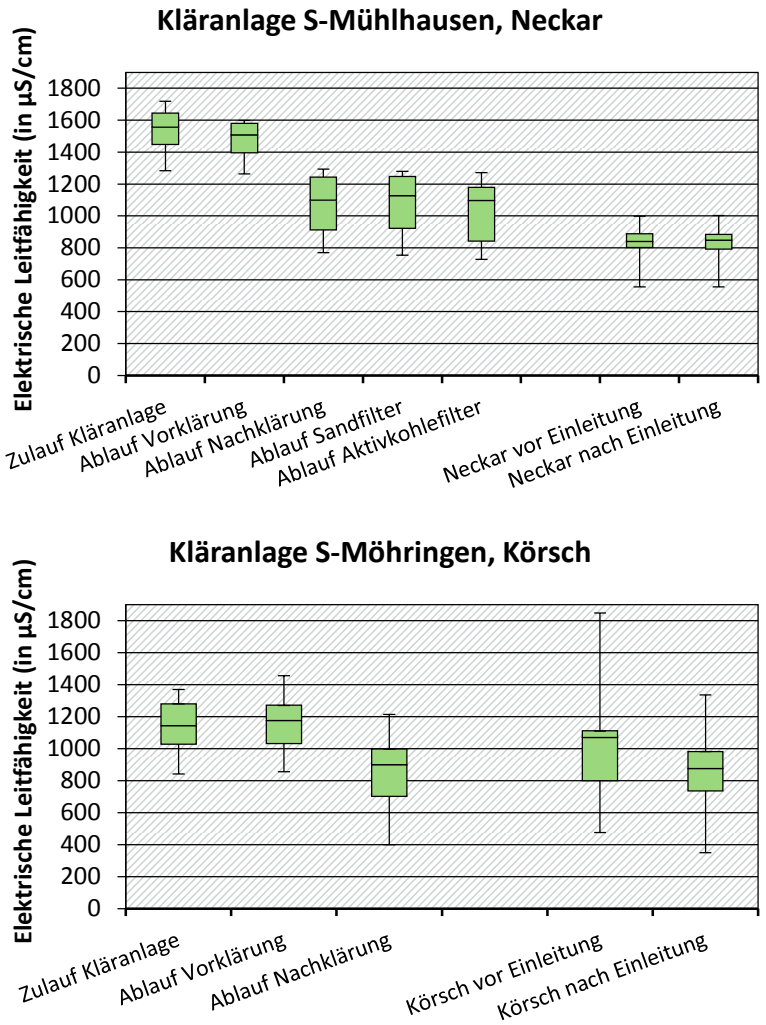
Abbildung 63: Elektrische Leitfähigkeit der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).





(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 64: Boxplotdarstellungen der elektrischen Leitfähigkeit der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Quartile, Median, Minimum und Maximum).



(Quelle: eigene Daten)

9.5 Feststoffe

Die Feststoffkonzentrationen in den 24-h-Zulaufmischproben der Kläranlagen sowie die Schwebstoffkonzentrationen der Fließgewässerproben sind in Abbildung 65 und Abbildung 66 dargestellt.

Die Konzentration abfiltrierbarer Stoffe im Zulauf des Klärwerks S-Mühlhausen lag in der Regel zwischen 250 mg/L und 400 mg/L (1. und 3. Quartil), während die des Klärwerks S-Möhringen in der Regel zwischen 190 mg/L und 280 mg/L lag. Zu regenreichen Zeiten, wie in KW05 konnte die Feststoffkonzentration im Kläranlagenzulauf auch nur 170 mg/L betragen, während in der Körsch die Feststoffkonzentration dagegen in der entsprechenden Kalenderwoche mit ca. 15 mg/L signifikant höher war als bei Trockenwetter (2 mg/L bis 3 mg/L in KW50).

In Abbildung 56 ist eine Aufnahme einiger trockener Schwebstoffe zu sehen. Insbesondere die Körsch-Proben hinter der Kläranlage wiesen eine intensive Grünfärbung und somit ein offensichtlich erhöhtes Algenwachstum auf. Es stellt sich daher die Frage, ob die ermittelten Feststoffkonzentrationen (Einwaage der trockenen Schwebstoffextrakte im Verhältnis zum zentrifugierten Probenvolumen) durch zu lange Standzeiten der IBCs vor der Zentrifugierung/Schwebstoffextraktion für eine Bilanzierung bzw. Frachtenberechnung von an Schwebstoffen adsorbierten Phosphonaten herangezogen werden können. In Abbildung 65 sind daher am Fuße der Balken die Wochenzahl zwischen Probenahme und

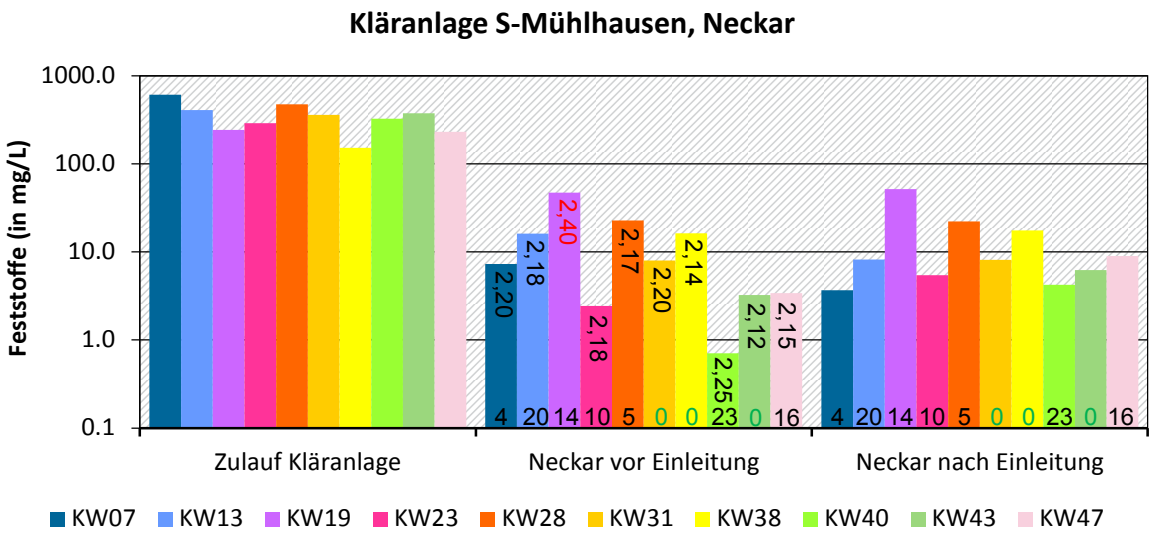
Zentrifugierung dargestellt. Ferner bietet Abbildung 67 eine Darstellung der erfassten Schwebstoffkonzentrationen in Abhängigkeit der Wochenzahl zwischen Probenahme und Zentrifugierung. Beobachtungen (s. Abbildung 56) zeigten, dass mit längeren Standzeiten der IBCs ein verstärktes Algenwachstum eintrat. Sehr lange Standzeiten wirkten sich allerdings gemäß Abbildung 67 nicht um ganze Größenordnungen auf eine Erhöhung der Feststoffkonzentration aus. Sicherheitshalber sollten allerdings eventuell die erfassten Feststoffkonzentrationen bei den Proben mit mindestens 20 Wochen Standzeit mit Vorsicht betrachtet werden, da hier teilweise leicht überdurchschnittlich hohe Feststoffkonzentrationen festgestellt wurden. In Abbildung 67 sind im oberen Diagramm bei einer Standzeit von 14 Wochen und im unteren Diagramm bei einer Standzeit von 6 Wochen überdurchschnittlich hohe Feststoffkonzentrationen zu sehen. Diese könnte allerdings auf sehr hohe Durchflüsse während der Probenahme, also auf Aufwirbelungen von Sediment, zurückführbar sein und können damit nicht allein dem Algenwachstum während der Standzeit in den IBCs zugeschrieben werden.

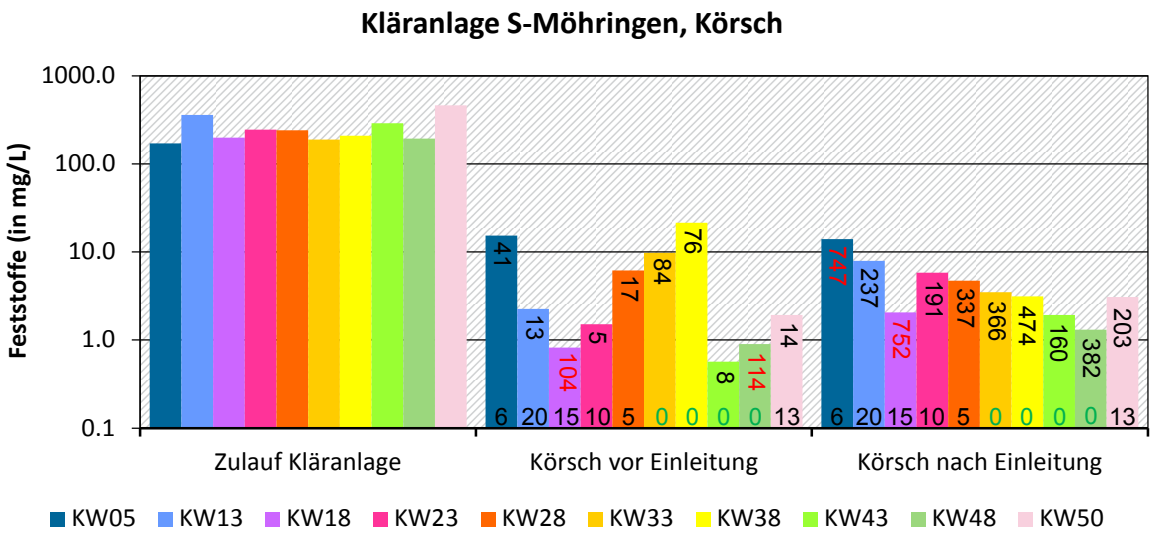
Ferner sind in Abbildung 65 im oberen Bereich der Balken der Wasserstand des Neckars und die Durchflüsse der Körsch dargestellt, um Variationen in der Feststoffkonzentration eventuell auf erhöhte Durchflüsse zurückführen zu können. So ist beispielhaft für KW19 zu sehen, dass der Neckar an dem Tag mit der höchsten Feststoffkonzentration auch den höchsten Wasserstand (2,40 m) und damit den höchsten Durchfluss aufwies. Dieser Wasserstand veränderte sich allerdings über den gesamten Untersuchungszeitraum kaum und lag stets mit Ausnahme der KW19 zwischen 2,12 m und 2,25 m. Im Fall der Körsch gehörten Proben der Kalenderwochen mit dem niedrigsten Durchfluss vor der Kläranlageneinleitung interessanterweise zu den Proben mit den niedrigsten Feststoffkonzentrationen. Die Proben zur Schwebstoffgewinnung wurden aus einem Gerinne/Kanal auf dem Kläranlagengelände genommen, welches versiegelt war und kein Sediment aufwies. Ein Einfluss von erhöhtem Durchfluss auf Sedimentaufwirbelung ist durch dieses Gerinne somit nicht nachweisbar.

Der Neckar wird durch die Kläranlage S-Mühlhausen nur sehr schwach verdünnt (< 1 %). Diese nur sehr schwache Verdünnung spiegelte sich durch sich kaum verändernde Feststoffkonzentrationen vor und hinter der Kläranlageneinleitung wider (Abbildung 66). Eine Veränderung der Schwebstoffkonzentration des Neckars durch Feststoffe im Kläranlagenablauf, welche aufgrund des Sandfilters ohnehin so gut wie kaum vorhanden sind, ist somit nicht zu erwarten. Die Proben aus KW40 und KW47 scheinen hier eine Ausnahme darzustellen. Gerade diese Proben wurden allerdings erst nach langen Standzeiten (16 bis 23 Wochen) zentrifugiert. Gerade die Proben hinter der Kläranlageneinleitung konnten aufgrund einer etwas erhöhten P-Konzentration somit doch eine leicht verfälschte Feststoffkonzentration durch verstärktes Algenwachstum aufweisen. Die Proben aus den Kalenderwochen 31, 38 und 43 konnten noch innerhalb einer Woche zentrifugiert werden. Hier ist sehr gut zu erkennen, dass sich die Schwebstoffkonzentration vor und hinter der Kläranlageneinleitstelle kaum veränderte. Die in den Kalenderwochen 31, 38 und 43 erfassten Schwebstoffkonzentrationen können somit ohne Bedenken für die Berechnung von Phosphonatfrachten und -beladungen herangezogen werden.

Die Feststoffkonzentration in der Körsch veränderte sich durch die Kläranlageneinleitung stärker. Da der Anteil des Kläranlagendurchflusses an der Körsch hinter der Kläranlageneinleitstelle sehr hoch ist und Feststoffe noch im Ablauf der Kläranlage enthalten sein können, ist mit starken Schwankungen zu rechnen. Ferner war hinter der Kläranlageneinleitstelle in der Körsch die P-Konzentration signifikant höher, sodass hier bei längeren Standzeiten der IBCs vor der Zentrifugierung verstärktes Algenwachstum eingetreten sein konnte. Die Schwebstoffkonzentrationen aus den Kalenderwochen 33, 38, 43 und 48 sind aufgrund der sehr kurzen Standzeiten der IBCs am belastbarsten und können ohne Bedenken für die Berechnung von Phosphonatfrachten und -beladungen herangezogen werden.

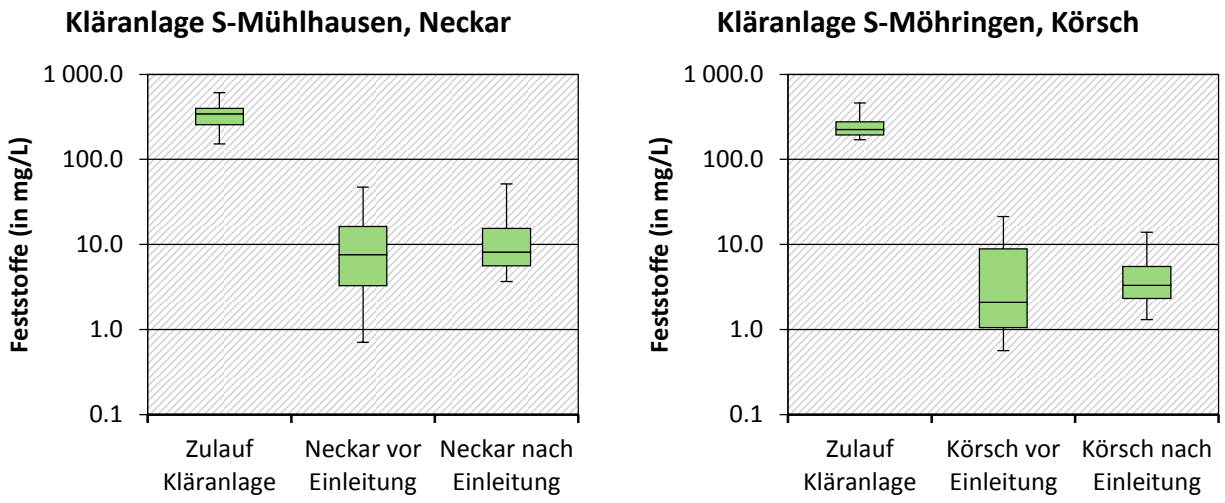
Abbildung 65: Feststoffkonzentration in den Kläranlagenzulauf-24-h-Mischproben und Fließgewässerproben zur Schwebstoffextraktion. Untere Zahlen in Balken: Wochenzahl zwischen Probenahme und Zentrifugierung/Schwebstoffextraktion der Flussproben (grün markiert, wenn Algenwachstum aufgrund kurzer Wartezeit nicht zu erwarten war). Obere Zahlen in Balken: Wasserstand in Hofen (in m; oben); Durchfluss der Körsch (in L/s; unten) (rote Markierungen bei stark erhöhtem Durchfluss).





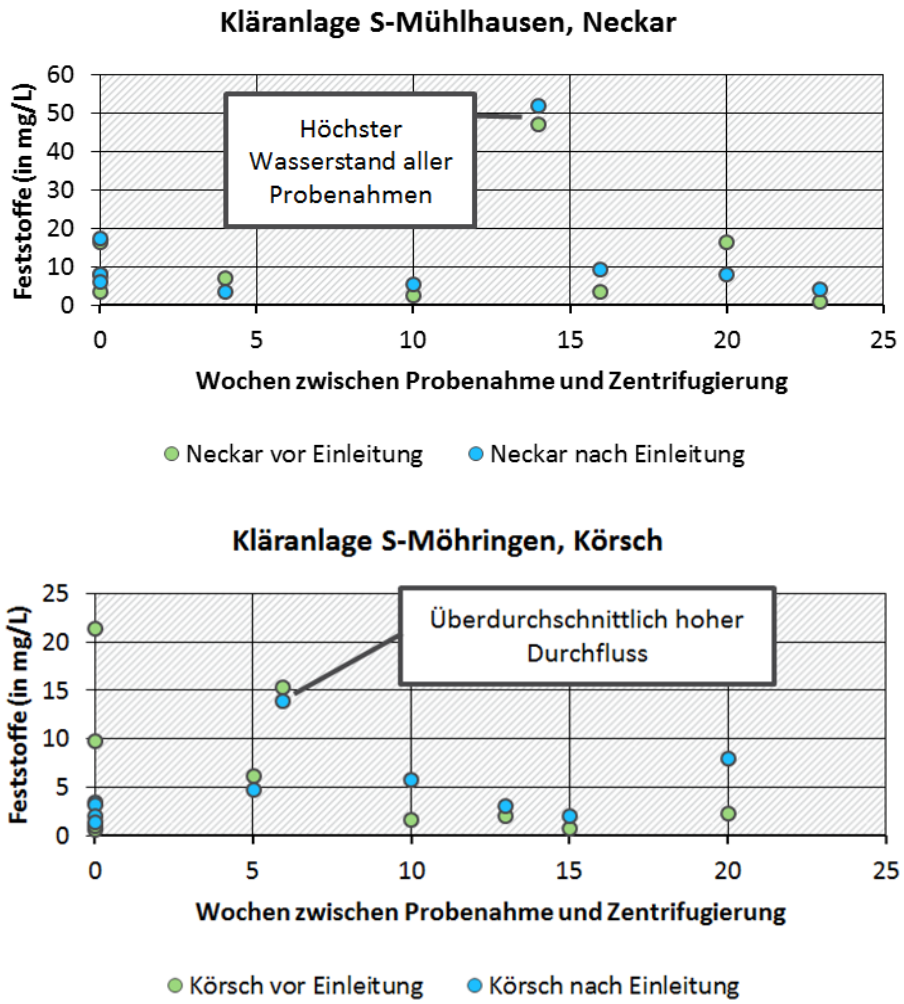
(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 66: Boxplotdarstellungen der Feststoffkonzentration in den Kläranlagenzulauf-24-h-Mischproben und Fließgewässerproben (Quartile, Median, Minimum und Maximum).



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 67: Darstellung der Schwebstoff-/Feststoffkonzentration in Fließgewässerproben abhängig von der Dauer bis zur Zentrifugierung nach der Probenahme.



(Quelle: eigene Daten)

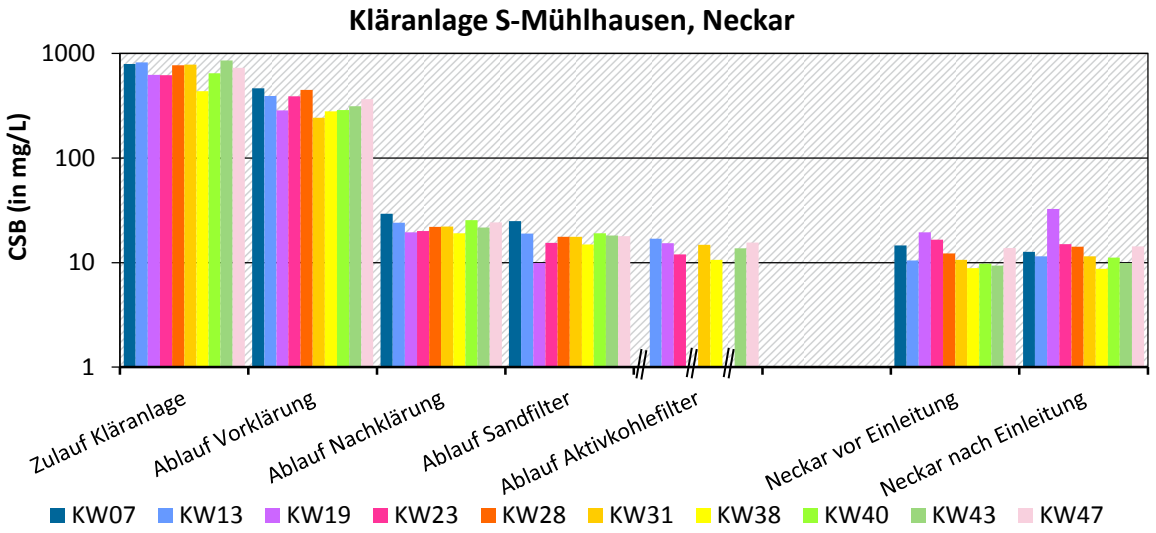
9.6 Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)

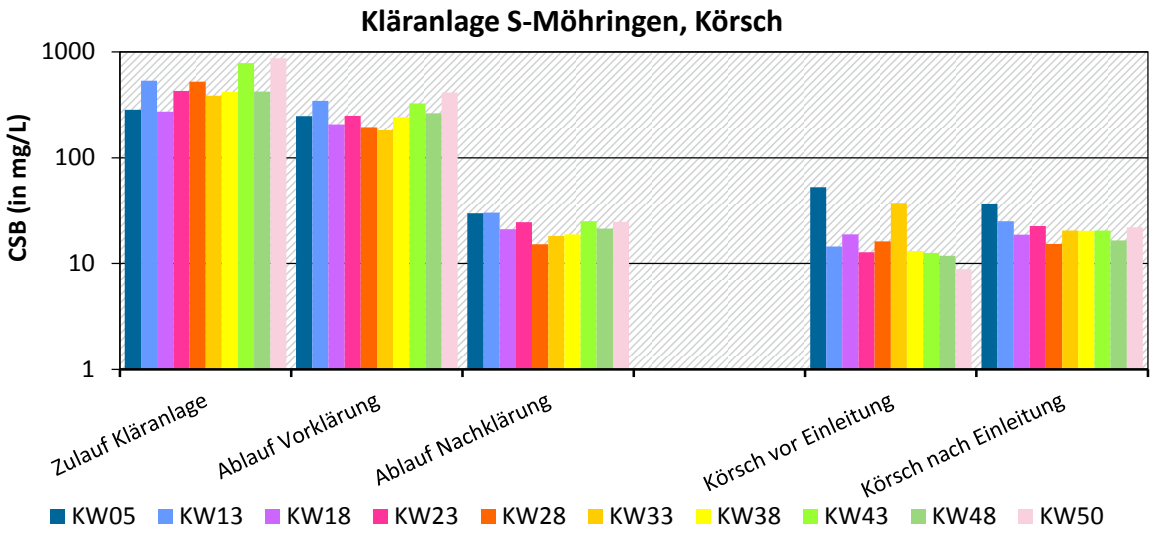
Der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) der Kläranlagen-24-h-Mischproben sowie der Fließgewässerproben wird in Abbildung 68 und Abbildung 69 wiedergegeben. Der CSB im Zulauf der Kläranlage S-Mühlhausen betrug typischerweise 630 mg/L bis 790 mg/L (1. und 3. Quartil), während dieser in S-Möhringen mit 390 mg/L bis 530 mg/L (1. und 3. Quartil) etwas darunter lag. Die in S-Möhringen relativ geringen Werte im Falle der KW05 und KW18 von 270 mg/L bis 280 mg/L sind auf Verdünnung durch Regenwasser während sehr regenreicher Tage zurückzuführen. In Abbildung 59 ist dieser Fakt sehr gut in Form von erhöhten Kläranlagendurchflüssen in diesen beiden Kalenderwochen zu erkennen.

Basierend auf den Medianen wurde der CSB in S-Mühlhausen nach der Vorklärung bereits zu 55 % eliminiert (290 mg/L bis 390 mg/L im Vorklärbeckenablauf [1. bis 3. Quartil]). Nach der biologischen Behandlung lagen im Durchschnitt nur noch ca. 3 % des ursprünglichen CSB vor (ca. 97,1 % Elimination, 20 mg/L bis 24 mg/L CSB im Nachklärbeckenablauf). Im Sandfilterablauf lagen noch 16 mg/L bis 19 mg/L CSB (97,6 % Elimination) und im Aktivkohlefilterablauf noch 13 mg/L bis 15 mg/L CSB (98,0 % Elimination) vor. Der CSB des Neckars hinter der Kläranlageneinleitung war mit einem Median von 12 mg/L nur unwesentlich höher als vor der Kläranlageneinleitung mit 11 mg/L.

In S-Möhringen wurde der CSB in der Vorklärung basierend auf den Medianen zu etwa 42 % eliminiert (ca. 210 mg/L bis 310 mg/L im Vorklärbeckenablauf). Im Ablauf der Nachklärung lagen nur noch 19 mg/L bis 25 mg/L vor, was einem CSB-Eliminationsgrad von etwa 95 % entspricht. Hinsichtlich des chemischen Sauerstoffbedarfs in der Körsch gilt es die regenreichen Kalenderwochen 05 und 18 von den trockenen Kalenderwochen 13, 23, 43 und 50 zu unterscheiden. In trockenen Phasen wurde der CSB der Körsch durch die Kläranlageneinleitung von durchschnittlich 12 mg/L auf 23 mg/L erhöht. In der regenreichen KW05 war der CSB vor der Kläranlageneinleitstelle mit 52 mg/L sogar signifikant höher als hinter der Kläranlageneinleitstelle mit 37 mg/L. Durch den erhöhten Durchfluss in der Körsch ist es naheliegend, dass mehr Partikel aus dem Sediment mitgerissen werden (s. Abbildung 65), was eine Erhöhung des CSBs hervorruft. Die Kläranlage dagegen konnte ihre Eliminationsleistung auch bei starkem Regen sehr gut aufrechterhalten und wies selbst in KW05 im Ablauf der Nachklärung einen niedrigeren CSB als die Körsch auf.

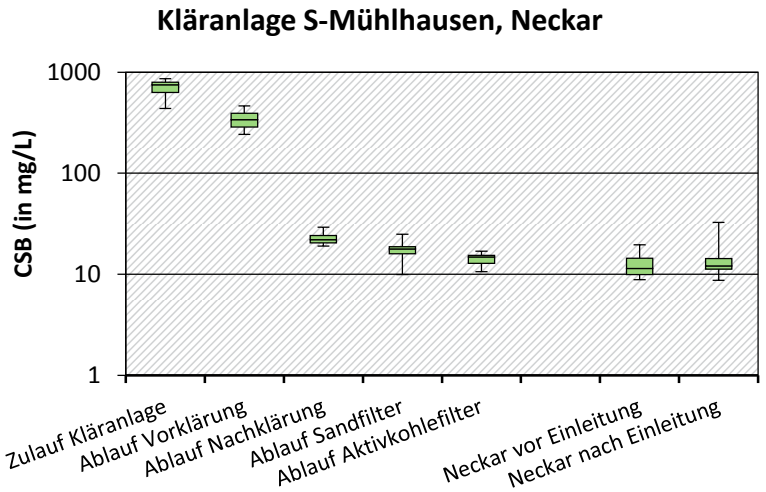
Abbildung 68: Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).

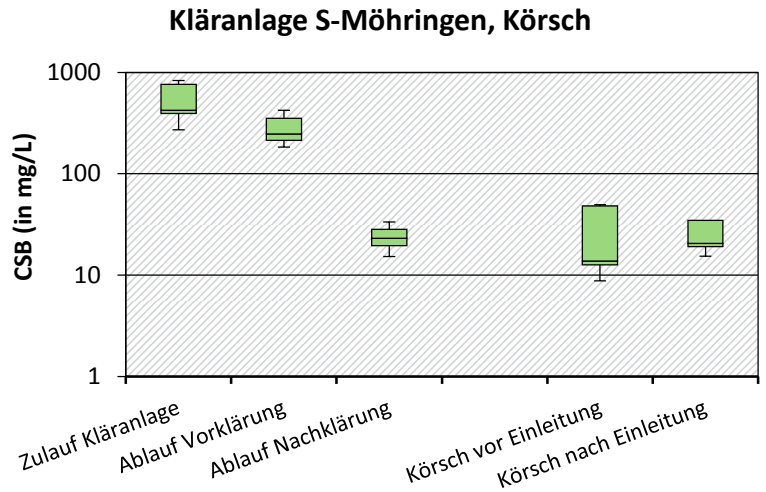




(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 69: Boxplotdarstellungen des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) der Kläranlagen-24-h-Mischproben und Fließgewässerstichproben (Quartile, Median, Minimum und Maximum).





(Quelle: eigene Daten)

9.7 Phosphor (S-Mühlhausen, Neckar)

Abbildung 70 und Abbildung 71 fassen sämtliche Ergebnisse zu den analysierten Phosphorfraktionen der 24-h-Kläranlagenmisch- und Flussstichproben für den Standort S-Mühlhausen zusammen. Im oberen Teil der Abbildungen ist der gesamte Konzentrationsbereich abgedeckt, während der untere Teil der Abbildungen nur einen kleinen Konzentrationsbereich abdeckt, um die einzelnen Phosphorfraktionen in diesem Bereich besser voneinander unterscheidbar zu machen. Tabelle 20 bietet einen Überblick über die Mediane der Konzentrationen dieser Phosphorfraktionen sowie deren Eliminationsgrade abhängig von der Kläranlagenstufe sowie über den Einfluss der Kläranlageneinleitung auf den Neckar.

Es wird offensichtlich, dass in der Vorklärung überwiegend die partikuläre Phosphorfraktion eliminiert wird, was logisch erscheint, da in dieser Stufe das Ziel vorherrscht grobe Feststoffe per Sedimentation abzuscheiden. Die Phosphatfraktion (91,6 % Elimination) und gelöste unreaktive Phosphorfraktion (GUP) (88,8 % Elimination) werden dagegen erst durch die biologische Behandlung signifikant eliminiert. Während die o-PO_4- und partikuläre Phosphorfraktion (PP) durch die zusätzliche Behandlung mittels Sandfilter nur noch zusätzlich zu 1,5 % bis 2,5 % eliminiert werden, zeigt diese Behand-

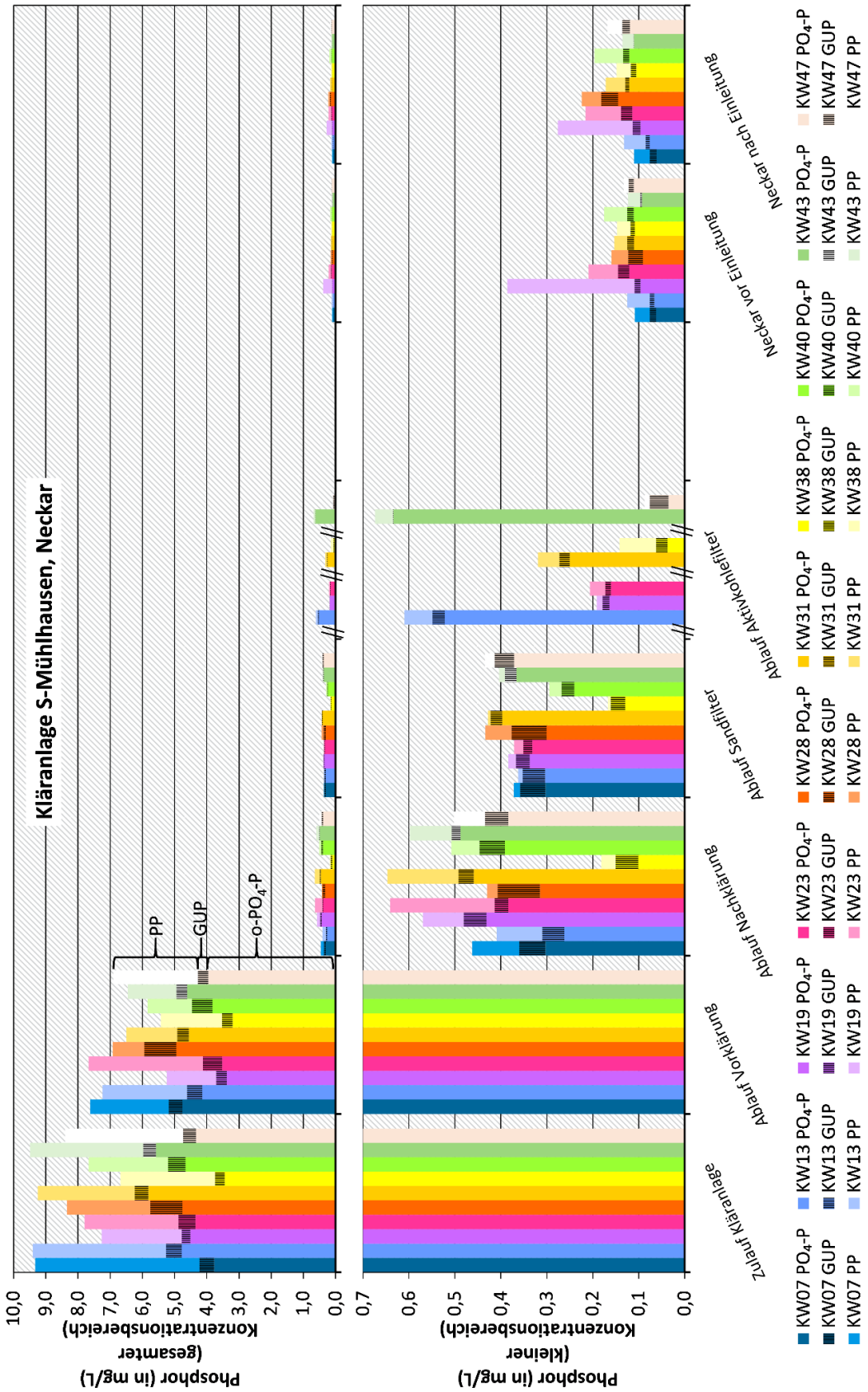
lung insbesondere bei der GUP-Fraktion eine gute Wirkung durch zusätzliche 4,2 % Elimination. Gemäß Median liegen im Nachklärbeckenablauf noch 50 µg/L P der GUP- und 90 µg/L P der PP-Fraktion sowie im Aktivkohleanlageablauf noch 23 µg/L P der GUP- und 39 µg/L P der PP-Fraktion vor. Beide Fraktionen können Phosphonate enthalten. Die in den Neckar eingeleitete GUP-Konzentration ist 31 µg/L P, die eingeleitete PP-Konzentration beträgt nur 16 µg/L (da der Sandfilter eine sehr gute Eliminationsleistung hinsichtlich der Partikelentfernung aufweist). Bei Verwendung eines durchschnittlichen Phosphoranteils von etwa 30 % in Phosphonaten kann gemäß Median so eine maximale Phosphonatkonzentration im Nachklärbeckenablauf von 467 µg/L, im Aktivkohleanlageablauf von 207 µg/L und im Sandfilterablauf von 157 µg/L berechnet werden.

Der Einfluss der Kläranlageneinleitung auf den Neckar ist bei der Phosphat- (Erhöhung um 9,8 %) und PP-Fraktion (Erhöhung um 25,0 %) gut zu sehen. Die GUP-Fraktion wird durch die Einleitung ebenfalls mit 7,4 % leicht erhöht. Basierend auf dem Median und gemäß der im Neckar gefundenen GUP- und PP-Fraktionen können eine maximale Gelöst-Phosphonatkonzentration von 50 µg/L und eine maximale Phosphonatkonzentration von 143 µg/L adsorbiert an Partikeln im Neckar vorliegen.

Tabelle 20: Mediane in mg/L (links) sowie Eliminationsgrade in % (rechts) der Gehalte einzelner Phosphorfraktionen in den 24-h-Kläranlagenmischproben (S-Mühlhausen) und Neckarstichproben.

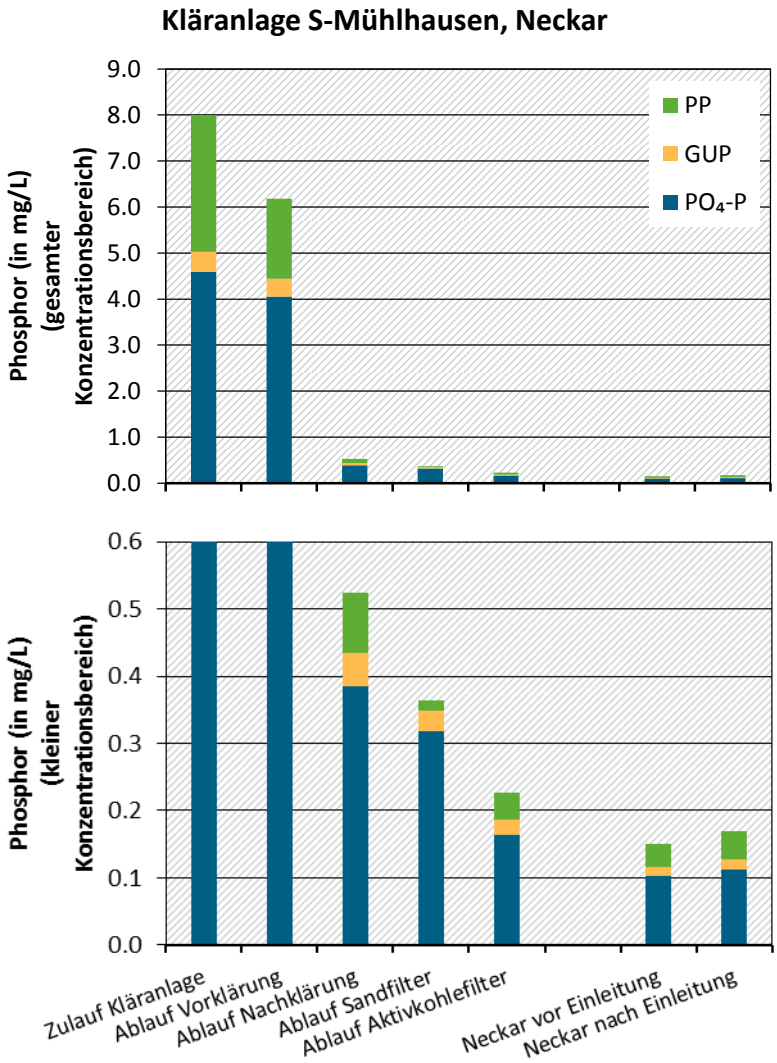
	Gesamt-P / (mg/L) & (Elimination / %)		o-PO_4-P / (mg/L) & (Elimination / %)		GUP / (mg/L) & (Elimination / %)		PP / (mg/L) & (Elimination / %)	
Zulauf Kläranlage	8,00	(-)	4,59	(-)	0,44	(-)	2,97	(-)
Ablauf Vorklärung	6,18	(22,7)	4,05	(11,7)	0,39	(11,9)	1,74	(41,4)
Ablauf Nachklärung	0,52	(93,5)	0,38	(91,6)	0,050	(88,8)	0,090	(97,0)
Ablauf Sandfilter	0,36	(95,4)	0,32	(93,1)	0,031	(93,0)	0,016	(99,5)
Ablauf Aktivkohlefilter	0,23	(97,2)	0,16	(96,4)	0,023	(94,8)	0,039	(98,7)
Neckar vor Einleitung	0,15	(-)	0,102	(-)	0,014	(-)	0,034	(-)
Neckar hinter Einleitung	0,17	(-13,0)	0,112	(-9,8)	0,015	(-7,4)	0,043	(-25,0)

Abbildung 70: P-Fraktionen in S-Mühlhausen-24-h-Mischproben und Neckarstichproben (Aktivkohleanlage am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 71: P-Fraktionen in S-Mühlhausen-24-h-Mischproben und Neckarstichproben (Mediane).



(Quelle: eigene Daten)

9.8 Phosphor (S-Möhringen, Körsch)

Die Ergebnisse hinsichtlich der gemessenen Konzentrationen und Eliminationsgrade der Phosphorfraktionen für den Standort S-Möhringen werden in Abbildung 72, Abbildung 73 und Tabelle 21 zusammengefasst. Im oberen Teil der Abbildungen ist der gesamte Konzentrationsbereich abgedeckt, während der untere Teil der Abbildungen nur einen kleinen Konzentrationsbereich abdeckt, um die einzelnen Phosphorfraktionen in diesem Bereich besser voneinander unterscheidbar zu machen.

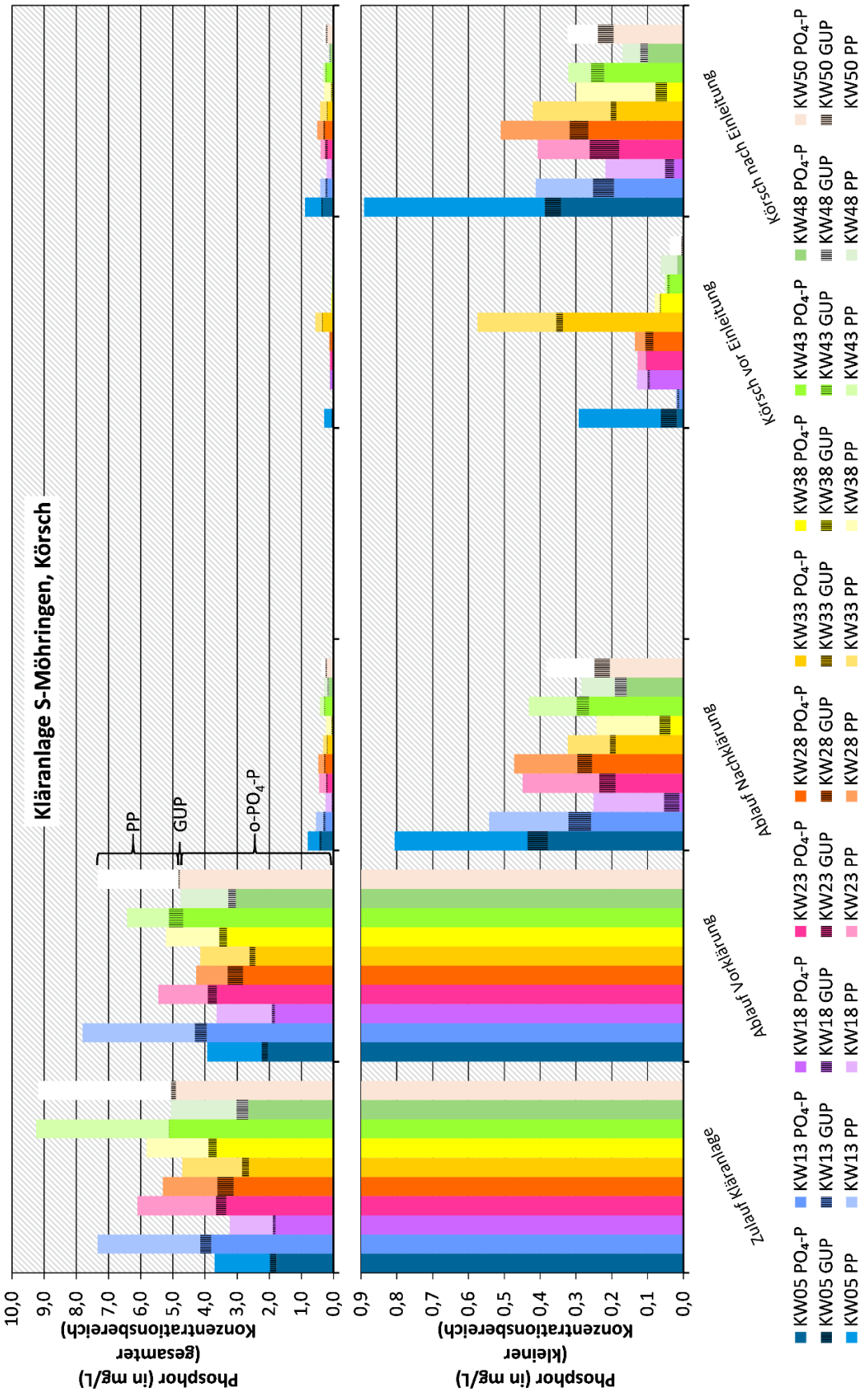
So konnte basierend auf den Medianen ein PP-Eliminationsgrad durch Vorklärung von vergleichsweise niedrigen 19 % ausgemacht werden. Die GUP-Fraktion wird auf der Kläranlage mit 82,5 % am schlechtesten eliminiert, während sowohl die Phosphat- als auch die PP-Fraktion basierend auf dem Median mit 93,9 % und 91,1 % am besten eliminiert werden. Im Nachklärbeckenablauf liegen noch 42 µg/L P der GUP- und 180 µg/L P der PP-Fraktion vor. Beide Fraktionen können Phosphonate enthalten. Bei Verwendung eines durchschnittlichen Phosphoranteils von etwa 30 % in Phosphonaten kann basierend auf den Medianen so eine maximale Phosphonatkonzentration im Nachklärbeckenablauf von ca. 740 µg/L berechnet werden.

Der Einfluss der Kläranlageneinleitung auf die Körsch ist erheblich. So wird die Phosphat-Konzentration durch die Kläranlageneinleitung in der Körsch i. d. R. verdoppelt bis verdreifacht und die GUP- sowie PP-Konzentration i. d. R. nahezu verfünffacht. Unterstrom der Kläranlageneinleitung errechnet sich so eine maximale Gelöst-Phosphonatkonzentration von 137 µg/L und eine maximale Phosphonatkonzentration von 543 µg/L adsorbiert an Partikeln.

Tabelle 21: Mediane (links) sowie Eliminationsgrade (rechts) der Konzentrationen einzelner Phosphorfraktionen in den 24-h-Kläranlagenmischproben (S-Möhringen) und Körsch-Stichproben.

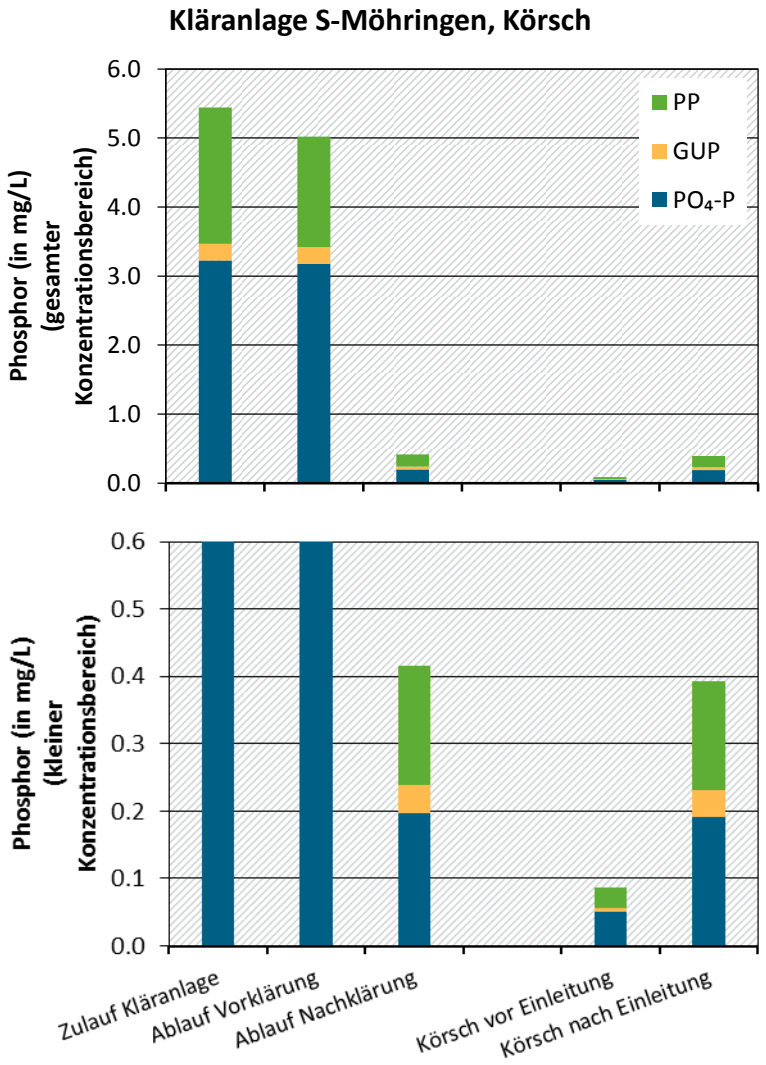
	Gesamt-P / (mg/L) & (Elimination / %)		o-PO_4-P / (mg/L) & (Elimination / %)		GUP / (mg/L) & (Elimination / %)		PP / (mg/L) & (Elimination / %)	
Zulauf Kläranlage	5,44	(-)	3,23	(-)	0,24	(-)	1,98	(-)
Ablauf Vorklärung	5,02	(7,7)	3,18	(1,6)	0,25	(-2,1)	1,60	(19,0)
Ablauf Nachklärung	0,42	(92,4)	0,20	(93,9)	0,042	(82,5)	0,18	(91,1)
Körsch vor Einleitung	0,087	(-)	0,051	(-)	0,006	(-)	0,030	(-)
Körsch hinter Einleitung	0,394	(-355)	0,191	(-274)	0,041	(-575)	0,163	(-451)

Abbildung 72: P-Fraktionen in S-Möhringen-24-h-Mischproben und Körsch-Stichproben.



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 73: P-Fraktionen in S-Möhringen-24-h-Mischproben und Körsch-Stichproben (Mediane).



(Quelle: eigene Daten)

10 Ergebnisse des Monitorings: Phosphonate

10.1 Abwasserproben

10.1.1 Adsorbierte Phosphonate im KA-Zulauf

Die Feststoffe im Zulauf der Kläranlagen enthielten überraschend hohe Gehalte an Phosphonaten (unterer bis mittlerer mg/kg-Bereich). Die nach dem ursprünglich eingesetzten Probenaufschlussverfahren gewonnenen Proben mussten um den Faktor 100 verdünnt werden. Dabei wiesen die Feststoffe in den Zuläufen der beiden untersuchten Kläranlagen ähnliche Gehalte auf.

Abbildung 74 fasst die Beladungen der Phosphonate an Feststoffen in den Kläranlagenzulaufproben zusammen und stellt diese (umgerechnet in Massenkonzentrationen anhand des AFS der Proben) mit den Gelöst-Konzentrationen der Phosphonate ins Verhältnis. In der Probe von KW40 (S-Mühlhausen) wurden die Feststoffe aufgrund zu geringen Probenvolumens nicht extrahiert.

Typische Beladungen und Gelöst-Konzentrationen (Median) in S-Mühlhausen betrugen: 678 mg/kg Phosphonatbeladung der Feststoffe, 195 µg/L Phosphonat adsorbiert, 305 µg/L Phosphonat gelöst, 342 mg/L AFS. In S-Möhringen betrugen diese: 715 mg/kg Phosphonatbeladung der Feststoffe, 156 µg/L Phosphonat adsorbiert, 245 µg/L Phosphonat gelöst, 224 mg/L AFS.

Die S-Mühlhausen-Proben aus KW07/28/43 wiesen vereinzelt stark erhöhte Feststoffbeladungen auf. In KW28 war die Adsorbiert-Konzentration verglichen mit den üblichen Beladungen sehr hoch. Der hohe Wert kommt dadurch zustande, dass in dieser Probe sowohl die Beladung (2556 mg/kg) als auch die AFS-Konzentration (472 mg/L) überdurchschnittlich hoch waren (Mediane: 678 mg/kg Beladung; 342 mg/L AFS). Die Probe mit der höchsten Adsorbiert-Konzentration aus KW28 wurde zu einem Zeitpunkt genommen, als der Durchfluss der Kläranlage durchschnittlich ausfiel. Einflüsse durch Regen oder ähnliches (Spülstoß) können somit nicht als Erklärung herhalten.

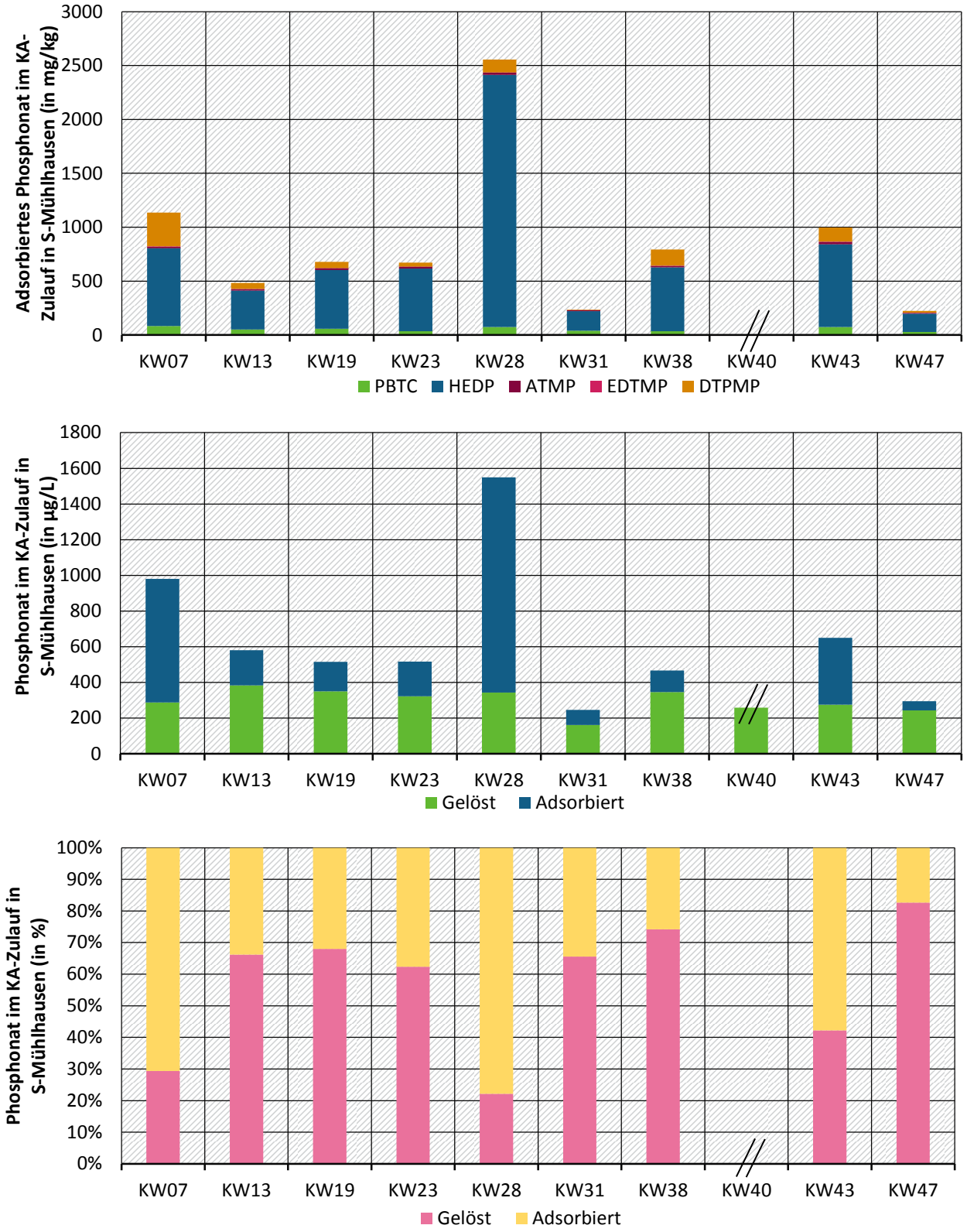
HEDP machte sowohl für S-Mühlhausen als auch für S-Möhringen den größten Teil der adsorbierten Phosphonate aus. Dies spiegelt die Ergebnisse von Nowack und Stone (1999) wider, die feststellten, dass Phosphonate mit kleinerer Molekülmasse bzw. geringerer Anzahl an Phosphonogruppen besonders stark an Eisenhydroxid adsorbieren. Es ist sehr wahrscheinlich, dass dies auch für die Mehrzahl anderer z. B. calciumhaltiger Adsorbentien gilt.

Der Anteil adsorbierten Phosphonats im Zulauf von S-Mühlhausen variierte i. d. R. zwischen 30 % und 70 %. Im Zulauf von S-Möhringen variierte dieser zwischen 30 % und 50 %. S-Möhringen wies folglich geringere Schwankungen auf. Dies ist evtl. darauf zurückzuführen, dass sich das Abwasser der Kläranlage in S-Möhringen hauptsächlich aus kommunalem Abwasser zusammensetzt. Etwaige teilweise stark schwankende Einflüsse durch Industrieeinleitungen fallen somit nicht ins Gewicht.

Der hohe Anteil adsorbierten Phosphonats ist beträchtlich und verdeutlicht, dass um den Phosphonatgehalt in Gänze zu erfassen, in Kläranlagenproben eine Bestimmung der an Feststoffen adsorbierten Phosphonate durchgeführt werden muss. Dies wurde in dieser Arbeit nur für die Kläranlagenzuläufe ausgeführt. Zukünftige Untersuchungen sollten also auch die Abläufe verschiedener Reinigungsstufen auf die adsorbierten Phosphonatanteile hin berücksichtigen (da die Feststoffkonzentration im Ablauf wesentlich geringer als im Zulauf ist, empfiehlt sich hierzu die Verwendung einer Durchlaufzentrifuge direkt vor Ort).

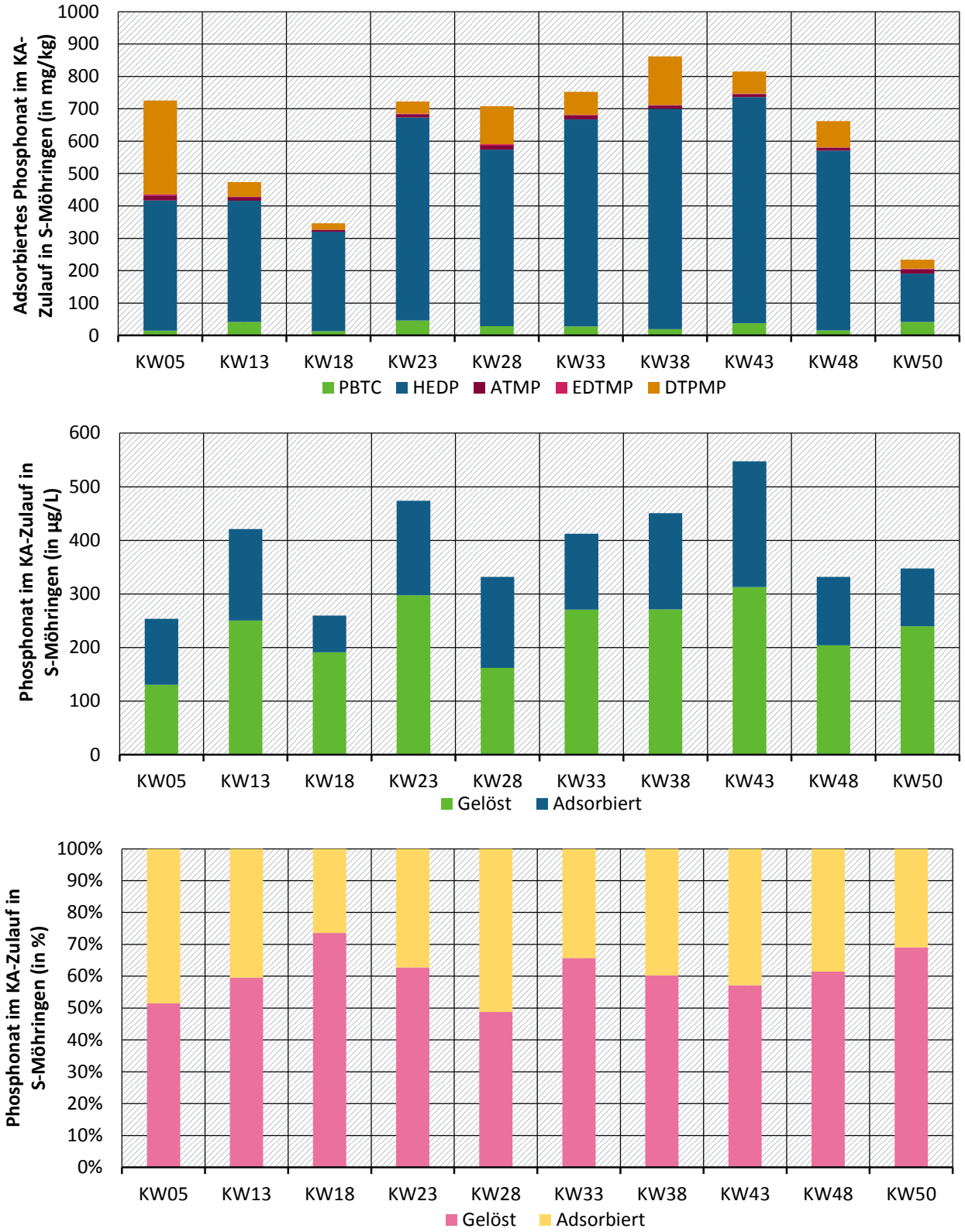
Die Feststoffgehalte in den Zulaufproben streuten über das Jahr verteilt stark. Ein Wellenprofil über den Jahresverlauf, wie bei den Sedimentproben, ist nicht zu erkennen (Abschnitt 10.3.3).

Abbildung 74: S-Mühlhausen – KA-Zulauf – Adsorbierte und gelöste Phosphonate.



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 75: S-Möhringen – KA-Zulauf – Adsorbierte und gelöste Phosphonate.



(Quelle: eigene Daten)

10.1.2 Gelöste Phosphonate in der Kläranlage

Generell erlaubten die Gehalte der Phosphonate ATMP, DTPMP, HEDP und PBTC die Quantifizierung per Direktmessung. EDTMP lag im Zulauf der Vorklärung häufig bereits unterhalb der Bestimmungsgrenze (1 µg/L) vor. ATMP trat in den Kläranlagenzuläufen in deutlich niedrigeren Konzentrationen (<15 µg/L) auf als die Phosphonate DTPMP, HEDP und PBTC (zwischen 7 µg/L und 231 µg/L).

Die Phosphonatgehalte der Abwasserproben wiesen allgemein eine etwas geringere Kontinuität auf als die der Schwebstoff- (Abschnitt 10.4.1) und Sedimentproben (Abschnitt 10.3.2). Dennoch verhielten sich die relativen Analytkonzentrationen zueinander über den Jahresverlauf hinweg ähnlich (Tabelle 22 und Tabelle 23). Bei der Auftragung der Konzentrationsprofile während der einzelnen Probenahmen (Zulauf Vorklärung, Ablauf Vorklärung, Ablauf Nachklärung und im Falle des Klärwerks Stuttgart-Mühlhausen zusätzlich auch Ablauf Sandfilter und Ablauf Aktivkohlefilter) wurden stets vergleichbare Diagramme erhalten (Abbildung 76 bis Abbildung 82). Zur Vergleichbarkeit der absoluten Gehalte wurde dabei stets dieselbe y-Achsenskalierung verwendet. Während bei der Vorklärung keine Reduktion der Phosphonatkonzentration, in einigen Fällen sogar eine geringe Zunahme der Phosphonatgehalte stattfindet (ein Indiz dafür, dass zunächst an Feststoffpartikel adsorbiertes Phosphonat freigesetzt wird), ist im Ablauf der Nachklärung eine starke Reduktion der Phosphonatgehalte festzustellen. Dies verläuft in beiden untersuchten Klärwerken weitgehend analog und betrifft alle Analyten in vergleichbarer Weise. Bei der Sandfiltration im Klärwerk Stuttgart-Mühlhausen findet nur eine geringfügige zusätzliche Reduktion der Phosphonatgehalte statt. Durch die Aktivkohlefiltration lässt sich jedoch insgesamt eine Elimination der Phosphonsäuren von über 90 % feststellen.

Die über alle zwanzig Probenahmen in den Kläranlagen-Zuläufen detektierten Gehalte an ATMP (≤15 µg/L) und EDTMP (≤11 µg/L) fallen geringer aus als die durch Nowack (1998) im Zulauf einer Kläranlage in der Schweiz detektierten Gehalte von 223 µg/L (ATMP) bzw. 65 µg/L (EDTMP). Bei den aktuellen Messungen wurden jedoch DTPMP (7 µg/L bis 71 µg/L), HEDP (27 µg/L bis 231 µg/L) und PBTC (22 µg/L bis 119 µg/L) in vergleichbaren Konzentrationen vorgefunden. Ferner spiegeln die aktuellen Ergebnisse die durch Nowack beschriebenen Eliminierungsgrade von rund 90 % während der Abwasserreinigung wider.

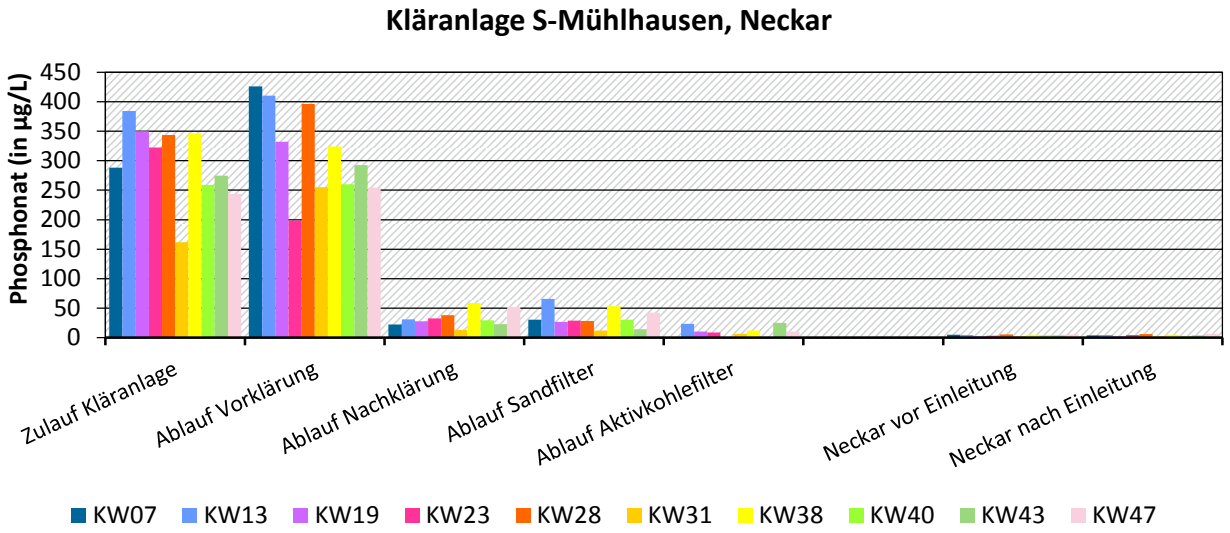
Tabelle 22: Übersicht der Phosphonatkonzentrationen (in µg/L) in beiden Kläranlagen.

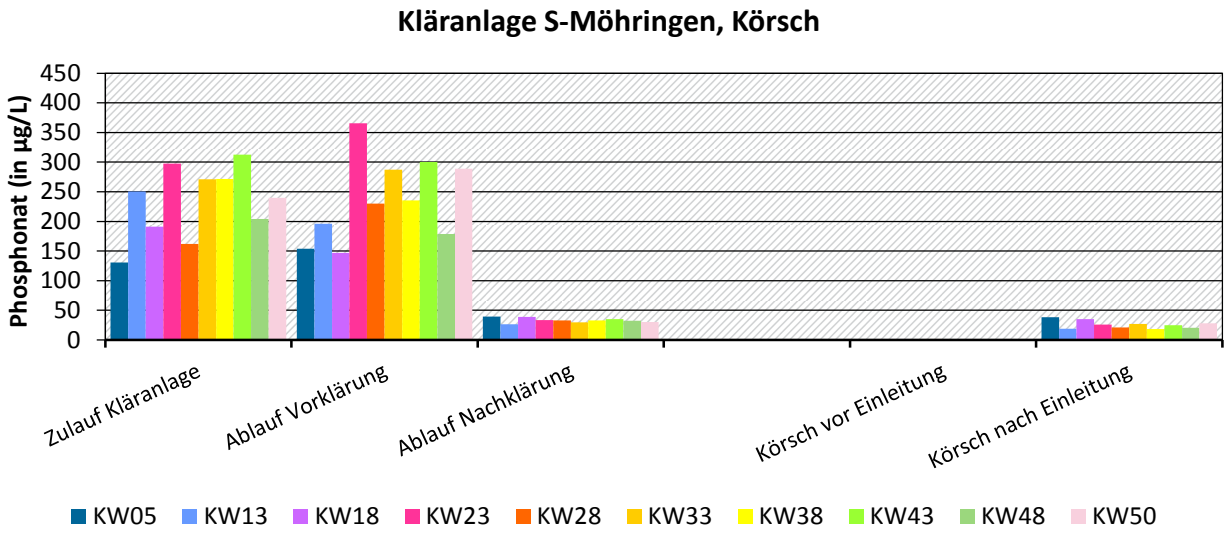
		Zulauf	Ablauf Vorklärung	Ablauf Nachklärung	Ablauf Sandfilter	Ablauf Aktivkohlestufe
S-Mühlhausen	Minimum	161,9	198,6	13,3	12,1	7,0
	Q1	263,0	256,1	24,2	27,1	9,6
	Median	305,2	308,4	30,2	29,9	10,6
	Q3	345,6	380,2	37,0	39,4	18,0
	Maximum	384,2	425,7	58,9	66,1	24,9
S-Möhringen	Minimum	130,6	146,7	26,4		
	Q1	194,3	183,2	30,6		
	Median	245,3	232,6	33,0		
	Q3	271,4	288,6	34,8		
	Maximum	312,9	365,7	39,6		

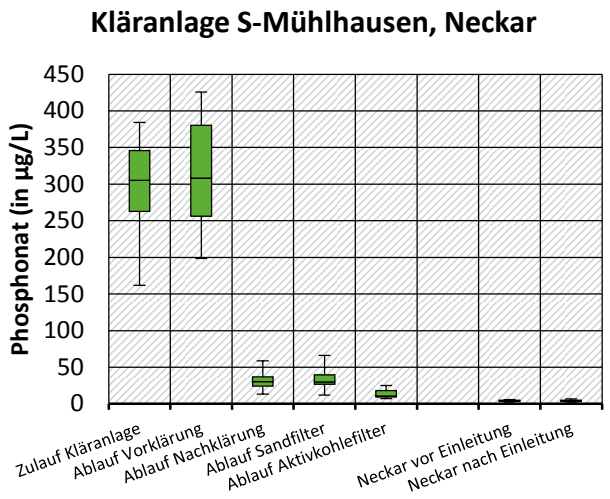
Tabelle 23: Übersicht der Phosphonat-P-Konzentrationen (in µg/L) in beiden Kläranlagen.

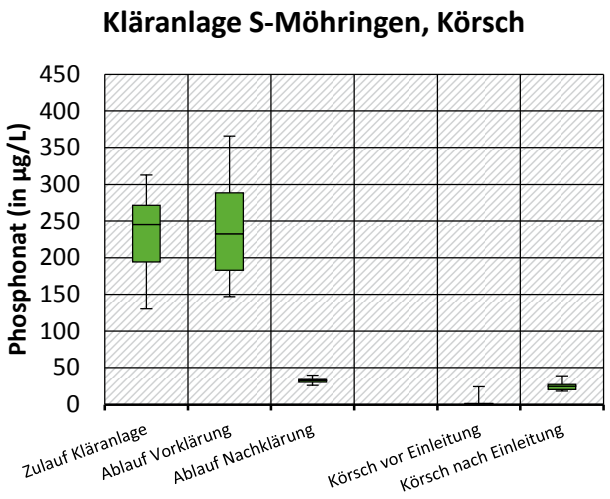
		Zulauf	Ablauf Vorklärung	Ablauf Nachklärung	Ablauf Sandfilter	Ablauf Aktivkohlestufe
S-Mühlhausen	Minimum	31,8	46,2	2,4	2,6	1,8
	Q1	62,0	61,2	4,9	5,3	2,4
	Median	80,7	76,1	6,6	6,2	3,0
	Q3	85,5	91,3	6,9	7,5	5,3
	Maximum	93,5	102,8	13,2	16,8	6,0
S-Möhringen	Minimum	34,2	37,8	6,1		
	Q1	49,8	44,2	7,6		
	Median	57,6	57,4	8,0		
	Q3	72,6	72,2	8,7		
	Maximum	78,9	93,2	10,2		

Abbildung 76: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Phosphonatkonzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).



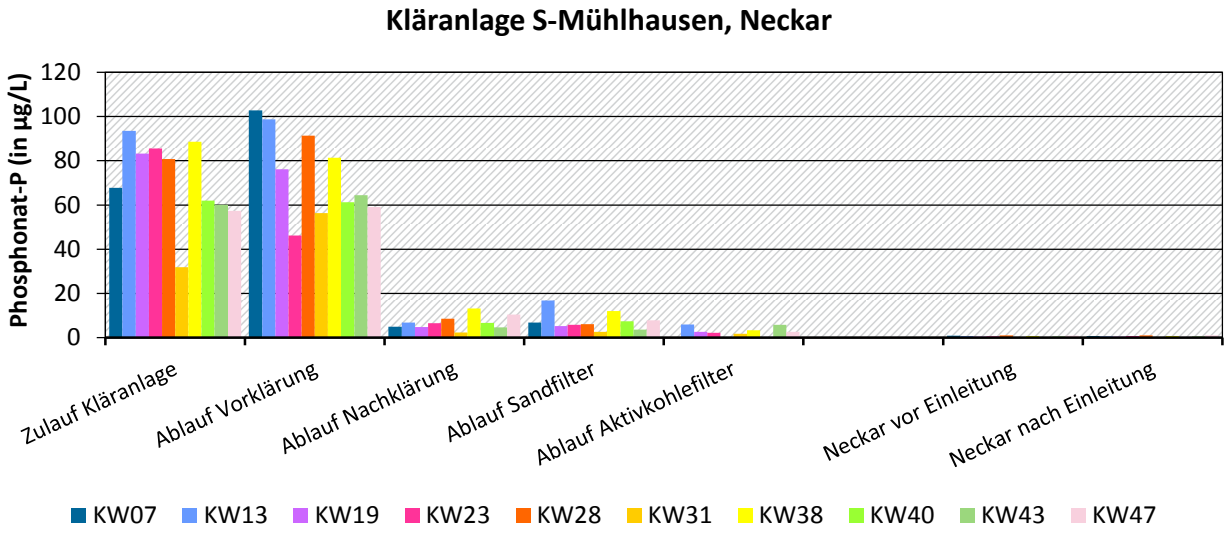


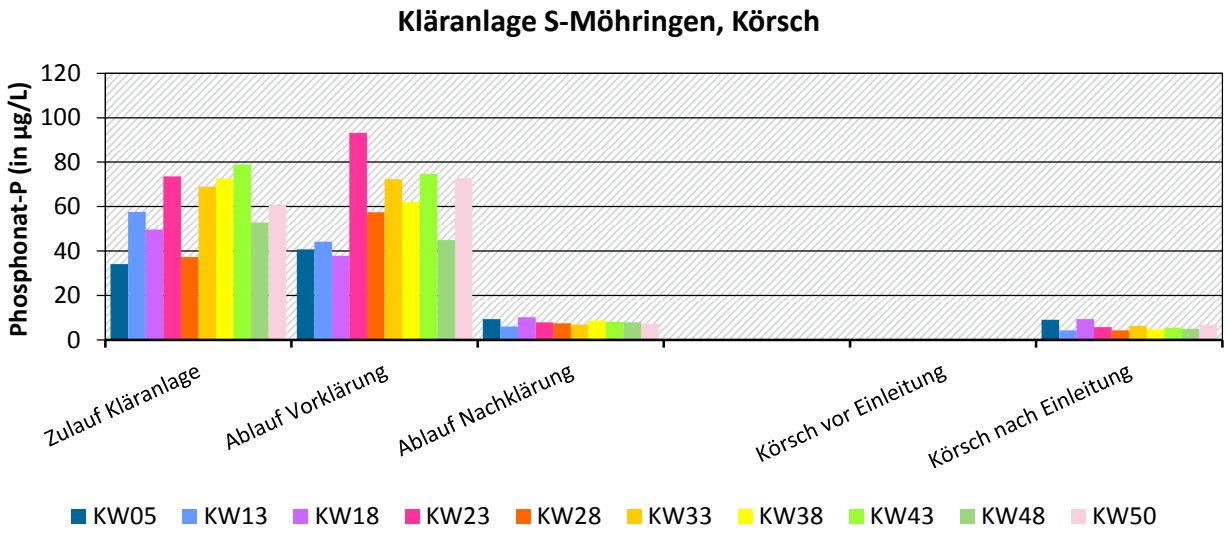


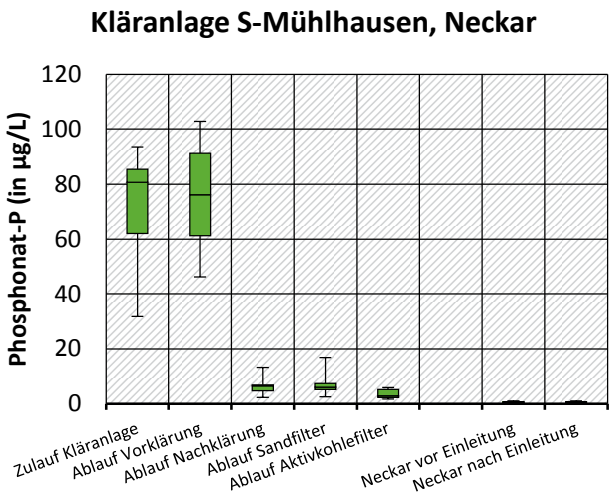


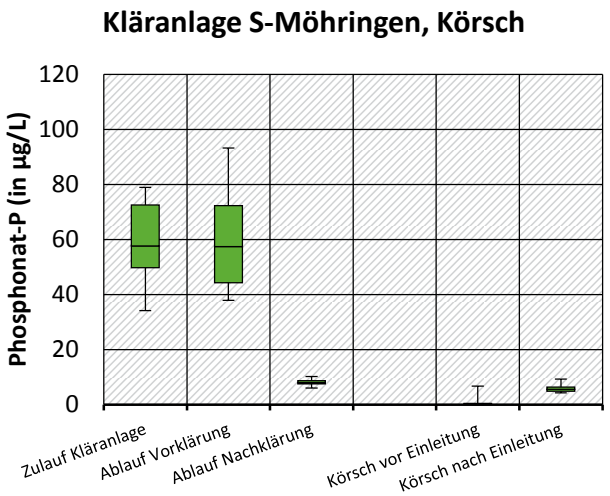
(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 77: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Phosphonat-P-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).



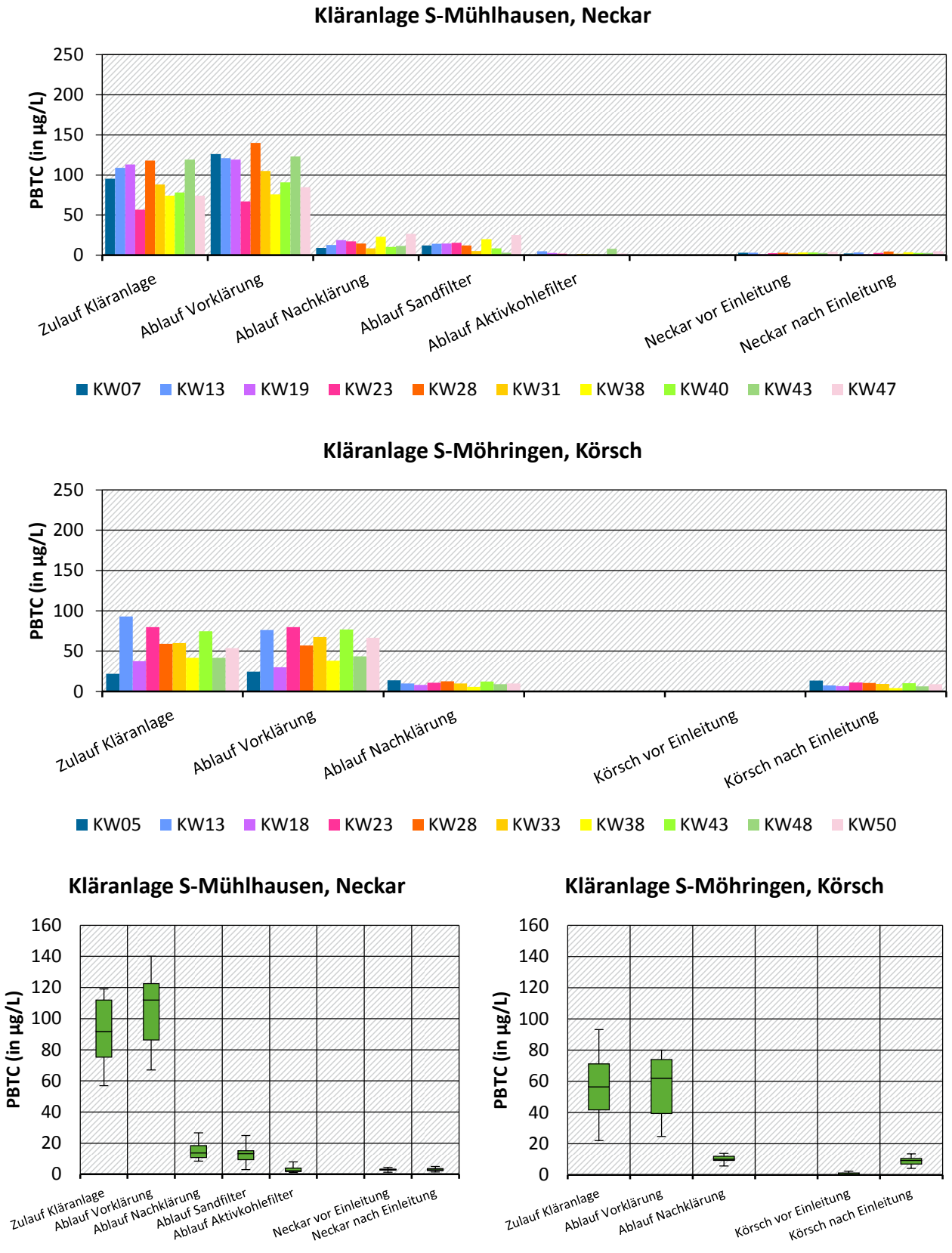






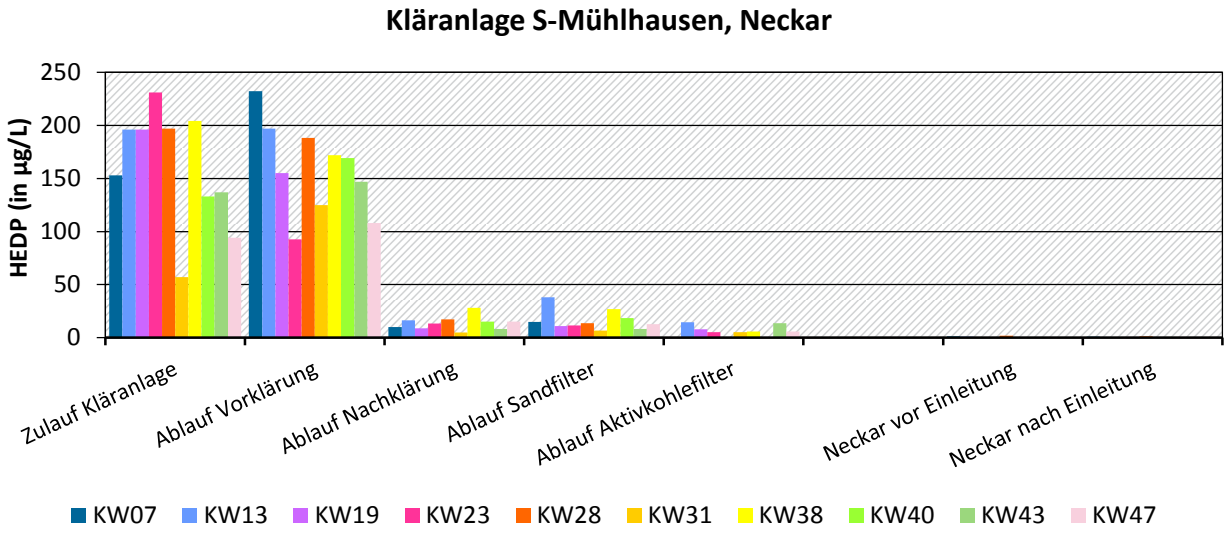
(Quelle: eigene Daten)

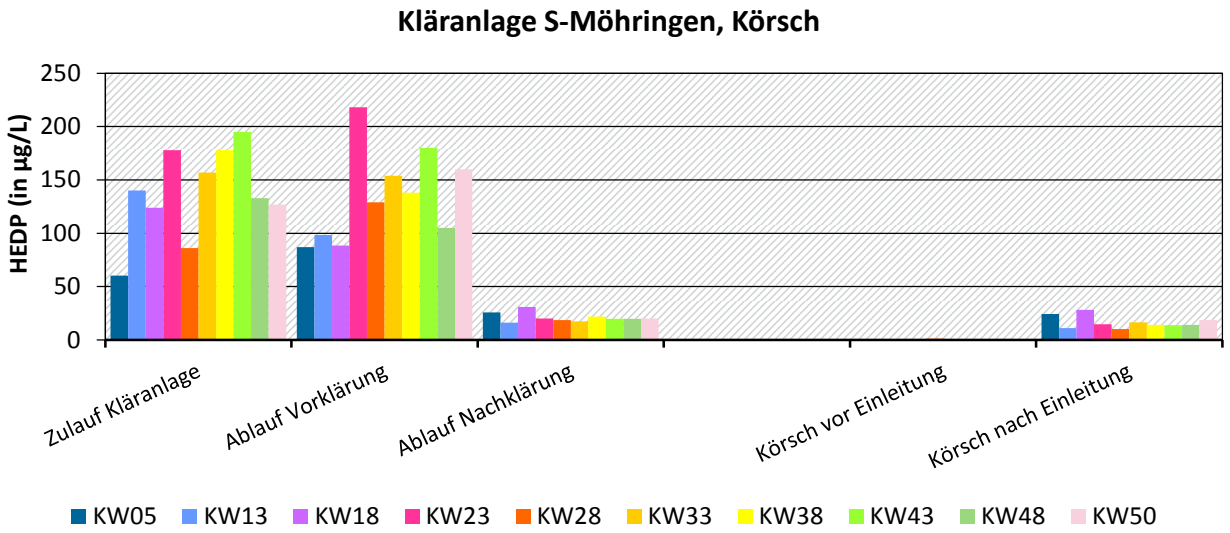
Abbildung 78: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – PBTC-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).

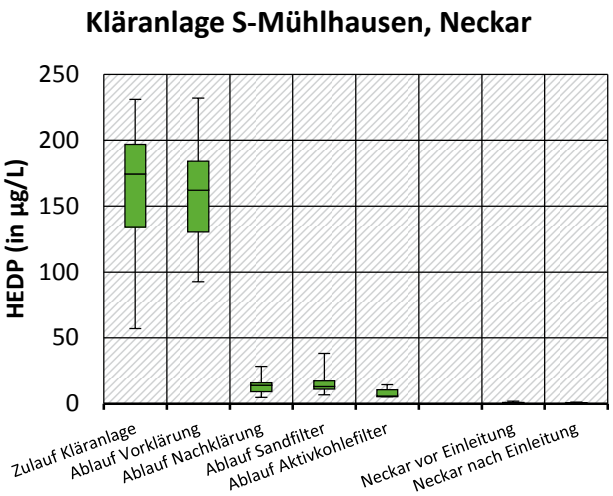


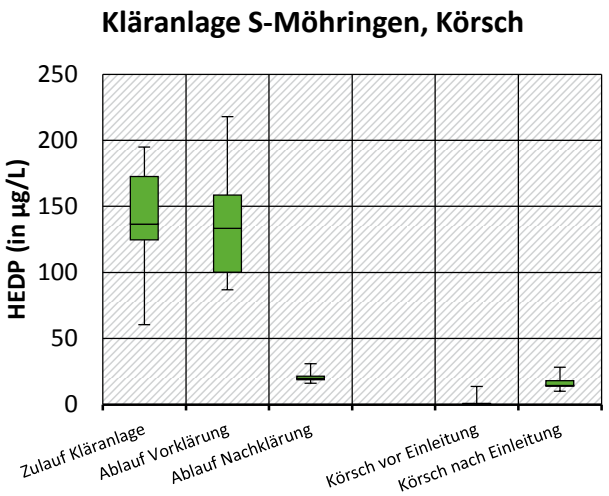
(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 79: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – HEDP-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).



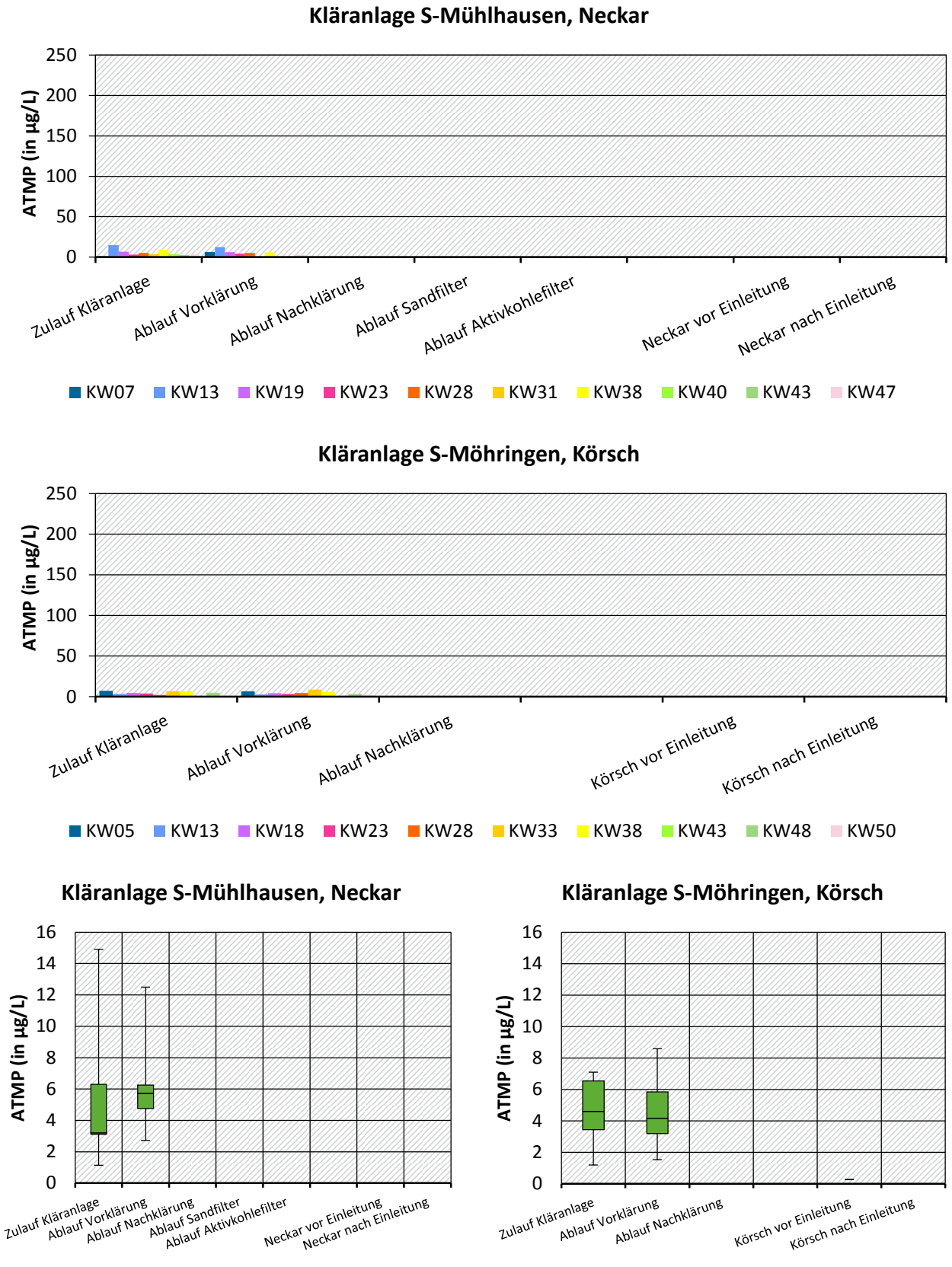






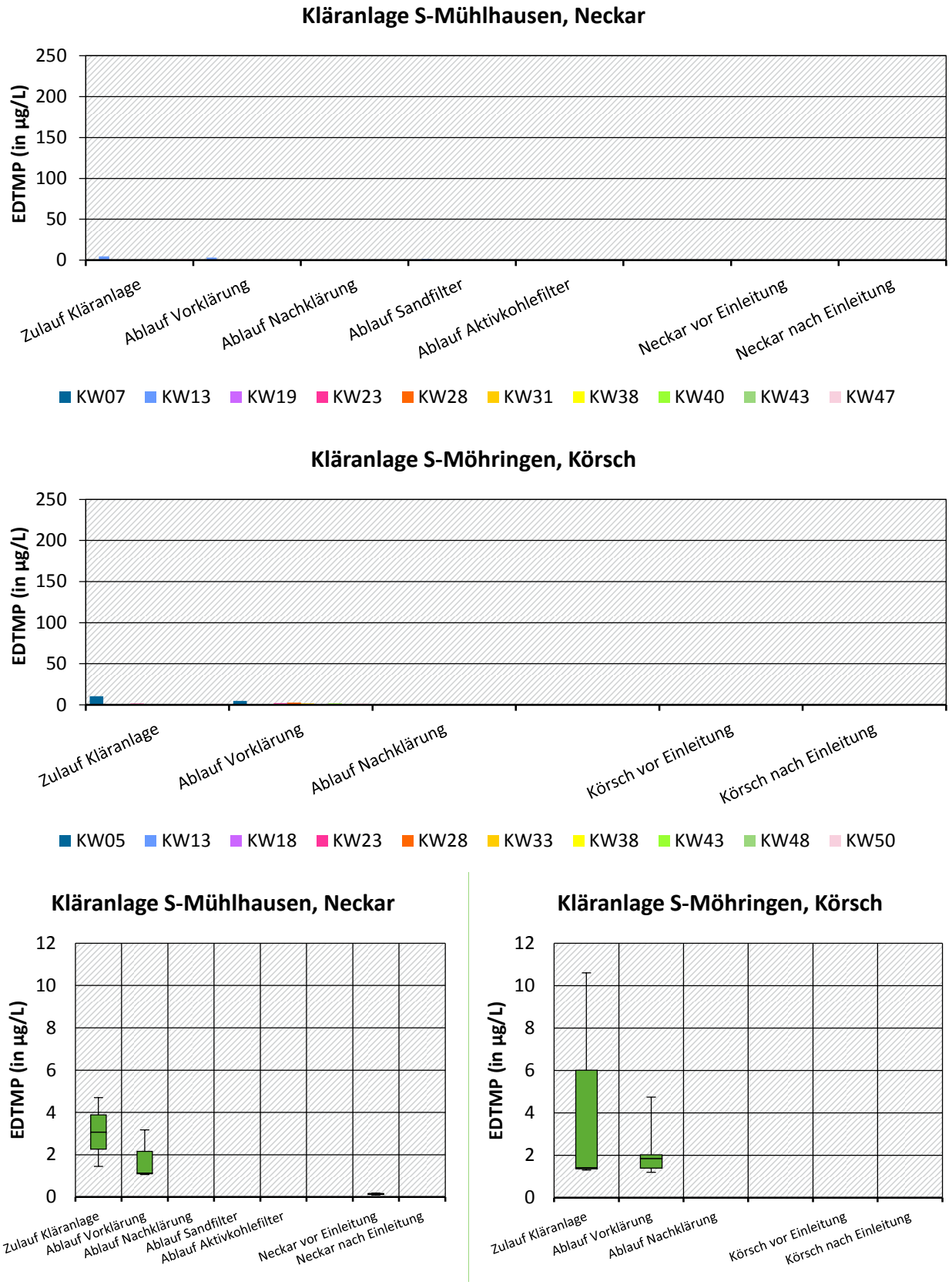
(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 80: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – ATMP-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).



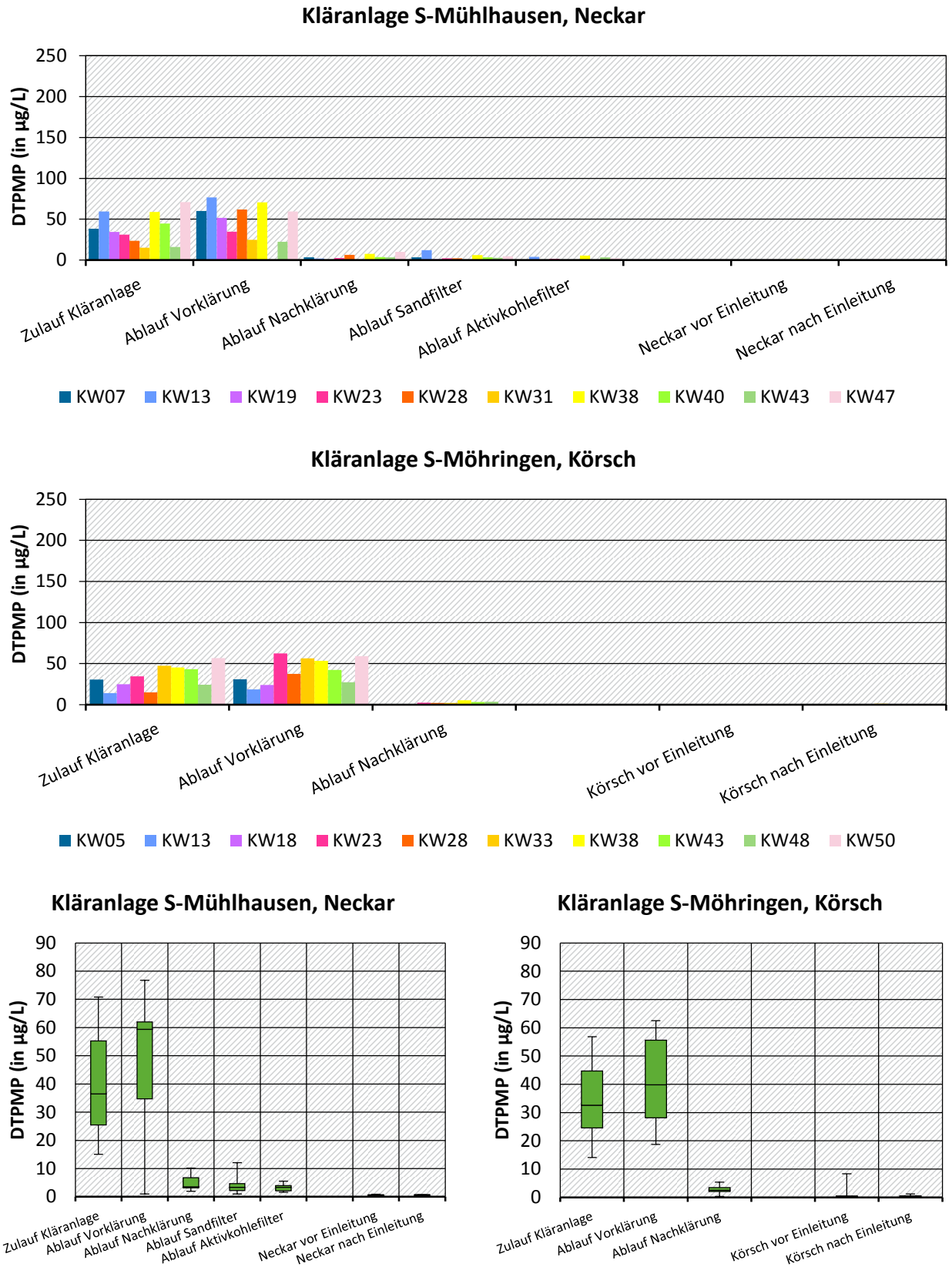
(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 81: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – EDTMP-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 82: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – DTPMP-Konzentrationen (Aktivkohleversuchsanlage in S-Mühlhausen war am Probenahmetag in KW07, KW28 und KW40 außer Betrieb).



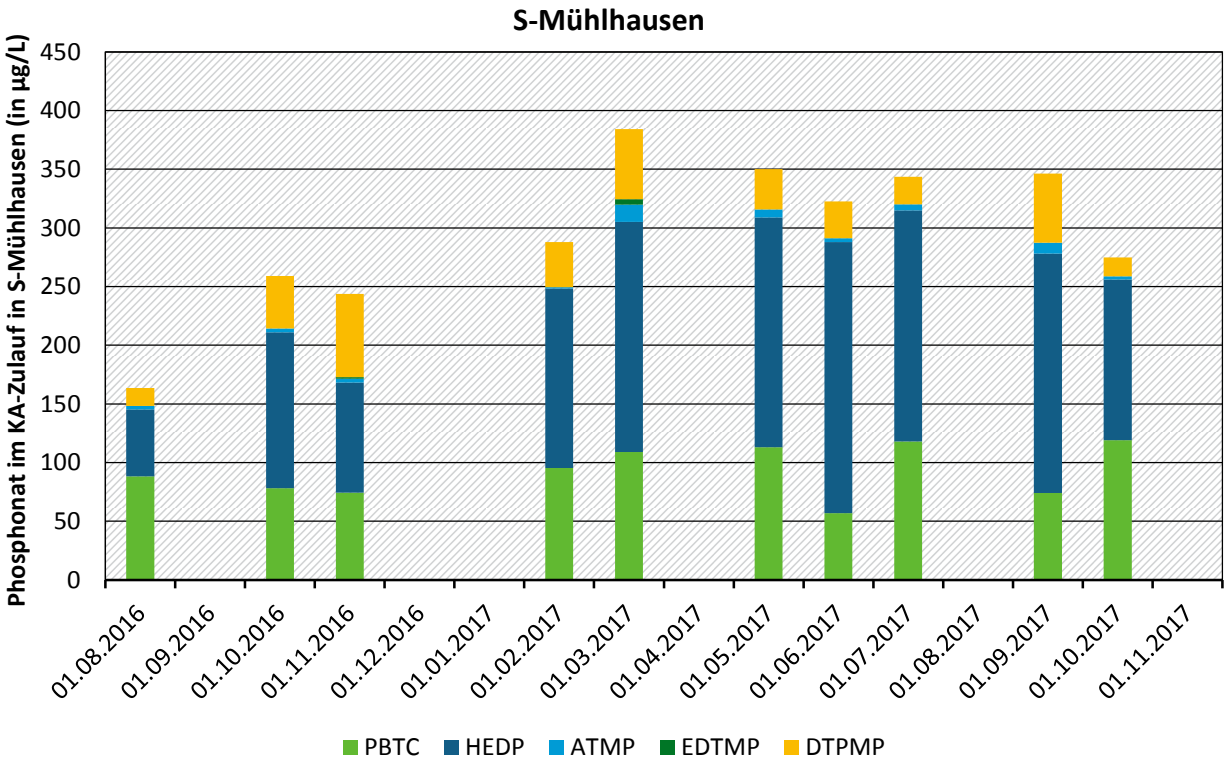
(Quelle: eigene Daten)

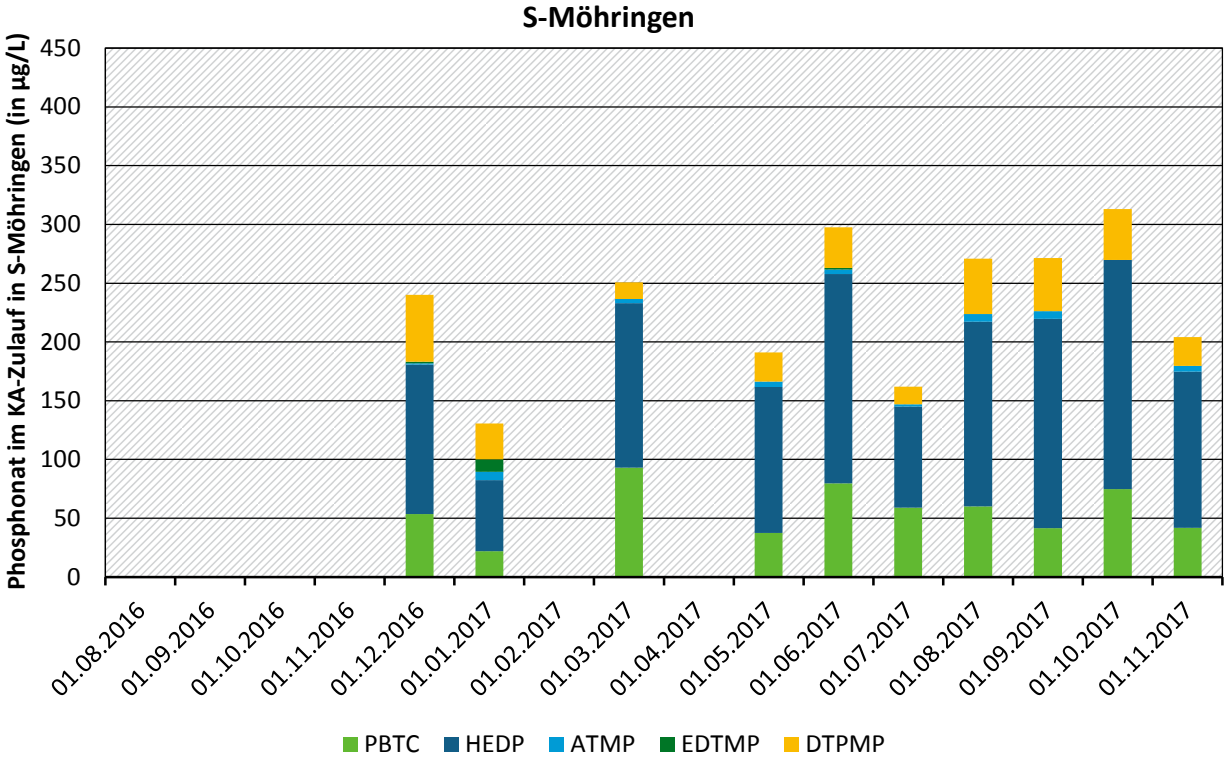
10.1.3 Datumsbetrachtung hinsichtlich Kläranlagenproben

Die Gelöstkonzentrationen in den Zuläufen beider Kläranlagen sind in Abbildung 83 chronologisch nach den Probenahmezeitpunkten aufgetragen, um die Prüfung, ob die Phosphonatbelastung der Abwässer evtl. über die Zeit zunahm oder abnahm, zu ermöglichen.

Lediglich für S-Mühlhausen kann ein gewisser Anstieg über die Zeit beobachtet werden. Die letzte Probe im Oktober 2017 deutet wieder einen Rückgang der Belastung an. Der Anstieg über die Herbst- und Wintermonate lässt sich nicht plausibel auf eine mögliche Zunahme des Waschmittelverbrauchs zurückführen, da dieser eher im Frühjahr zu erwarten sein sollte. Die höchsten Phosphonatgehalte wurden wie erwartet in der wärmeren Jahreszeit (März bis September) festgestellt. In S-Möhringen schwankte die Phosphonatbelastung stärker und ließ keinen tendenziellen Anstieg ableiten. Wäre der Anstieg der Phosphonatbelastung in S-Mühlhausen auf die Zunahme des Waschmittelverbrauchs zurückführbar, sollte auch in S-Möhringen eine Zunahme des Waschmittelverbrauchs zu beobachten sein. Industrieeinleiter, welche phosphonathaltige Produkte für Spülprozesse einsetzen (überwiegend stickstofffreie Phosphonate) könnten einen erheblichen Einfluss auf die Phosphonatbelastung haben. Dieser unterliegt allerdings einer starken Streuung. Ferner kann die Phosphonatkonzentration durch Vermischung des Abwassers mit Regenwasser erheblich beeinflusst werden. Eine Erklärung für den Anstieg der Phosphonatbelastung in der Kläranlage S-Mühlhausen ist somit schwer zu formulieren.

Abbildung 83: S-Mühlhausen & S-Möhringen – KA-Zulauf – Phosphonatkonzentrationen chronologisch nach Probenahmedatum sortiert.





(Quelle: eigene Daten)

10.1.4 Phosphonatelimination in Kläranlagen

Die Elimination der Phosphonate durch die einzelnen Reinigungsstufen beider Kläranlagen ist in Abbildung 84 dargestellt. Bei beiden Kläranlagen unterlag die Elimination durch die Vorklärung sehr starken Schwankungen. Teilweise trat auch negative Elimination auf, d. h. die Phosphonatkonzentration war im Ablauf der Vorklärung höher als im Zulauf der Kläranlage. Dies deutet auf eine Rücklösung von adsorbierten Phosphonaten hin und ist durchaus im Einklang mit den Erkenntnissen aus Abschnitt 10.1.1, in dem aufgezeigt wurde, dass Phosphonate im KA-Zulauf zu einem erheblichen Anteil an Feststoffen adsorbiert vorliegen. Eine mögliche Erklärung für die Desorption der Phosphonate könnte die geringfügige Verschiebung des pH-Werts in den alkalischen Bereich während der Vorklärung darstellen (Abschnitt 9.3). So ist bekannt, dass Phosphonate mit Erhöhung des pH-Werts und der dabei eintretenden Verschiebung hin zu stärker negativ geladenen Spezies und aufgrund der damit zum Partikel stärkeren elektrostatischen Ladungsabstoßung schwächer adsorbieren bzw. desorbieren (Nowack und Stone, 1999).

Die Phosphonatelimination durch die Nachklärung in S-Mühlhausen lag bereits zwischen 80 % und 90 % (Tabelle 24). In S-Möhringen war diese etwas schwächer ausgeprägt. Die Elimination durch die Sandfilterstufe fiel sehr gering aus. Durch die Aktivkohlestufe fand jedoch eine zusätzliche Reduktion der Phosphonatgehalte im Vergleich zur Nachklärung und zum Sandfilter statt. Aktivkohle ist unpolar und somit eigentlich kein geeignetes Adsorbens für die stark polaren Phosphonate (Klinger *et al.*, 1998). Die festgestellte Elimination liegt wohl darin begründet, dass zur Abtrennung der Aktivkohle metallhaltiges Flockungsmittel verwendet wird (Eisenchloridsulfat), an das die Phosphonate adsorbieren. Diese Flocken werden in Gegenwart der feinen Pulveraktivkohle mit sehr großer spezifischer Oberfläche effektiv ausgetragen.

Die aus den Diagrammen zu ATMP, EDTMP und DTPMP ersichtlichen Eliminationsgrade sind als Mindesteliminationsgrade zu verstehen, da ATMP und EDTMP in der Mehrzahl der Proben und DTPMP in einigen Proben unterhalb der Bestimmungsgrenze vorlagen. So macht es bei der Ermittlung der Eliminationsgrade bei sehr niedrigen Konzentrationen der Phosphonate im Zulauf einen großen Unterschied, ob die Bestimmungsgrenze bei 1 µg/L oder 0,1 µg/L liegt. Soll das Verhalten der Aminophosphonate untereinander oder mit den anderen Phosphonaten in Kläranlagen verglichen werden, empfiehlt sich daher die Betrachtung der Diagramme mit den Ablaufkonzentrationen (Abschnitt 10.1.2, Abbildung 86).

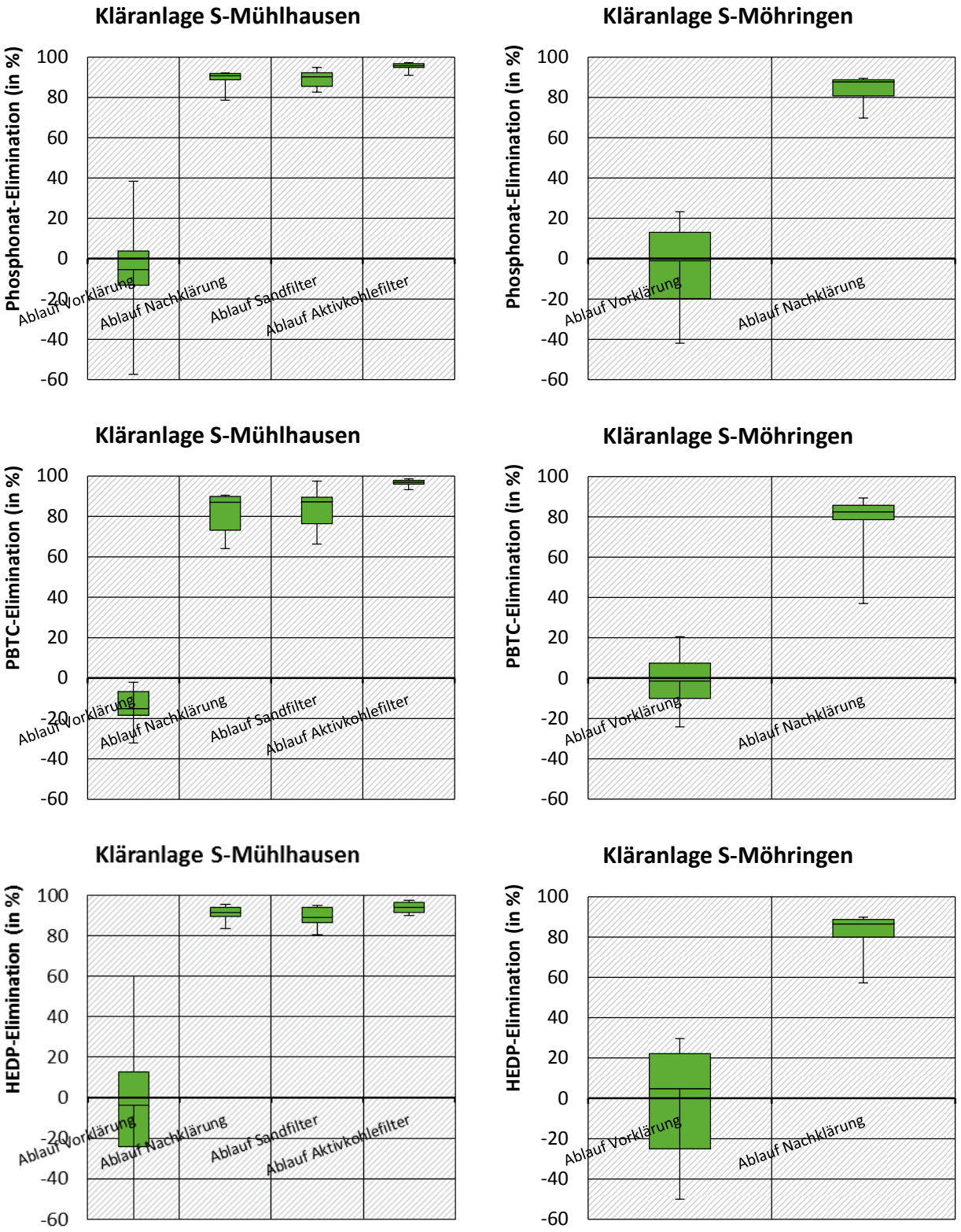
Wenngleich in S-Möhringen HEDP etwas besser eliminiert wurde als PBTC, war die typische Ablaufkonzentration des HEDP etwas höher als die des PBTC. Der Eliminationsgrad ist also nicht das alleinige Kriterium über die Austragung des Phosphonats in Gewässer durch die Kläranlage und sollte stets in Verbindung mit den Ablaufkonzentrationen betrachtet werden (Abbildung 85 und Abbildung 86).

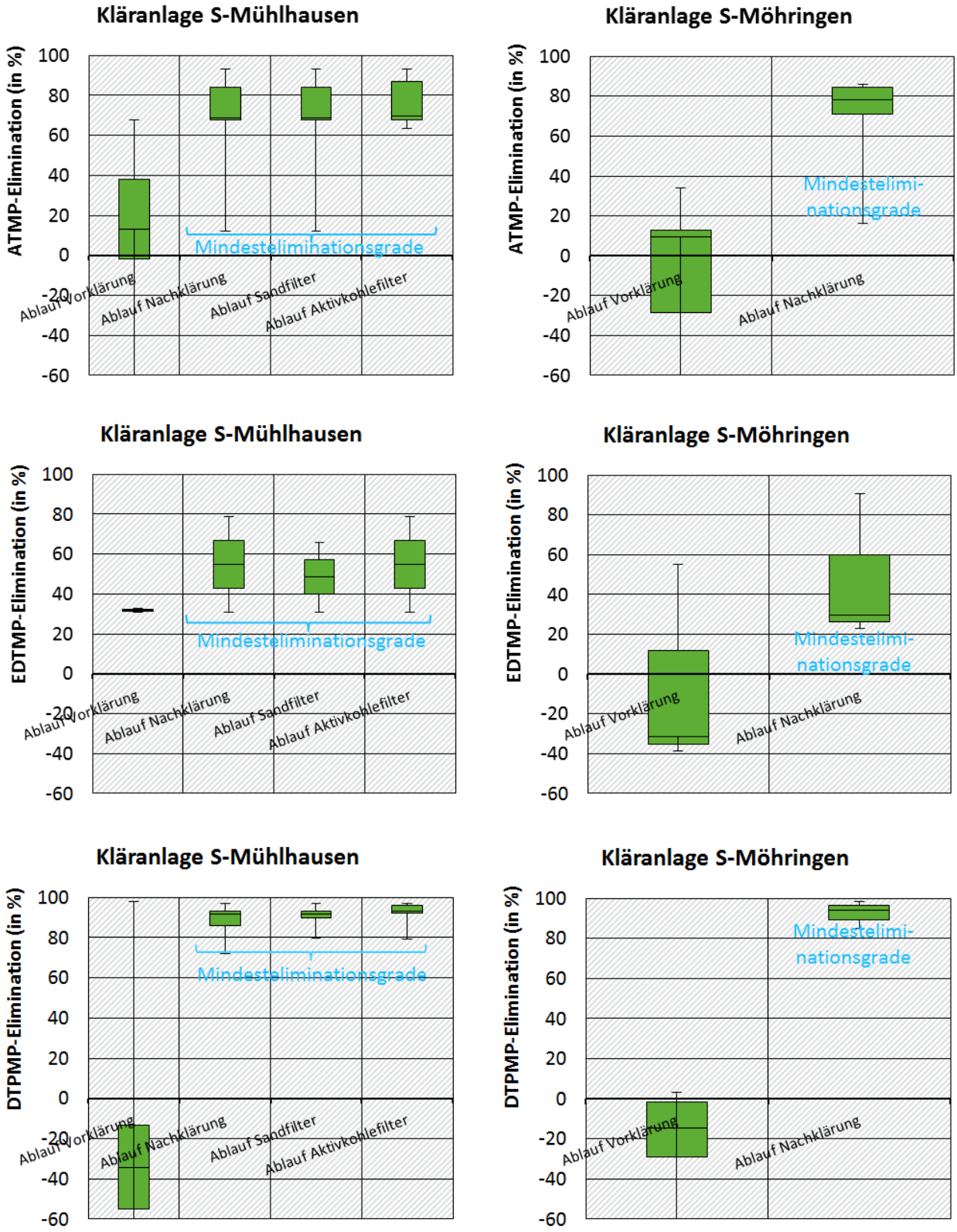
Im Ablauf der Nachklärung in S-Mühlhausen war PBTC das Phosphonat mit der höchsten Konzentration. Im Ablauf der Sandfilterstufe lag HEDP in der höchsten Konzentration vor. Dies impliziert, dass PBTC durch die Sandfilterstufe besser eliminiert wird als HEDP. Auch im Ablauf der Aktivkohlestufe lag HEDP in der höchsten Konzentration vor. Von den Aminophosphonaten wies DTPMP die höchste Konzentration auf, wenngleich diese stets geringer als die von PBTC und HEDP war. Analog verhielt es sich auch im Kläranlagenzulauf.

Tabelle 24: Übersicht aller Phosphonateliminationsgrade (in %) beider Kläranlagen.

		Ablauf Vorklärung	Ablauf Nachklärung	Ablauf Sandfilter	Ablauf Aktivkohlestufe
S-Mühlhausen	Minimum	-57,4	78,6	82,6	90,9
	Q1	-13,2	88,7	85,5	94,8
	Median	-5,5	90,7	90,2	95,8
	Q3	3,8	91,9	92,2	96,7
	Maximum	38,4	92,1	94,8	97,3
S-Möhringen	Minimum	-42,0	69,7		
	Q1	-19,8	80,7		
	Median	-1,0	87,7		
	Q3	13,1	88,8		
	Maximum	23,3	89,5		

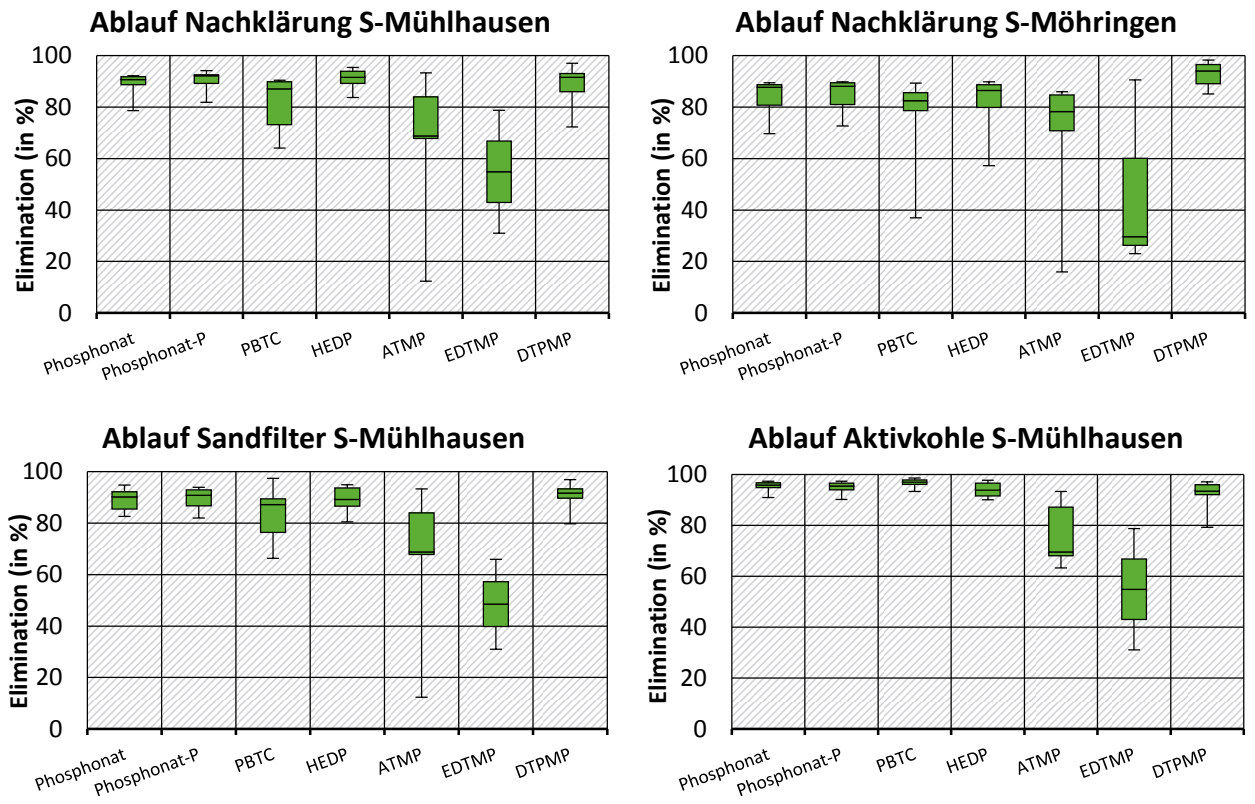
Abbildung 84: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Eliminationsgrade aller Phosphonate.





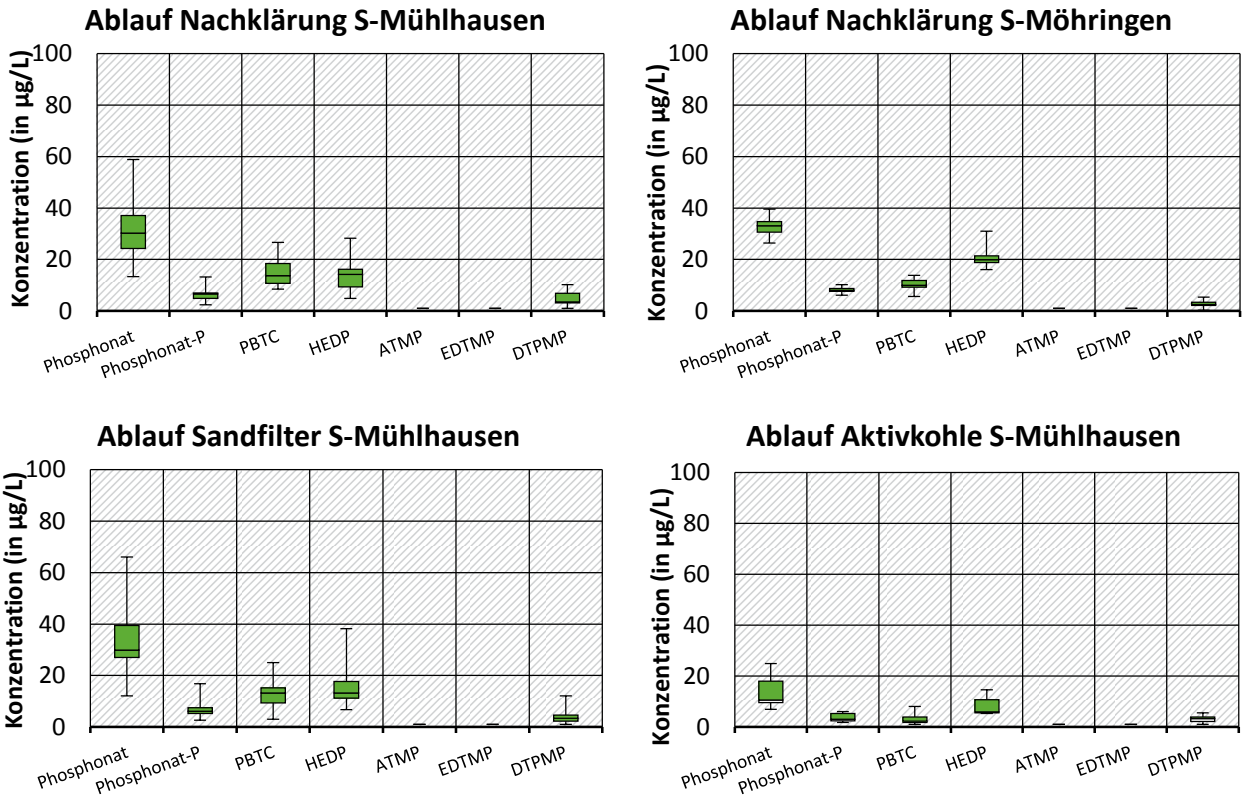
(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 85: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Vergleich der Phosphonateliminationsgrade. Für ATMP, EDTMP und DTPMP sind Mindesteliminationsgrade angegeben.



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 86: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Vergleich der Ablaufkonzentrationen aller Phosphonate.



(Quelle: eigene Daten)

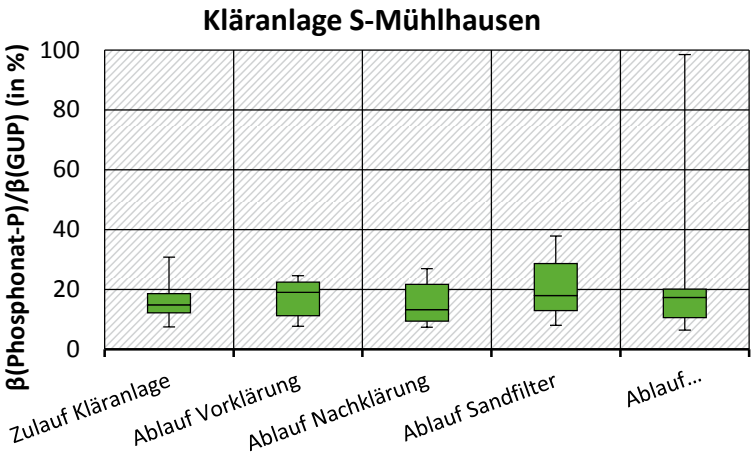
10.1.5 Anteil von Phosphonat-P am GUP

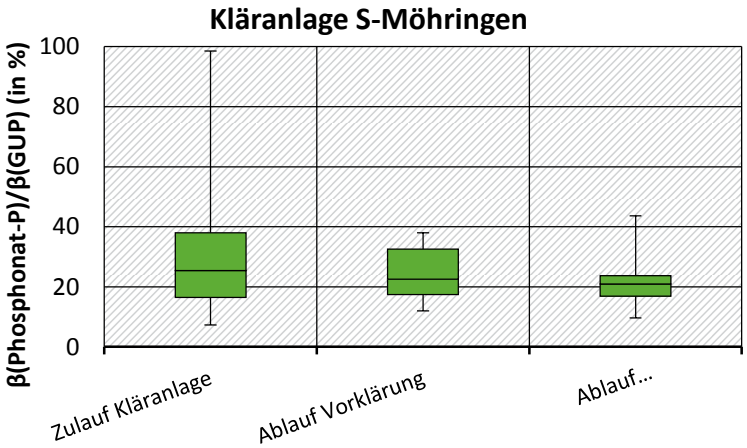
Phosphonate werden der nicht hydrolisier- und fällbaren Phosphorfraktion zugeordnet, die seit Beginn der 1980er Jahre, also zeitgleich mit dem Beginn der industriellen Verwendung von Phosphonaten, mit steigender Tendenz in Abläufen deutscher Kläranlagen nachgewiesen wird (Reichert, 1995). Die Elimination dieser Phosphorfraktion kann von Kläranlagenbetreibern nur unzureichend gesteuert werden. Dadurch erschwert die GUP-Fraktion die Einhaltung von P-Grenzwerten. Es ist daher notwendig, den Anteil von Phosphonat-P an der GUP-Fraktion zu ermitteln.

Es zeigte sich, dass der Anteil von Phosphonat-P an der GUP-Fraktion in allen Abwasserproben durchweg i. d. R. zwischen 10 % und 30 % (S-Mühlhausen) bzw. zwischen 15 % und 40 % (S-Möhringen) lag und somit signifikant ausfiel. Die über alle Proben hinweg ähnlichen Anteile zeigen auf, dass die Elimination von GUP in etwa mit der Elimination von Phosphonaten korreliert.

Untersuchungen hinsichtlich der Reinheit technischer Phosphonate zeigten auf, dass ein nicht unwesentlicher Teil des Phosphors in Form von phosphororganischen Synthesenebenprodukten vorliegen kann (Happel *et al.*, 2017). Dieser Anteil an strukturverwandten Verbindungen, die sich chemisch der Gruppe der Phosphonsäuren zuordnen lässt, kann beim DTPMP über 50 % ausmachen. Auf die Ergebnisse hier übertragen wird deutlich, dass der Anteil von Verbindungen mit Phosphonogruppen am GUP entsprechend höher ausfallen kann. Untersuchungen einzelner Sediment- und Schwebstoffstichproben (Kapitel 10.5) implizieren zudem, dass in Umweltproben eine hohe Menge an bislang nicht-identifizierten phosphororganischen Verbindungen vorliegt.

Abbildung 87: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlage – Anteile von Phosphonat-P am GUP.





(Quelle: eigene Daten)

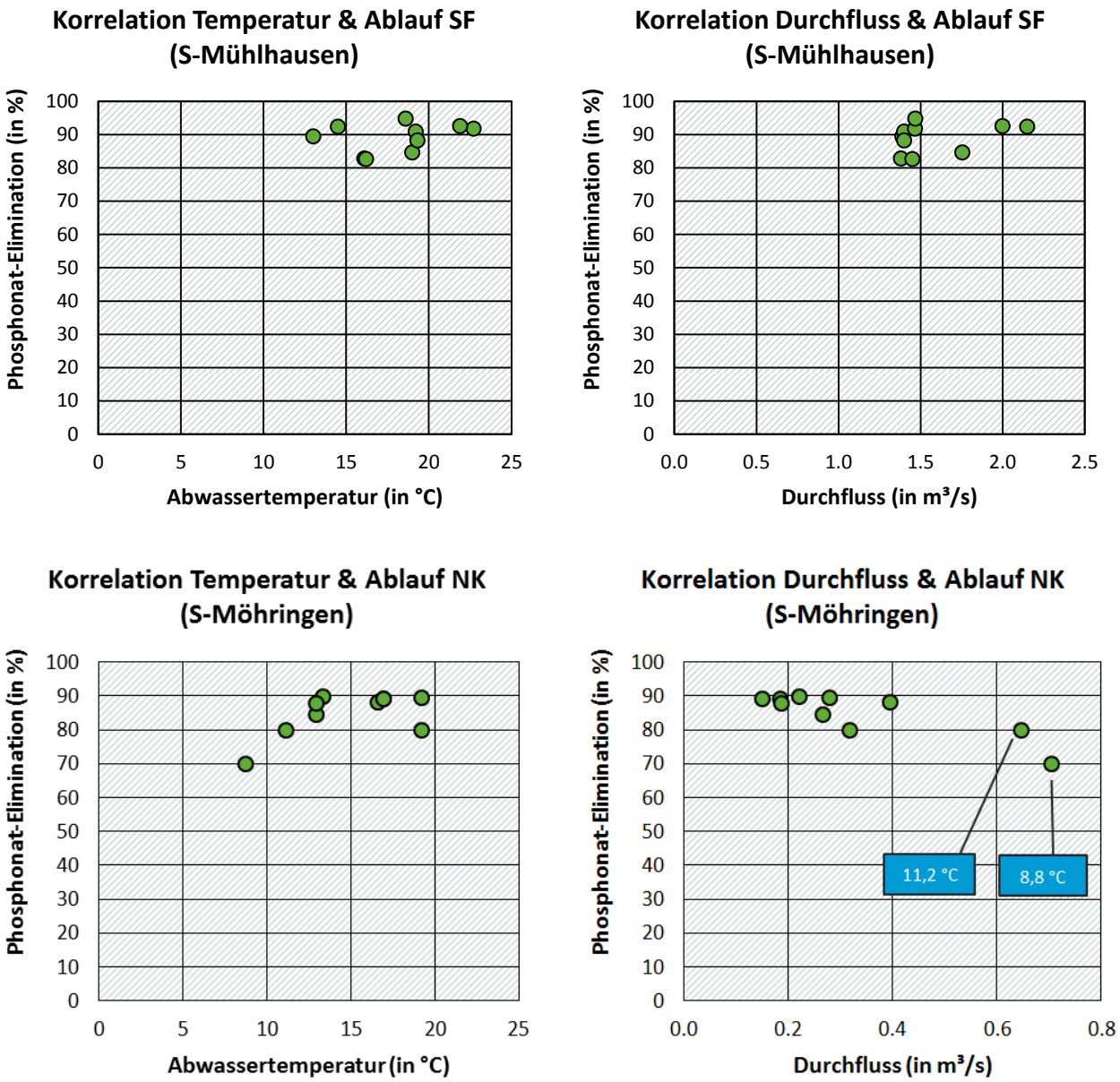
10.1.6 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Durchfluss und Temperatur

Die Abwassertemperatur kann sich sehr stark auf die Eliminationsleistung von Kläranlagen auswirken, wie dies z. B. bei der Nitrifikation der Fall ist. So kommt dieser Prozess bei Temperaturen unter 8 °C sogar gänzlich zum Erliegen. Mikroorganismen (heterotrophe und autotrophe) weisen bei niedrigerer Temperatur generell eine geringere Aktivität auf. Daher ist es empfehlenswert zu betrachten, ob die Temperatur möglicherweise einen Einfluss auf die Phosphonatelimination hatte (Abbildung 88).

Oberhalb von 12 °C scheint die Elimination von Phosphonaten in beiden Kläranlagen ähnlich gut verlaufen zu sein (während der Probenahmen in S-Mühlhausen betrug die Abwassertemperatur nie < 12 °C). Für S-Möhringen konnte bei Temperaturen < 12 °C eine leichte Tendenz hin zu schlechterer Elimination festgestellt werden. Obgleich die sehr geringe Datenmenge (nur 2 Punkte in diesem Temperaturbereich) keine klare Aussage treffen lässt, erscheint dieses Verhalten plausibel. Phosphor wird auf beiden Kläranlagen sowohl durch das Bio-P-Verfahren als auch durch Fällung/Flockung eliminiert. Da das Bio-P-Verfahren eher auf die Elimination von Phosphat (Aufnahme von Mikroorganismen durch die Zellmembran) abzielt, sind Phosphonate hier wahrscheinlich weniger betroffen. Gemäß Literatur werden Phosphonate in Kläranlagen auch nicht biologisch abgebaut, sodass ihre Elimination hauptsächlich auf Adsorption zurückgeführt wird (Rott *et al.*, 2018). Diese Adsorption kann an Belebtschlamm oder an metallhaltigen Flocken erfolgen. Letztere Flocken, da polar, sind das bevorzugte Adsorbens für Phosphonate. Die Adsorption von Phosphonaten an Eisenhydroxid erfolgt endotherm, also bevorzugt bei hohen Temperaturen (eigene Untersuchungen). Bei Temperaturen um 5 °C ist die Adsorptionskinetik sehr langsam (eigene Untersuchungen: über mehrere Tage hinweg und selbst dann nicht vollständig). Alles in allem ist die Annahme, dass Phosphonate bei Abwassertemperaturen < 12 °C schlechter eliminiert werden also durchaus erklärbar.

Ferner wurde ein möglicher Einfluss des Kläranlagendurchflusses, also der Einfluss von hohem oder geringem Anteil an Regenwasser, auf die Eliminationsleistung untersucht (Abbildung 88). In S-Mühlhausen war die beste Elimination an regenreichen Tagen zu beobachten. Bei durchschnittlichem Durchfluss um 1,4 m^3/s unterlag die Elimination einer relativ starken Streuung. Der Durchfluss scheint hier also keine Rolle gespielt zu haben. In S-Möhringen variierte der Durchfluss weitaus stärker. Gerade die zwei Datenpunkte, die bereits bei der Analyse hinsichtlich der Abwassertemperatur auffielen, traten als die Punkte mit dem höchsten Durchfluss in Erscheinung. Daher sollte nicht automatisch geschlussfolgert werden, dass bei starker Verdünnung des Kläranlagenzulaufs mit Regenwasser automatisch eine schlechtere Elimination von Phosphonaten einhergeht. Dies ist beispielsweise für S-Mühlhausen nicht der Fall. Die geringe Datenmenge lässt jedoch nur wenig Interpretationsspielraum zu.

Abbildung 88: S-Mühlhausen & S-Möhringen – Kläranlagenablauf – Korrelation der Phosphonatelimination mit Temperatur und Durchfluss.



(Quelle: eigene Daten)

10.1.7 Zusammenfassung

- Typische Beladungen und Gelöst-Konzentrationen (Median) im Zulauf der Kläranlage S-Mühlhausen waren: 678 mg/kg Phosphonatbeladung, 195 µg/L Phosphonat adsorbiert, 305 µg/L Phosphonat gelöst, 342 mg/L AFS. In S-Möhringen waren diese: 715 mg/kg Phosphonatbeladung, 156 µg/L Phosphonat adsorbiert, 245 µg/L Phosphonat gelöst, 224 mg/L AFS.
- HEDP machte sowohl für S-Mühlhausen als auch für S-Möhringen den größten Teil aller Phosphonate im Zulauf der Kläranlagen aus (sowohl gelöst als auch an Feststoffen adsorbiert).
- Der Anteil adsorbierten Phosphonats im Zulauf von S-Mühlhausen variierte i. d. R. zwischen 30 % und 70 %. Im Zulauf von S-Möhringen variierte dieser zwischen 30 % und 50 %.
- EDTMP lag im Zulauf der Vorklärung häufig bereits unterhalb der Bestimmungsgrenze (1 µg/L) vor. ATMP trat in den Kläranlagenzuläufen in deutlich niedrigeren Konzentrationen (<15 µg/L) auf als die Phosphonate DTPMP, HEDP und PBTC (zwischen 7 µg/L und 231 µg/L).

- Teilweise trat durch die Vorklärung auch negative Elimination ein, d. h. die Phosphonatkonzentration war im Ablauf der Vorklärung höher als im Zulauf der Kläranlage. Dies impliziert, dass eine Rücklösung von an Feststoffen adsorbierten Phosphonaten eintrat.
- Die Phosphonatelimination durch die Nachklärung in S-Mühlhausen lag bereits zwischen 80 % und 90 %. Die Elimination durch die Nachklärung war in S-Möhringen etwas schwächer ausgeprägt, jedoch i .d. R. > 80 %.
- In S-Mühlhausen unterschieden sich die Phosphonatgehalte nach der Sandfilterstufe nicht erheblich von den Gehalten im Ablauf der Nachklärung.
- Durch die Aktivkohlestufe war die Phosphonatelimination verglichen zur Nachklärung und zum Sandfilter sogar noch etwas stärker ausgeprägt.
- Der Anteil von Phosphonat-P an der GUP-Fraktion betrug in allen Abwasserproben durchweg i. d. R. zwischen 10 % und 30 % (S-Mühlhausen) bzw. zwischen 15 % und 40 % (S-Möhringen) und fiel somit signifikant aus.
- Oberhalb von 12 °C scheint die Elimination von Phosphonaten in beiden Kläranlagen ähnlich gut verlaufen zu sein. Für S-Möhringen konnte bei Temperaturen < 12 °C eine leichte Tendenz hin zu schlechterer Elimination festgestellt werden (während der Probenahmen in S-Mühlhausen war die Abwassertemperatur nie < 12 °C).

10.2 Flussproben

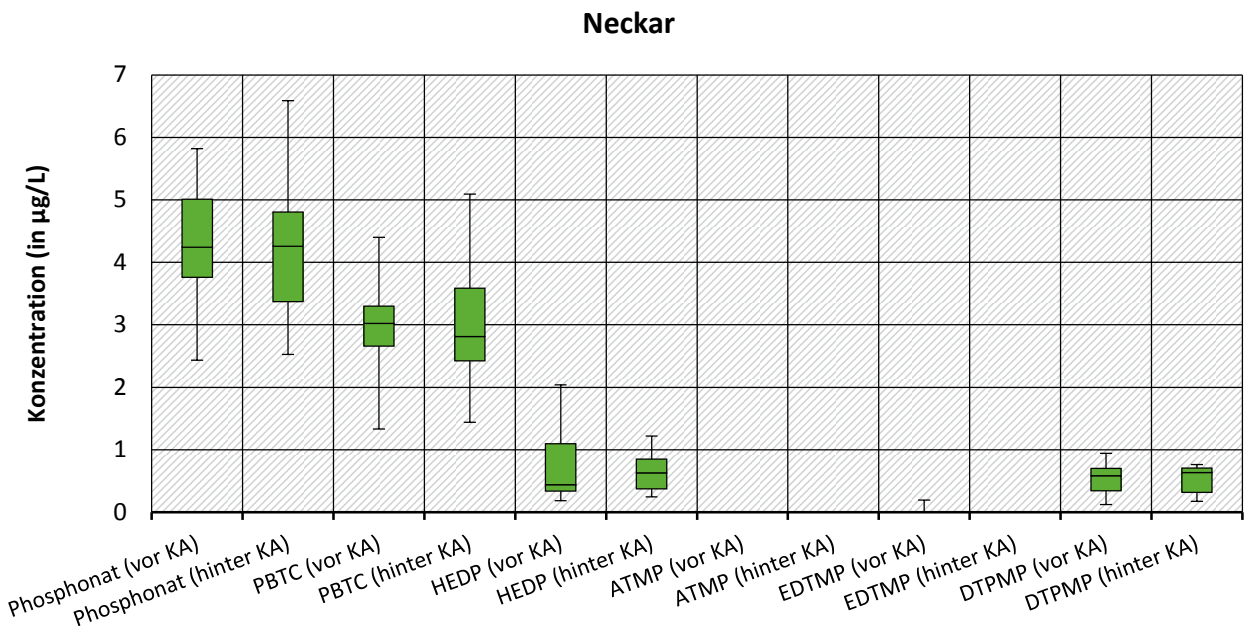
10.2.1 Vergleich vor und hinter der Einleitstelle

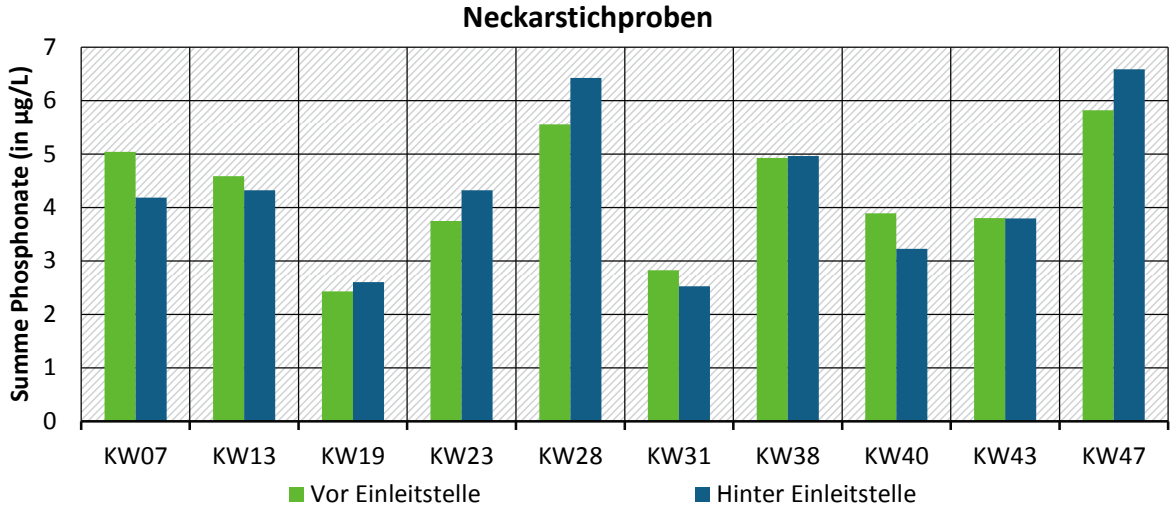
Da die Phosphonate im Neckarwasser mit Ausnahme des PBTC in der Regel in Gehalten unterhalb der Bestimmungsgrenze mittels Direktmessung (1 µg/L) vorlagen, wurden die Flusswasserproben mit der OCE-Methode quantifiziert (Bestimmungsgrenzen: 0,1 µg/L durch automatisierte Anreicherung; Kapitel 6.3.3). Hinter der Einleitstelle wurden keine signifikant erhöhten Werte festgestellt (Abbildung 89). Der Verdünnungseffekt im Neckar war folglich zu stark ausgeprägt. Deutlich unterschiedliche Ergebnisse lieferte die Auswertung der Körschwasserproben. Während die Gehalte vor der Einleitung bis auf eine einzige Ausnahme (1,2 µg/L HEDP bei PN06) unterhalb 1 µg/L lagen, wurden nach der Einleitstelle moderat erhöhte DTPMP-Werte (Faktor 2,7) und deutlich erhöhte HEDP- und PBTC-Werte festgestellt (Faktor 29 bzw. 54; bezogen auf die Messwertmittelwerte über den Jahresverlauf). Die Gehalte von ATMP und EDTMP lagen vor und hinter der Einleitstelle jeweils unterhalb der Bestimmungsgrenze.

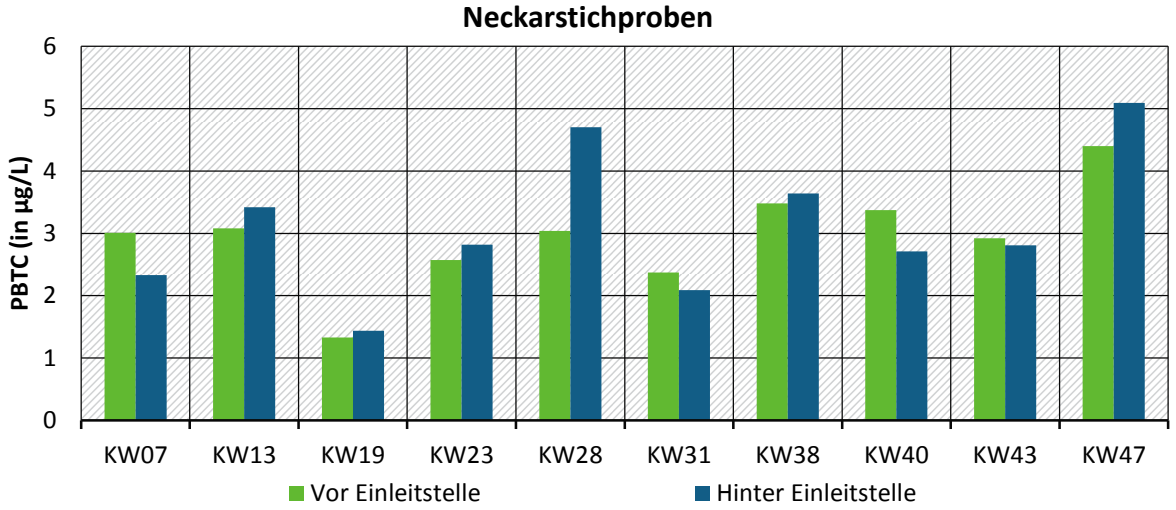
Die Gelöst-Gesamtphosphonatkonzentration im Neckar lag zwischen 2,4 µg/L und 6,6 µg/L. PBTC machte davon mit etwa 1,3 µg/L bis 5,1 µg/L den größten Anteil aus. Die im Neckarwasser während der zehn Beprobungen bestimmten Gehalte von HEDP (0,2 µg/L bis 2,0 µg/L) und DTPMP (0,1 µg/L bis 0,9 µg/L) fielen vergleichbar mit den durch Schmidt *et al.* (2013) im Rheinwasser bestimmten Gehalten an HEDP (0,3 µg/L bis 1,6 µg/L) und DTPMP (0,1 µg/L bis 1,3 µg/L) aus.

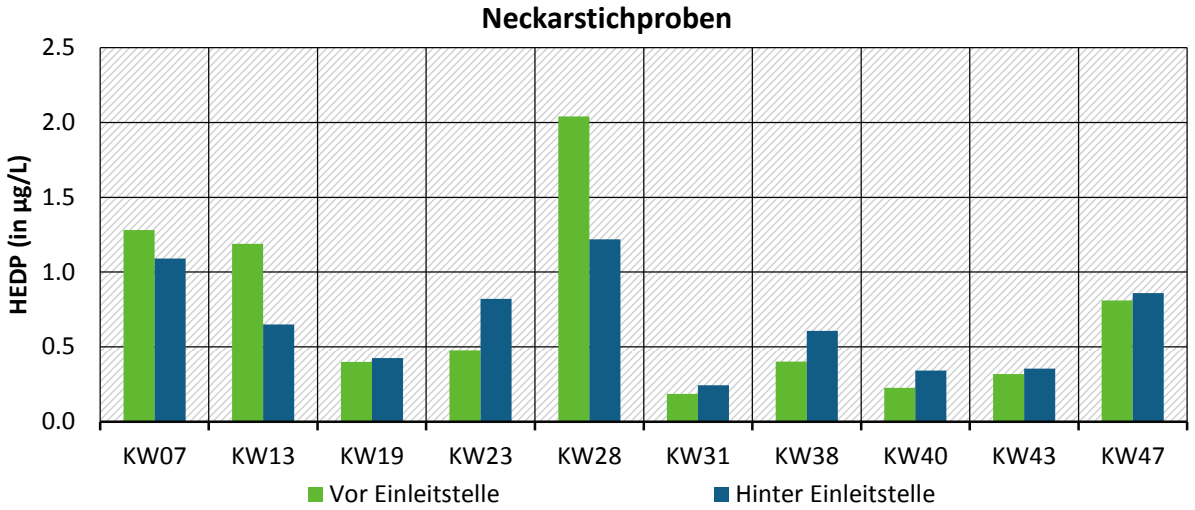
Beim Betrachten der Phosphonatgehalte über den Jahresverlauf deutete sich im Neckar eine Art Wellenform an, mit geringen Phosphonatkonzentrationen im Frühling und Herbst sowie höheren Konzentrationen im Sommer und Winter. Diesbezüglich sei auf die Datumsbetrachtung in Abschnitt 10.2.2 verwiesen.

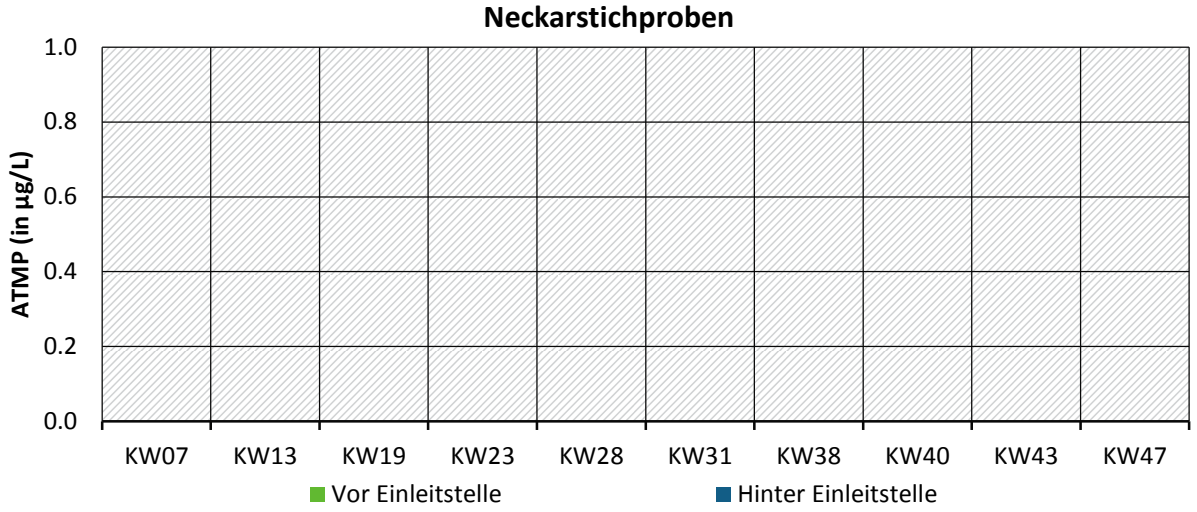
Abbildung 89: Neckar – Fluss – Gelöstphosphonatkonzentrationen vor und hinter der Einleitstelle.

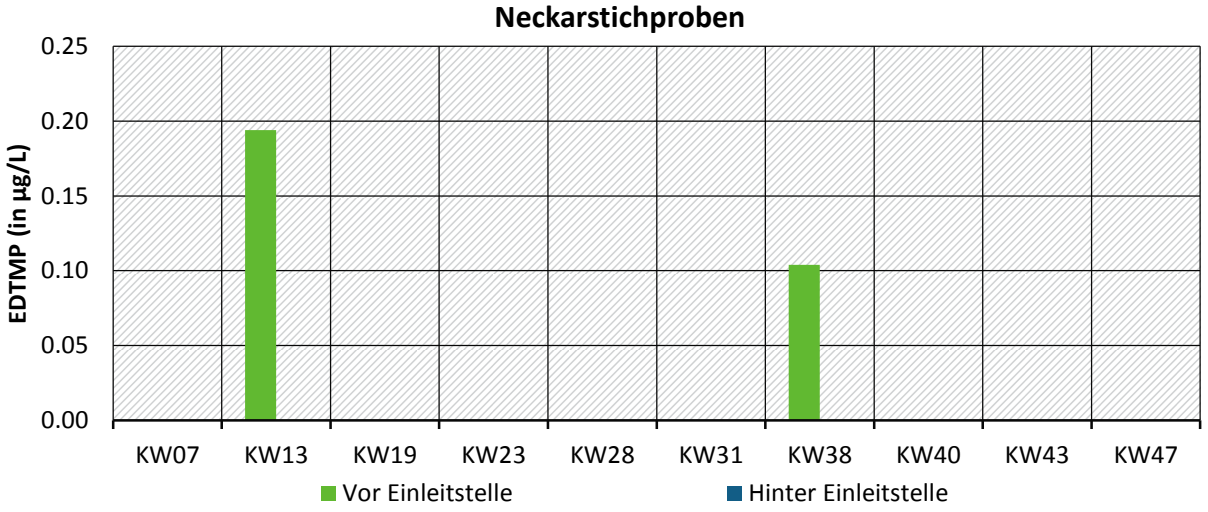


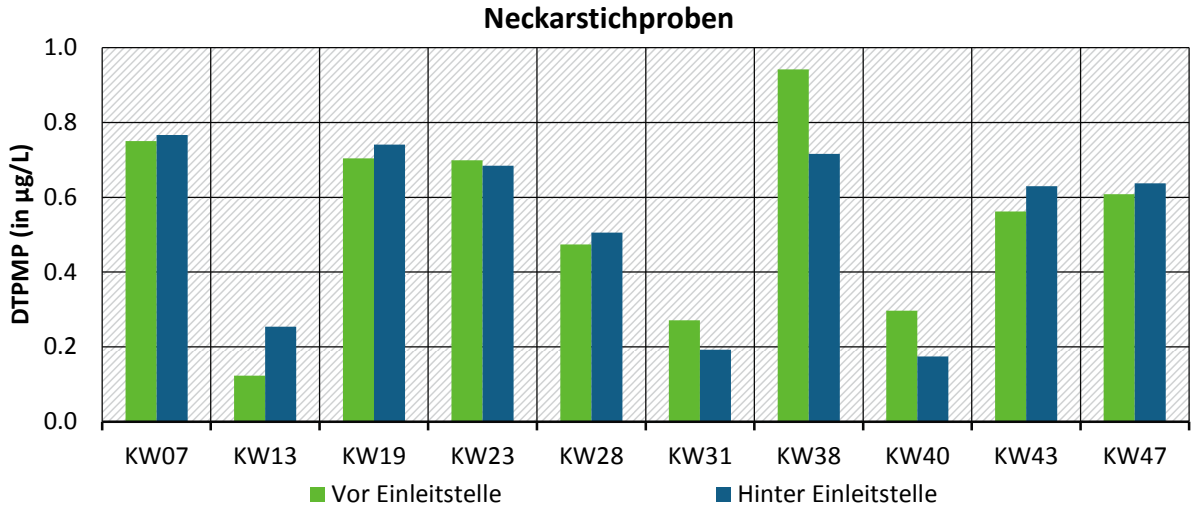

Neckarstichproben
Summe Phosphonate (in µg/L)
0
1
2
3
4
5
6
7
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Neckarstichproben
PBTC (in µg/L)
0
1
2
3
4
5
6
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Neckarstichproben
HEDP (in µg/L)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle



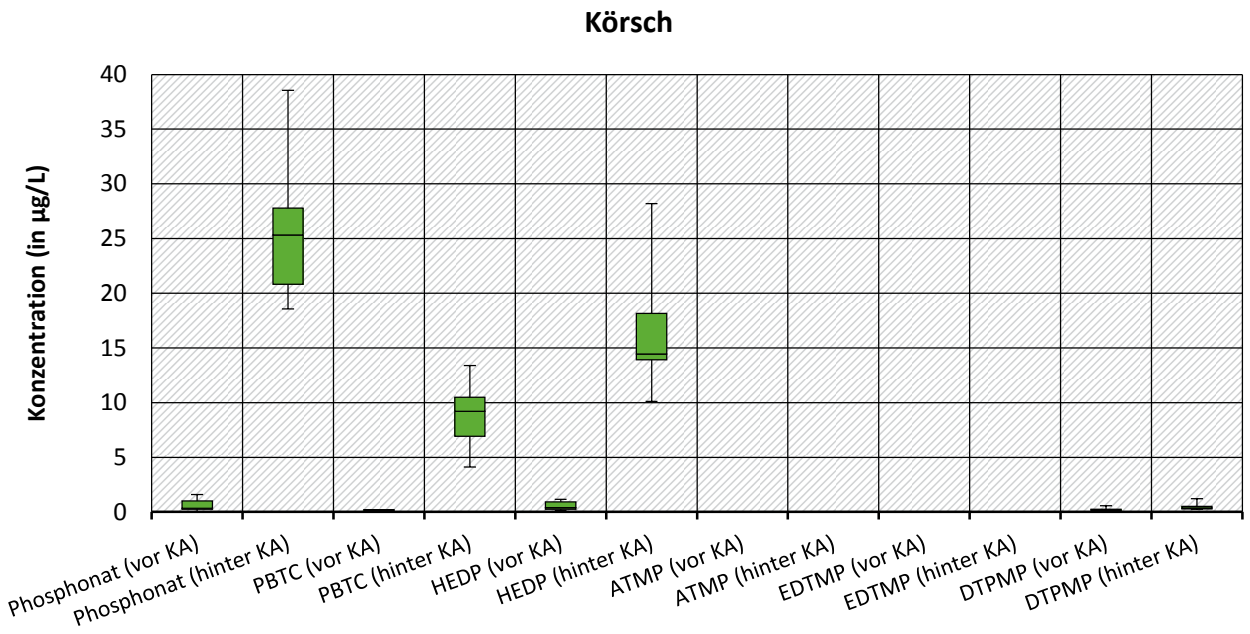


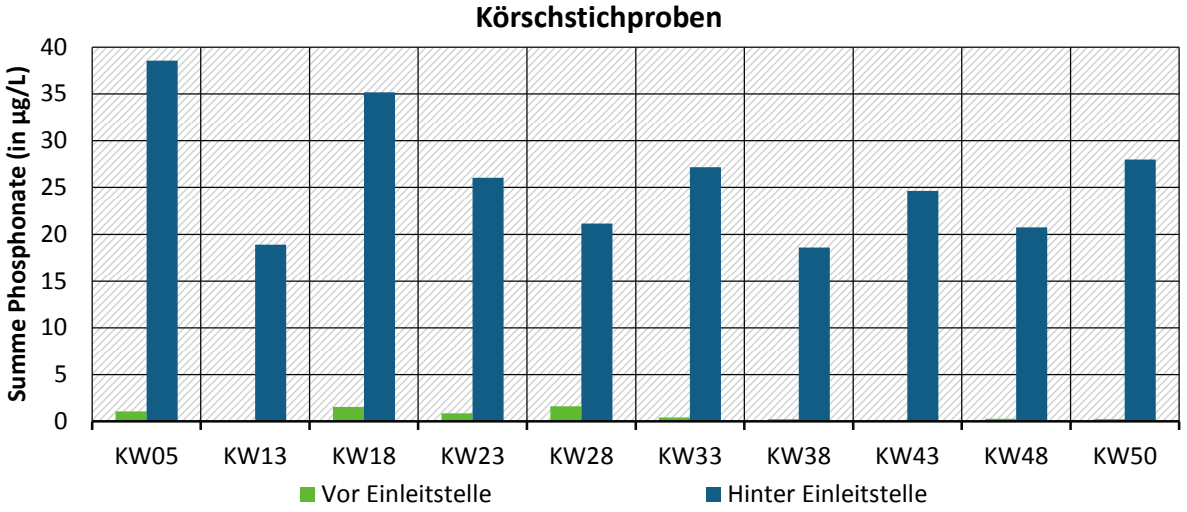


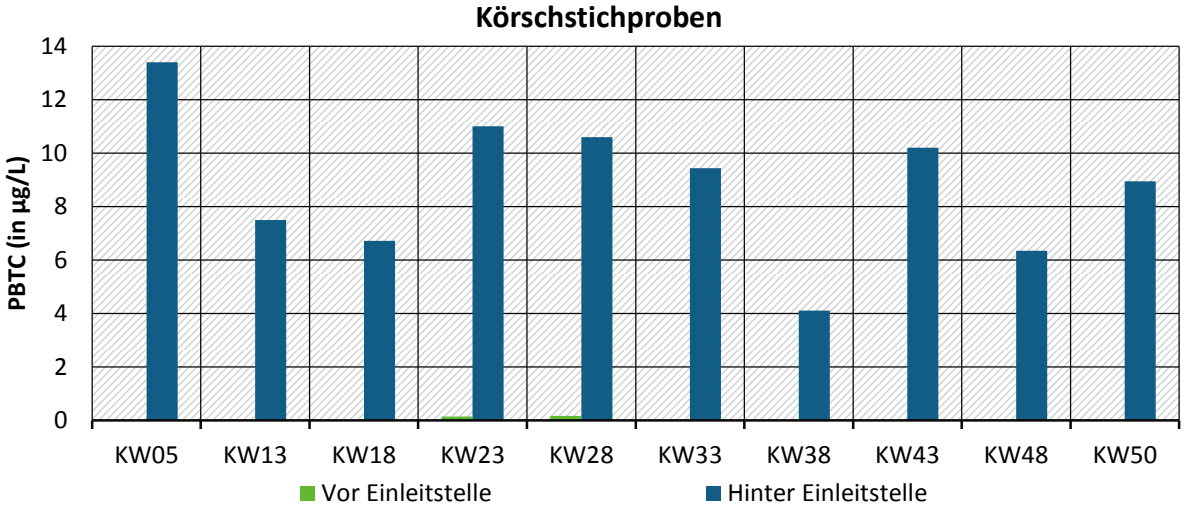
(Quelle: eigene Daten)

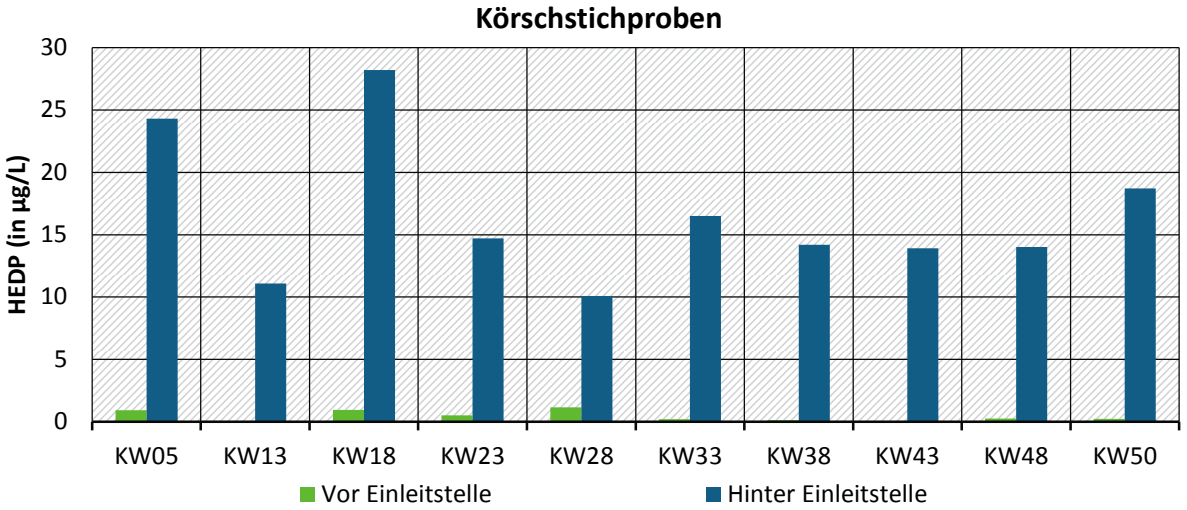
Für die Körsch wurde ein starker Einfluss der Kläranlage festgestellt (Abbildung 90). Sämtliche Phosphonate lagen mit < 2 µg/L vor der Einleitstelle noch in sehr geringen Konzentrationen vor. Durch die Kläranlageneinleitung erhöhte sich die PBTC-Konzentration auf 4,1 µg/L bis 13,4 µg/L (Minimumwert und Maximumwert), die HEDP-Konzentration sogar auf 10,1 µg/L bis 28,2 µg/L (Minimumwert und Maximumwert). ATMP und EDTMP waren vor und hinter der Einleitstelle nicht nachweisbar. Die DTPMP-Konzentration wurde durch die Kläranlage kaum beeinflusst. Insgesamt stieg die Phosphonatkonzentration von 1 µg/L bis 2 µg/L (erstes bis drittes Quartil) auf 21 µg/L bis 27 µg/L (erstes bis drittel Quartil). Die HEDP-Konzentration hinter der Einleitstelle fiel am höchsten aus, da HEDP im Kläranlagenablauf i. d. R. das Phosphonat mit der höchsten Konzentration darstellte (Abbildung 86).

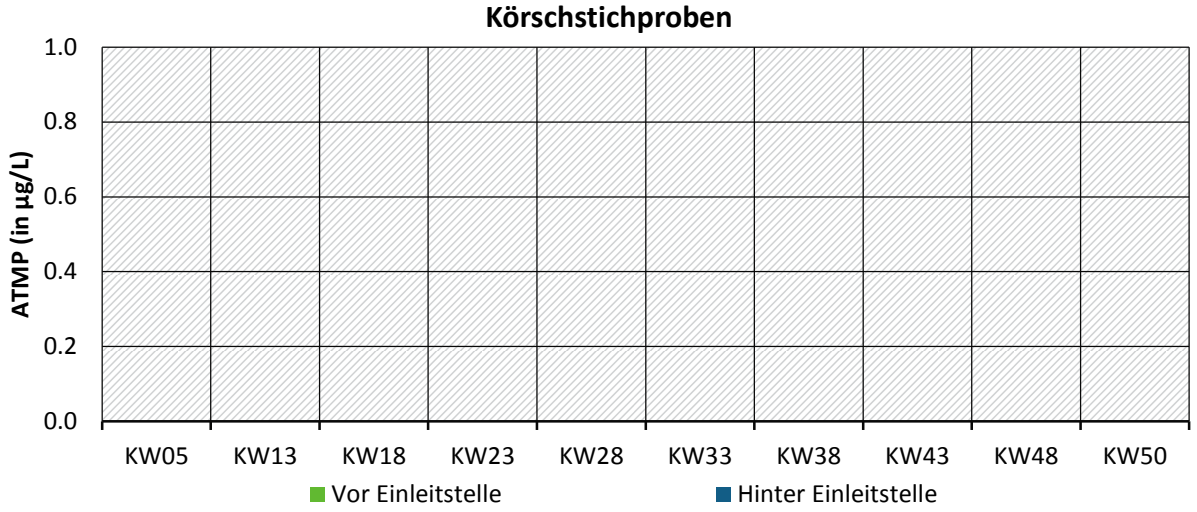
Abbildung 90: Körsch – Fluss – Gelöstphosphonatkonzentrationen vor und hinter der Einleitstelle.

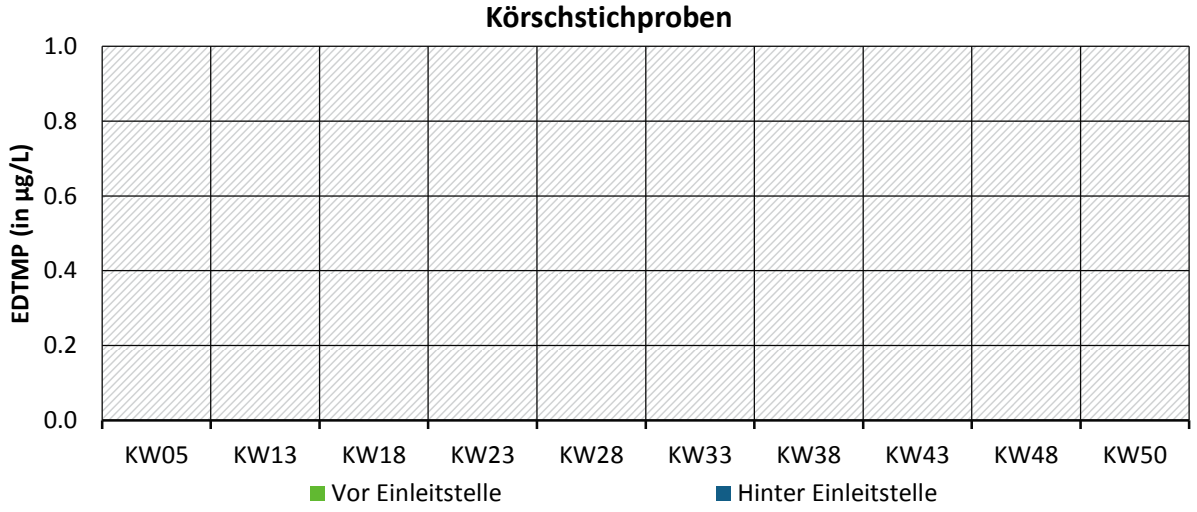


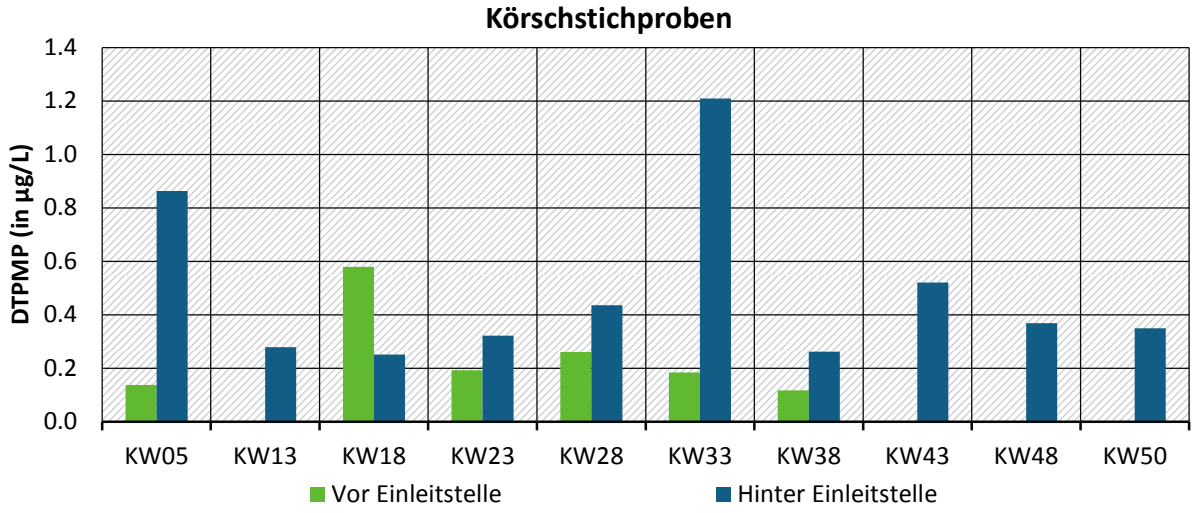

Körschstichproben
Summe Phosphonate (in µg/L)
40
35
30
25
20
15
10
5
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Körschstichproben
PBTC (in µg/L)
14
12
10
8
6
4
2
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Körschstichproben
HEDP (in µg/L)
30
25
20
15
10
5
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle







(Quelle: eigene Daten)

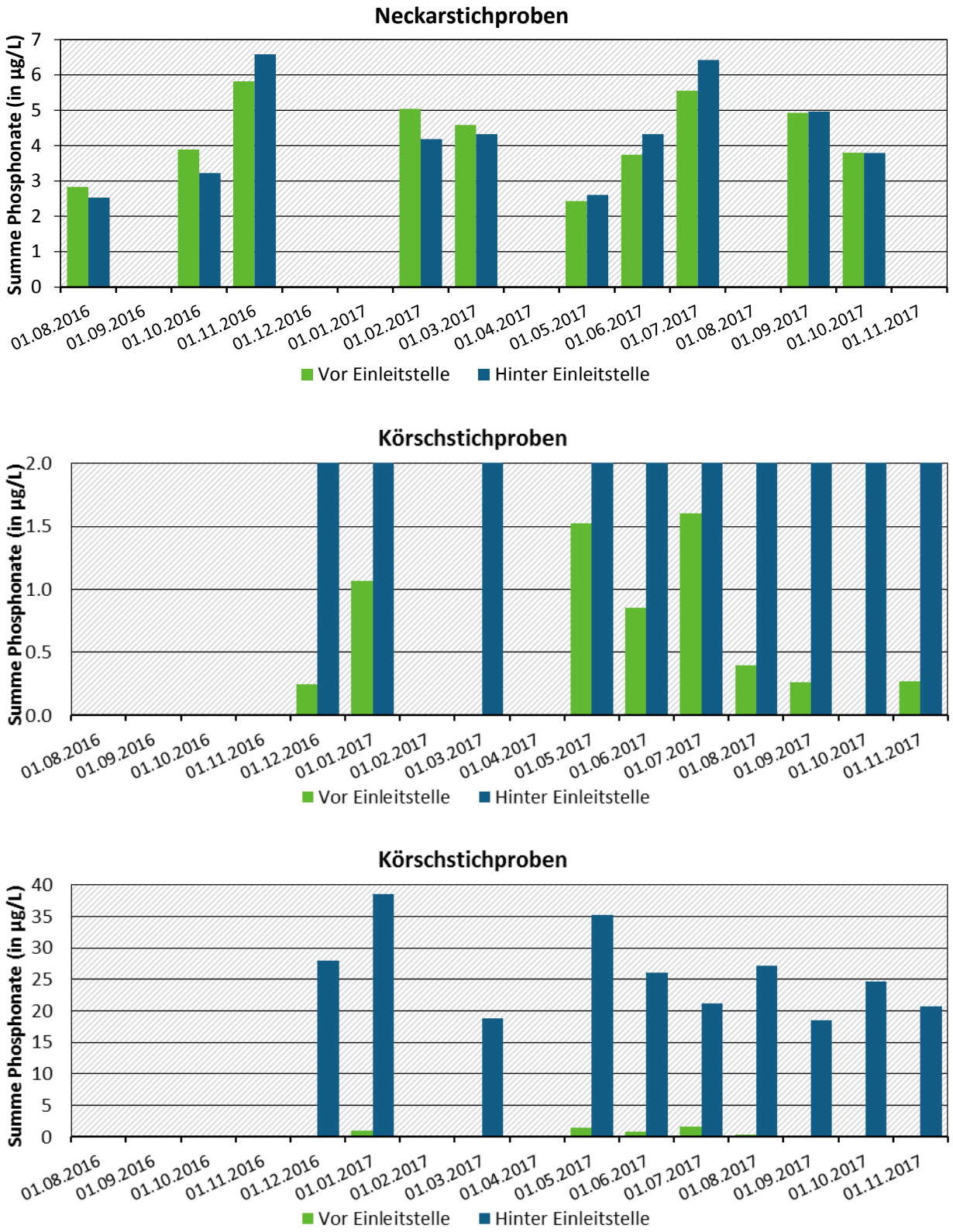
10.2.2 Datumsbetrachtung hinsichtlich Flussproben

Das bereits bei der Auftragung der Phosphonatkonzentrationen im Neckar nach Kalenderwochen beobachtete Wellenprofil kann auch bei Auftragung der Konzentrationen über der realen Zeitachse festgestellt werden. Die zwei Hochpunkte des Wellengangs lagen im Winter und im Sommer, während die Phosphonatkonzentrationen im Herbst und Frühling signifikant geringer ausfielen. Im Folgenden werden mögliche Erklärungsansätze diskutiert:

- Schlechtere Phosphonatelimination im Sommer und im Winter? In Abschnitt 10.1.4 wurde gezeigt, dass für S-Mühlhausen ganzjährig eine konstant hohe Elimination erreicht wurde. Zumindest ist nicht zu erwarten, dass im Sommer die Elimination signifikant schlechter ausfällt als üblich.
- Höherer Durchfluss der Kläranlagen im Sommer und im Winter? In Abschnitt 9.2 wird aufgezeigt, dass lediglich im Sommer etwas erhöhte Durchflüsse beobachtet werden konnten. Im Winter, Frühling und Herbst war der Durchfluss allerdings in der Regel mit etwa 1,4 m^3/s sehr konstant. Die Betrachtung von lediglich 10 Messwerten ist allerdings nicht ausreichend, da der Durchfluss nach dem Probenahmetag durch starken Regenfall bereits komplett anders gewesen sein könnte.
- Höherer Waschmittelverbrauch im Sommer und im Winter? Ein höherer Waschmittelverbrauch ist im Sommer zu erwarten. Selbst wenn in den genannten Zeiträumen mehr Phosphonate im Zulauf angefallen wären (was tatsächlich nicht zu beobachten war, siehe Abschnitt 10.1.3), würden diese über das Jahr gesehen gleichmäßig gut eliminiert (siehe Abschnitt 10.1.4). Ferner bedeutet ein höherer Waschmittelverbrauch nicht zwangsläufig eine Konzentrationserhöhung in der Kläranlage, da theoretisch mit der Zunahme des Phosphonatverbrauchs auch eine proportionale Zunahme des Wasserverbrauchs eintritt (z. B. zwei Waschgänge bedeuten einen doppelten Phosphonatverbrauch, aber auch einen doppelten Wasserverbrauch).
- Höhere Beladung des Sediments im Sommer und im Winter und dadurch geringere Gelöstkonzentration? Hierzu sei auf die Datumsbetrachtung hinsichtlich der Sedimentproben verwiesen (Abschnitt 10.3.3). Tatsächlich schien hinsichtlich der Sedimentbeladung auch ein Wellenprofil mit erhöhten Beladungen im Frühling und Herbst vorzuliegen, also genau in den Zeiträumen, in denen die niedrigeren Gelöst-Phosphonat-Konzentrationen vorlagen. Die Ursache für den vermeintlichen Wellengang der Sedimentadsorption ist jedoch nicht ohne Weiteres zu klären.
- Unterschiedliche temperaturbedingte Adsorptionsbeladungen? Die Temperatur kann einen Einfluss auf die Adsorption der Phosphonate an das Sediment haben. Da im Sommer und im Winter die Phosphonatkonzentrationen am höchsten waren, also zu sehr unterschiedlichen Temperaturen, ist der Grund wohl nicht in der Temperatur alleine zu suchen. Mögliche Korrelationen hinsichtlich der Flusstemperatur werden in Abschnitt 10.2.4 diskutiert.

Die Erklärungsversuche führen zu keinem eindeutigen Ergebnis. Dies liegt auch daran, dass eine Einzelbetrachtung der genannten Einflüsse nicht ausreichend ist, da diese auch kumulativ wirksam sein können. Das Wellenprofil der Phosphonatgehalte im Neckarsediment sollte daher nicht überinterpretiert werden. Im Wasser der Körsch wurde kein eindeutiges Wellenprofil weder vor noch hinter der Einleitstelle erkannt. Dies spricht ebenfalls dafür, dass diese Beobachtung nicht überinterpretiert werden sollte.

Abbildung 91: Neckar & Körsch – Fluss – Gelöstphosphonatkonzentrationen nach Datum sortiert.



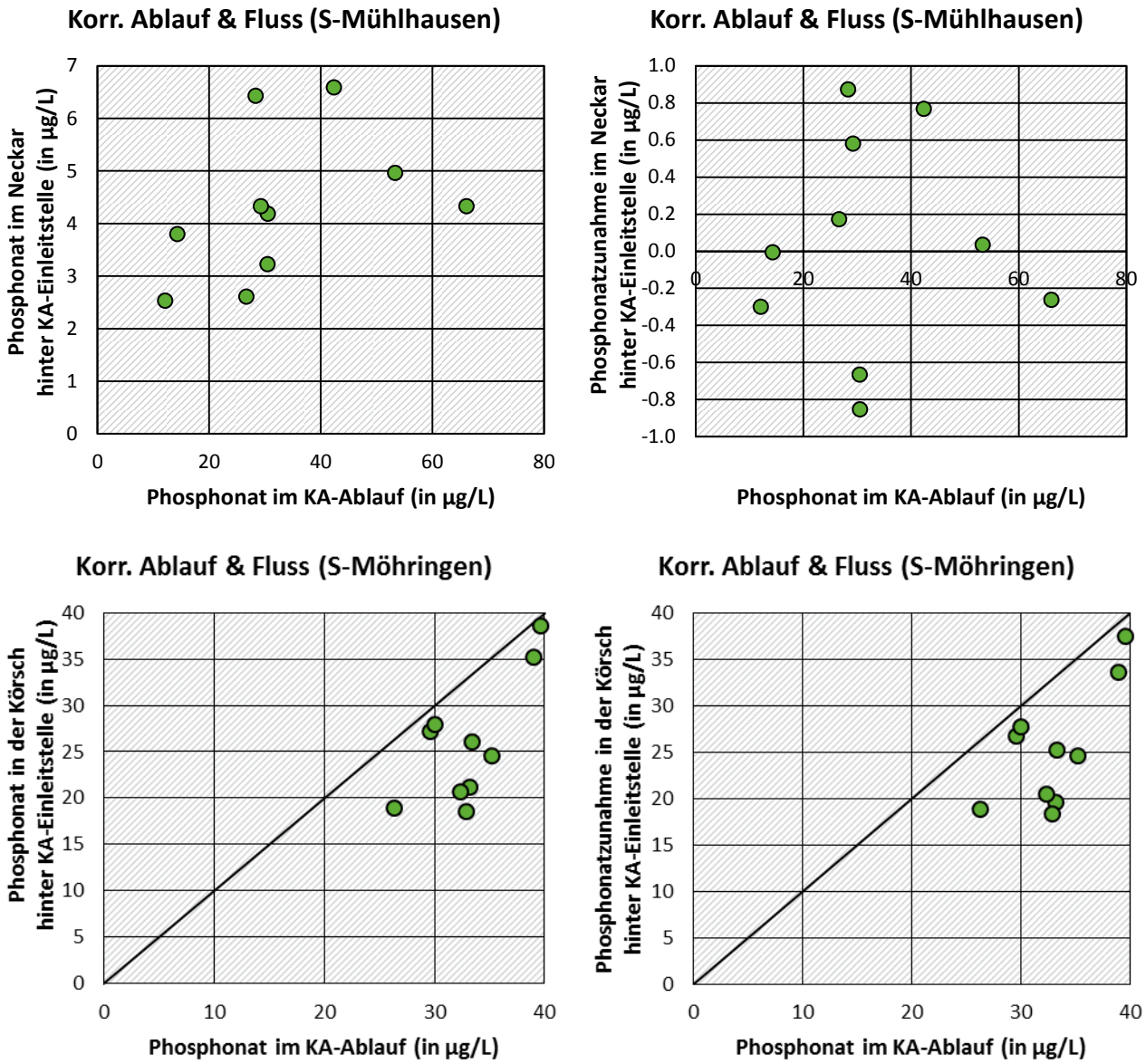
(Quelle: eigene Daten)

10.2.3 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Flusskonzentration, KA-Ablauf und Elimination

Im Neckar korrelierten die Phosphonatkonzentration sowie die Zunahme/Abnahme der Phosphonatkonzentration (= Phosphonatkonzentration hinter minus vor der Einleitstelle) mit der Ablaufkonzentration der Kläranlage nicht (Abbildung 92). Das bestätigt die bereits im vorherigen Abschnitt vorgestellten Ergebnisse.

In der Körsch korrelierten die Phosphonatkonzentration sowie die Zunahme/Abnahme der Phosphonatkonzentration mit der Ablaufkonzentration der Kläranlage sehr gut. Die Phosphonatkonzentrationen in der Körsch hinter der Einleitstelle waren i. d. R. etwas geringer als im Kläranlagenablauf. Das hat zwei Gründe: 1. Der Kläranlagenablauf wurde durch die Körsch leicht verdünnt. 2. Ein gewisser Teil der Phosphonate des Kläranlagenablaufs konnte bis zur Probenahmestelle unterstrom der Kläranlage an Sediment adsorbieren.

Abbildung 92: Neckar & Körsch – Fluss – Korrelation Fluss- mit KA-Ablaufkonzentration.

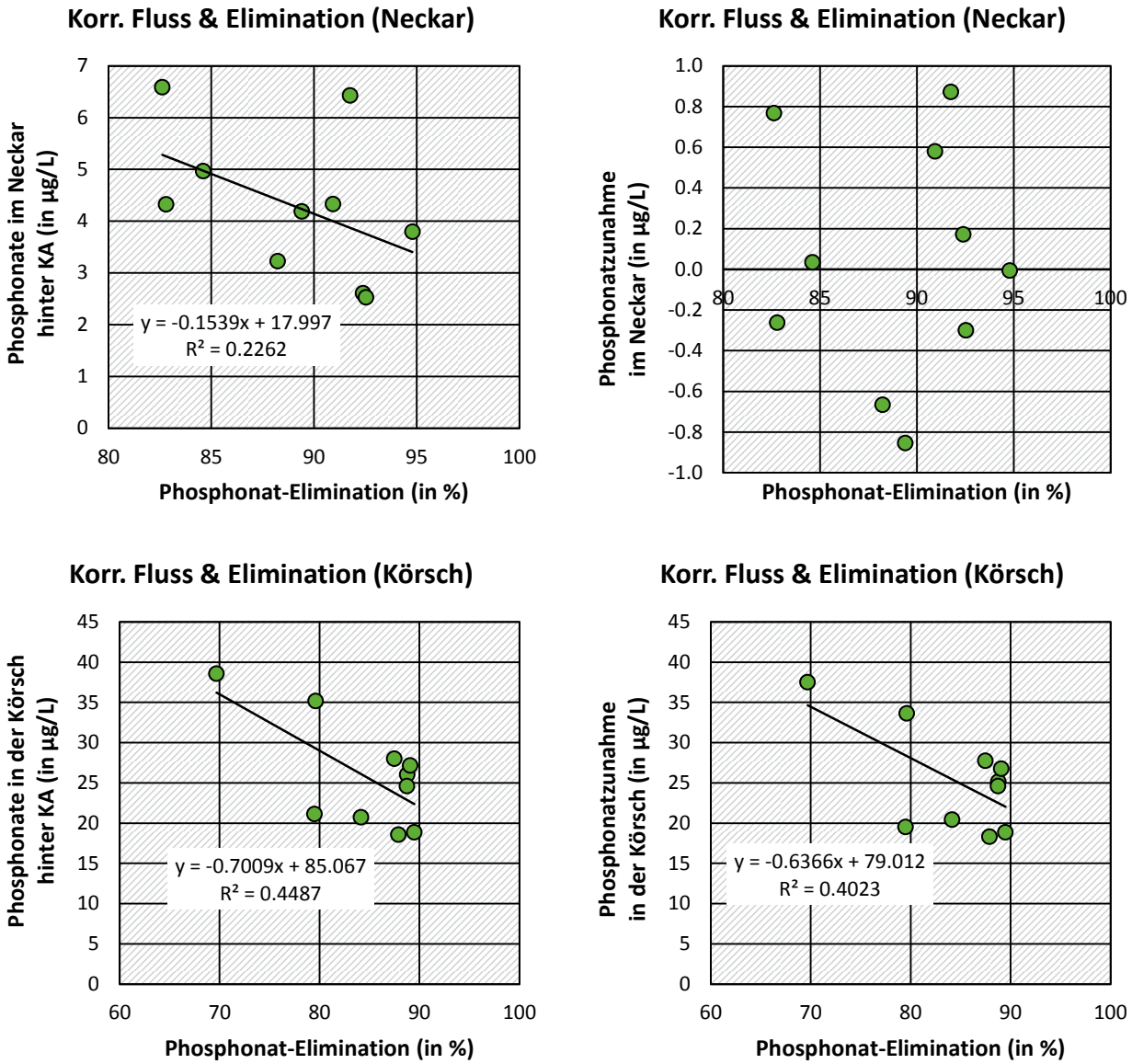


(Quelle: eigene Daten)

Im Neckar korrelierten die Phosphonatkonzentration sowie die Zunahme/Abnahme der Phosphonatkonzentration (= Phosphonatkonzentration hinter minus vor der Kläranlage) mit der Phosphonat-Eliminationsleistung der Kläranlage nicht erheblich (Abbildung 93).

In der Körsch korrelierten die Phosphonatkonzentration sowie die Zunahme/Abnahme der Phosphonatkonzentration mit der Phosphonat-Eliminationsleistung der Kläranlage hingegen sehr gut, was auch logisch erscheint, da sich die Körsch hinter der Einleitstelle überwiegend aus Kläranlagenablauf zusammensetzt.

Abbildung 93: Neckar & Körsch – Fluss – Korrelation Flusskonzentration mit Elimination in Kläranlage.



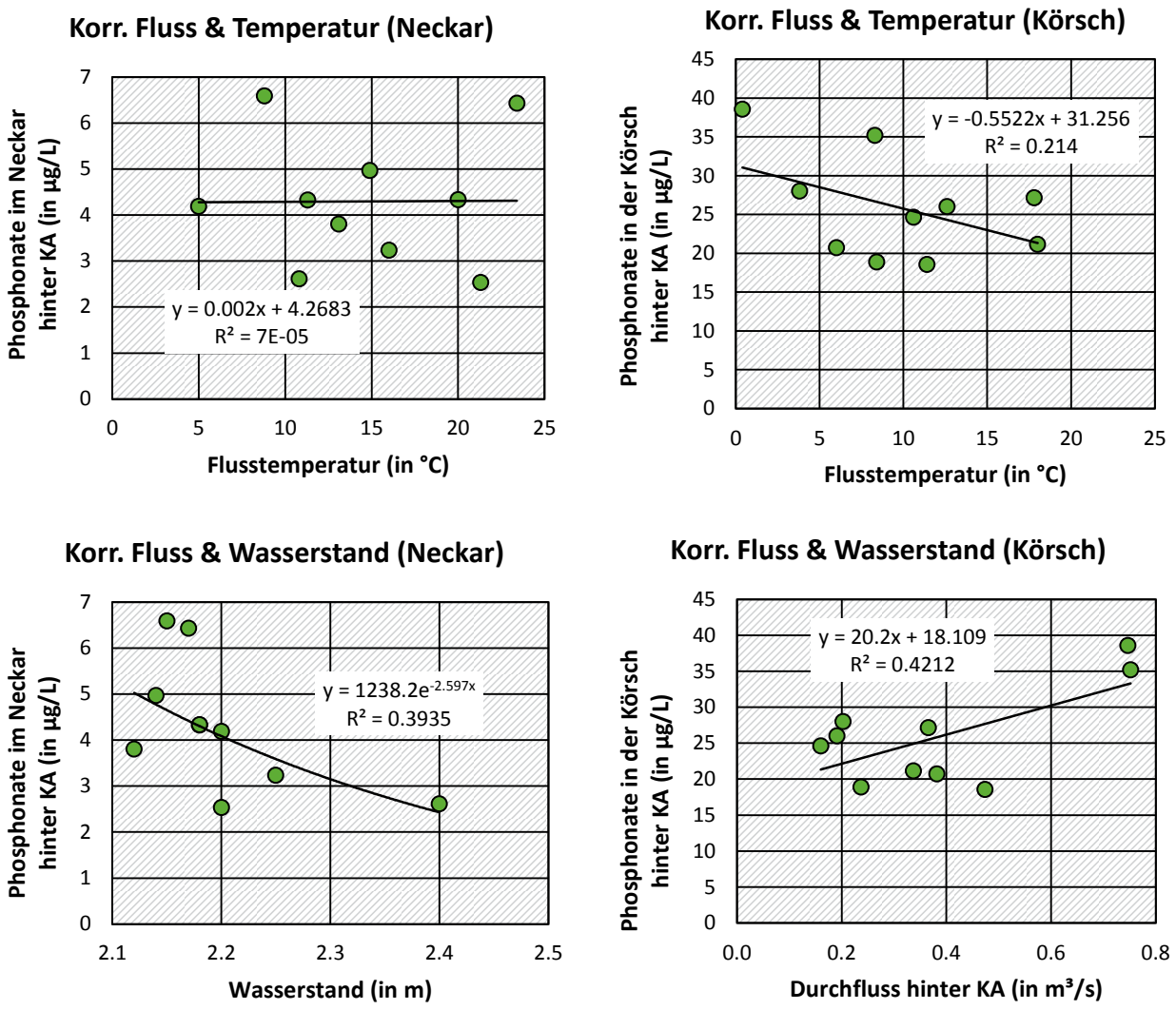
(Quelle: eigene Daten)

10.2.4 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Flusskonzentration, Temperatur und Wasserstand

Im Neckar korrelierte die Phosphonatkonzentration nicht mit der Flusstemperatur. Bei höherem Wasserstand schien die Phosphonatkonzentration geringer auszufallen, was auf Verdünnung durch Regen schließen lassen könnte.

In der Körsch trat eine sehr schwache Korrelation der Flusstemperatur mit der Phosphonatkonzentration auf. Ob eine Kausalität besteht, ist nicht ohne weitere Untersuchungen zu klären. Wahrscheinlich ist dies auf die schwächere Eliminationsleistung der Kläranlage bei Abwassertemperaturen < 12 °C zurückzuführen (s. Abbildung 88 und Diskussion in Abschnitt 10.1.6). Mit höherem Körschabfluss war die Phosphonatkonzentration vermeintlich höher. So stechen vor allem die zwei Datenpunkte mit dem höchsten Durchfluss heraus. Alle anderen Datenpunkte schienen einer starken Streuung zu unterliegen. Die zwei herausstechenden Datenpunkte gehören gleichzeitig auch zu den Probenahmetagen als die Abwassertemperatur < 12 °C betrug, wodurch vermeintlich die Eliminationsleistung negativ beeinflusst wurde.

Abbildung 94: Neckar & Körsch – Fluss – Korrelation Flusskonzentration mit Temperatur & Wasserstand/Durchfluss.



(Quelle: eigene Daten)

10.2.5 Zusammenfassung

- Im Neckar wurden hinter der Kläranlageneinleitstelle keine signifikant erhöhten Phosphonatkonzentrationen festgestellt.
- Während in der Körsch die Gehalte vor der Einleitung bis auf eine einzige Ausnahme (1,2 µg/L HEDP bei PN06) unterhalb 1 µg/L lagen, wurden nach der Einleitstelle moderat erhöhte DTPMP-Werte (Faktor 2,7) und deutlich erhöhte HEDP- und PBTC-Werte festgestellt (Faktor 29 bzw. 54; bezogen auf die Messwertmittelwerte über den Jahresverlauf). Die Gehalte von ATMP und EDTMP lagen vor und hinter der Einleitstelle jeweils unterhalb der Bestimmungsgrenze.
- Im Neckar korrelierten die Phosphonatkonzentration sowie die Zunahme/Abnahme der Phosphonatkonzentration (= Phosphonatkonzentration hinter minus vor der Einleitstelle) nicht mit der Phosphonatablaufkonzentration der Kläranlage.
- In der Körsch korrelierten die Phosphonatkonzentration sowie die Zunahme/Abnahme der Phosphonatkonzentration sehr gut mit der Phosphonatablaufkonzentration der Kläranlage. Die Phosphonatkonzentrationen in der Körsch hinter der Einleitstelle waren i. d. R. etwas geringer als im Kläranlagenablauf.
- Im Neckar korrelierte die Phosphonatkonzentration nicht mit der Flusstemperatur. Bei höherem Wasserstand schien die Phosphonatkonzentration geringer auszufallen, was auf Verdünnung durch Regen schließen lassen könnte.
- In der Körsch trat eine sehr schwache Korrelation der Flusstemperatur mit der Phosphonatkonzentration auf.

10.3 Sedimentproben

Während bei den primären Feststoffanalysen (PN1-3 Neckar und PN1 Körsch) 0,5 g Feststoff in 1,5 mL Aufschlussmedium extrahiert wurden und lediglich die erste Extraktion berücksichtigt wurde, wurde die Methode zur Bestimmung der nachfolgenden Feststoffproben optimiert (Kapitel 6.7.2). Es stellte sich heraus, dass viele der Feststoffproben unerwartet hohe Phosphonatgehalte aufwiesen und diese durch eine einzige Extraktion nicht vollständig mobilisiert wurden. Die Proben wurden daraufhin schrittweise verdünnt, um alle Analyten im linearen Detektorbereich erfassen zu können. Die gleichzeitige Verdünnung des Internen Standards, der vor der Extraktion zu den Proben gegeben wurde, führte zudem zu einer verringerten Datenqualität. Die Messergebnisse der Feststoffproben von PN1-3 (Neckar) und PN1 (Körsch) fielen daher teilweise etwas geringer aus als die der übrigen Probenahmen.

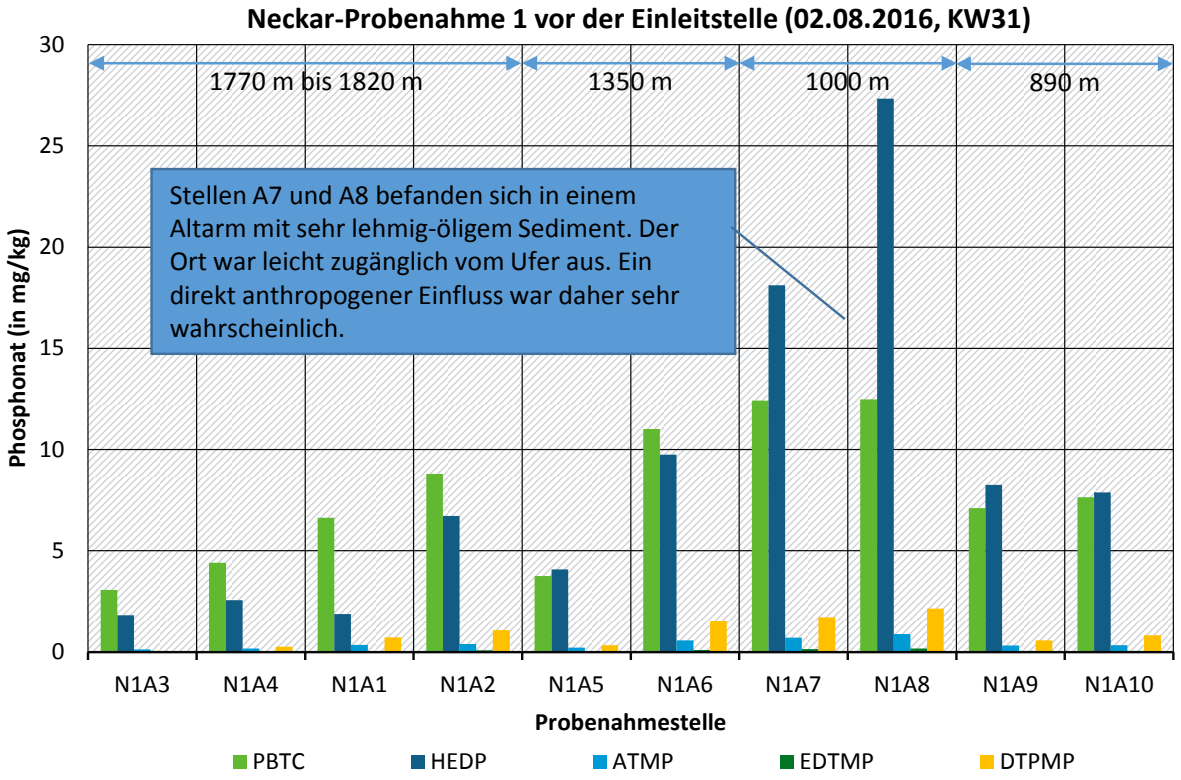
Fortan wurden die Proben durch zwei konsekutive Schritte im zehnfachen (Sediment und Fluss-Schwebstoffproben) bzw. hundertfachen (Abwasser-Feststoffproben) Volumen an Aufschlussmedium extrahiert und von vornherein mit einer angepassten Menge an Internem Standard dotiert. Durch diese Optimierung wurden ≥95 % der in der Probe enthaltenen Phosphonate mobilisiert (Kapitel 6.7.2). Dieses Verfahren führte zu Extrakten, die in der Regel direkt quantifiziert werden konnten. In den Fällen, in denen die Gehalte noch immer oberhalb des linearen Detektorbereichs lagen, wurden die nach dem optimierten Verfahren aufgeschlossenen Proben 50-fach verdünnt.

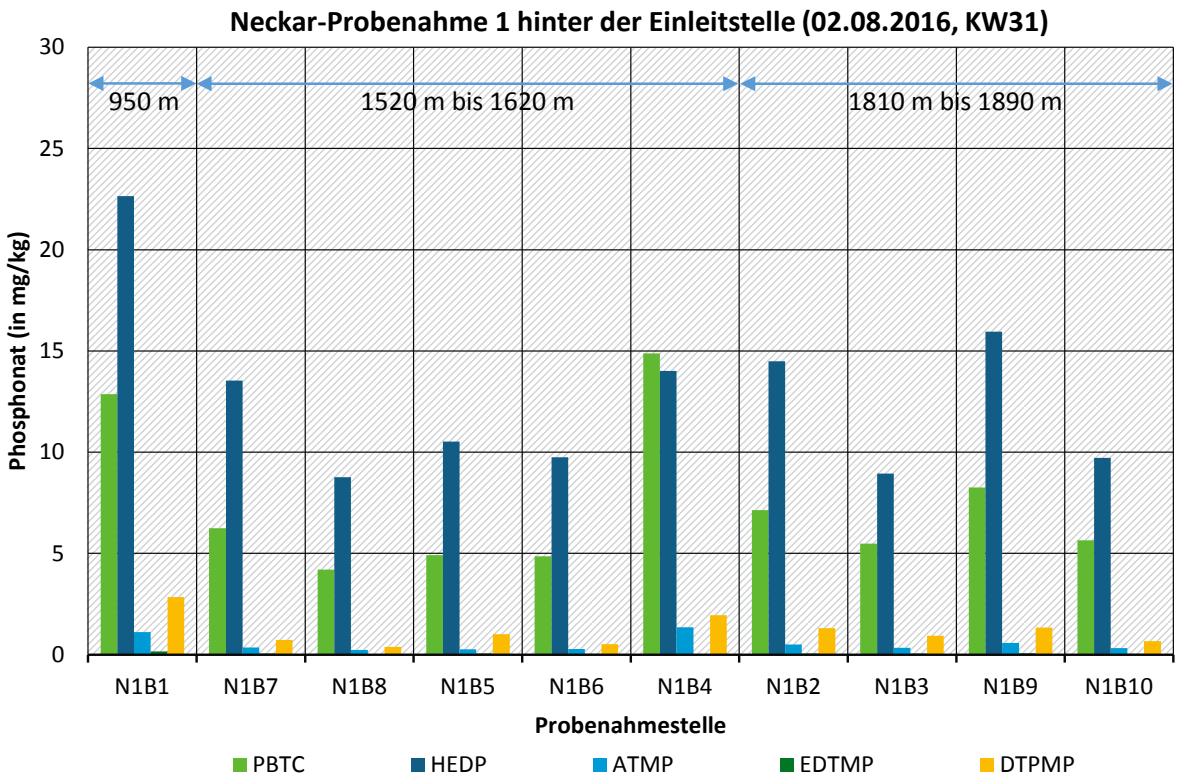
10.3.1 Einzelanalyse verschiedener Stichproben

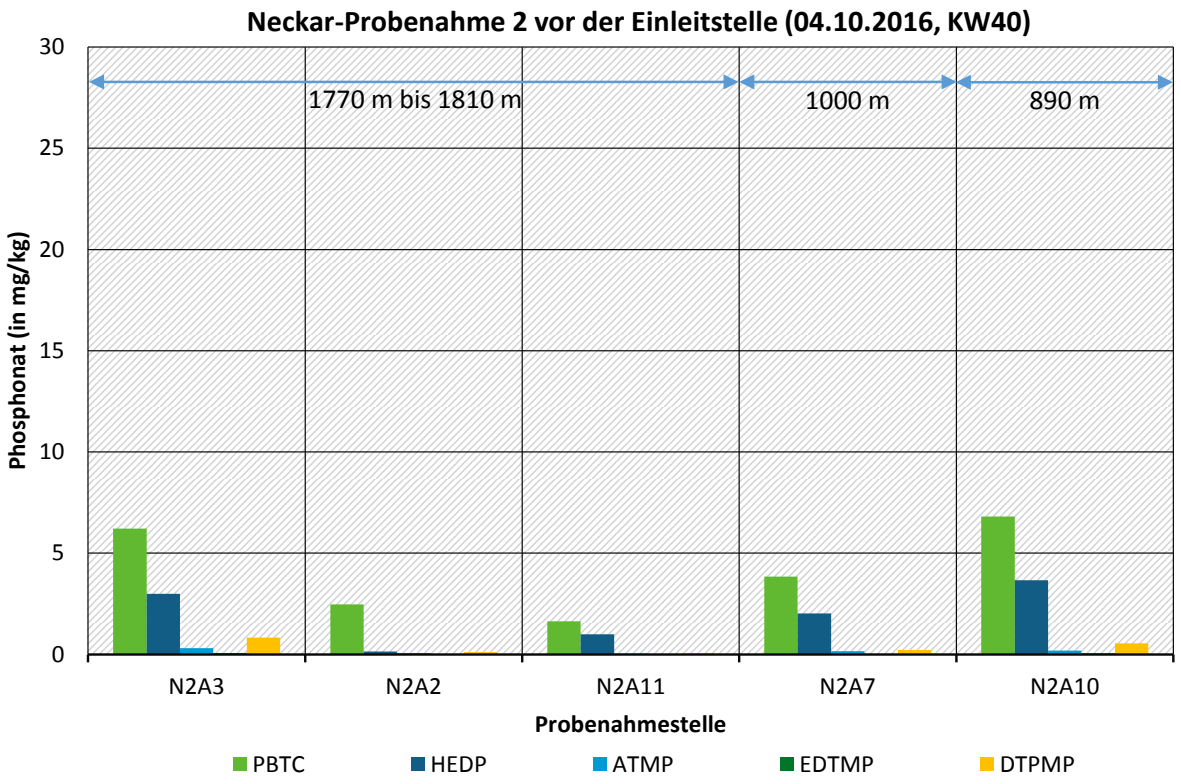
Bei den Sedimentbeprobungen galt es zunächst zu erörtern, ob die Phosphonatgehalte im Flussbett homogen ausfallen oder ob sie Schwankungen unterliegen. Aus diesem Grund wurden bei den ersten vier Neckar-Beprobungen (PN1-4) jeweils 5 bis 10 Einzelproben vor und nach der Einleitstelle genommen und separat analysiert. Dabei stellte sich heraus, dass die Phosphonatgehalte im Sediment sehr heterogen ausfielen. Anhand der Betrachtung einer Einzelprobe ließ sich nicht grundsätzlich ableiten, ob die Probe vor oder hinter der Einleitstelle genommen wurde. Je nach Probenahmestelle im Flussbett variierten die Phosphonatgehalte stark. Belastete Proben vor der Einleitstelle konnten höhere Gehalte aufweisen als gering belastete Proben hinter der Einleitstelle. Da sich die Matrix der einzelnen Proben zum Teil stark unterschied (sandig bzw. kieshaltig vs. „schlammig"), kam diese Beobachtung nicht überraschend. Obwohl die Proben vor dem Aufschluss gesiebt wurden, war ein vollständiges Entfernen der sandigen Matrix nicht möglich. Es war zu erwarten, dass diese grobkörnige Matrix ein geringeres Potential zur Adsorption von Phosphonaten aufweist als die feinkörnige Matrix der schlammigen Proben. Abbildung 95 vermittelt eine Übersicht über die detektierten Phosphonatgehalte der PN1 bei Stuttgart-Mühlhausen vor und hinter der Einleitstelle (jeweils 10 Probenahmestellen) sowie die entsprechenden Ergebnisse der PN2, PN3 und PN4 an denselben Probenahmestellen (jeweils 5 bzw. 6 Probenahmestellen). Die Werte sind nach dem Abstand zur Einleitstelle sortiert. Während sich bei PN2 bereits beim Betrachten der Diagramme ein signifikanter Unterschied der Phosphonatgehalte vor und nach der Einleitstelle zeigt, fällt dieser Unterschied bei PN1, PN3 und PN4 geringer aus, obwohl es sich um dieselben Probenahmestellen handelt. Eine generelle Zunahme der Phosphonatgehalte nach der Einleitstelle wird jedoch bei allen Probenahmen nach der Bildung der Mittelwerte (Tabelle 25) aus den Einzelergebnissen ersichtlich.

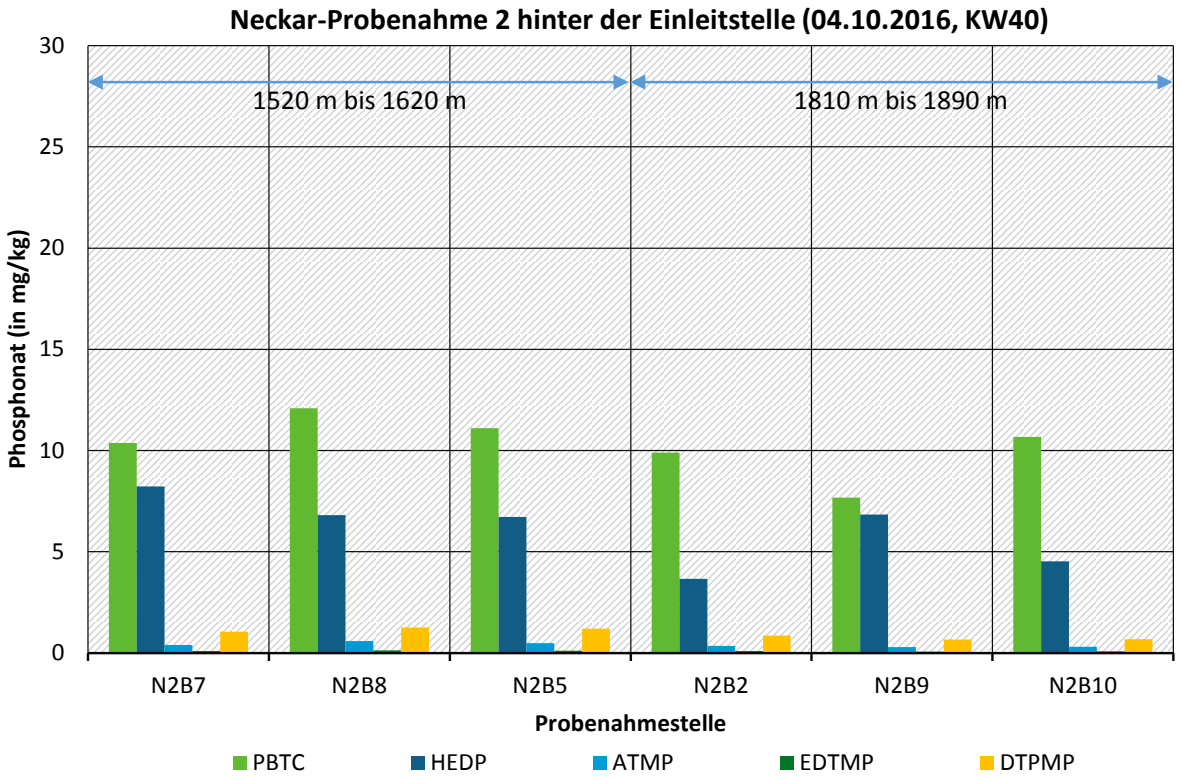
Ab den Probenahmen 4 in S-Mühlhausen und 1 in S-Möhringen wurden daher routinemäßig 5 Einzelproben genommen und nach der Lyophilisierung zu gleichen Teilen vermischt. Zur Auswertung der Ergebnisse wurden die Mittelwerte der bei PN1–4 genommenen Sedimentproben vor und hinter der Einleitstelle herangezogen.

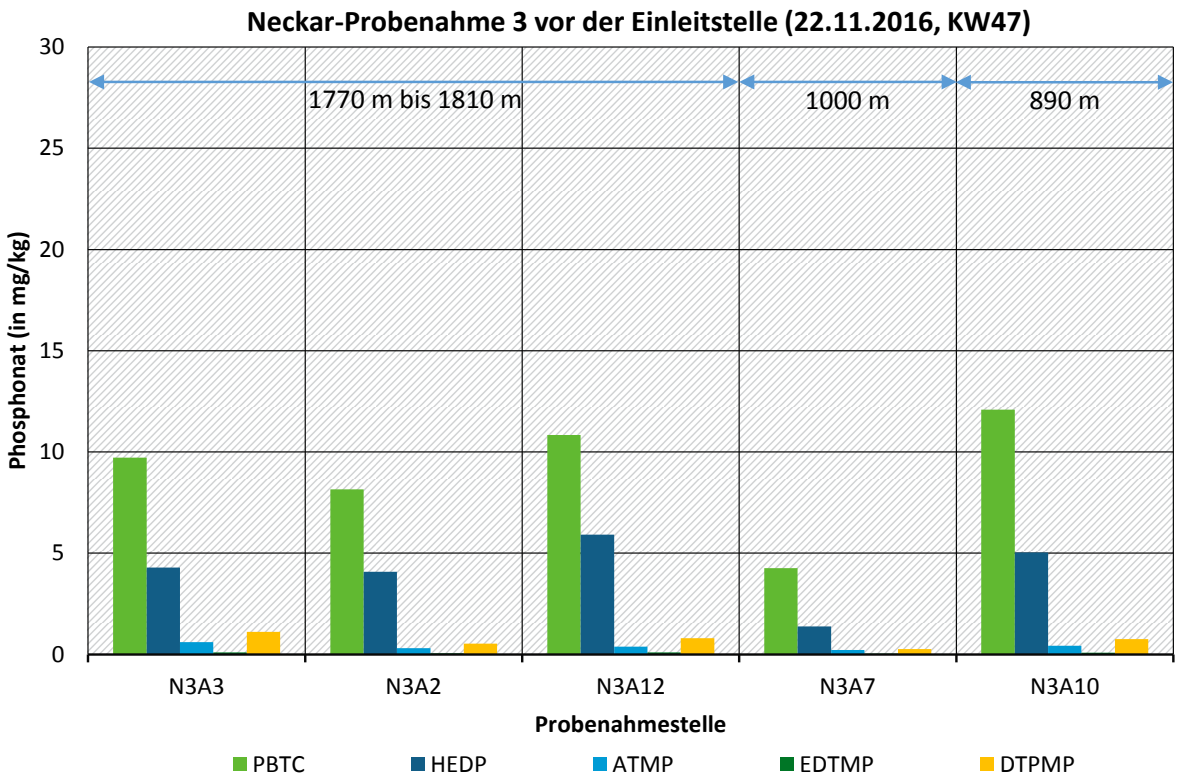
Abbildung 95: Neckar – Sediment – Einzelanalyse verschiedener Stichproben der ersten vier Probenahmen. Die Meterangaben stellen die Entfernung bis zur Einleitstelle dar.

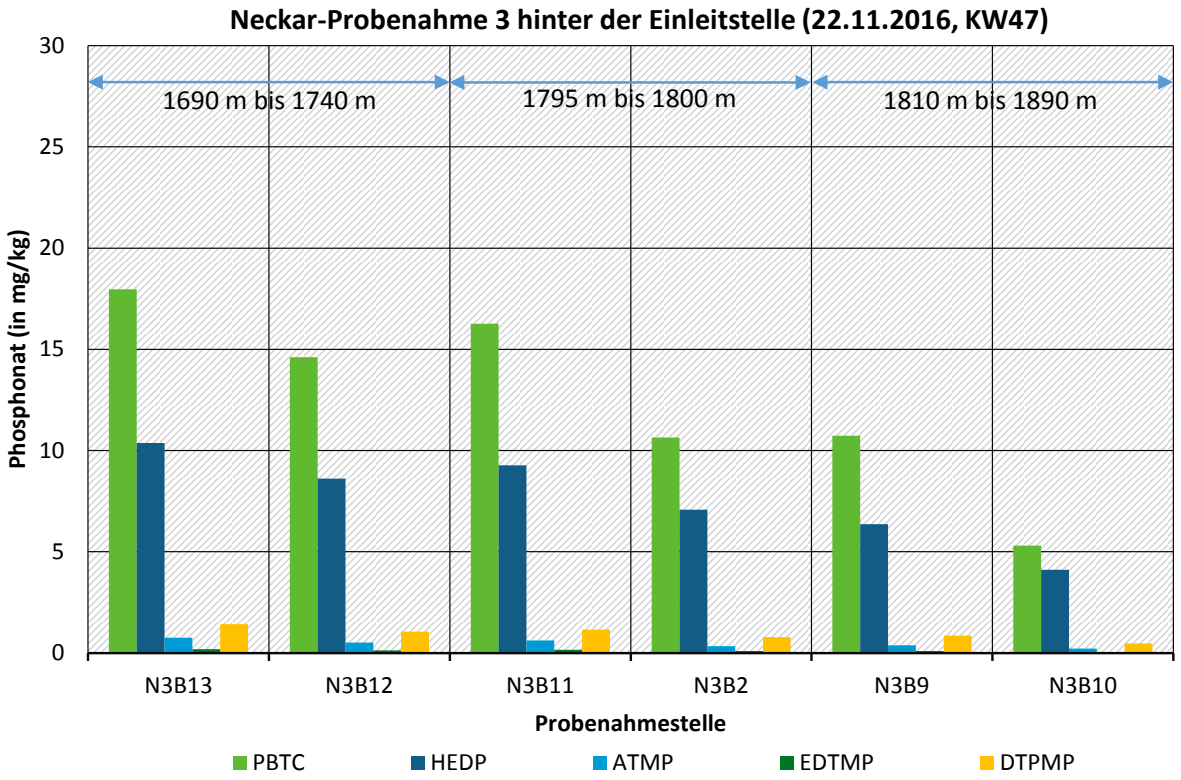


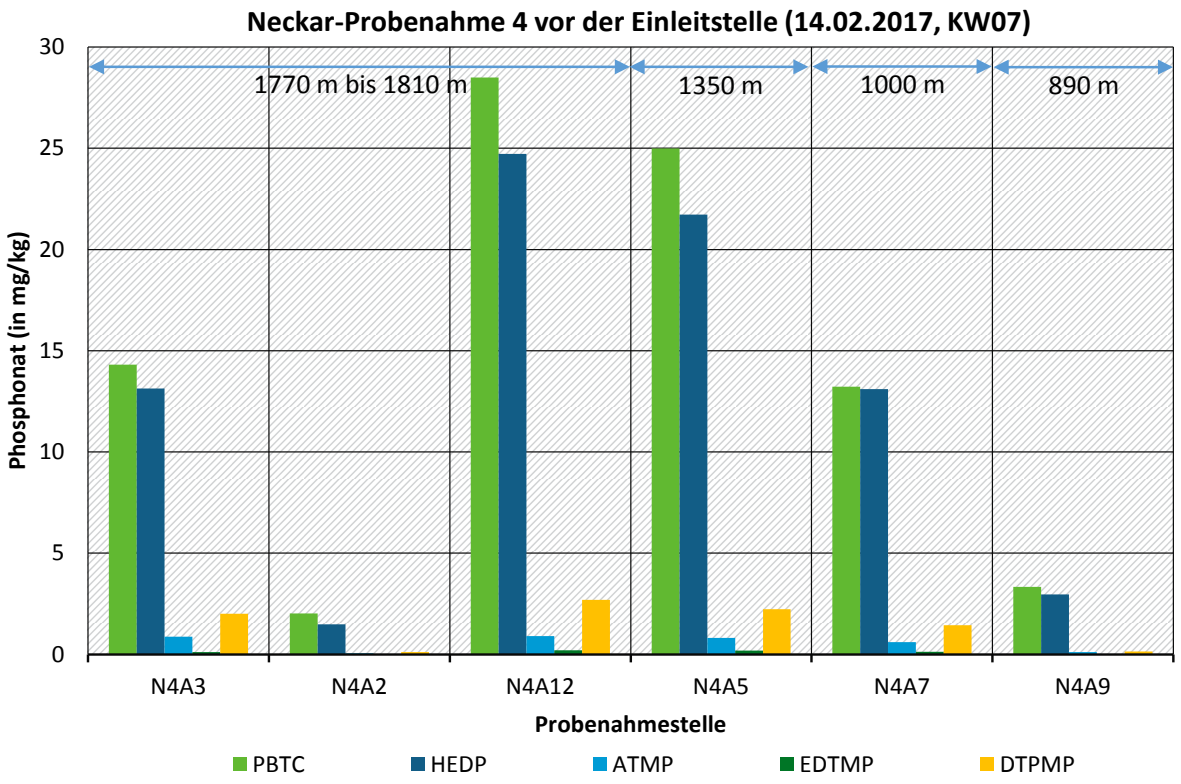


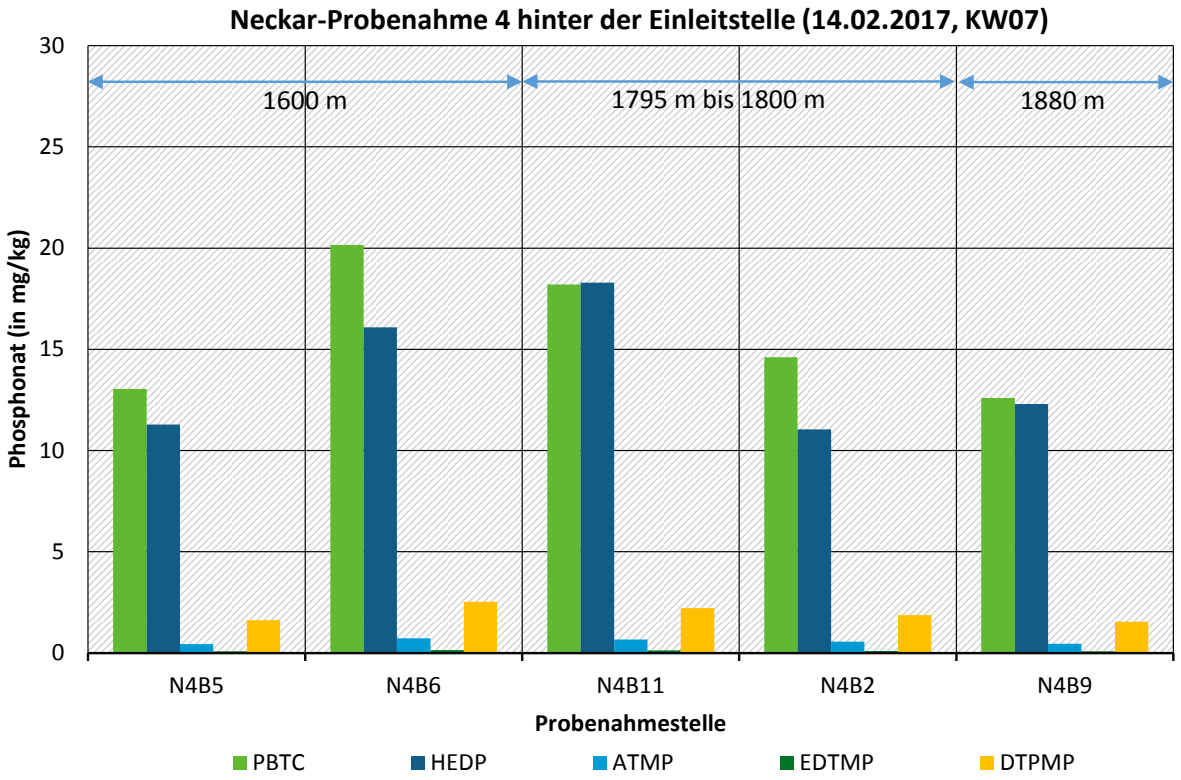

Neckar-Probenahme 2 vor der Einleitstelle (04.10.2016, KW40)
Phosphonat (in mg/kg)
30
25
20
15
10
5
0
1770 m bis 1810 m
1000 m
890 m
N2A3
N2A2
N2A11
N2A7
N2A10
Probenahmestelle
PBTC
HEDP
ATMP
EDTMP
DTPMP


Neckar-Probenahme 2 hinter der Einleitstelle (04.10.2016, KW40)
Phosphonat (in mg/kg)
30
25
20
15
10
5
0
1520 m bis 1620 m
1810 m bis 1890 m
N2B7
N2B8
N2B5
N2B2
N2B9
N2B10
Probenahmestelle
PBTC
HEDP
ATMP
EDTMP
DTPMP


Neckar-Probenahme 3 vor der Einleitstelle (22.11.2016, KW47)
Phosphonat (in mg/kg)
30
25
20
15
10
5
0
1770 m bis 1810 m
1000 m
890 m
N3A3
N3A2
N3A12
N3A7
N3A10
Probenahmestelle
PBTC
HEDP
ATMP
EDTMP
DTPMP


Neckar-Probenahme 3 hinter der Einleitstelle (22.11.2016, KW47)
Phosphonat (in mg/kg)
30
25
20
15
10
5
0
1690 m bis 1740 m
1795 m bis 1800 m
1810 m bis 1890 m
N3B13
N3B12
N3B11
N3B2
N3B9
N3B10
Probenahmestelle
PBTC
HEDP
ATMP
EDTMP
DTPMP





(Quelle: eigene Daten)

Tabelle 25: Neckar – Sediment – Vergleich der Mittelwerte aus mehreren Stichproben der ersten vier Probenahmen.

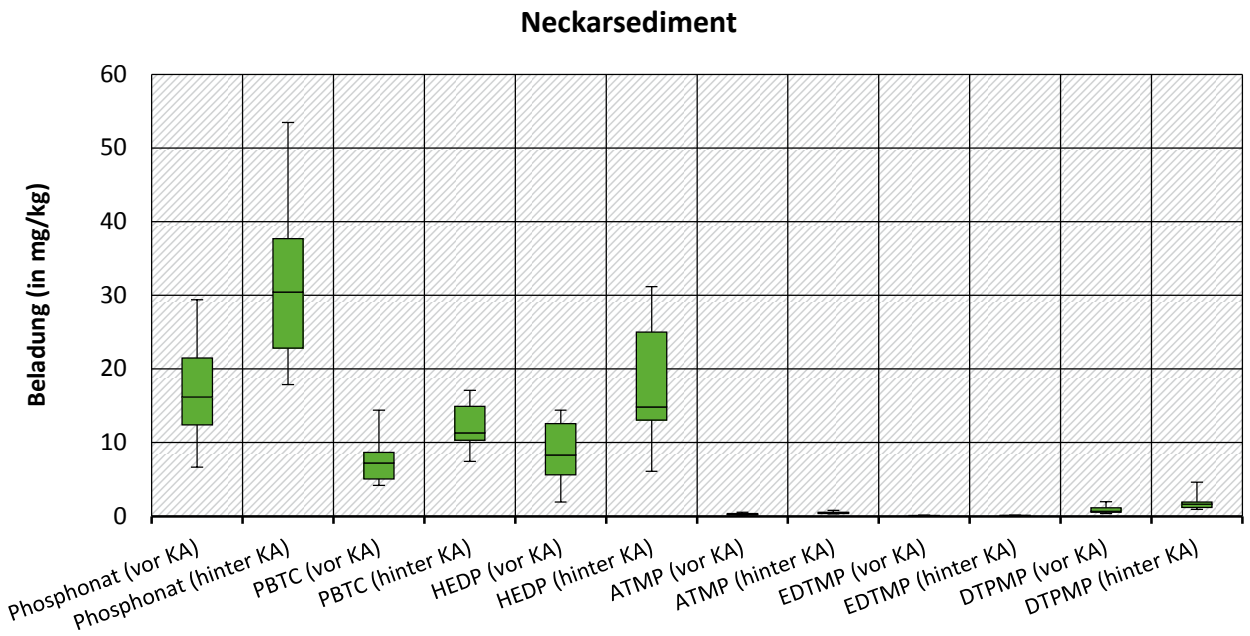
Datum	KW	Proben	PBTC (in mg/kg)	HEDP (in mg/kg)	ATMP (in mg/kg)	EDTMP (in mg/kg)	DTPMP (in mg/kg)	
02.08.2016	31	10 vor KA	7,7	8,8	0,4	0,1	1,0	MW
			45	92	59	72	63	Var. (%)
		10 hinter KA	7,5	12,8	0,5	0,1	1,2	MW
			49	34	72	68	64	Var. (%)
04.10.2016	40	5 vor KA	4,2	2,0	0,2	0,0	0,4	MW
			54	73	68	75	91	Var. (%)
		6 hinter KA	10,3	6,1	0,4	0,1	1,0	MW
			14	28	28	23	27	Var. (%)
22.11.2016	47	5 vor KA	9,0	4,1	0,4	0,1	0,7	MW
			34	41	37	36	45	Var. (%)
		6 hinter KA	12,6	7,6	0,5	0,1	1,0	MW
			37	30	42	44	34	Var. (%)
14.02.2017	07	6 vor KA	14,4	12,9	0,6	0,2	1,4	MW
			65	65	69	24	70	Var. (%)
		5 hinter KA	15,7	13,8	0,6	0,1	2,0	MW
			21	23	22	24	21	Var. (%)

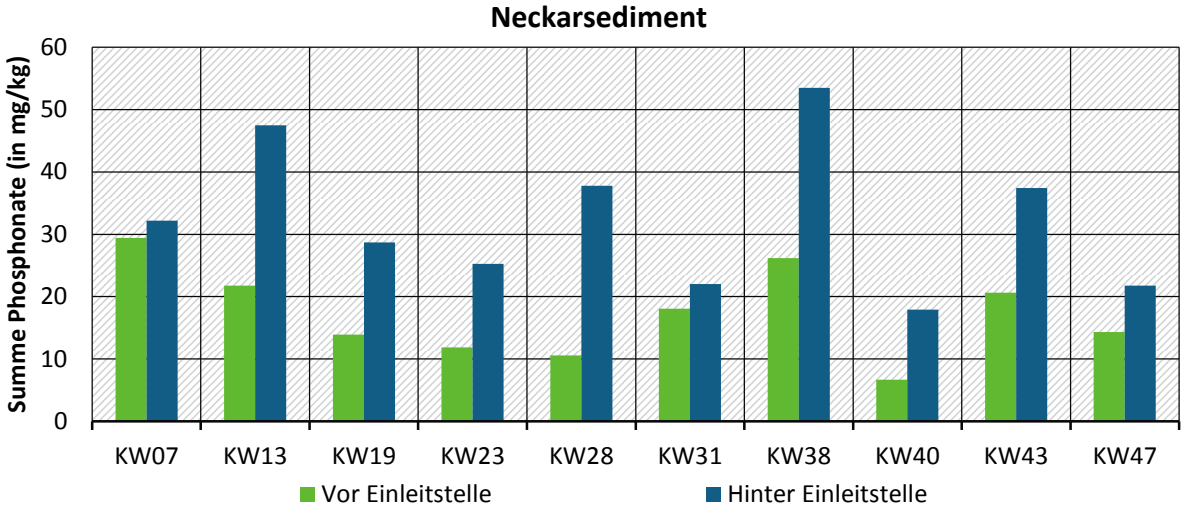
10.3.2 Vergleich vor und hinter der Einleitstelle

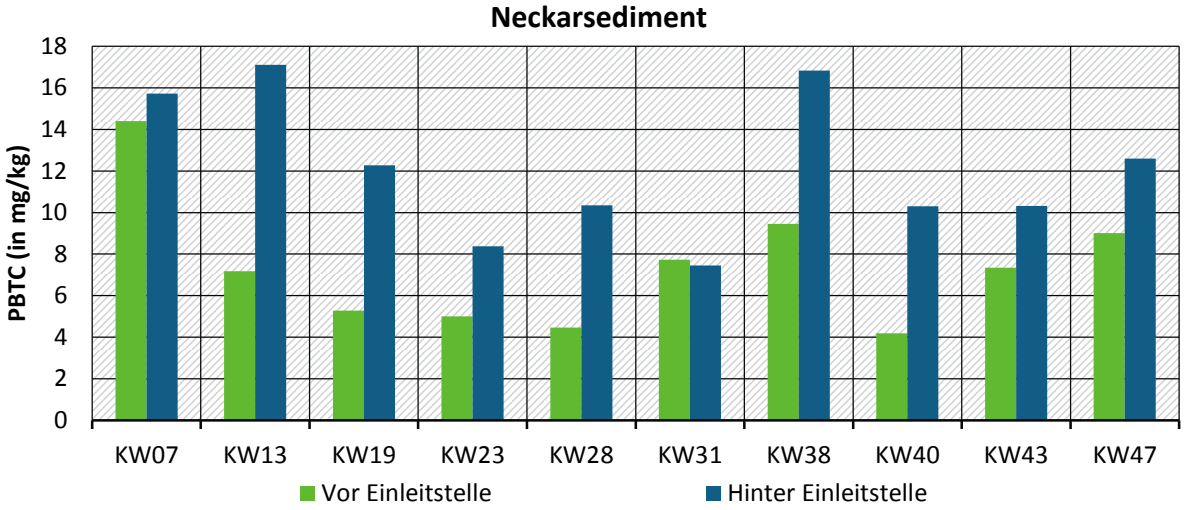
Die Sedimentbeladungen der einzelnen Phosphonate sowie in Summe sind in Abbildung 96 für den Neckar und in Abbildung 97 für die Körsch dargestellt. Für PN1–PN4 (s. vorheriger Abschnitt) wurden die Messwerte aus den Einzelanalysen gemittelt. Im Neckar ergaben sich folgende Beladungen: Phosphonat: 12 mg/kg bis 21 mg/kg vorher vs. 23 mg/kg bis 38 mg/kg nachher; PBTC: 5 mg/kg bis 9 mg/kg vorher vs. 10 mg/kg bis 15 mg/kg nachher; HEDP: 6 mg/kg bis 13 mg/kg vorher vs. 13 mg/kg bis 22 mg/kg nachher; ATMP: < 1 mg/kg; EDTMP: < 0,16 mg/kg; DTPMP: < 5 mg/kg. Die Phosphonatbeladung war hinter der Einleitstelle für jedes Phosphonat signifikant höher. Selbst bei den niedrigen Beladungen durch die Aminophosphonate war ein signifikanter Einfluss durch die Kläranlage über verschiedenste Probenahmen hinweg erkennbar. Trotz großer Streuung der Ergebnisse kann also gesagt werden, dass die Kläranlage einen klaren Einfluss auf die Sedimentbelastung durch Phosphonate hat. Dies ist vor allem vor dem Hintergrund interessant, da die Flusskonzentrationen sich vor und hinter der Einleitstelle nicht unterscheiden. Langfristig reichern sich die von der Kläranlage ausgetragenen Phosphonate folglich im Sediment an. Aus einer Nichtveränderung der Flusskonzentration kann somit nicht geschlossen werden, dass die Kläranlage keinen Einfluss auf den Phosphonatgehalt im Neckar hat.

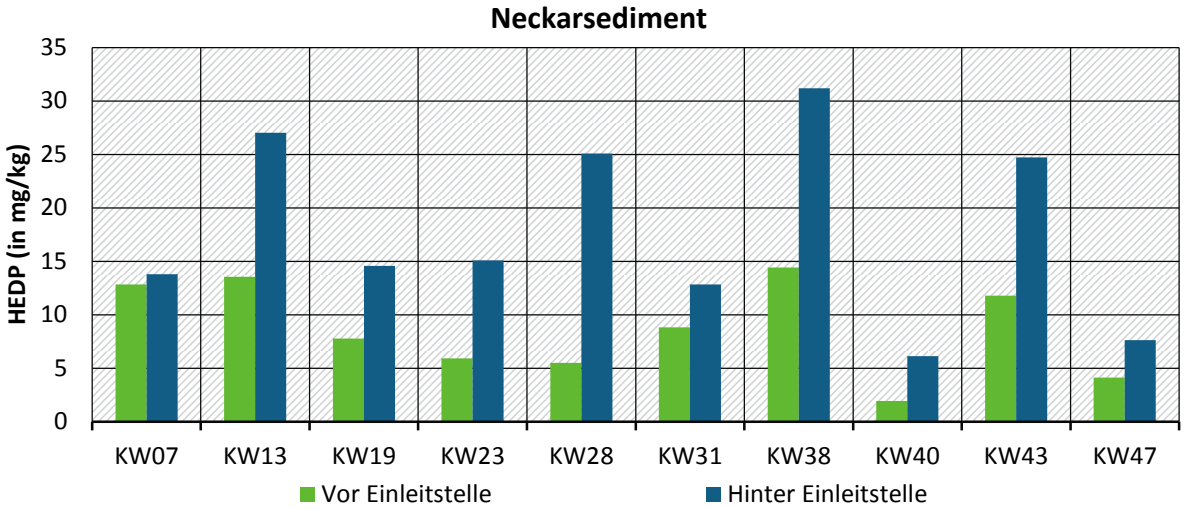
Im Kläranlagenablauf der Kläranlage S-Mühlhausen war die HEDP- sowie die PBTC-Konzentration (jeweils 13,3 µg/L) 4-mal so hoch wie die DTPMP-Konzentration (3,4 µg/L) (in Klammern die Mediane). Im Sediment hinter der Einleitstelle war die Zunahme der PBTC- (4,1 mg/kg Median) bzw. der HEDP-Beladung (6,5 mg/kg Median) dagegen 4-mal bzw. 7-mal höher als die Zunahme der DTPMP-Beladung (1,0 mg/kg Median). Das impliziert, dass HEDP das Phosphonat mit der höchsten Adsorptionsaffinität ist und bestätigt die Ergebnisse von Nowack und Stone (1999). So wurde gezeigt, dass HEDP aufgrund seiner verglichen mit den Aminophosphonaten viel kleineren Molekülmasse besser adsorbiert.

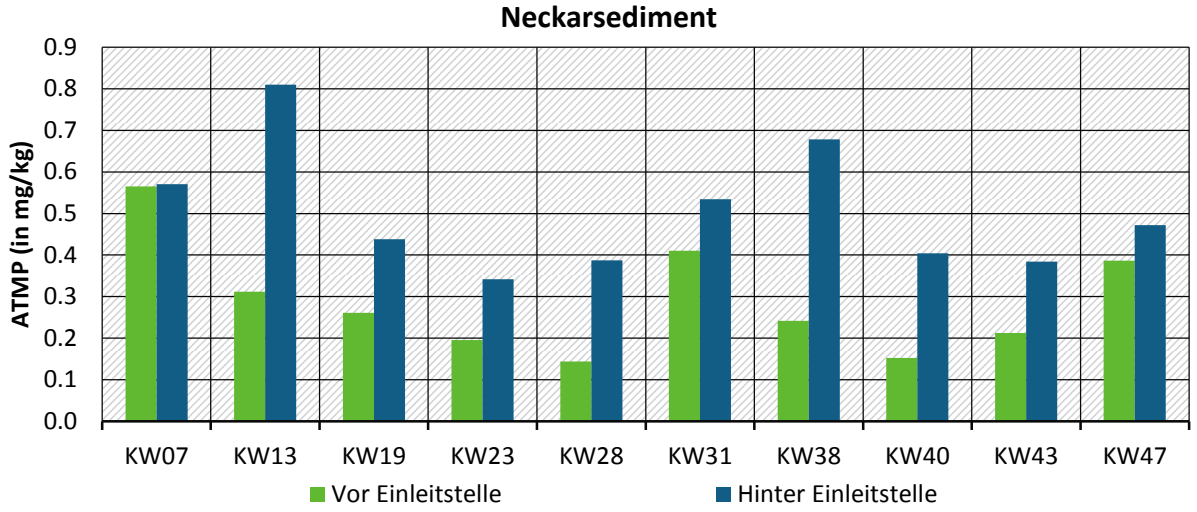
Abbildung 96: Neckar – Sediment – Phosphonatbeladungen vor und hinter der Einleitstelle.

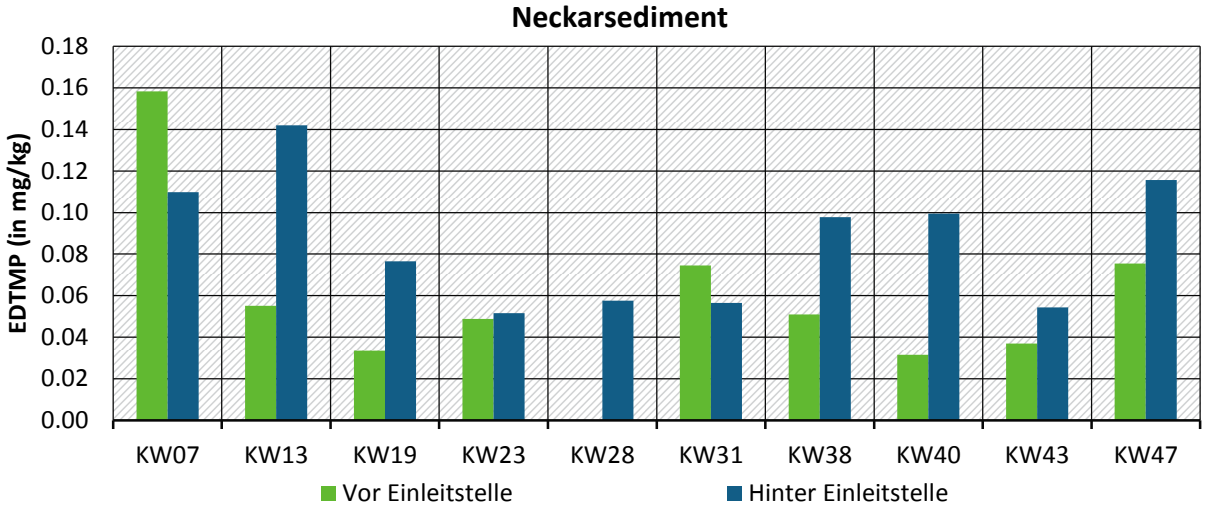


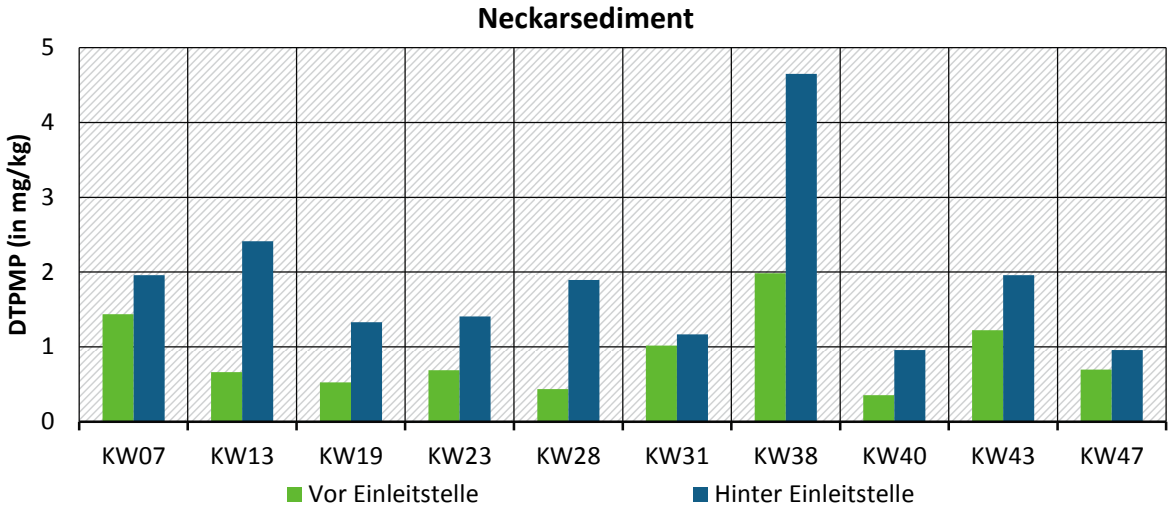

Neckarsediment
Summe Phosphonate (in mg/kg)
60
50
40
30
20
10
0
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Neckarsediment
PBTC (in mg/kg)
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Neckarsediment
HEDP (in mg/kg)
35
30
25
20
15
10
5
0
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle





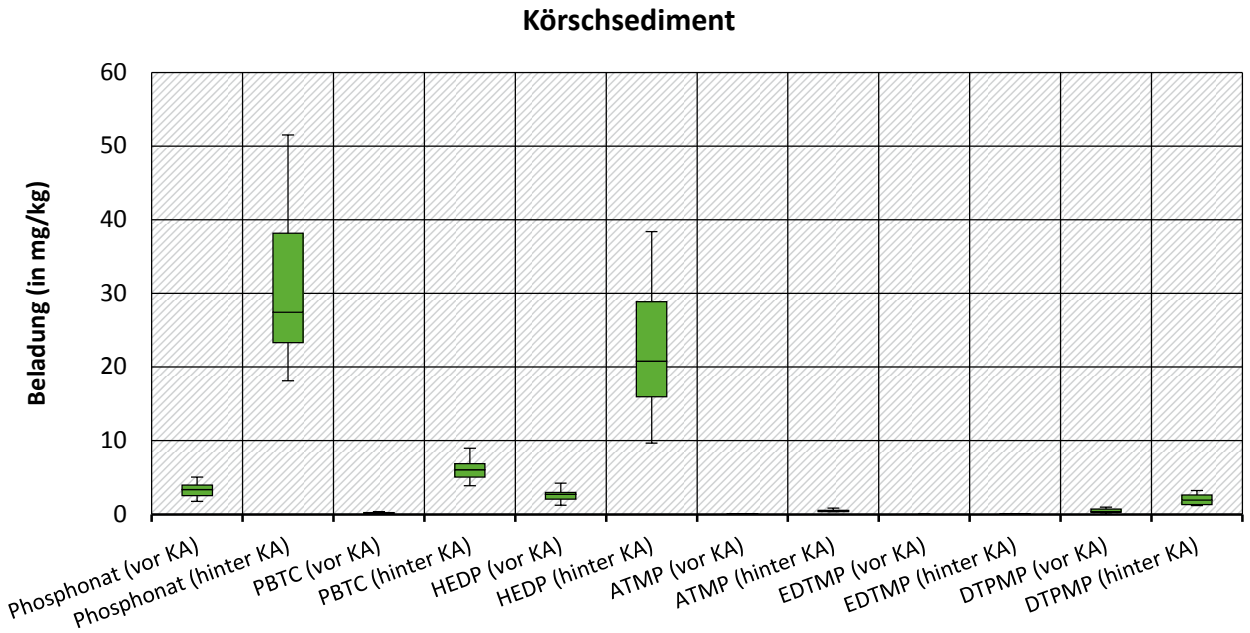


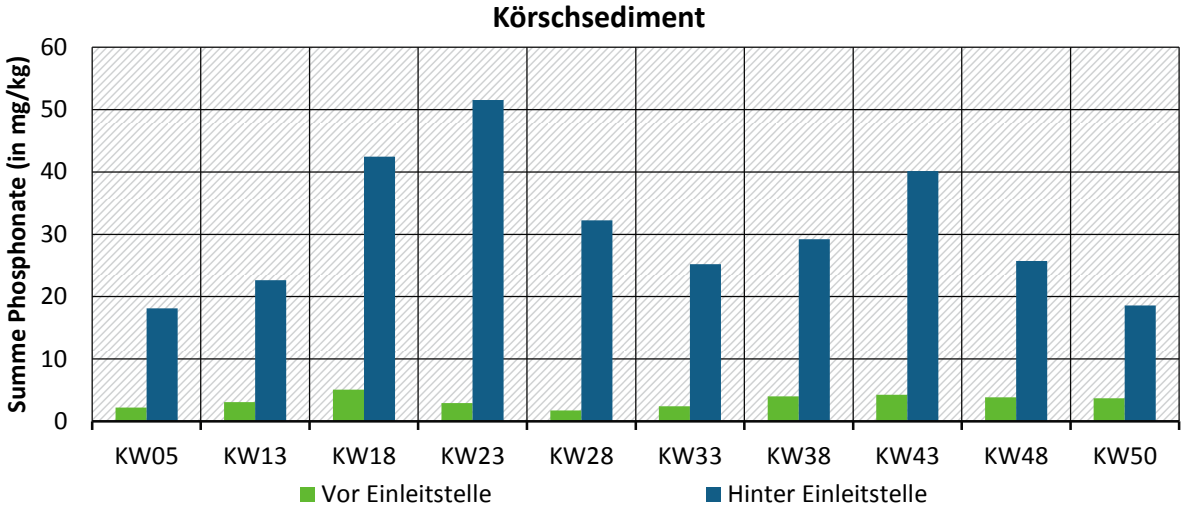
(Quelle: eigene Daten)

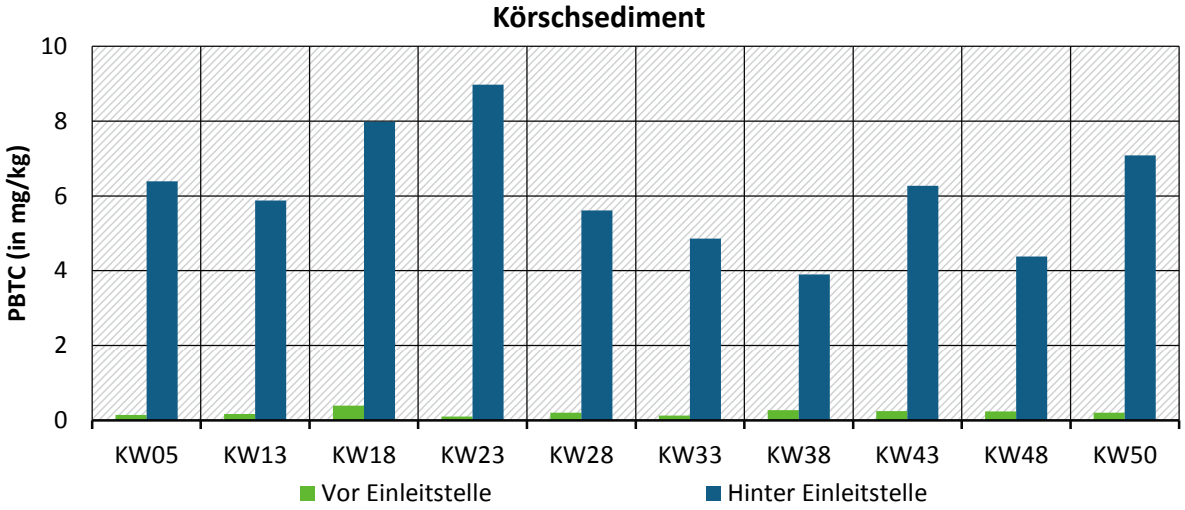
Die Zunahme der Phosphonatbeladung im Sediment der Körsch durch die Kläranlageneinleitung war sogar noch stärker ausgeprägt als im Neckar. In allen Proben wurden hinter der Einleitstelle signifikant höhere Phosphonatbeladungen vorgefunden: 3 mg/kg bis 5 mg/kg Gesamtphosphonat vorher vs. 24 mg/kg bis 38 mg/kg Gesamtphosphonat nachher; 2,72 mg/kg HEDP vorher vs. 20,8 mg/kg HEDP nachher; 0,36 mg/kg DTPMP vorher vs. 1,92 mg/kg DTPMP nachher; 0,21 mg/kg PBTC vorher vs. 6,08 mg/kg PBTC nachher; < 0,04 mg/kg ATMP vorher vs. 0,45 mg/kg ATMP nachher; < 0,01 mg/kg EDTMP vorher vs. 0,05 mg/kg EDTMP nachher (für die einzelnen Phosphonate sind die Mediane angegeben). Vor der Einleitstelle war DTPMP nach HEDP das Phosphonat mit der zweithöchsten Beladung. Hinter der Einleitstelle war dies PBTC.

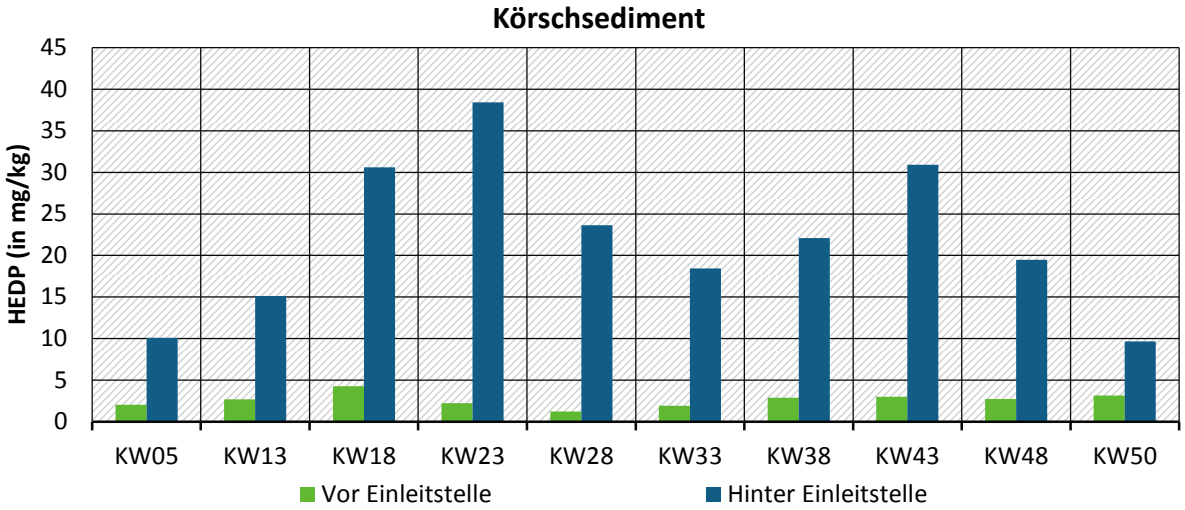
Im Kläranlagenablauf war die PBTC- (10,0 µg/L) sowie die HEDP-Konzentration (19,9 µg/L) 4-mal bzw. 8-mal so hoch wie die DTPMP-Konzentration (2,5 µg/L) (in Klammern die Mediane). Im Sediment hinter der Einleitstelle war die Zunahme der PBTC- (5,9 mg/kg Median) bzw. der HEDP-Beladung (18,1 mg/kg Median) 4-mal bzw. 12-mal höher als die Zunahme der DTPMP-Beladung (1,6 mg/kg Median). HEDP adsorbiert also stärker als die beiden anderen Phosphonate.

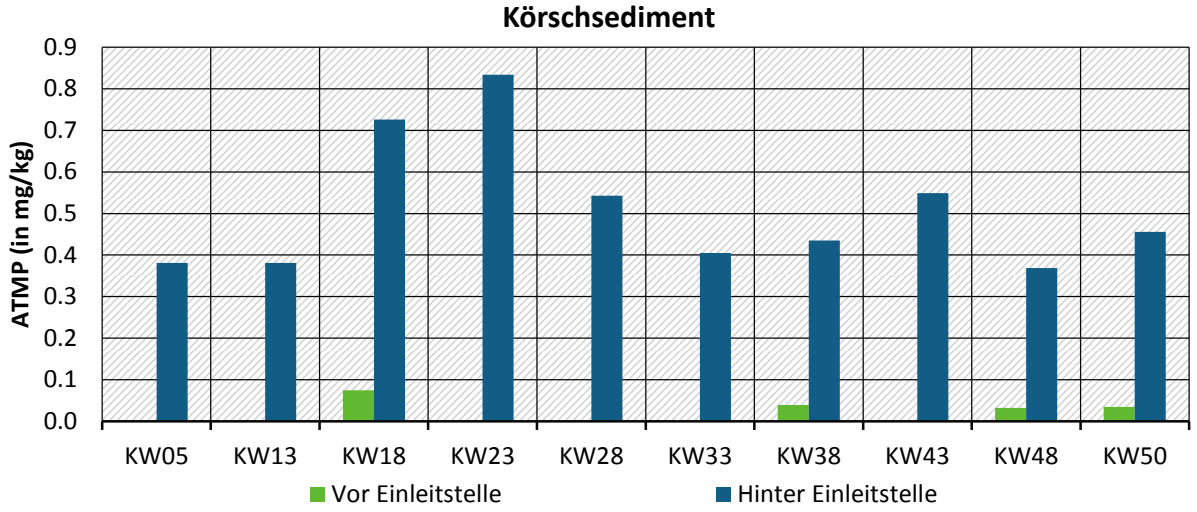
Abbildung 97: Körsch – Sediment – Phosphonatbeladungen vor und hinter der Einleitstelle.

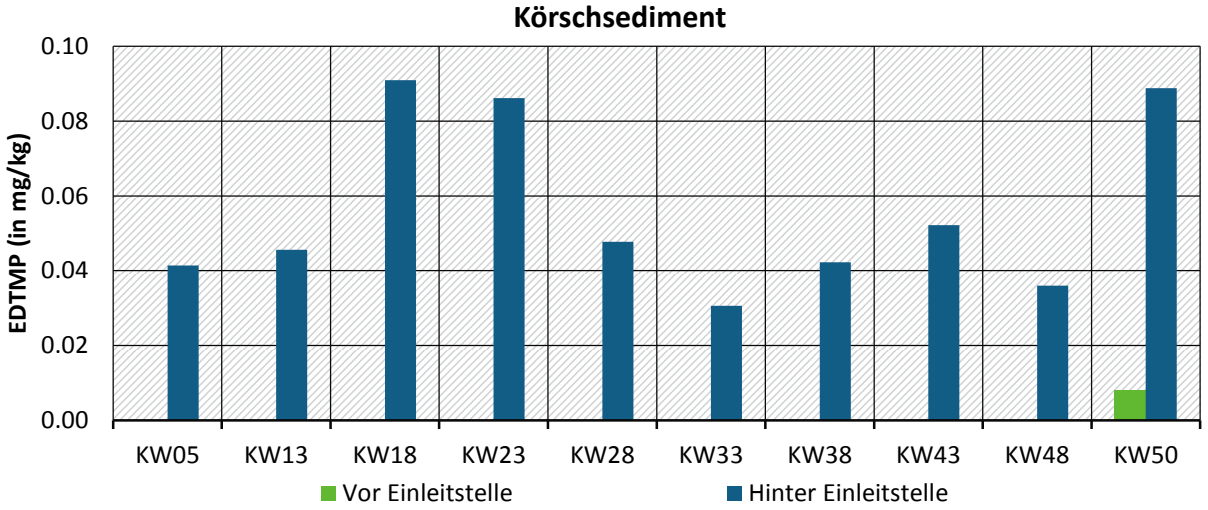


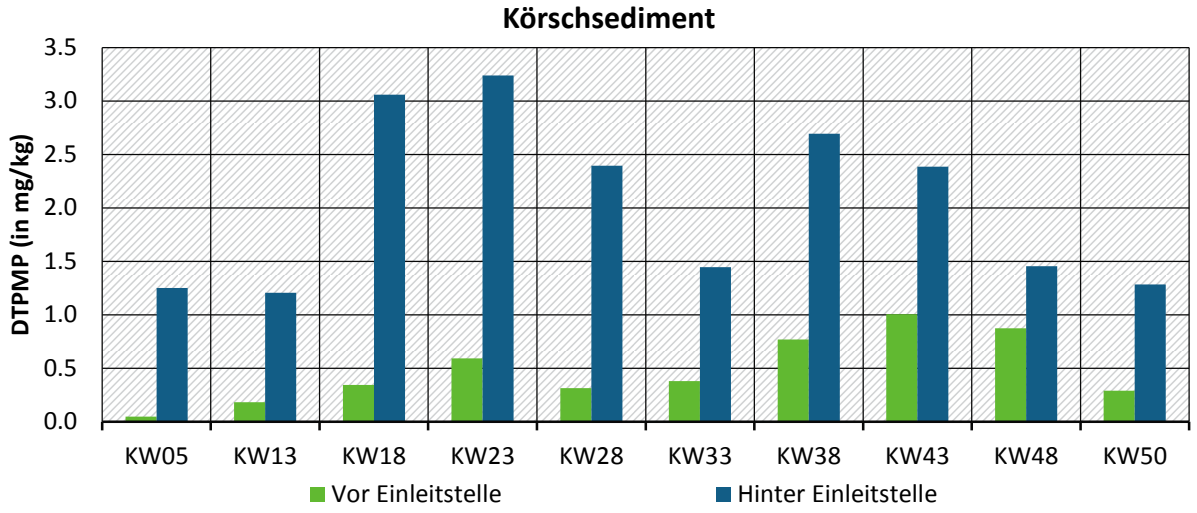

Körschsediment
Summe Phosphonate (in mg/kg)
60
50
40
30
20
10
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Körschsediment
PBTC (in mg/kg)
10
8
6
4
2
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Körschsediment
HEDP (in mg/kg)
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle



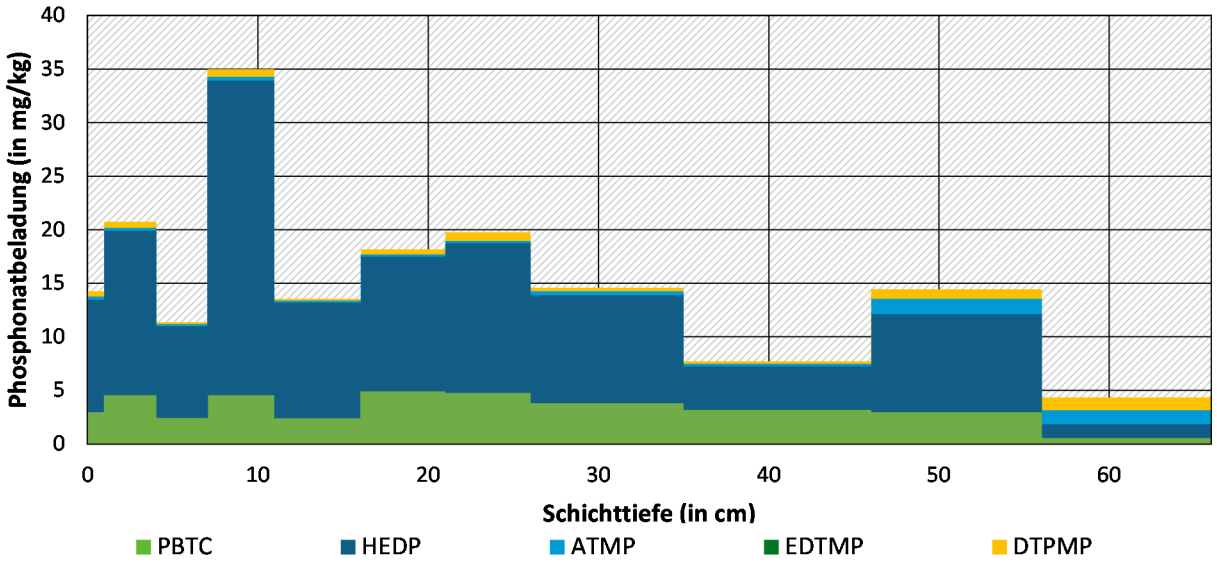




(Quelle: eigene Daten)

Bei allen Probenahmen am Neckar wiesen die Proben vor der Einleitstelle bereits eine Belastung durch Phosphonate auf, während in den Sedimentproben an der Körsch vor der Einleitstelle nur sehr geringe Werte detektiert wurden. Die gegenwärtigen Ergebnisse lassen vermuten, dass die Phosphonate an Feststoffpartikel adsorbieren und eine ausreichende Stabilität aufweisen, um sich mit dem Partikelstrom längs entlang des Flussbetts über weite Strecken zu verteilen. Diese Hypothese wird durch die Ergebnisse eines Tiefenprofils über die Phosphonatgehalte eines Rheinsediments (GPS: 48°06'05.0"N, 7°34'50.2"E; Wassertiefe: 1,80 m) bis in 66 cm Tiefe bekräftigt. Phosphonatgehalte zwischen 5 mg/kg und 29 mg/kg (HEDP) und zwischen 3 mg/kg und 5 mg/kg (PBTC) wurden bis in eine Schichttiefe von über 50 cm festgestellt (Abbildung 98). Erst in der tiefsten untersuchten Probe (56 cm bis 66 cm) wurden deutlich niedrigere Gehalte festgestellt. Der Gehalt von EDTMP befand sich in allen Proben <BG, während ATMP und DTPMP in Gehalten von unter 1 mg/kg vorlagen. Bis in eine Tiefe von 30 cm traten deutliche Fluktuationen im Gehalt auf. Möglicherweise spiegelt dies eine heterogene Schichtung des Sediments wider.

Abbildung 98: Phosphonatgehalte im Tiefenprofil eines Rheinsediments.



(Quelle: eigene Daten)

Das Auftreten geringer Phosphonatgehalte im Sediment der Körsch vor der Einleitstelle warf zunächst die Frage auf, ob es sich dabei um reale Messwerte oder um Blindwerte (Kontamination des Messsystems oder Einträge bei der Probenvorbereitung) handelt. Aus diesem Grund wurden drei zusätzliche Sedimentproben von möglichst unbelasteten Gewässern untersucht: Gießengraben bei Hockenheim, Grumbach in der Rhön und Edersee. In Tabelle 26 sind die Spannweiten der Phosphonatgehalte im Körsch-Sediment vor der Einleitstelle aller Probenahmen und die in den drei zusätzlichen Proben bestimmten Phosphonatgehalte gegenübergestellt. In diesen wurden generell niedrigere Werte als im Körsch-Sediment festgestellt. Daher ist davon auszugehen, dass die Körsch vor der Einleitstelle tatsächlich bereits eine geringfügige Belastung aufweist.

Tabelle 26: Gegenüberstellung der im Körschsediment vor der Einleitstelle bestimmten Phosphonatgehalte mit Gehalten in den Sedimenten dreier möglichst unbelasteter Gewässer.

Probenahmestelle	PBTC / (mg/kg)	HEDP / (mg/kg)	ATMP / (mg/kg)	EDTMP / (mg/kg)	DTPMP / (mg/kg)
Körsch (PN1-10)	0,11 – 0,39	1,24 – 4,26	<BG – 0,08	<BG – 0,01	0,05 – 1,01
Grumbach	<BG	0,13	<BG	<BG	<BG
Edersee	<BG	0,53	<BG	<BG	0,23
Gießengraben	<BG	0,04	<BG	<BG	0,29

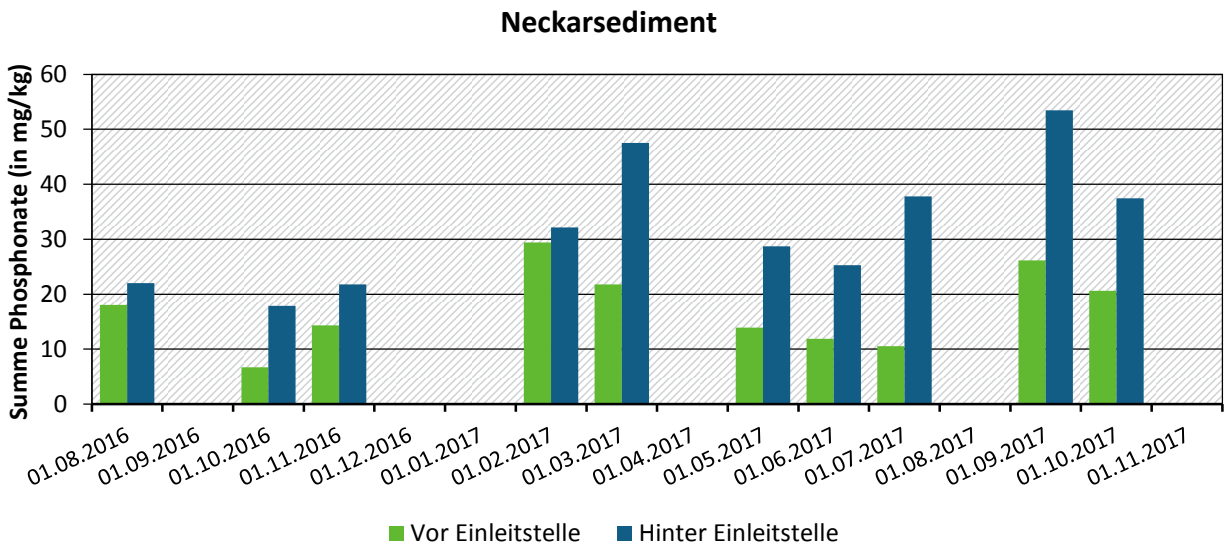
10.3.3 Datumsbetrachtung hinsichtlich Sedimentproben

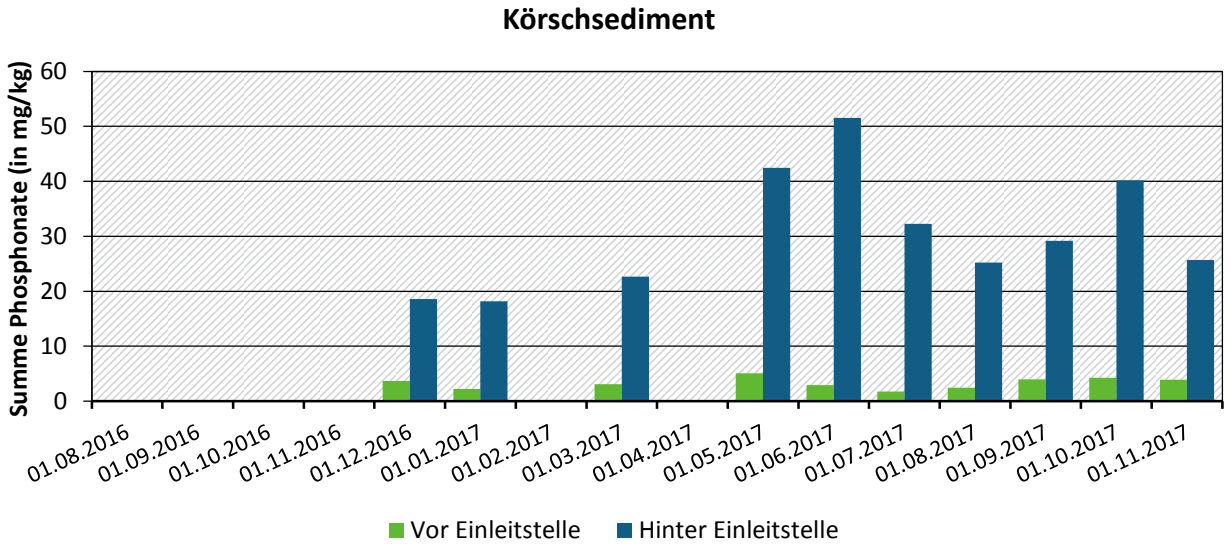
In Abbildung 99 ist die bei den 10 Probenahmen erfasste Sedimentbeladung chronologisch nach Probenahmedatum dargestellt. So zeichnete sich für den Neckar ein schwaches Wellenprofil mit Hochpunkten hinsichtlich der Sedimentadsorption im Frühjahr und Herbst sowie für die Körsch ein schwaches Wellenprofil mit Hochpunkten im Sommer und Herbst ab. Die wellenartigen Verläufe und Hochpunkte der beiden Standorte waren somit nicht kongruent. Im Folgenden werden mögliche Erklärungsansätze für die Wellenverläufe diskutiert:

- Möglicherweise höhere Waschmittelverbräuche in den jeweiligen Zeiträumen können nicht der Grund sein, da man sonst für beide Flüsse Hochpunkte in denselben Zeiträumen beobachten müsste.
- Schlechtere Phosphonatelimination im Frühjahr und Herbst in S-Mühlhausen? Für S-Mühlhausen konnte in Abschnitt 10.1.4 gezeigt werden, dass ganzjährig eine konstant hohe Elimination erreicht wurde. Zumindest ist nicht zu erwarten, dass im Sommer die Elimination signifikant schlechter ausfällt als üblich.
- Schlechtere Elimination im Sommer und Herbst in S-Möhringen? Für S-Möhringen wird in Abschnitt 10.1.4 gezeigt, dass eher im Winter eine etwas schwächer ausgeprägte Elimination womöglich aufgrund sehr niedriger Abwassertemperaturen eintreten kann. Eine möglicherweise schlechtere Elimination im Winter stimmt nicht mit Hochpunkten hinsichtlich der Sedimentbeladung im Sommer und Herbst überein.
- Höherer Durchfluss der Kläranlagen im Frühjahr und Herbst? Für S-Mühlhausen wird in Abschnitt 9.2 aufgezeigt, dass lediglich im Sommer etwas erhöhte Durchflüsse beobachtet werden konnten. Im Winter, Frühling und Herbst war der Durchfluss allerdings in der Regel mit etwa 1,4 m^3/s sehr konstant. Die Durchflüsse von S-Möhringen streuten weitaus stärker. Die höchsten Durchflüsse lagen im Winter und Frühjahr vor. Dies stimmt also nicht mit den Zeiträumen überein, in denen sich die Hochpunkte befanden. Zu den Durchflüssen sei angemerkt, dass diese sehr starken Schwankungen unterliegen und von Tag zu Tag sehr voneinander abweichen können. Wird eine Probe an einem regenarmen Tag gezogen, so könnte ein Tag später bereits durch starken Regen der Durchfluss stark erhöht sein. Die Durchflussangaben aus den Probenahmetagen sind somit nicht aussagekräftig genug.
- Unterschiedliche Adsorptionsbeladungen temperaturbedingt? Die Temperatur kann einen Einfluss auf die Adsorption der Phosphonate an das Sediment haben. Mögliche Einflüsse hinsichtlich der Flusstemperatur werden in Abschnitt 10.3.5 diskutiert.

Die genannten Einflussfaktoren könnten kumulativ wirken und so dann zu dem Wellenprofil beitragen. Eine solche Auswertung aufgrund der vorhandenen Datenlage ist allerdings ohne Weiteres nicht möglich.

Abbildung 99: Neckar & Körsch – Sediment – Phosphonatbeladungen chronologisch nach Probenahmedatum sortiert.



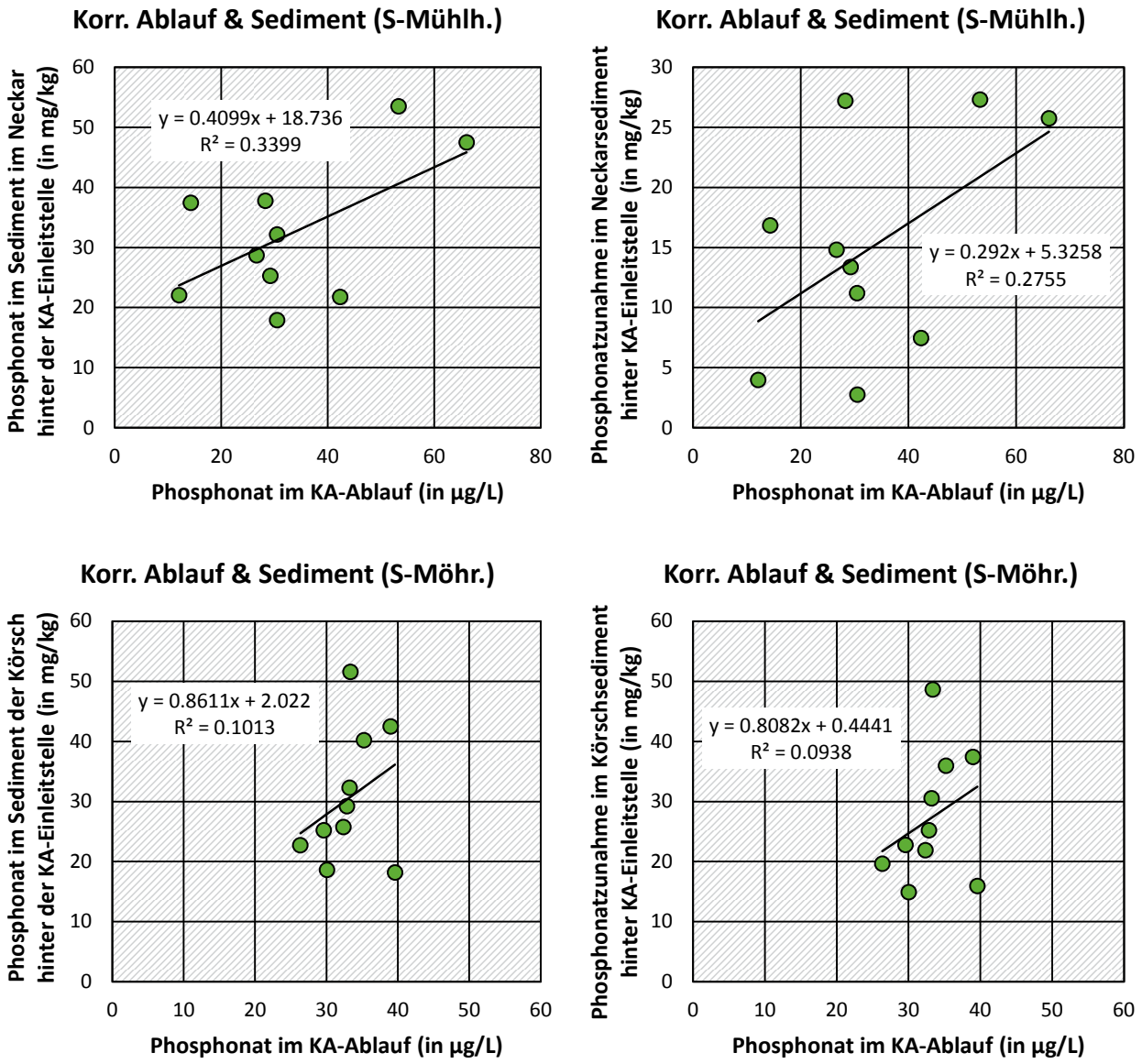


(Quelle: eigene Daten)

10.3.4 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Sediment und KA-Ablauf

Die Phosphonatbeladung sowie die Zunahme der Phosphonatbeladung (= Phosphonatbeladung hinter minus Phosphonatbeladung vor der Kläranlage) korrelierte nur sehr schwach mit der Phosphonatablaufkonzentration der Kläranlagen (Abbildung 100). Allerdings lag eine sehr große Streuung der Messwerte vor. Diese große Streuung der Phosphonatadsorption am Sediment unabhängig von der Phosphonatkonzentration im Ablauf zeigt, dass die Beladung von Sediment durch Phosphonate ein dynamischer Prozess ist und vielen Einflüssen unterliegt.

Abbildung 100: Neckar & Körsch – Sediment – Korrelation Beladung mit KA-Ablaufkonzentration.

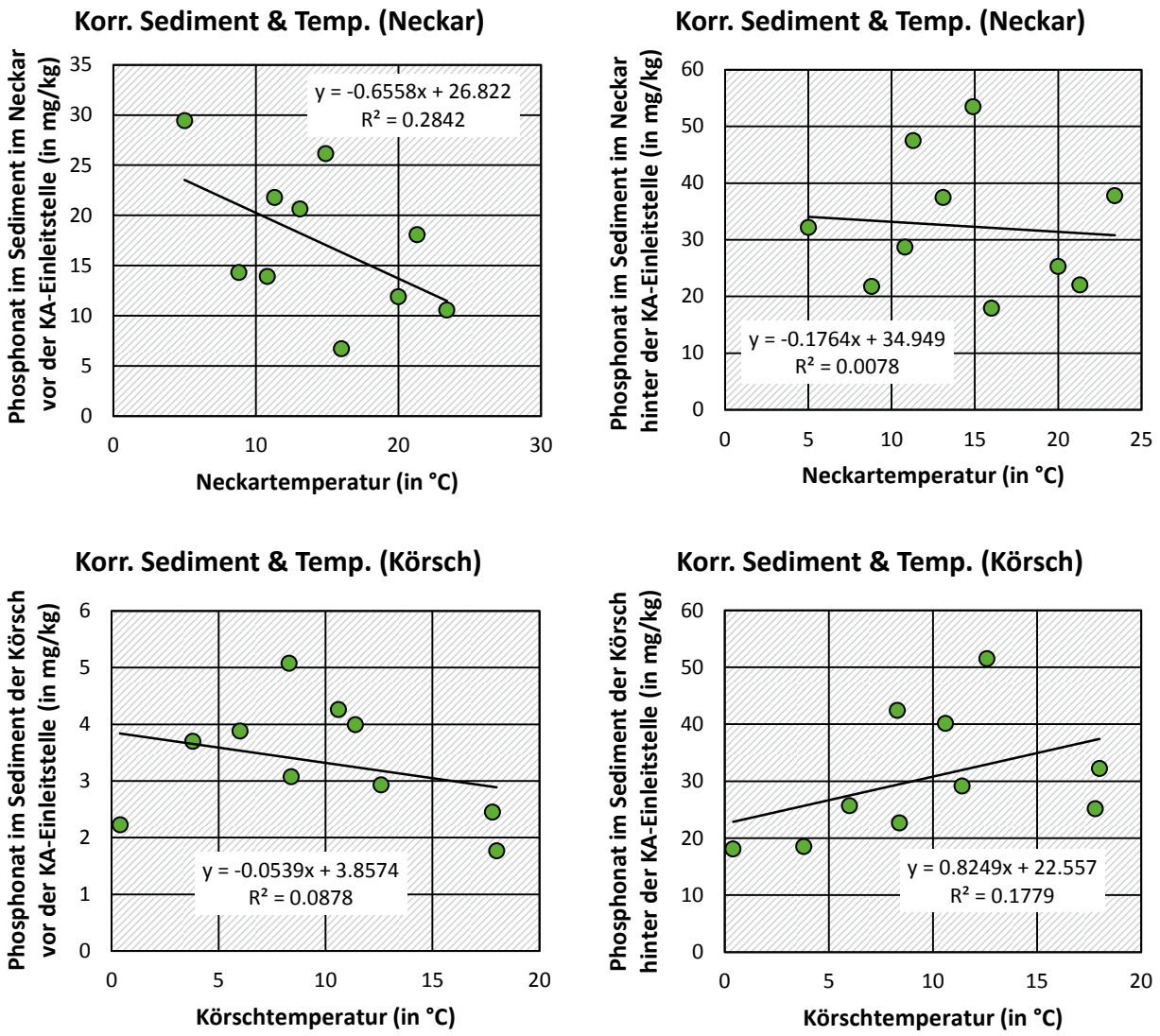


(Quelle: eigene Daten)

10.3.5 Korrelationsbetrachtungen hinsichtlich Sediment und Temperatur

Die Adsorption von Phosphonaten an Eisenhydroxid ist abhängig von der Temperatur und i. d. R. ein endothermer Prozess. D. h. bei höheren Temperaturen sollte die Adsorption stärker ausgeprägt sein als bei niedrigen Temperaturen (eigene Untersuchungen). Abbildung 101 vergleicht die Phosphonatgehalte in den Sedimenten mit der Flusstemperatur. Die sich sehr schwach andeutende höhere Beladung bei niedrigeren Temperaturen ist kritisch zu hinterfragen, da dies eine exotherme Adsorption voraussetzen würde und noch viele weitere (zum Teil unbekannte) Faktoren auf den Adsorptionsprozess einwirken. Lediglich die Körschproben hinter der Einleitstelle wiesen erhöhte Beladungen bei höheren Temperaturen auf. Da die Körsch hier zum größten Teil aus Kläranlagenablauf besteht, könnte dies auch suggerieren, dass bei höheren Temperaturen Phosphonate schlechter eliminiert werden und dies zu höherer Belastung des Gewässers und damit höheren Beladung des Sediments führt. Eine Verschlechterung der Phosphonatelimination bei höheren Abwassertemperaturen konnte allerdings nicht festgestellt werden (Abbildung 88). Eine generelle Korrelation aus Sedimentbeladung und Temperatur sollte folglich ohne tiefergehende Untersuchungen nicht abgeleitet werden.

Abbildung 101: Neckar & Körsch – Sediment – Korrelation Beladung mit Flusstemperatur.



(Quelle: eigene Daten)

10.3.6 Zusammenfassung

- Bei den ersten vier Neckarprobenahmen wurden jeweils 5 bis 10 Einzelproben vor und nach der Einleitstelle genommen und separat auf den Phosphonatgehalt hin analysiert. Dabei stellte sich heraus, dass die Phosphonatgehalte im Sediment heterogen ausfielen. Anhand der Betrachtung einer Einzelprobe ließ sich nicht grundsätzlich ableiten, ob die Probe vor oder hinter der Einleitstelle genommen wurde.
- Eine generelle Zunahme der Phosphonatgehalte hinter der Einleitstelle wird jedoch bei allen Probenahmen nach der Bildung der Mittelwerte aus den Einzelergebnissen ersichtlich. Folglich wurde ab Probenahme 5 am Neckar bzw. allen Probenahmen an der Körsch Mischproben aus mehreren Einzelproben analysiert.
- Im Neckar ergaben sich folgende Beladungen: Phosphonat: 12 mg/kg bis 21 mg/kg vorher vs. 23 mg/kg bis 38 mg/kg nachher; PBTC: 5 mg/kg bis 9 mg/kg vorher vs. 10 mg/kg bis 15 mg/kg nachher; HEDP: 6 mg/kg bis 13 mg/kg vorher vs. 13 mg/kg bis 22 mg/kg nachher; ATMP: < 1 mg/kg; EDTMP: < 0,16 mg/kg; DTPMP: < 5 mg/kg. Die Phosphonatbeladung war hinter der Einleitstelle für jedes Phosphonat signifikant erhöht.
- Die Zunahme der Phosphonatbeladung im Sediment der Körsch durch die Kläranlageneinleitung war deutlich stärker ausgeprägt als im Neckar. In allen Proben wurden hinter der Einleitstelle signifikant höhere Phosphonatbeladungen vorgefunden: 3 mg/kg bis 5 mg/kg Phosphonat vorher vs. 24 mg/kg bis 38 mg/kg Phosphonat nachher; 2,72 mg/kg HEDP vorher vs. 20,8 mg/kg HEDP nachher; 0,36 mg/kg DTPMP vorher vs. 1,92 mg/kg DTPMP nachher; 0,21 mg/kg PBTC vorher vs. 6,08 mg/kg PBTC nachher; < 0,04 mg/kg ATMP vorher vs. 0,45 mg/kg ATMP nachher; < 0,01 mg/kg EDTMP vorher vs. 0,05 mg/kg EDTMP nachher (für die einzelnen Phosphonate sind die Mediane angegeben).
- Anhand der gegenwärtigen Ergebnisse lässt sich schließen, dass die Phosphonate an Feststoffpartikel adsorbieren und eine ausreichende Stabilität aufweisen, um sich mit dem Partikelstrom längs entlang des Flussbetts über weite Strecken und tiefere Sedimentschichten zu verteilen.

10.4 Schwebstoffproben

Bezüglich des Probenaufschlusses und der Analytik verhalten sich die Fluss-Schwebstoffproben ähnlich den Sedimentproben. Je nach Belastungsgrad kann der Gesamtphosphonatgehalt der Schwebstoffproben den der Sedimentproben um das 4-fache (Neckar) bzw. das 34-fache (Körsch) übertreffen. Dies liegt wahrscheinlich darin begründet, dass die Schwebstoffe eine feinpartikuläre Matrix darstellen und keinen Sand enthalten. Somit bieten sie den Phosphonaten eine große Oberfläche zur Adsorption.

10.4.1 Vergleich vor und hinter der Einleitstelle

Die Schwebstoffbeladungen der einzelnen Phosphonate sowie in Summe sind in Abbildung 102 für den Neckar dargestellt. Die Ergebnisse streuten sehr stark. So wies die Schwebstoffbeladung durch Phosphonate vor der Einleitstelle ein Minimum von 6 mg/kg und ein Maximum von 187 mg/kg auf. Hinter der Einleitstelle waren der Minimumwert 9 mg/kg und der Maximumwert 154 mg/kg.

Im Neckar unterschied sich vor der Einleitstelle die Beladung durch Phosphonate zwischen Sediment und Schwebstoffen kaum: 12 mg/kg bis 21 mg/kg im Sediment, 12 mg/kg bis 28 mg/kg in Schwebstoffen. Das gilt auch für PBTC: 5 mg/kg bis 9 mg/kg im Sediment, 5 mg/kg bis 11 mg/kg in Schwebstoffen, HEDP: 6 mg/kg bis 13 mg/kg im Sediment, 4 mg/kg bis 11 mg/kg in Schwebstoffen, ATMP: 0,2 mg/kg bis 0,4 mg/kg im Sediment, 0,1 mg/kg bis 0,7 mg/kg in Schwebstoffen, EDTMP: 0,04 mg/kg bis 0,07 mg/kg im Sediment, 0,1 mg/kg bis 0,2 mg/kg in Schwebstoffen, DTPMP: 0,6 mg/kg bis 1,2 mg/kg im Sediment, 2 mg/kg bis 5 mg/kg in Schwebstoffen (erstes bis drittes Quartil). Dies deutet darauf hin, dass es sich bei den Schwebstoffen vor der Einleitstelle vorwiegend um aufgewirbeltes feines Sediment halten könnte.

Auffällig ist der Ausreißer in KW43. Hier betrug die Beladung sowohl vor als auch hinter der Einleitstelle teilweise das bis zu Zehnfache der Beladung der restlichen Proben. Dadurch, dass vor der Einleitstelle die Beladung bereits so hoch war, kann der Einfluss nicht auf die Kläranlage in S-Mühlhausen zurückgeführt werden. Eine mögliche Ursache könnte eine Stoßbelastung durch eine andere Kläranlage oberstrom von S-Mühlhausen gewesen sein. Interessanterweise wurden die Schwebstoffe dieser Proben sehr zügig gewonnen, sodass ein Einfluss durch Algen nicht zu erwarten ist. In Abschnitt 10.4.4 wird dieser Umstand weiter diskutiert.

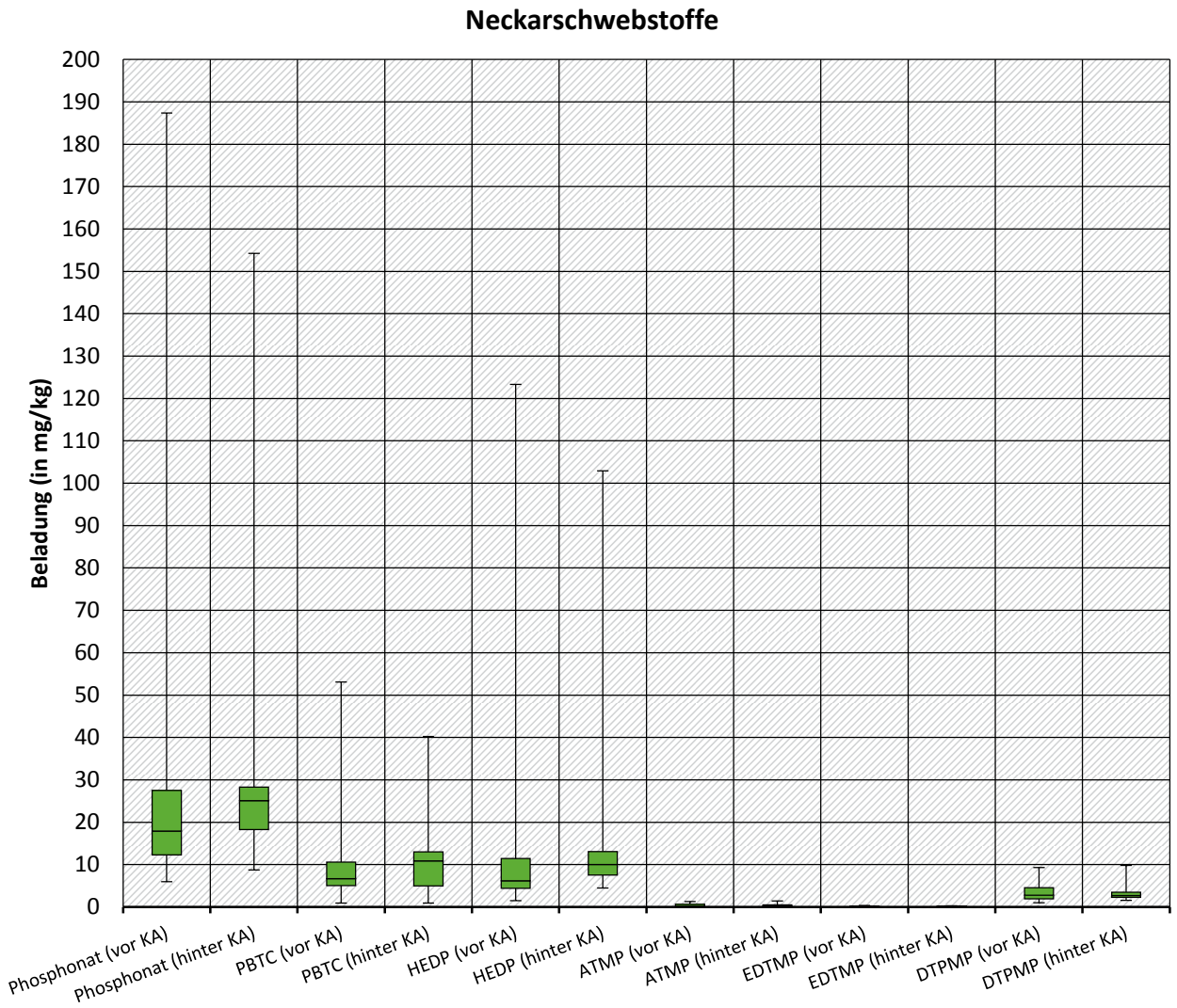
Im Gegensatz zu den Sedimentproben, für die bei jeder Probenahme durchweg eine Zunahme der Beladung beobachtet werden konnte, fielen bei den Schwebstoffen im Neckar nicht wenige Beladungen hinter der Einleitstelle geringer aus als vor der Einleitstelle. Für PBTC z. B. wurde bei vier Probenahmen eine geringere Beladung hinter der Einleitstelle gemessen. Diese Abweichungen könnten allerdings auch der Fehleranfälligkeit der Schwebstoffgewinnung geschuldet sein.

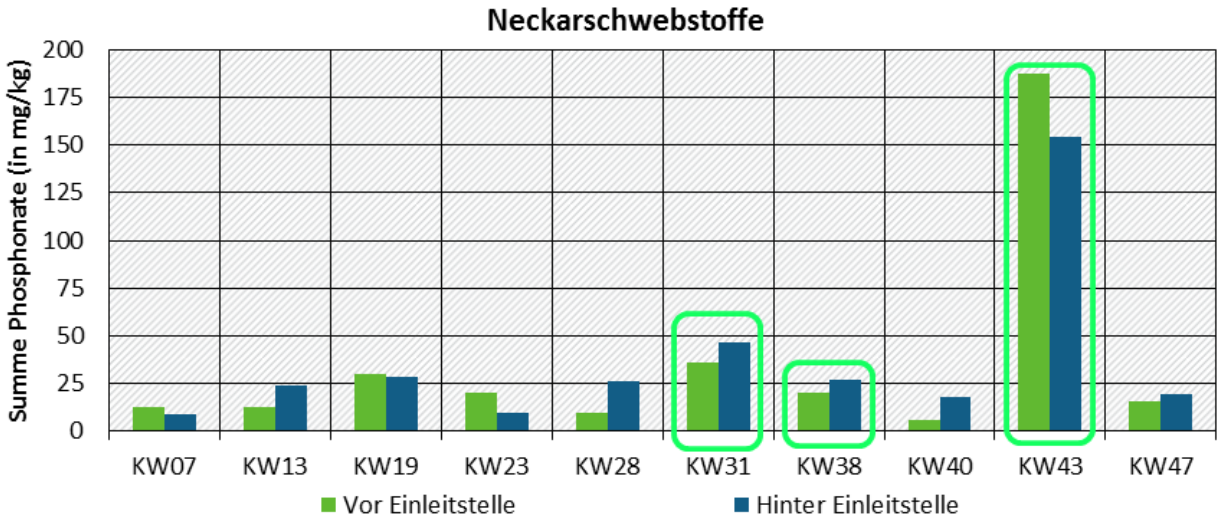
Der Median der Phosphonatbeladung hinter der Einleitstelle war für jedes Phosphonat geringfügig höher als vor der Einleitstelle. Trotz der großen Streuung der Ergebnisse kann folglich geschlossen werden, dass die Kläranlage einen leichten Einfluss auf die Schwebstoffbelastung durch Phosphonate hat. Dies ist insbesondere vor dem Hintergrund interessant, da sich die Flusskonzentrationen vor und hinter der Einleitstelle nicht unterscheiden. In Abschnitt 10.3.2 wurde bereits aufgezeigt, dass sich die durch die Kläranlage ausgetragenen Phosphonate langfristig im Sediment anreichern. Ein kleiner Teil der Phosphonate adsorbiert demnach ebenso rasch an den Schwebstoffen.

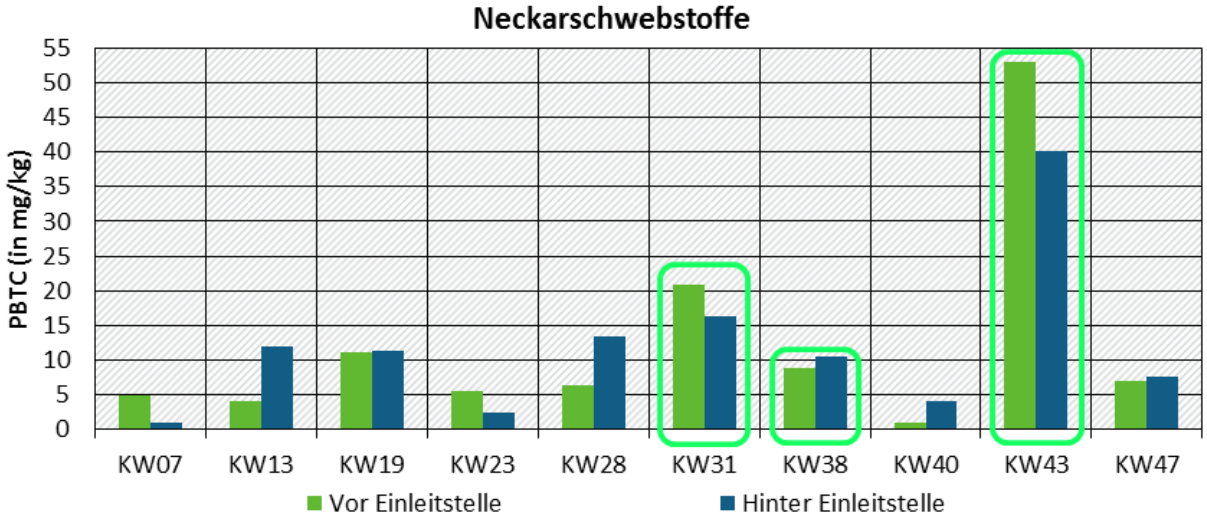
Die Zunahme der Phosphonatbeladung im Neckar hinter der Einleitstelle (18 mg/kg bis 28 mg/kg Beladung hinter der Einleitstelle) ist allerdings weiter gestreut und nicht mehr so eindeutig wie im Sediment (22 mg/kg bis 36 mg/kg hinter der Einleitstelle; erstes bis drittes Quartil). Hinter der Einleitstelle fiel die P-Konzentration stets leicht höher aus als vor der Einleitstelle. Während der Standzeit der IBCs bis zur Zentrifugierung konnten hier also verstärkt Algen entstanden sein. Inwieweit dies einen

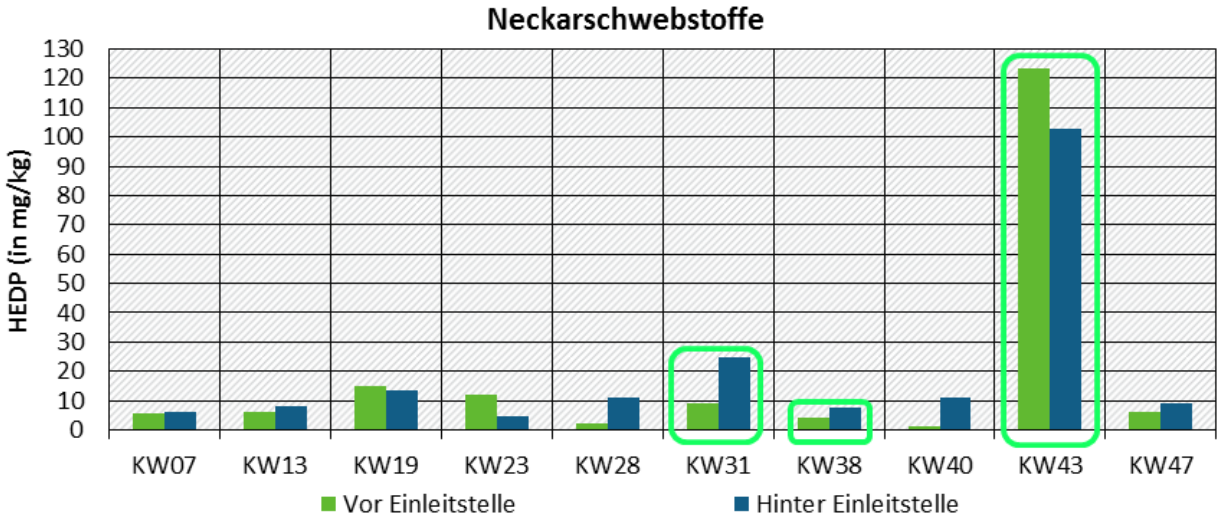
Abbau der Phosphonate bzw. eine Verfälschung der Messergebnisse verursacht haben könnte, wird in Abschnitt 10.4.4 diskutiert.

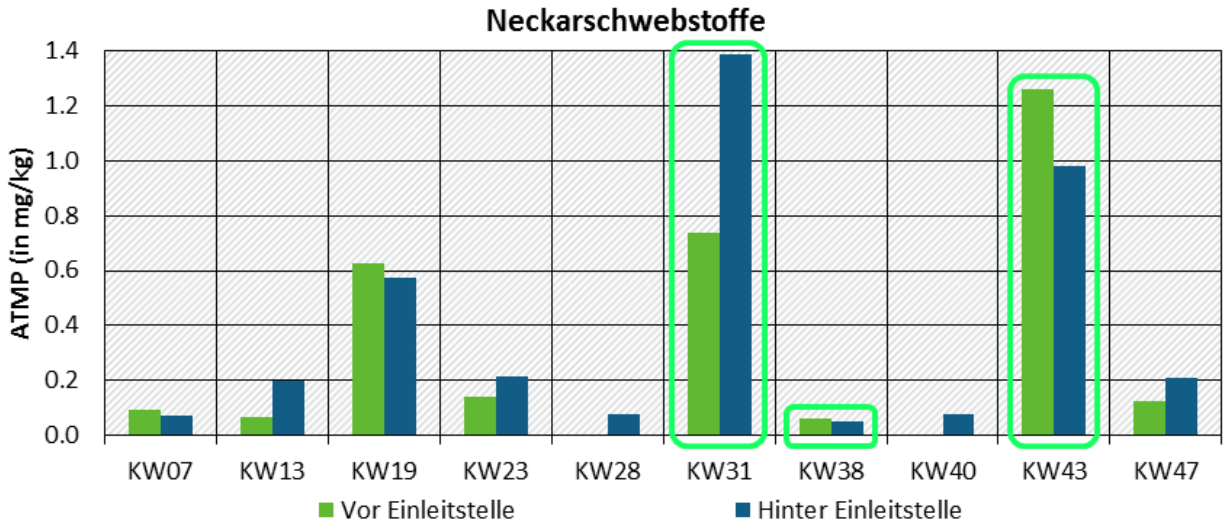
Abbildung 102: Neckar – Schwebstoffe – Phosphonatbeladungen vor und hinter der Einleitstelle. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben.

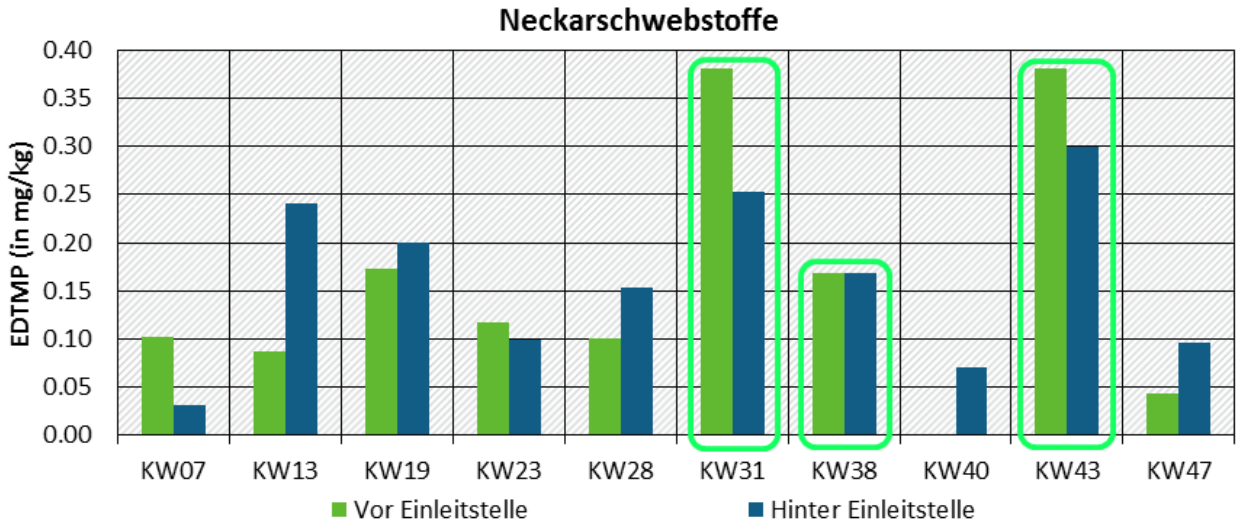


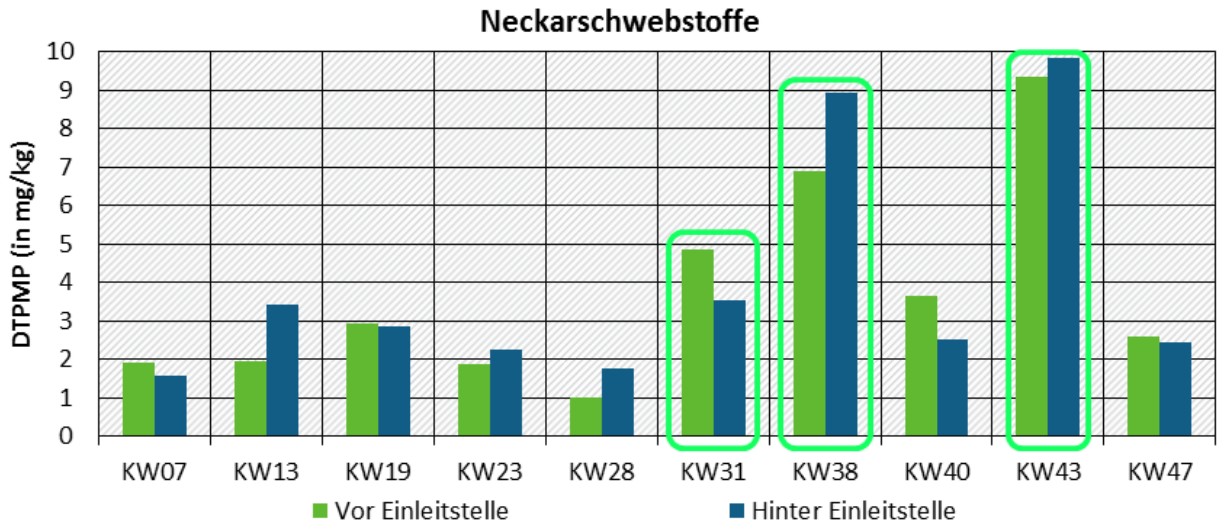

Neckarschwebstoffe
Summe Phosphonate (in mg/kg)
200
175
150
125
100
75
50
25
0
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Neckarschwebstoffe
PBTC (in mg/kg)
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Neckarschwebstoffe
HEDP (in mg/kg)
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
KW07
KW13
KW19
KW23
KW28
KW31
KW38
KW40
KW43
KW47
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle





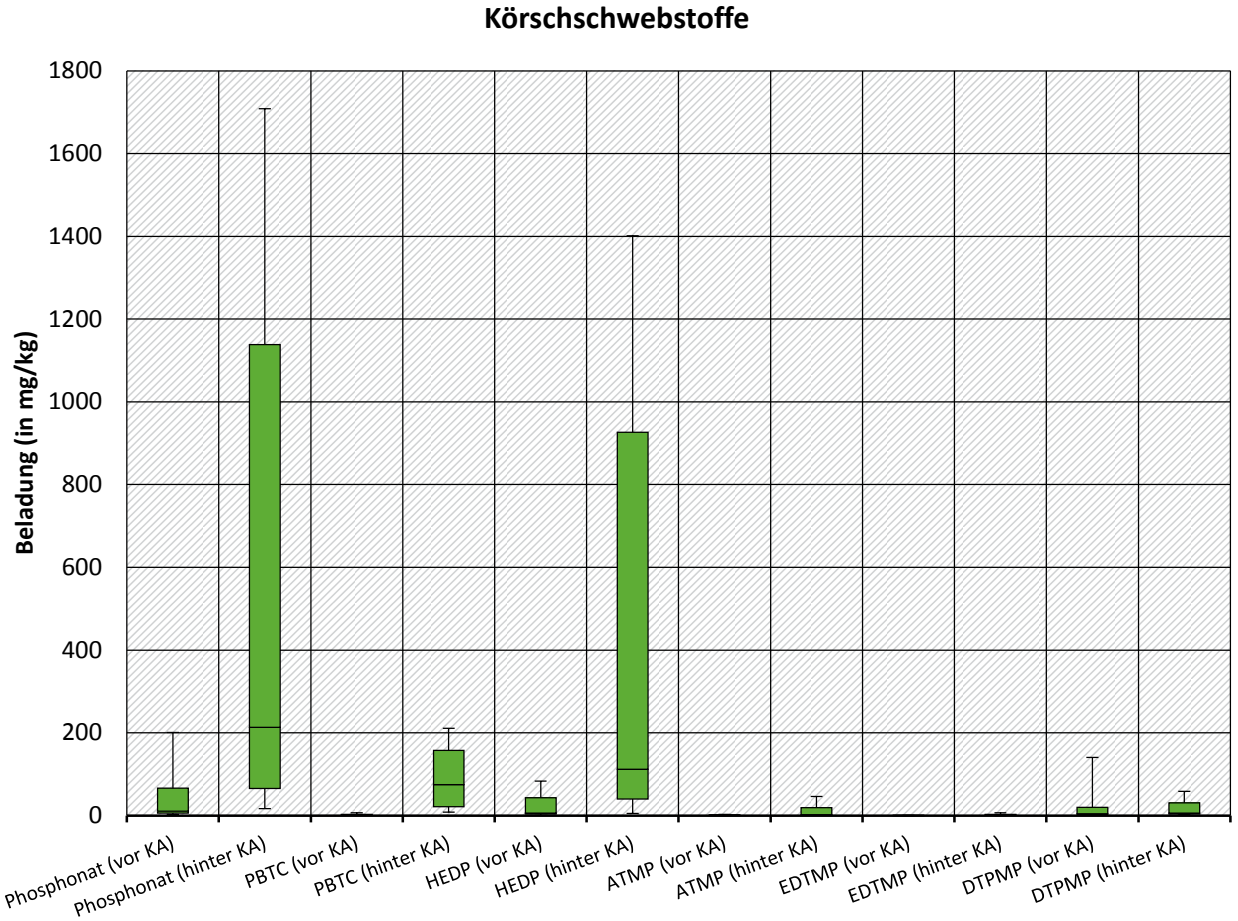


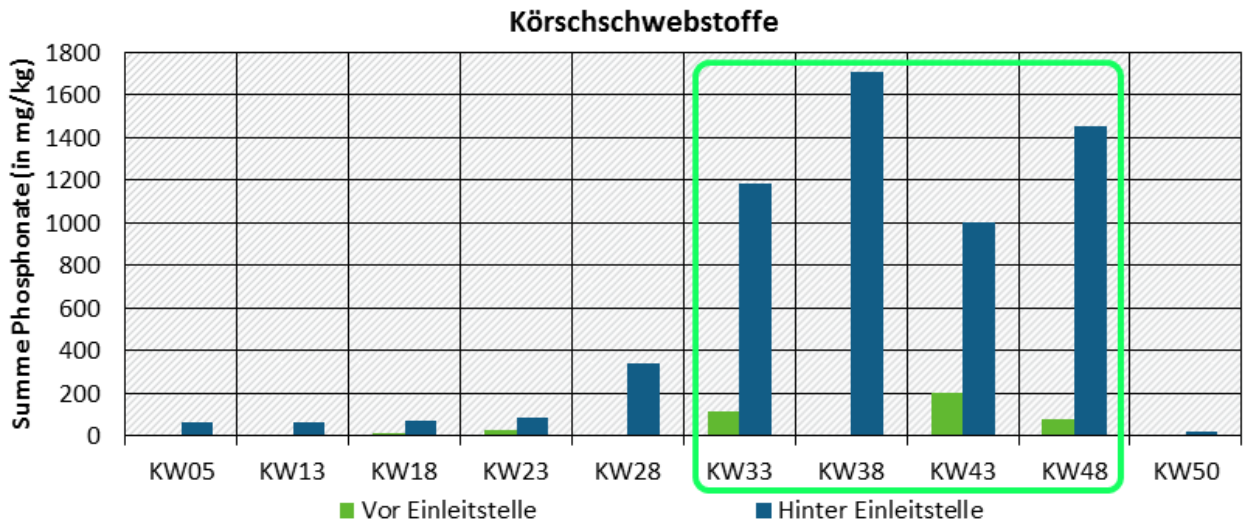
(Quelle: eigene Daten)

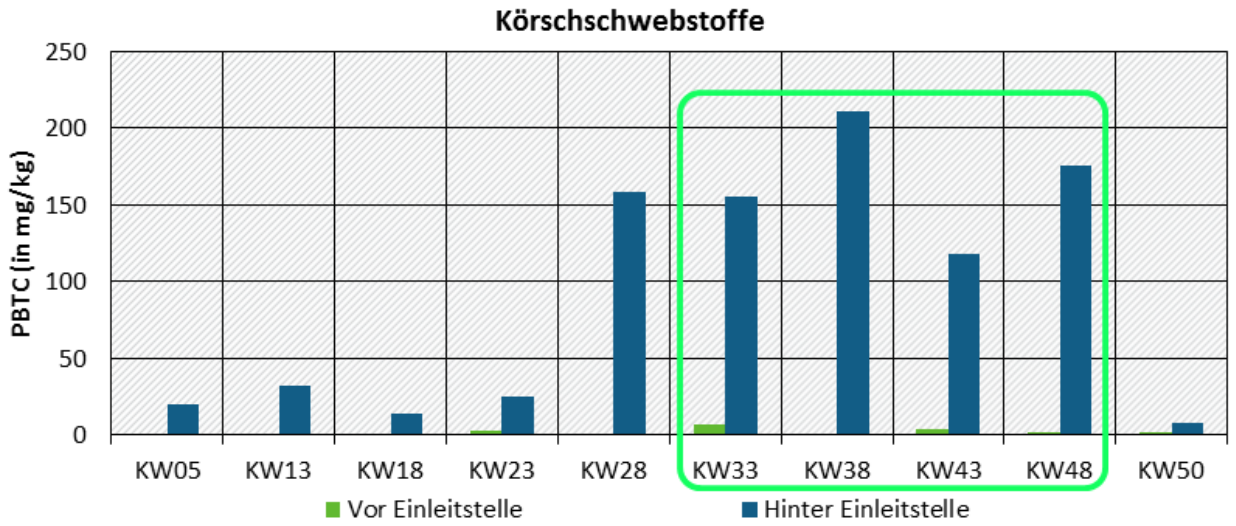
Die Zunahme der Phosphonatbeladung in den Schwebstoffen der Körsch durch die Kläranlageneinleitung ist sehr viel stärker ausgeprägt als im Neckar. So betrug diese 6 mg/kg bis 66 mg/kg Phosphonat vor der Einleitstelle und 66 mg/kg bis 1140 mg/kg Phosphonat hinter der Einleitstelle (erstes bis drittes Quartil). Eine signifikant höhere Beladung lag bei allen Proben vor.

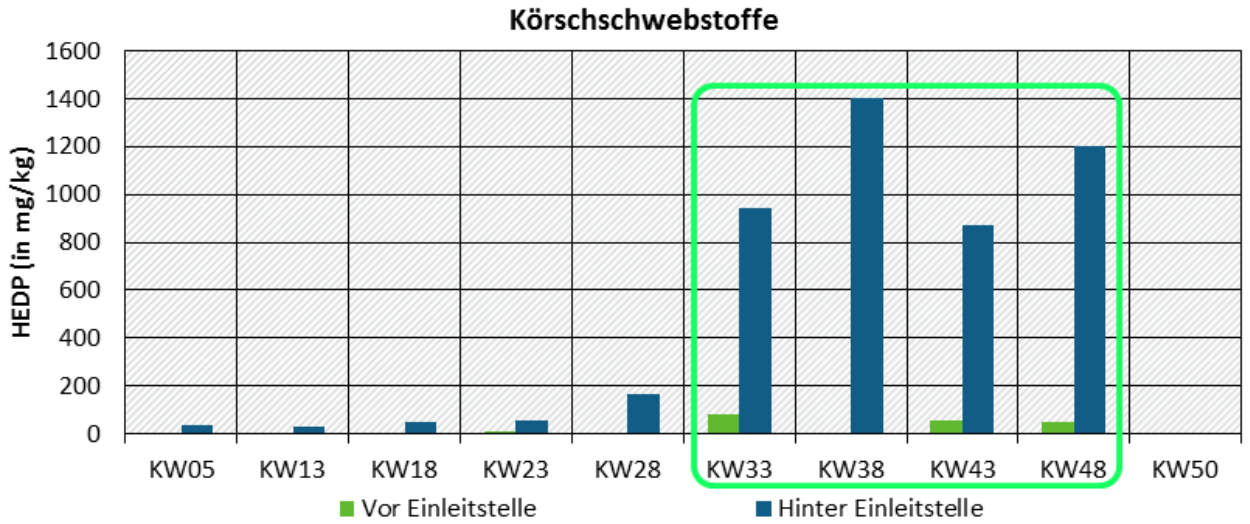
Im Gegensatz zum Neckar war die Sedimentbeladung und Schwebstoffbeladung vor der Einleitstelle sehr unterschiedlich: 3 mg/kg bis 4 mg/kg Phosphonat im Sediment, 6 mg/kg bis 66 mg/kg Phosphonat in Schwebstoffen. Dies traf auch hinter der Einleitstelle zu (24 mg/kg bis 38 mg/kg Phosphonat im Sediment, 66 mg/kg bis 1140 mg/kg Phosphonat in Schwebstoffen). Der Vergleich der Mediane (6,0 mg/kg HEDP > 4,5 mg/kg DTPMP > 1,3 mg/kg PBTC > 0,29 mg/kg ATMP > 0,18 mg/kg EDTMP) verdeutlicht, dass DTPMP vor der Einleitstelle die zweithöchste Beladung aufwies. HEDP stellte wie schon im Sediment das Phosphonat mit der höchsten Beladung dar (im Vergleich dazu die Sedimentbeladungen vor der Einleitstelle: 2,72 mg/kg HEDP, 0,36 mg/kg DTPMP, 0,21 mg/kg PBTC, < 0,04 mg/kg ATMP, < 0,01 mg/kg EDTMP). Im Sediment war DTPMP also auch das Phosphonat mit der zweithöchsten Beladung). Hinter der Einleitstelle war dagegen PBTC das Phosphonat mit der zweithöchsten Beladung. Dies erscheint plausibel, da die Elimination von PBTC in der Kläranlage etwas geringer ausfiel als die Elimination von DTPMP.

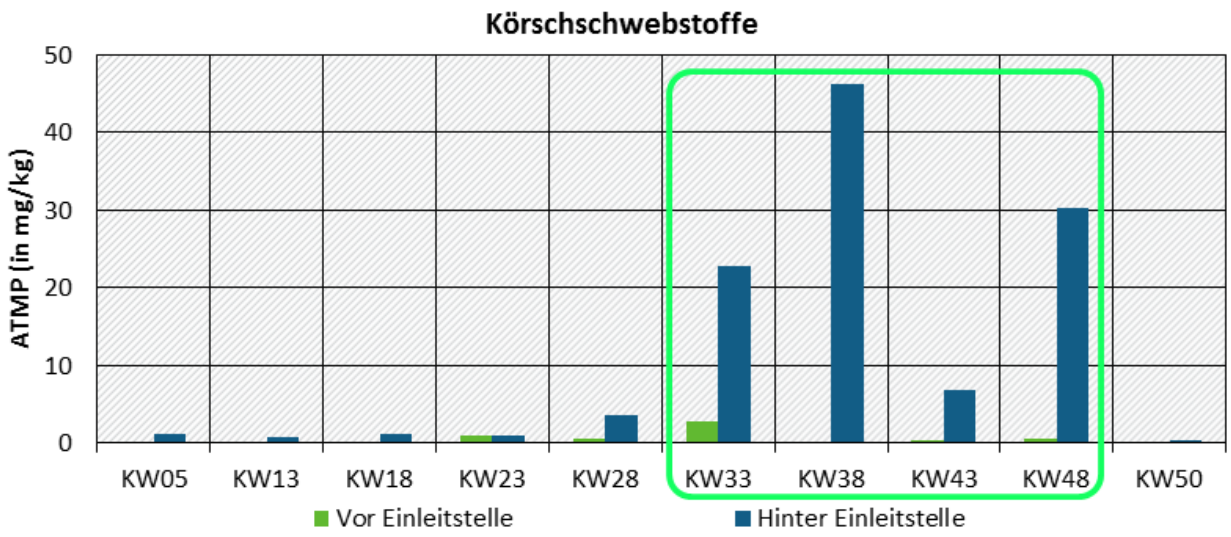
Abbildung 103: Körsch – Schwebstoffe – Phosphonatbeladungen vor und hinter der Einleitstelle. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben.

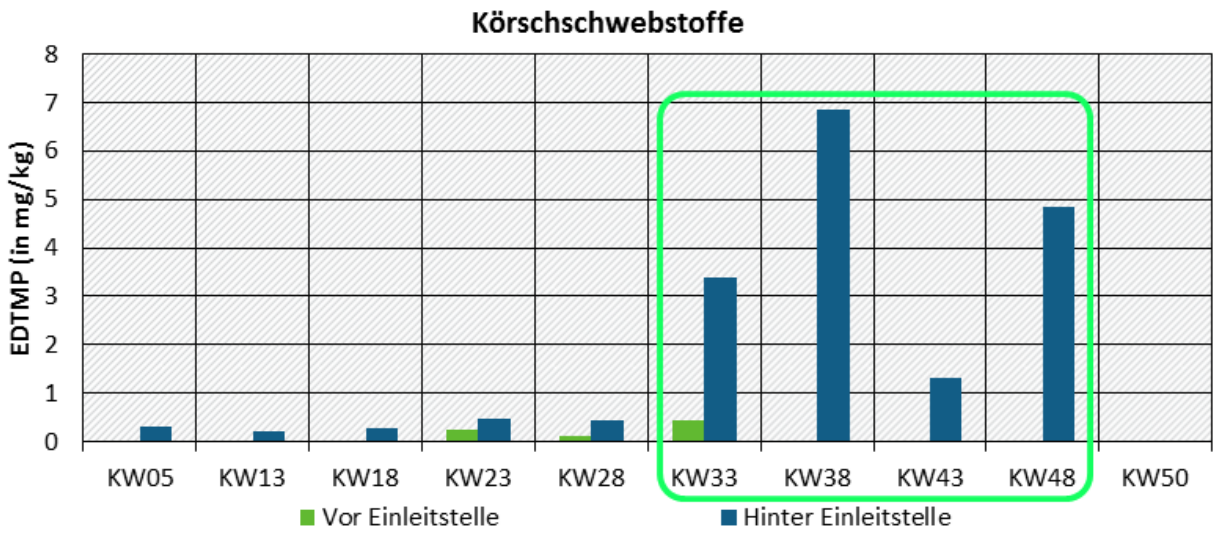


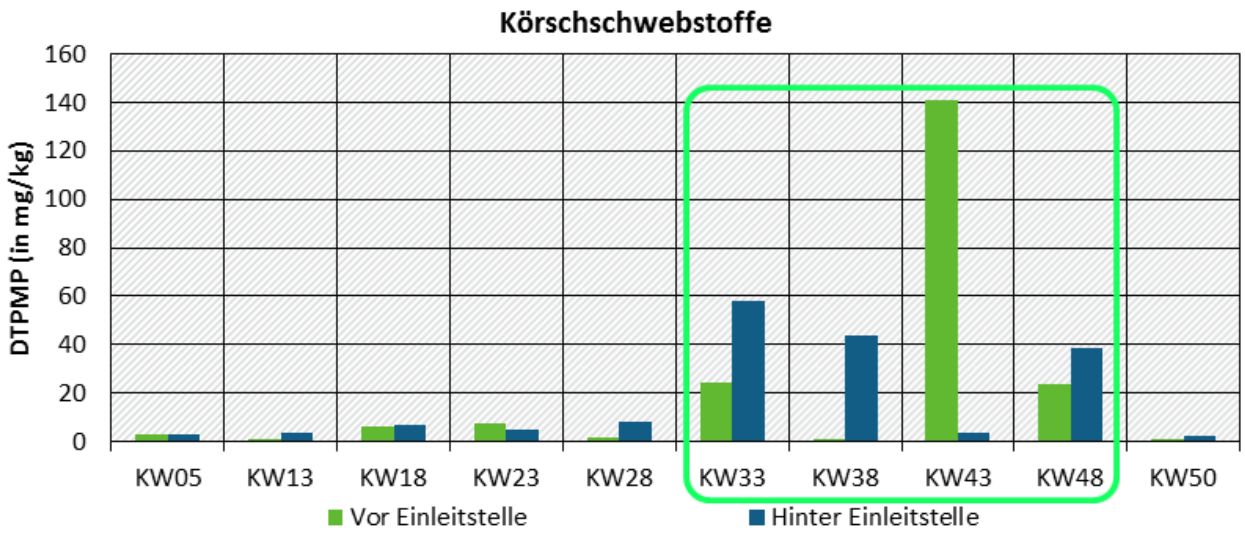

Körschschwebstoffe
Summe Phosphonate (in mg/kg)
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Körschschwebstoffe
PBTC (in mg/kg)
250
200
150
100
50
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle


Körschschwebstoffe
HEDP (in mg/kg)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
KW05
KW13
KW18
KW23
KW28
KW33
KW38
KW43
KW48
KW50
Vor Einleitstelle
Hinter Einleitstelle





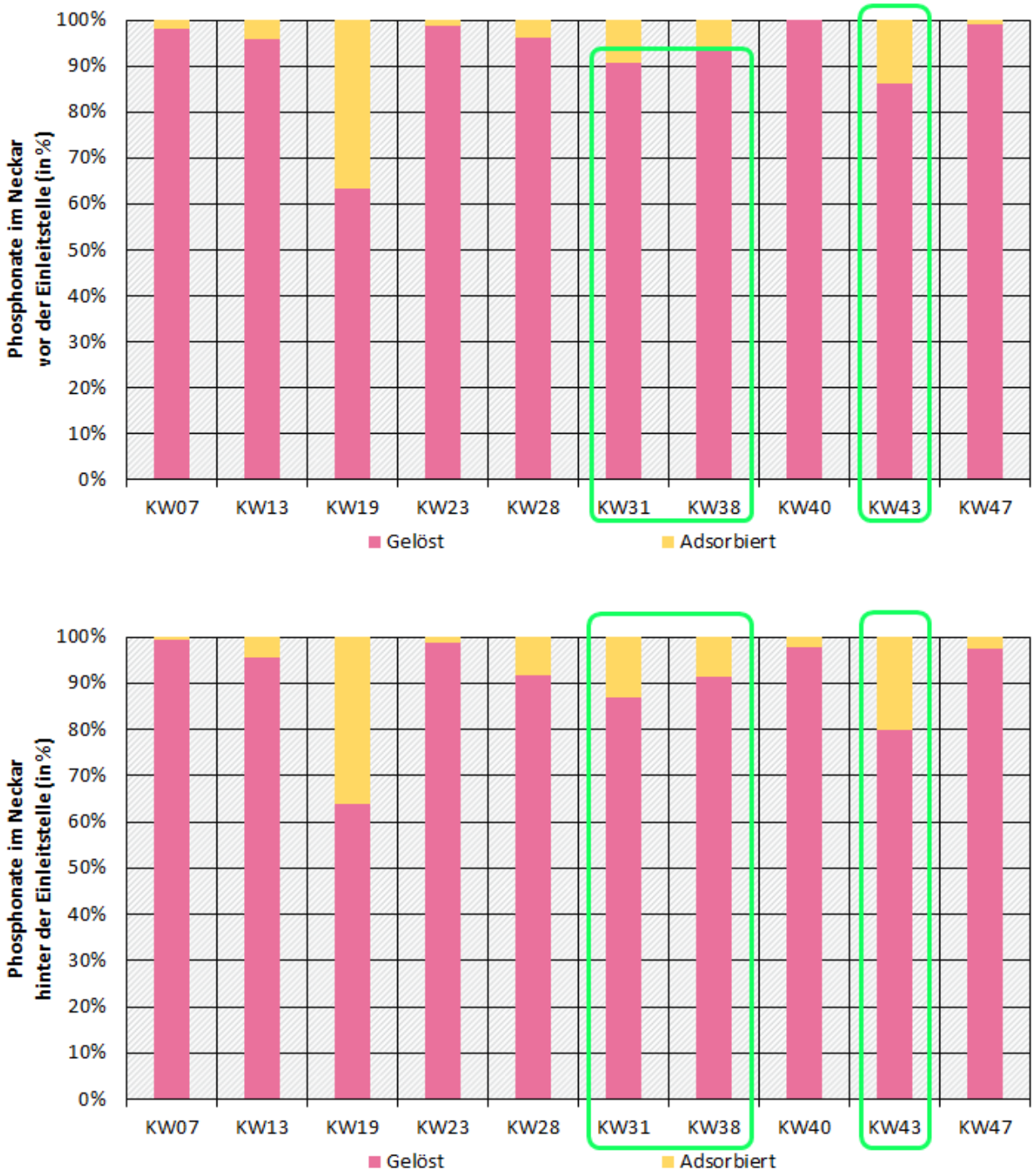


(Quelle: eigene Daten)

10.4.2 Anteil von adsorbierten und gelösten Phosphonaten in Flussproben

Die Multiplikation der Konzentration der Schwebstoffe mit der Beladung resultiert in der Massenkonzentration der adsorbierten Phosphonate. Auf diese Weise können der adsorbierte und gelöste Anteil der Phosphonate im Fluss miteinander verglichen werden (Abbildung 104). So stellte sich mit i. d. R. < 15 % der Anteil schwebstoffadsorbierter Phosphonate im Neckar sowohl vor als auch hinter der Einleitstelle als sehr gering heraus (Ausnahmen: KW19 und KW43).

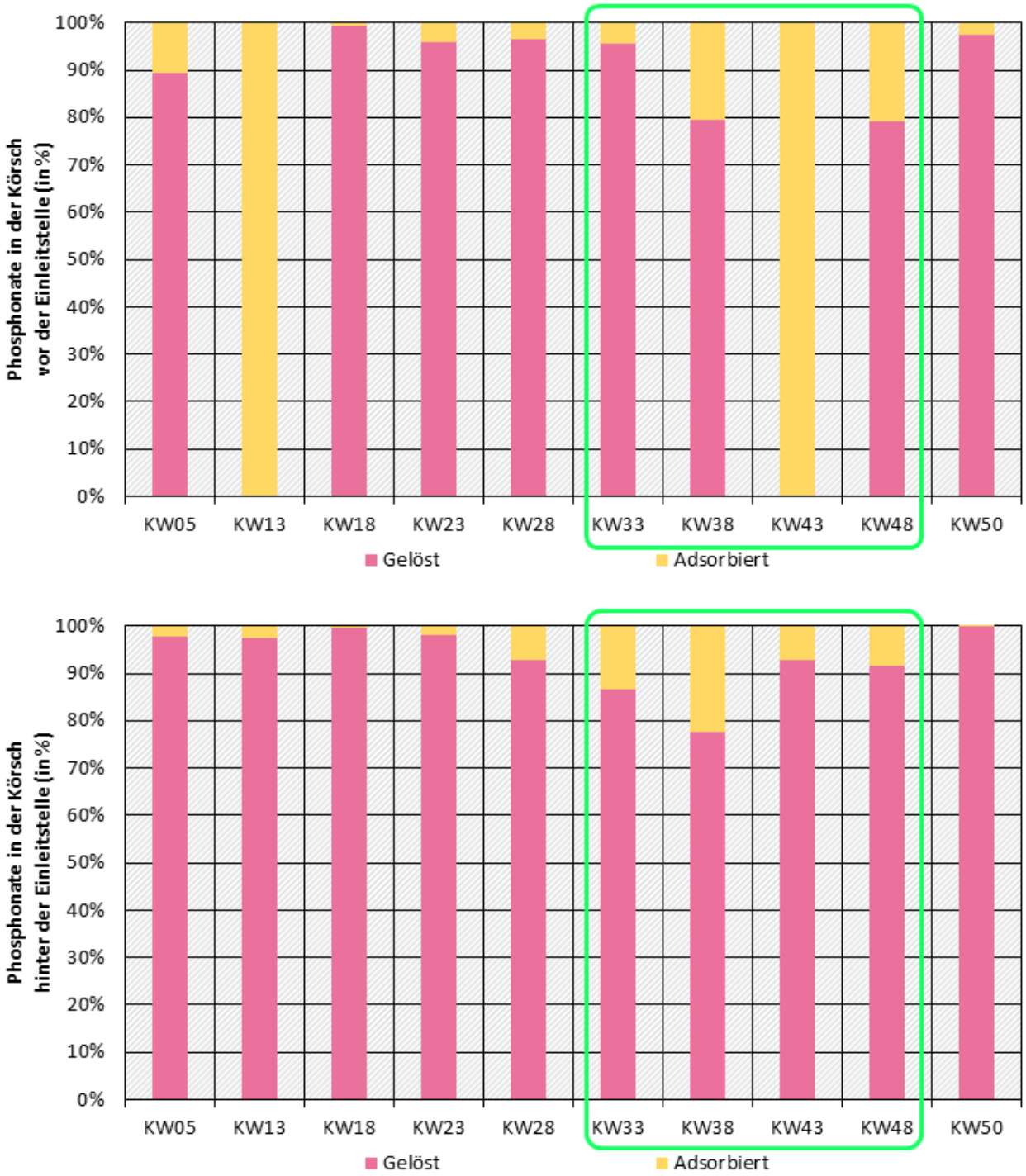
Abbildung 104: Neckar – Fluss & Schwebstoffe – Adsorbierte und gelöste Phosphonate. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben.



(Quelle: eigene Daten)

In Abbildung 105 sind die in der Körsch adsorbierten und gelösten Phosphonate miteinander verglichen. Für KW13 und KW43 lagen sämtliche gelösten Phosphonate vor der Einleitstelle unterhalb der Bestimmungsgrenze vor. Der Anteil adsorbierter Phosphonate in der Körsch stellte sich ebenfalls mit i. d. R. < 15 % sowohl vor als auch hinter der Einleitstelle als sehr gering heraus, obwohl die Körschproben sehr hohe Beladungen aufwiesen.

Abbildung 105: Körsch – Fluss & Schwebstoffe – Adsorbierte und gelöste Phosphonate. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben.

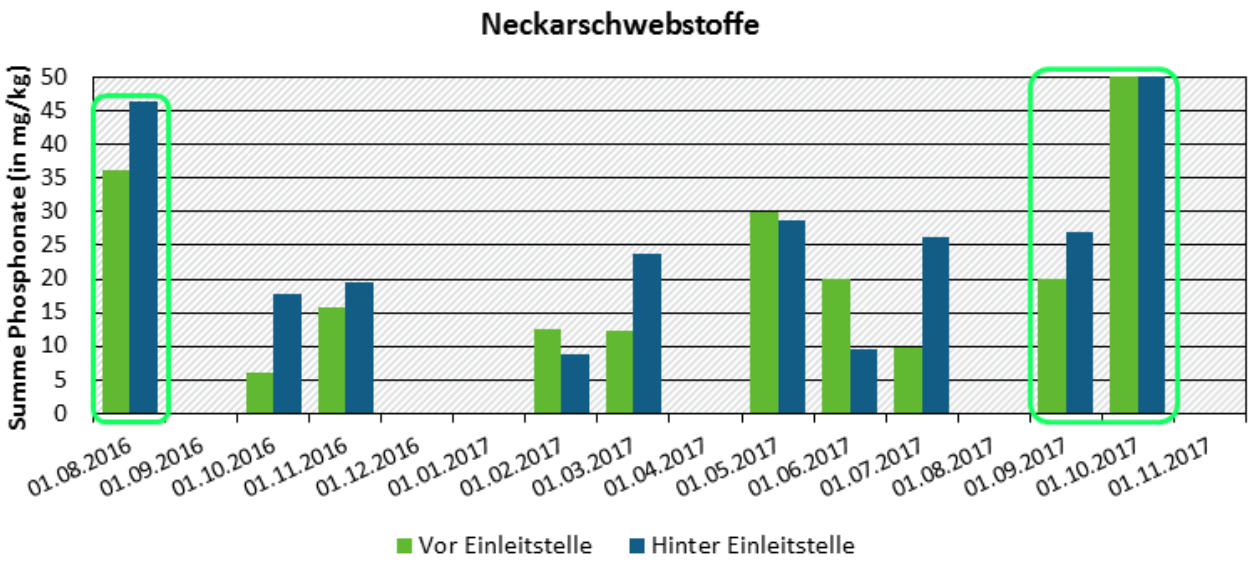


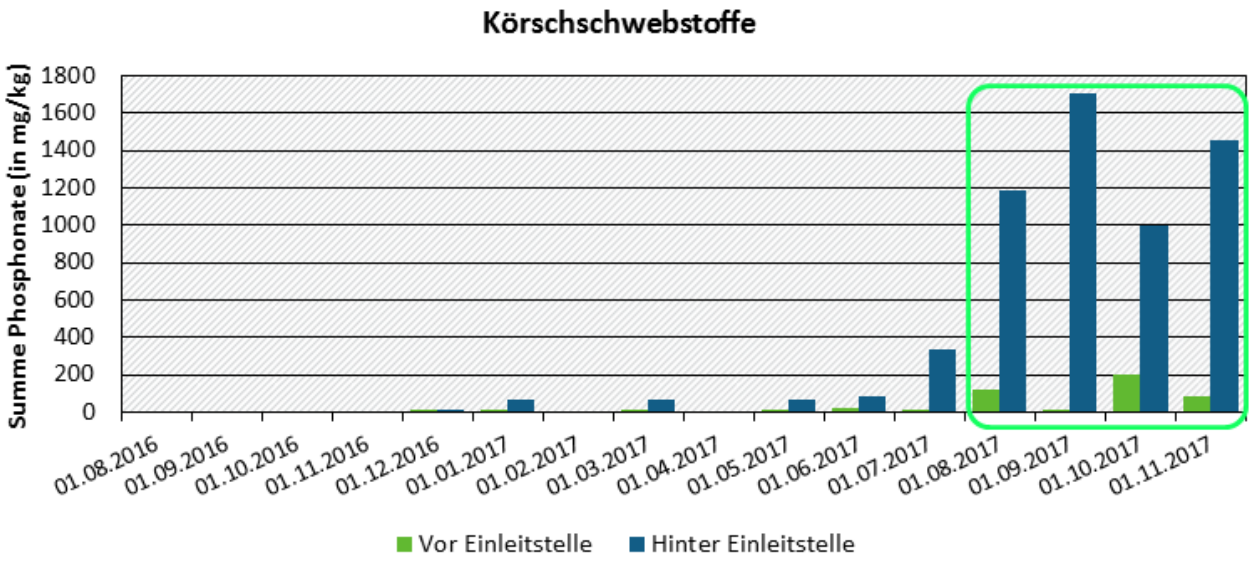
(Quelle: eigene Daten)

10.4.3 Datumsbetrachtung hinsichtlich der Schwebstoffproben

Bei der Betrachtung der Schwebstoffbeladungen in chronologischer Reihenfolge, konnte weder für den Neckar noch für die Körsch ein den Sediment- und Flusswasserproben analoges Wellenprofil beobachtet werden, da die Beladungen sehr stark streuten (Abbildung 106). Die Werte hinsichtlich der Schwebstoffe im Neckar im Oktober 2017 (KW43) liegen außerhalb der gewählten Skalierung, da sie sehr stark von den üblichen Beladungen abweichen (vor und hinter Einleitstelle: 187 mg/kg und 154 mg/kg). Interessanterweise gehören diese Messwerte zu den schnell zentrifugierten Proben und sind somit belastbar. Hinsichtlich der Körschschwebstoffe fällt auf, dass gegen Ende des Jahres 2017 vermehrt stark erhöhte Phosphonatbeladungen festgestellt werden konnten. Dies betrifft sowohl Proben vor als auch hinter der Einleitstelle. Die vier letzten Proben wurden zügig zentrifugiert, weshalb deren Messergebnisse belastbar sind. Gerade die Tatsache, dass diese Proben eine sehr hohe Beladung haben, spricht dafür, dass die Beladungen der restlichen sechs Proben deutliche Minderbefunde aufweisen, die Messergebnisse also durch die Standzeiten in den IBCs verfälscht wurden.

Abbildung 106: Neckar & Körsch – Schwebstoffe – Phosphonatbeladungen nach Datum sortiert. Grün umrandet sind die Messwerte bei zügiger Zentrifugierung der Proben.





(Quelle: eigene Daten)

10.4.4 Nachprüfungen hinsichtlich des Einflusses von Algenbildung bis zur Zentrifugierung

Da die Proben im IBC teilweise mehrere Wochen vor der Zentrifugierung standen und dadurch ein Abbau der Phosphonate bzw. eine Verfälschung der Schwebstoffausbeute durch Algenwachstum, Photolyse oder Hydrolyse möglich war, der zu Minderbefunden führen könnte, wurde eine etwaige Korrelation zwischen der Phosphonatkonzentration und der Dauer bis zur Zentrifugierung untersucht (Abbildung 107).

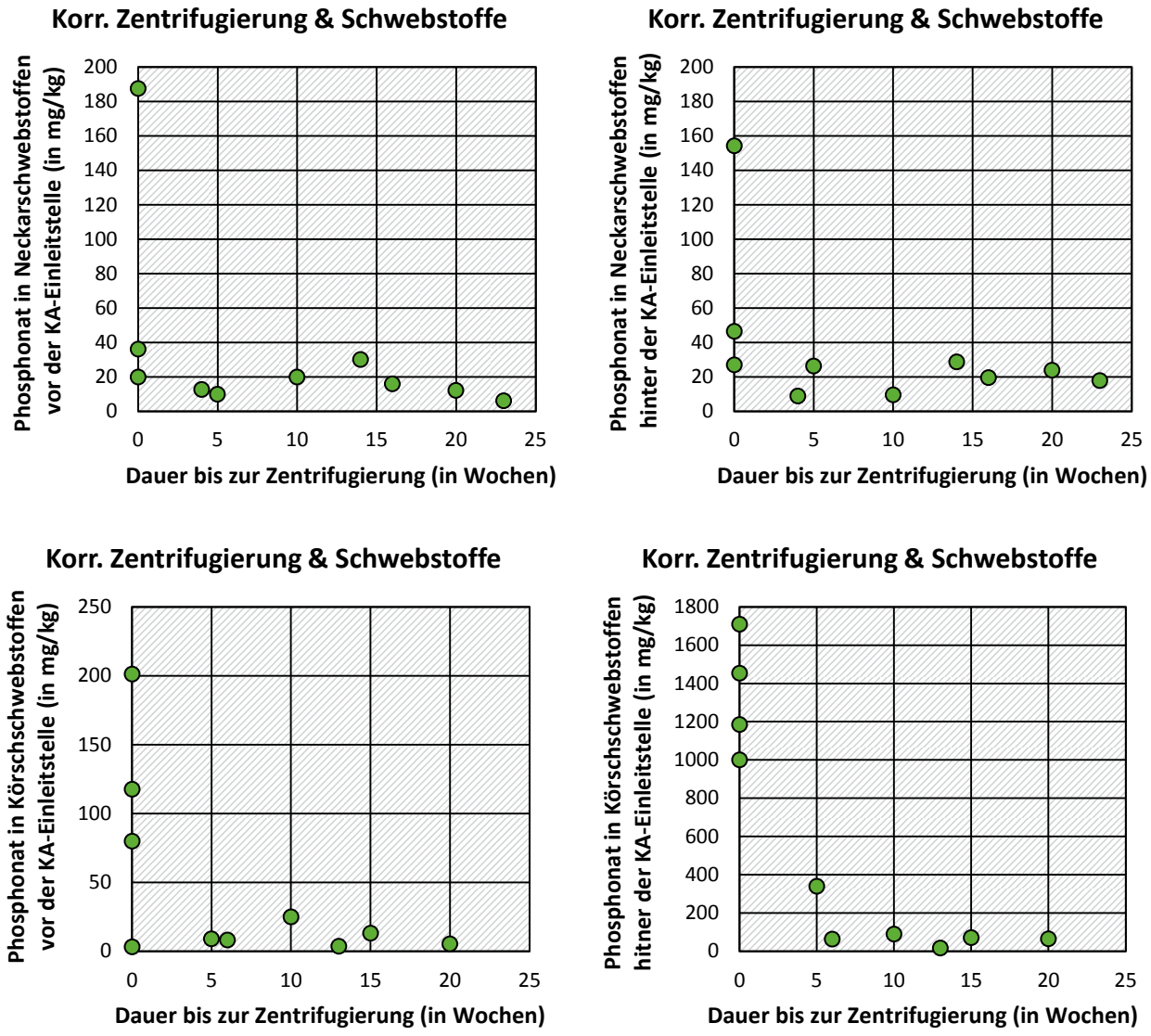
Jeweils drei Proben aus dem Neckar vor und drei Proben hinter der Einleitstelle (KW31/38/43) wurden zügig zentrifugiert. Selbiges gilt für vier Proben aus der Körsch jeweils vor und hinter der Einleitstelle (KW33/38/43/48). Die Ergebnisse dieser Proben gelten folglich als belastbar. So ist auffällig, dass sowohl hinsichtlich Neckar als auch Körsch die Beladungen in diesen Proben sehr stark untereinander schwankten. Die Schwebstoffbeladung durch Phosphonate in den belastbaren Proben aus dem Neckar vor der Einleitung betrug 20 mg/kg bis 187 mg/kg und hinter der Einleitung 27 mg/kg bis 154 mg/kg. Die Schwebstoffbeladung durch Phosphonate in den belastbaren Proben schwankte in den Körschproben vor der Einleitung sogar noch stärker zwischen 3,1 mg/kg und 201 mg/kg. Die Beladungen hinter der Einleitstelle waren mit 1000 mg/kg bis 1700 mg/kg sehr hoch.

Bei längeren Standzeiten der IBCs wurden sowohl für den Neckar als auch für die Körsch stets signifikant geringere Schwebstoffbeladungen durch Phosphonate festgestellt. Allerdings lagen sowohl für den Neckar ober- und unterstrom der Kläranlage als auch für die Körsch oberstrom der Kläranlage belastbare Beladungen vor, die vergleichbar mit den Werten von Proben mit niedrigen Beladungen bei längeren Standzeiten ausfielen. Eine Aussage, ob sämtliche Proben mit längeren Standzeiten durch Algenwachstum, Hydrolyse oder Photolyse erhebliche Minderbefunde aufweisen, lässt sich nicht zweifelsfrei formulieren. Dennoch implizieren die Vergleiche aus Schwebstoffbeladung mit der Dauer bis zur Zentrifugierung, dass nur die Ergebnisse der zügig zentrifugierten Proben als belastbar angesehen werden sollten.

Die relativ hohen Beladungen in den belastbaren Proben der Körsch hinter der Einleitstelle deuten darauf hin, dass möglicherweise Belebtschlammflocken erfasst wurden, die nicht mit der Nachklärung entfernt wurden. Die Feststoffbeladungen im KA-Zulauf befinden sich in einer ähnlichen Größenordnung, was vermuten lässt, dass die Phosphonatbeladung an Belebtschlammflocken vergleichbar hoch ausfallen sollte (1200 mg/kg bis 1500 mg/kg; Rott *et al*., 2018).

Auch wenn die Schwebstoffbeladung hinter der Einleitstelle sehr hoch war, konnte diese vor der Einleitstelle in Einzelfällen vergleichsweise hoch ausfallen (Abbildung 103, KW 43: DTPMP). Das bedeutet, dass die hinter der Einleitstelle gefundene hohe Beladung nicht nur auf erfasste Belebtschlammflocken zurückgeführt werden kann. Möglicherweise fand vor der Einleitstelle eine Mischwasserentlastung statt, wodurch Feststoffe aus Mischabwasser vor der Einleitstelle erfasst wurden.

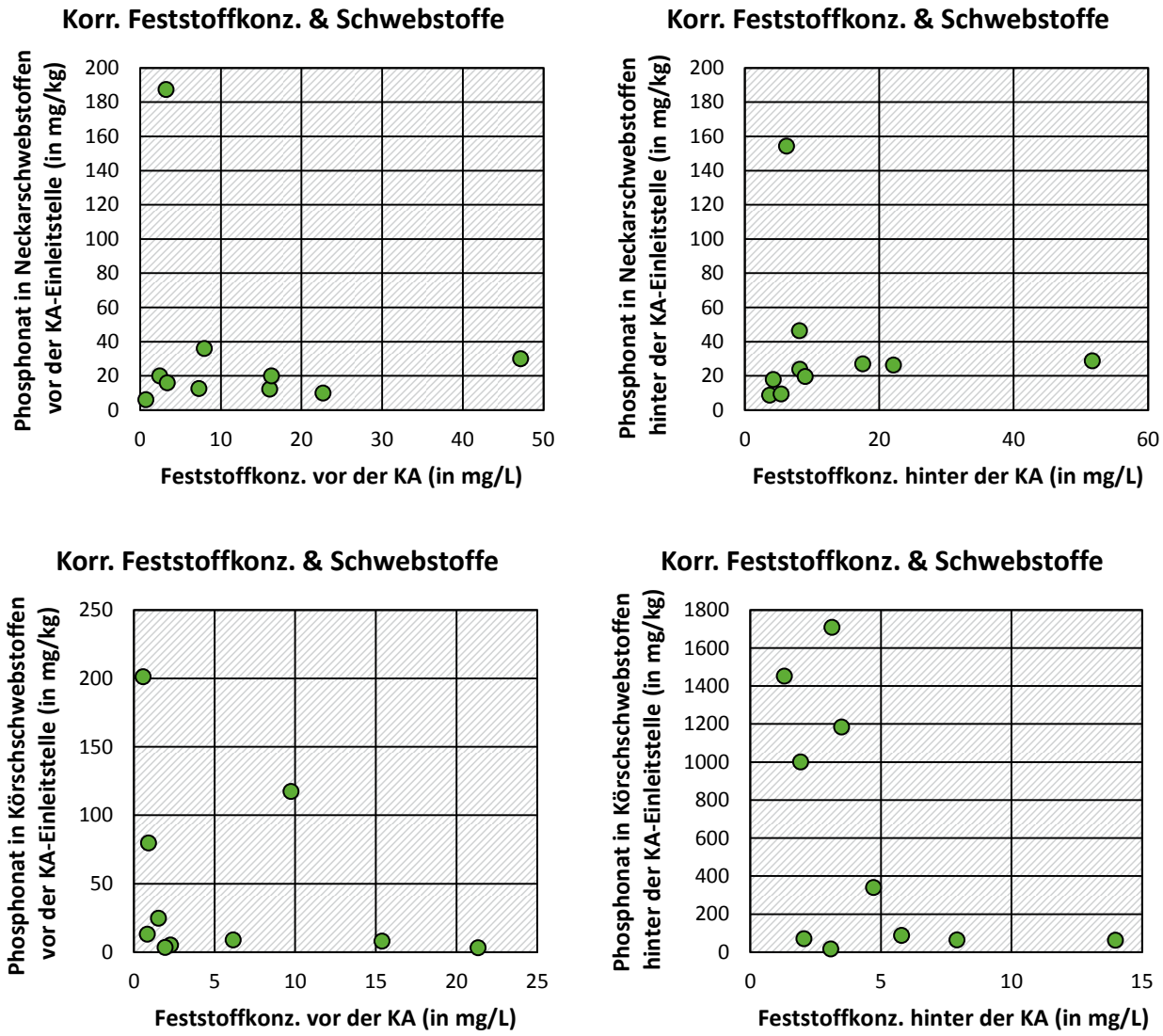
Abbildung 107: Neckar & Körsch – Schwebstoffe – Korrelation Beladung mit Dauer bis Zentrifugierung.



(Quelle: eigene Daten)

Abbildung 108 stellt die Beladungen der Schwebstoffe mit den Schwebstoffkonzentrationen im Flusswasser in Relation. Die Tatsache, dass die sehr hohen Beladungen eher in einem niedrigen Feststoffkonzentrationsbereich lagen, bekräftigt die Annahme, dass Proben mit langen Standzeiten weniger belastbar sind. Dies ließe sich dadurch erklären, dass im IBC gewachsene Algen zu einer vermeintlich hohen Feststoffkonzentration und somit zur Verfälschung der Ergebnisse beitrugen. Wenngleich davon ausgegangen wird, dass Phosphonate beim Belebtschammverfahren keinen sinifikanten Abbau erfahren, zeigen einige Veröffentlichungen, dass Phosphonate bis zu einem gewissen Grad durch Mikroorganismen bzw. Algen abgebaut werden können, wenn ausreichend Zeit vorliegt (Induktion von C-P-Lyase- bzw. Phosphonatase-Enzymen) (u. a. Schowanek und Verstraete, 1990; Forlani *et al.*, 2011).

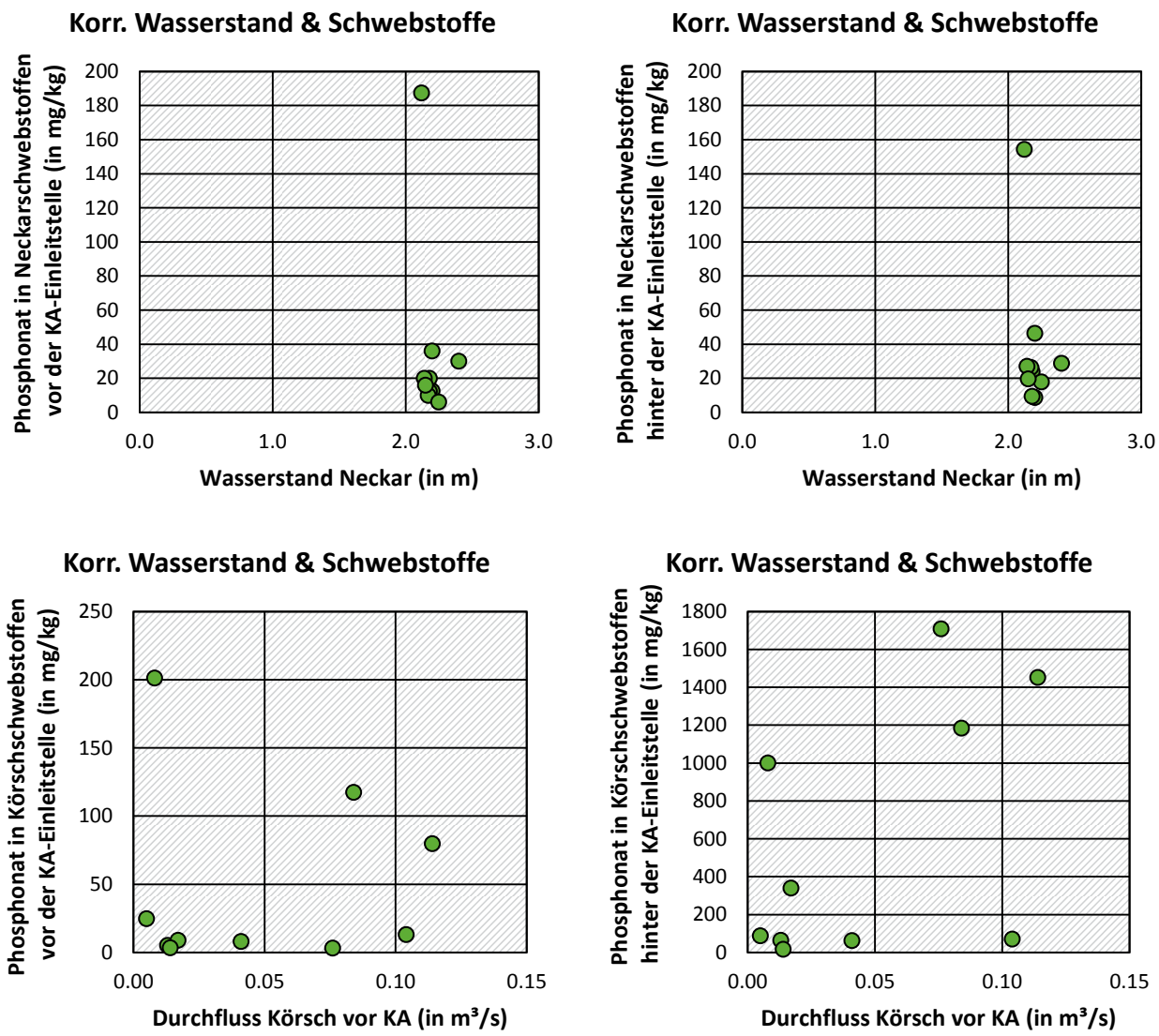
Abbildung 108: Neckar & Körsch – Schwebstoffe – Korrelation Beladung mit Feststoffkonzentration.



(Quelle: eigene Daten)

Ein Einfluss des Wasserstands bzw. von Regenereignissen auf die Beladung von Schwebstoffen im Neckar ist nicht zu erkennen (Abbildung 109). Bereits weiter oben wurde angemerkt, dass einzelne sehr hohe Schwebstoffbeladungen in der Körsch vor der Einleitstelle auf Feststoffe im Mischwasser zurückgeführt werden könnten (Mischwasserentlastung; Abbildung 103). Tatsächlich lagen die meisten Datenpunkte mit sehr hoher Beladung bei vergleichsweise hohem Durchfluss vor, was durch eine Mischwasserentlastung begründet sein kann.

Abbildung 109: Neckar & Körsch – Schwebstoffe – Korrelation Beladung mit Wasserstand/Durchfluss.



(Quelle: eigene Daten)

Da nur wenige belastbare Ergebnisse zu den Schwebstoffbeladungen vorliegen, wird an dieser Stelle auf Korrelationsvergleiche wie in den vorherigen Abschnitten verzichtet.

10.4.5 Zusammenfassung

- Die Schwebstoffbeladung der Neckarproben streute sehr stark. So wiesen die Proben vor der Einleitstelle einen Minimumwert von 6 mg/kg und einen Maximumwert von 187 mg/kg auf. Hinter der Einleitstelle betrug der Minimumwert 9 mg/kg und der Maximumwert 154 mg/kg.
- Im Neckar unterschied sich die Beladung durch Phosphonate zwischen Sediment und Schwebstoffen vor der Einleitstelle kaum: 12 mg/kg bis 21 mg/kg im Sediment, 12 mg/kg bis 28 mg/kg in den Schwebstoffen (jeweils erstes bis drittes Quartil). Dies deutet darauf hin, dass es sich bei den Schwebstoffen vor der Einleitstelle um aufgewirbeltes feines Sediment handelt.
- Der Median der Phosphonatbeladung in den Schwebstoffproben des Neckars hinter der Einleitstelle war für jedes Phosphonat leicht höher als vor der Einleitstelle. Trotz der großen Streuung der Ergebnisse kann folglich daraus geschlossen werden, dass die Kläranlage einen geringen Einfluss auf die Schwebstoffbelastung durch Phosphonate hat.
- Die Zunahme der Phosphonatbeladung der Neckarschwebstoffe durch die Einleitung (12 mg/kg bis 28 mg/kg vor der Einleitstelle, 18 mg/kg bis 28 mg/kg hinter der Einleitstelle) ist weiter gestreut und unterliegt einem weniger eindeutigen Trend als im Sediment (12 mg/kg bis 21 mg/kg vor der Einleitstelle, 22 mg/kg bis 36 mg/kg hinter der Einleitstelle; jeweils erstes bis drittes Quartil).
- Die Zunahme der Phosphonatbeladung in den Schwebstoffen der Körsch durch die Kläranlageneinleitung ist sehr viel stärker ausgeprägt als im Neckar. So betrug diese 6 mg/kg bis 66 mg/kg Phosphonat vor der Einleitstelle und 66 mg/kg bis 1140 mg/kg Phosphonat nach der Einleitstelle (jeweils erstes bis drittes Quartil). Eine signifikant höhere Beladung lag bei allen Proben vor.
- Im Gegensatz zum Neckar war die Sedimentbeladung und Schwebstoffbeladung in der Körsch vor der Einleitstelle sehr unterschiedlich: 3 mg/kg bis 4 mg/kg Phosphonat im Sediment, 6 mg/kg bis 66 mg/kg Phosphonat in Schwebstoffen. Der starke Unterschied zwischen Sediment- und Schwebstoffbeladung betraf auch die Proben hinter der Einleitstelle: 23 mg/kg bis 38 mg/kg Phosphonat im Sediment, 66 mg/kg bis 1140 mg/kg Phosphonat in den Schwebstoffen.
- Der Anteil Schwebstoff-adsorbierter Phosphonate im Neckar und der Körsch stellte sich mit i. d. R. < 15 % am Gesamtphosphonatgehalt im Flusswasser sowohl vor als auch hinter der Einleitstelle als gering heraus.
- Vergleiche aus Schwebstoffbeladung und der Dauer bis zur Zentrifugierung deuten darauf hin, dass nur die Ergebnisse von zügig zentrifugierten Proben als belastbar angesehen werden sollten.
- Die Schwebstoffbeladung durch Phosphonate in den belastbaren Proben (rasche Zentrifugierung kurz nach der Probenahme) aus dem Neckar vor der Einleitung betrug 20 mg/kg bis 187 mg/kg und hinter der Einleitung 27 mg/kg bis 154 mg/kg. Die Schwebstoffbeladung durch Phosphonate in den belastbaren Körschproben schwankte sogar noch stärker: zwischen 3,1 mg/kg und 201 mg/kg vor der Einleitung, während die Beladungen hinter der Einleitstelle mit 1000 mg/kg bis 1700 mg/kg deutlich höher ausfielen.
- Die relativ hohen Beladungen in den belastbaren Proben der Körsch hinter der Einleitstelle deuten darauf hin, dass möglicherweise Belebtschlammflocken, die nicht mit der Nachklärung entfernt werden konnten, erfasst wurden.
- Während oder kurz vor einigen Probenahmen (z. B. KW 43) fand vermutlich vor der Einleitstelle eine Mischwasserentlastung statt, wodurch erhöhte Schwebstoffwerte durch Feststoffe aus dem Mischabwasser detektiert wurden.

10.5 Umwandlungsprodukte der Phosphonate

Die Bestimmung der Zielanalyten ATMP, EDTMP, DTPMP, HEDP und PBTC erfolgte durch die empfindliche ESI-MS/MS-Detektion. Zur Erfassung potentieller Umwandlungsprodukte, zu denen keine Referenzstandards vorliegen, eignet sich die Detektion mittels ESI-TOF. Hierbei werden die exakten monoisotopischen Massen von Molekülen in einem Massenbereich zwischen 50 Da und 1050 Da während eines chromatographischen Laufs aufgezeichnet. Die Messdaten können anschließend auf das Vorhandensein bestimmter Moleküle (z. B. vermutete Umwandlungsprodukte) durchsucht werden, die nicht im Voraus definiert sein müssen. Diese Methode wird am TZW standardmäßig zum Auffinden von unbekannten Verbindungen (Abbauprodukte, Nebenprodukte, Verunreinigungen) eingesetzt. An dieser Stelle ist darauf hinzuweisen, dass der TOF-Detektor eine geringere Empfindlichkeit aufweist als der MS/MS-Detektor. In den während des Projekts untersuchten Proben wurden Phosphonate in den höchsten Konzentrationen adsorbiert an Sediment und Schwebstoffpartikel vorgefunden. Da Umwandlungsprozesse im Sediment aufgrund langer Verweilzeiten und mikrobiologischer Prozesse am wahrscheinlichsten erschien, wurde in Sedimentproben nach Umwandlungsprodukten gesucht. Bei der Anwendung dieses Verfahrens zum Auffinden von Umwandlungsprodukten der Phosphonate traten die im Folgenden erläuterten Ergebnisse und Probleme auf.

Beim alkalischen Aufschluss von Feststoffproben in Gegenwart von NTA wurde eine signifikant stärker ausgeprägte Mobilisierung der Zielanalyten erreicht als durch den rein alkalischen Aufschluss mit NaOH. Die primären Umwandlungsprodukte der Zielanalyten gehören mit hoher Wahrscheinlichkeit auch der Stoffgruppe der Phosphonsäuren an. Daher ist ein den Ausgangsstoffen vergleichbares Extraktionsverhalten anzunehmen, so dass auch hier die höchste Extraktionseffizienz durch die NaOH-NTA Extraktion zu erwarten sein dürfte. Die geringere Effizienz der rein alkalischen Extraktion spiegelt sich bei der Auswertung der TOF-Daten von Extrakten belasteter Sediment- und Schwebstoffproben wider. Die mit nur NaOH aufgeschlossenen Proben lieferten kaum Befunde der Zielanalyten, während die Zielanalyten in den mit NaOH-NTA aufgeschlossenen Proben deutliche Signale lieferten. Die Chromatographie wurde im Rahmen der Methodenentwicklung zur Bestimmung der Zielanalyten im NTA-haltigen Extrakt optimiert. Hierbei wird der Eluentstrom erst nach der Elution von NTA ab 21 min dem Massenspektrometer zugeführt. Dies hat zur Folge, dass kleinere bzw. früher eluierende Umwandlungsprodukte aus dem analytischen Zeitfenster fallen. Gleichzeitig zeigt sich, dass in den Feststoffextrakten eine Vielzahl an unbekannten phosphorhaltigen Substanzen mit phosphonatartigem Charakter vorhanden ist (hohe Ladung, hohe Affinität zur Säule). Dies sei am Beispiel einer moderat belasteten Sedimentprobe erläutert, die sowohl mit NaOH als auch mit NaOH-NTA aufgeschlossen wurde (Abbildung 110). Drei unterschiedliche Auswertemethoden wurden angewandt:

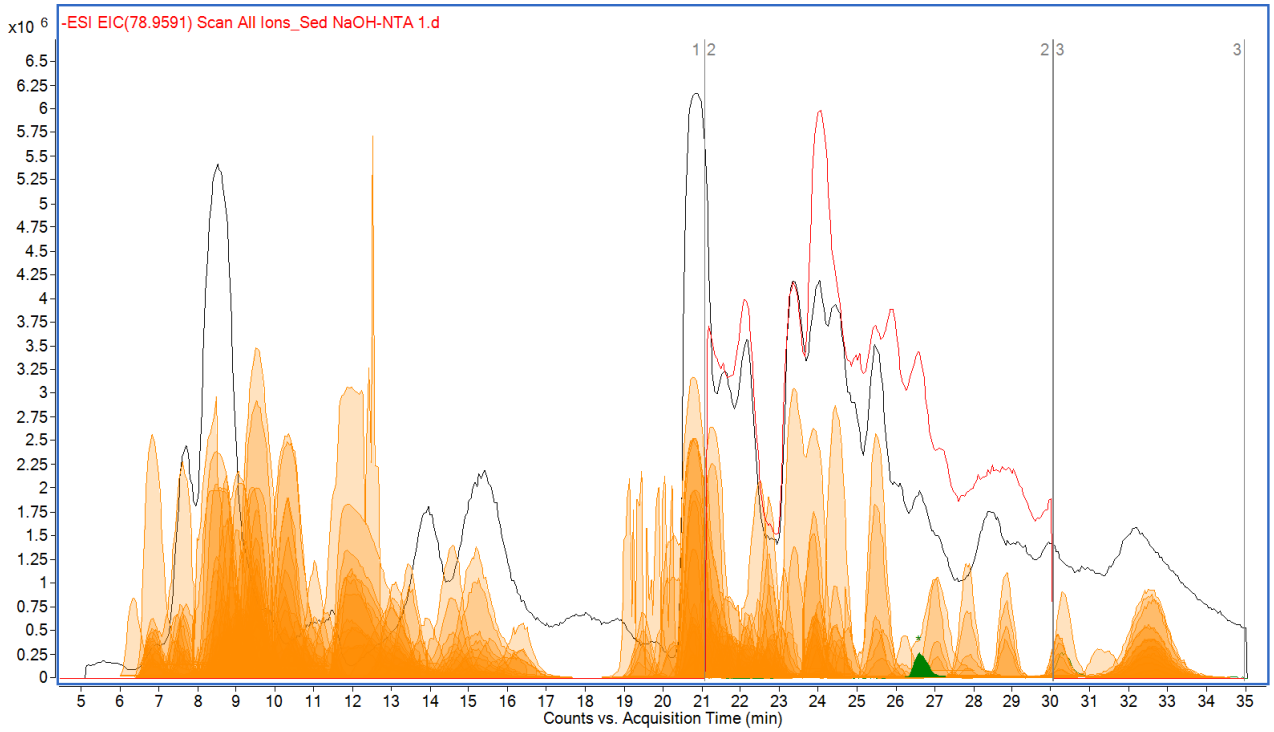
1. Suche nach den Zielanalyten via *Suspect-Target*-Suche (Beispiel: PBTC-Befund, grün); Positivbefunde anhand exakter monoisotopischer Masse und stoffspezifischem Isotopenmuster.
2. Automatische Suche nach chromatographischen Signalen über den gesamten Lauf, unabhängig von der Substanz, via *Molecular-Feature*-Suche (gelb).
3. Fragmentierung aller eluierenden Moleküle mit 40 eV Kollisionsenergie. Phosphonate spalten bei der Fragmentierung Phosphonsäuregruppen ab, die in das Ion PO_3^- (m/z 78,9591) übergehen. Möglicherweise liefern auch andere phosphorhaltige Stoffe, z. B. Polyphosphate oder Phosphorsäureester anthropogenen oder biologischen Ursprungs dieses Fragment. Die Darstellung erfolgte durch die Extraktion der exakten Massenspur des Fragments (±10 ppm; schwarze und rote Kurve).

Bei der nur mit NaOH aufgeschlossenen Probe wurde der Eluentstrom dem TOF über die gesamte Elutionszeit zugeführt. Die Ergebnisse der *Molecular-Feature*-Suche lassen sich in zwei Gruppen aufteilen: Elution zwischen 6 min und 17 min und zwischen 19 min und 34 min (orange). Bei 8,5 min eluiert Phosphat und bei 12 min Sulfat: starke Signale bei PO_3^-- bzw. *Molecular-Feature*-Detektion. Beim Betrachten der durch die Fragmentierung resultierenden PO_3^--Spur (schwarz) fällt auf, dass die erste

Gruppe eine geringere Anzahl phosphorhaltiger Verbindungen bzw. potentielle Phosphonsäuren aufweist als die zweite Gruppe. Die schwarze Kurve (PO_3^--Signal) ist über der zweiten Gruppe deutlich stärker ausgeprägt und weist eine gute Korrelation mit den entsprechenden Signalen der *Molecular-Feature*-Suche (orange) auf. Bei der *Suspect-Target*-Suche wies keiner der bekannten Zielanalyten und vermuteten Umwandlungsprodukte eine ausreichende Intensität für einen Positivbefund auf.

Bei der Auswertung der mit NaOH-NTA aufgeschlossenen Probe wurde der Eluentstrom nur zwischen 21 min und 30 min dem TOF zugeführt. Bei der Auswertung dieser Probe liegt die PO_3^--Spur (rot) deutlich höher als bei der nur mit NaOH aufgeschlossenen Probe. Dies impliziert, dass mehr phosphorhaltige Substanzen in der Probe vorlagen (quantitativ und wahrscheinlich auch qualitativ). Bei den meisten dieser Stoffe handelt es sich jedoch nicht um die Zielanalyten. Bei der *Suspect-Target*-Suche wurden HEDP und PBTC identifiziert. Obwohl diese Stoffe im mg/kg-Bereich in dieser Probe vorlagen (Bestimmung via ESI-MS/MS-Analytik), machen sie nur einen untergeordneten Anteil an den phosphorhaltigen Bestandteilen aus. Zum Vergleich wurde das per *Suspect-Target*-Suche detektierte PBTC-Signal, als stärkstes der in dieser Probe vorhandenen Zielanalyten, grün dargestellt (26,7 min). Bei den unbekannten phosphorhaltigen Stoffen handelt es sich möglicherweise um Phosphonsäuren, Phosphorsäureester oder Polyphosphate biogenen und anthropogenen Ursprungs.

Abbildung 110: Analyse einer moderat belasteten Sedimentprobe via IC-ESI-TOF (negativer Messmodus). Orange: substanzunabhängige *Molecular-Feature*-Suche nach chromatographischen Signalen. Schwarze und rote Kurve: Extraktion von m/z 78,9591 (PO_3^--Signal) nach Fragmentierung mit 40 eV. Grün: Signal des PBTC als stärkstes Analytsignal in dieser Probe.



(Quelle: eigene Daten)

Mehrere mittels NaOH und NaOH-NTA aufgeschlossene Sediment- und Schwebstoffproben wurden via *Suspect-Target*-Suche auf die Zielanalyten und potentielle Umwandlungsprodukte untersucht. Zur automatischen Auswertung der TOF-Daten wurde eine *Suspect-Liste* (Datenbank) erstellt, die die chemischen Formeln vermuteter Stoffe enthielt. Zur Erstellung dieser Liste wurden Literaturangaben berücksichtigt (Kapitel 6.6) und eigene Vorschläge erstellt.

Berücksichtigte Umwandlungsreaktionen der Aminomethylenphosphonsäuren:

- Abspaltung von *N*-Methylenphosphonsäuregruppen (Klinger, 1997, Matthus *et al*., 1989)
- Umwandlung der *N*-Methylenphosphonsäuregruppe zur N-Formylgruppe (Nowack und Stone, 2000)
- Hypothetisch: Abspaltung von Phosphonsäuregruppen unter Ausbildung *N*-methylierter Derivate (Diese Abbauprodukte wären identisch mit den Synthesenebenprodukten technischer Aminomethylenphosphonsäuren, eine Rückführung auf den Ursprung durch Abbau oder den Eintrag als Verunreinigung technischer Phosphonate wäre nicht unmittelbar abzuleiten)
- Hypothetisch: Hydrolyse zwischen den Heteroatomen N und C zum Alkohol und freiem Amin (vermuteter Abbauweg des DTPMP)
- Allgemeine kleine Abbauprodukte: Phosphonoameisensäure (Klinger, 1997), Imino(dimethylen)phosphonsäure und *N*-Formyl-imino(dimethylen)phosphonsäure (Nowack, 2002b), Methylphosphonsäure, Hydroxymethylphosphonsäure

Berücksichtigte Umwandlungsreaktionen des HEDP:

- Hypothetisch: Abspaltung einer Phosphonsäuregruppe, Oxidation der Hydroxyfunktion zum Keton (2-Oxoethanphosphonsäure); Oxidation der Methylgruppe zur Carbonsäure

Berücksichtigte Umwandlungsreaktionen des PBTC:

- Hypothetisch: Decarboxylierung, Abspaltung einer Phosphonsäuregruppe

Zusätzlich wurde nach bekannten Synthesenebenprodukten der Phoshonsäuren gesucht. Diese wurden im Rahmen eines früheren Forschungsprojekts am TZW ermittelt (Happel *et al*., 2017). Technische DTPMP-Produkte enthielten insbesondere signifikante Anteile an einem methylierten Derivat des DTPMP (eine Methylgruppe statt einer Methylenphosphonsäuregruppe) als Synthesenebenprodukt.

Die Auswertung lieferte in den mit NaOH-NTA aufgeschlossenen Proben zwei Befunde, die sich unmittelbar von einem der Zielanalyten ableiten lassen. In einer Schwebstoffprobe der Körsch hinter der Einleitstelle wurden die folgenden als Synthesenebenprodukte des DTPMP bekannten Derivate detektiert:

- einfach methyliertes Derivat des DTPMP
- einfach unsubstituiertes EDTMP (fehlende Methylenphosphonsäuregruppe)

Da die Retentionszeiten dieser Analyten aus früheren Untersuchungen bekannt sind, lässt sich deren Identität mit hoher Wahrscheinlichkeit bestätigen. In den mit NaOH aufgeschlossenen Proben traten zudem potentielle Befunde für Methylphosphonsäure, Phosphonopropionsäure, HEDP mit einer fehlenden Phosphonsäuregruppe und Hydroxymethylphosphonsäure zu Retentionszeiten <21 min auf. Da es sich hierbei um kleine Moleküle handelt, kann keine sichere Zuordnung als Abbauprodukte der Ausgangsstoffe ATMP, EDTMP, DTPMP, HEDP und PBTC getroffen werden. Für die Stoffe liegen gegenwärtig keine Referenzstandards vor, weshalb keine sichere Aussage zur Identifizierung getroffen werden kann.

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass sich die zur Bestimmung der Zielanalyten optimierten Methoden nur eingeschränkt zur Auffindung von Umwandlungsprodukten der Phosphonate aus Feststoffproben eignen. Der Aufschluss mit NaOH mobilisiert keine zur TOF-Analyse ausreichenden Analytmengen, während sich der NaOH-NTA-Aufschluss nicht zum Auffinden kleiner bzw. früh eluierender Analyten eignet, da er erst ab 21 min dem Massenspektrometer zugeführt werden kann. Zur umfassenden Auffindung von Umwandlungsprodukten ist eine weiterführende Methodenentwicklung notwendig.

11 Anhang

11.1 Standardarbeitsanweisungen

Im Rahmen des UBA-Vorhabens wurden Standardarbeitsanweisungen zu den eingesetzten analytischen Methoden erstellt. Zur Methodenentwicklung wurden Proben vom Lehr- und Forschungsklärwerk Büsnau vom ISWA bereitgestellt. Während der Untersuchung der ersten Proben aus den Standorten Stuttgart-Mühlhausen und Stuttgart-Möhringen hat sich jedoch gezeigt, dass noch einige methodische Veränderungen nötig waren. Die nun folgenden Standardarbeitsanweisungen spiegeln den aktuellen Stand der Methodik wider und wurden ab PN4 (Neckar) und PN1 (Körsch) bis zum Projektende für all Proben angewandt. Da die unterschiedlichen Matrices (Oberflächenwasser, Abwasser, Sediment, Schwebstoff) unterschiedliche Probenvorbereitungsschritte erfordern, wurden für jede Matrix einzelne Arbeitsanweisungen erstellt. Auch bei der Analytik oder optionalen Anreicherungsschritten kann es Varianten geben. Durch Aufsplittung in einzelne Dokumente sollen die Arbeitsschritte übersichtlich bleiben. Tabelle 27 enthält eine Übersicht der erstellten Standardarbeitsanweisungen.

Tabelle 27: Übersicht der Standardarbeitsanweisungen zur Phosphonat-Analytik.

Nr.	Methoden-Titel
SOP-01	Kalibration mit Phosphonatstandards aus Trinkwasser
SOP-02	Analytische Methode: Trennung und Detektion
SOP-03	Probenvorbereitung: Oberflächenwasser
SOP-04	Anreicherungsmethoden für Trink- und Oberflächenwässer
SOP-05	Probenvorbereitung: Abwasser
SOP-06	Probenvorbereitung: Schwebstoffe und Sedimente (Fluss)
SOP-07	Probenvorbereitung: Abwasser-Feststoffe
SOP-08	Informativ: Saure Aufschlüsse von Feststoffen

11.1.1 Kalibration mit Phosphonat-Standards aus Trinkwasser

SOP-01
Stand: Februar 2018

Methode zur Direktmessung (DIR) für belastete Proben (1 µg/L bis 500 µg/L; z .B. Abwasserproben und Feststoffextrakte)
Zur Erstellung einer Kalibration wird aus den konzentrierten Stammlösungen der Phosphonat-Einzelstandards eine Mischlösung (Zwischenverdünnung) hergestellt.

Der Gehalt der Einzelstandards beträgt 1000 mg/L.

Die Mischlösung enthält jeweils 50 mg/L.

Die Verdünnungen werden in 15-mL-Zentrifugenröhrchen angesetzt. Darin werden folgende Mengen an Leitungswasser (KaTw), das mit Internem Standard dotiert ist, vorgelegt:

Gehalt /(µg/L)	blank	500	250	100	50	10	5	1	0,5
mL KaTW vorlegen	5	9,9	5	6	5	8	5	8	5

Zum höchsten Kalibrierpunkt (500 µg/L) werden 100 µL des Mischstandards gegeben. Nach der Durchmischung werden 5 mL entnommen und in das Probengefäß für den 250-µg/L-Standard überführt. Auf diese Weise wird jeweils der folgende Kalibrierstandard auf 10 mL Gesamtvolumen aufgefüllt usw.

Zu jeder Verdünnung werden anschließend 0,5 g Ionentauscher (AG MP-50; Bio-Rad Laboratories GmbH, München) gegeben und die Röhrchen für 1 Stunde auf einem Überkopfschüttler geschüttelt.

Anschließend wird 1 mL des Überstands in ein HPLC-Vial aus Kunststoff überführt. Der Interne Standard enthält auf die Umweltproben angepasste Gehalte an markierten Verbindungen.

Methode zur Messung mit automatisierter Anreicherung (OCE) für schwach belastete Proben (0,1 µg/L bis 10 µg/L; z.B. Flusswasserproben)
Im Folgenden sind nur die Abweichungen gegenüber der DIR-Methode aufgeführt.

Die Mischlösung enthält jeweils 1 mg/L.

Die Verdünnungen werden in 15-mL-Zentrifugenröhrchen angesetzt. Darin werden folgende Mengen an Leitungswasser, das mit 20-fach verdünntem Internem Standard dotiert ist, vorgelegt:

Gehalt / (µg/L)	blank	10	5	1	0,5	0,1	0,05
mL KaTW vorlegen	5	9,9	5	8	5	8	5

Zum höchsten Kalibrierpunkt (10 µg/L) werden 100 µL des Mischstandards gegeben. Nach der Durchmischung werden 5 mL entnommen und in das Probengefäß für den 5-µg/L-Standard überführt. Auf diese Weise wird jeweils der folgende Kalibrierstandard auf 10 mL Gesamtvolumen aufgefüllt usw.

11.1.2 Analytische Methode: Trennung und Detektion

SOP-02
Stand: Februar 2018

Probenvorbereitung (Verweise auf andere SOPs)

Zur Analyse müssen die Proben einer angepassten Probenvorbereitung unterzogen werden. Für die jeweiligen Probenmatrices wurden angepasste Standardarbeitsanweisungen (SOPs) angefertigt, auf die hier verwiesen wird:

a) Keine spezielle Vorbereitung ist bei freien Phosphonsäuren oder ihren Erdalkalisalzen nötig (z.B. in analytischen Standards)
b) SOP-01: Trinkwässern
c) SOP-03: Oberflächenwässern
d) SOP-05: Abwässer
e) SOP-06: Sediment- und Schwebstoffproben in Oberflächenwasser
f) SOP-07: Schwebstoffe in Abwasser

Chromatographische Trennung

Geräteparameter:

Chromatographiesystem	Dionex ICS 5000
Trennsäule	AS16 ionPac (Thermo; 2 mm x 250 mm)
Vorsäule	AG16 RFIC (Thermo; 2 mm x 50 mm)
Injektionsvolumen	25 µL (DIR-Methode) bzw. 500 µL (5 konsekutive Injektionsschritte à 100 µL; OCE-Methode)
Flussrate	0,25 mL/min
Eluent Lösung A	Reinstwasser
Eluent Lösung B	Natriumhydroxid (c = 200 mmol/L)
Eluent Lösung C	Methanol (50 % in Reinstwasser)
Suppression der LF	Membransuppressor (AERS 500; 2 mm; elektrochemisch)
Gradient	-10 min = 51 % A 9 % B 40 % C
	0 min = Injektion + Start des Massenspektrometers
	10 min = 51 % A 9 % B 40 % C
	25 min = 10 % A 50 % B 40 % C
	25,1 min = 0 % A 60 % B 40 % C
	35 min = 0 % A 60 % B 40 % C
	35,1 min = 51 % A 9 % B 40 % C

Massenspektrometrische Detektion

Geräteparameter:

Massenspektrometer	Tandem Massenspektrometer (AB Sciex 5500 Triple Quad™; Dreieich)
Messmodus:	negativ
Varco Valve:	Eluent nur zwischen 21 min und 30 min zum MS leiten
Curtain Gas Pressure:	35 psi
Collision Gas Press.:	7 psi
Ion Spray Voltage:	-4500 V
ESI Source Temp.:	450 °C
Ion Source Gas 1:	50 psi
Ion Source Gas 2:	70 psi

Zur Detektion der Phosphonate dienten die folgenden Massenübergänge (jeweils ein Massenübergang für den Analyten und den korrespondierenden IS)

Q1-Masse / Da	Q3-Masse / Da	Retentions-zeit / min	Analyt bzw. IS	De-clustering Potential / V	Cell En-trance Potential / V	Cell Exit Poten-tial / V
298	262	25,1	ATMP	-35	-26	-19
301	265	25,1	ATMP-IS	-35	-26	-19
285,5	79	28,6	DTPMP [M-2H]	-45	-130	-7
288	79	28,6	DTPMP-IS [M-2H]	-45	-130	-7
435	335	26,5	EDTMP	-70	-38	-27
439	339	26,5	EDTMP-IS	-70	-38	-27
205	63	22,7	HEDP	-70	-50	-9
208	63	22,7	HEDP-IS	-70	-50	-9
248	63	24,2	HEMPA	-70	-64	-9
250	63	24,2	HEMPA-IS	-70	-64	-9
269	207	27,8	PBTC	-50	-22	-17
272	210	27,8	PBTC-IS	-50	-22	-17

Datenauswertung:

Zur Datenauswertung diente die Analyst-Software (Version 1.6.2.; AB SCIEX). Die automatische Integration der Signale wurde überprüft und ggf. manuell korrigiert. Die Quantifizierung erfolgte anhand der Quotienten aus der Integralfläche des Analytsignals und der Integralfläche des korrespondierenden IS-Signals.

11.1.3 Probenvorbereitung: Oberflächenwasser

SOP-03
Stand: Februar 2018

Ziel der Probenvorbereitung ist die Entfernung der Kationen aus der Probe und die Dekomplexierung der Phosphonate durch Überführung in ihre freien Säuren.

Zur Analyse werden 5 mL einer unfiltrierten Wasserprobe in ein 15-mL-Zentrifugenröhrchen aus PP gegeben. Bei trüben Proben wird zunächst über einen Spritzenfilter (0,45 µm) filtriert.

Die Wasserprobe wird mit 50 µL 20-fach verdünntem Internem Standard und anschließend mit 0,5 g Ionentauscher (AG MP-50; Bio-Rad Laboratories GmbH, München) versetzt und für 1 Stunde auf dem Überkopfschüttler geschüttelt.

Über den Ionentausch werden die Kationen des Wassers gegen Protonen ausgetauscht, weshalb sich der pH-Wert der Proben ins Saure verschiebt (ca. pH 3). Nach dem Austausch werden typischerweise Calcium- und Magnesiumgehalte von < 0,1 mg/L gefunden. Die Phosphonate liegen nach der Probenvorbereitung als freie Phosphonsäuren vor.

Die resultierende Lösung kann nun nach SOP-02 (OCE-Variante) auf ihre Phosphonatgehalte untersucht werden.

11.1.4 Anreicherungsmethoden für Trink- und Oberflächenwässer

SOP-04
Stand: Februar 2018

Sollen Spurengehalte untersucht werden und reicht die Bestimmungsgrenze des analytischen Verfahrens nicht aus, ist es notwendig eine Aufkonzentrierung der Analyten durchzuführen. Verschiedene Varianten zur Anreicherung von Phosphonaten wurden evaluiert.

A) Anreicherung über Anionentausch (nach Schmidt *et al.*, 2013)

Nach der Überführung der Phosphonate in die freien Phosphonsäuren durch den Kationentausch ist eine Anreicherung der Analyte über einen schwachen Anionentauscher (Strata X-AW; Phenomenex, Aschaffenburg) möglich. Nach Elution durch eine Lösung von Ammoniak in Methanol und anschließende Evaporation des Eluats wurde eine 50-fache Anreicherung erreicht.

B) On-Column-Enrichment (OCE)

Dieses Verfahren ermöglicht die Anreicherung der Phosphonsäuren aufgrund ihrer starken Adsorption an Anionentauschermaterial der Chromatographiesäule. Zunächst erfolgt die Injektion 20-fachen Probenvolumens durch multiple Injektion beim Einsatz einer schwachen Eluentstärke (18 mmol/L NaOH). Bei dieser Eluentstärke zeigen die Phosphonsäuren keine signifikante Elution, während dessen Matrixbestandteile wie Sulfat oder NTA bereits eluieren. Die Quantifizierung erfolgt durch Verwendung einer entsprechend niedrig konzentrierten Kalibrierreihe und entsprechend verdünnter IS-Dotierung der Proben (s. Abschnitt 6.3.3 und SOP-03). Im Rahmen des Projekts wurden die Flusswasserproben nach diesem Verfahren quantifiziert.

C) Vakuum-Konzentration

Eine Anreicherung der Probe kann durch Evaporation über eine Vakuum-Zentrifuge erfolgen (SpeedDry, Fa. Christ, Osterode). Durch die Reduktion des Wassers von 40 mL auf 0,8 mL können die nicht-flüchtigen Phosphonsäuren z.B. um den Faktor 50 aufkonzentriert werden. Mittels dieses Verfahrens konnten die Phosphonate selbst nach der Durchführung des Ionentauschs nur aus Matrix- und Ionenarmen Matrizes angereichert werden. Aus Leitungswasser bzw. Oberflächenwasserproben wurden keine brauchbaren Ergebnisse erhalten.

11.1.5 Probenvorbereitung: Abwasser

SOP-05
Stand: Februar 2018

10 mL des klaren Überstands werden über einen Spritzenfilter (0,45 µm) gegeben. Von diesem Filtrat werden 5 mL abgenommen, in ein 15-mL-Zentrifugenröhrchen aus PP gegeben und mit 50 µL Internem Standard versetzt. Anschließend wird 1 g Ionentauscher (AG MP-50; Bio-Rad Laboratories GmbH, München) dazugegeben und für 1 Stunde auf dem Überkopfschüttler geschüttelt. Die Probe wird dabei leicht sauer (pH ca. 2,5) und enthält weniger als 0,1 mg/L an Magnesium oder Calcium.

Aufgrund der erhöhten Befunde an HEDP und PBTC ist ggf. sogar eine Verdünnung der Abwasser-Probe notwendig.

11.1.6 Probenvorbereitung: Schwebstoffe u. Sedimente (Fluss)

SOP-06
Stand: Februar 2018

Die getrockneten Sedimente werden grob gesiebt und im Mörser vorhomogenisiert. Anschließend wird das Material fein gesiebt (1 mm Maschenweite) und im Mörser feingemahlen.

Die gefriergetrockneten Schwebstoffe können nach einer Homogenisierung im Mörser ohne Siebung eingesetzt werden.

In ein 50-mL-Plastikgefäß aus PP werden 0,5 g des Materials eingewogen. Das restliche homogenisierte Material wird als Rückstellprobe aufbewahrt.

Die Probe wird mit 7,5 mL demineralisiertem Wasser und mit 150 µL Internem Standard versetzt (es ist hier die dreifache Menge an IS nötig, da später noch weiteres Aufschlussmedium zugegeben bis zum Gesamtvolumen von 15 mL zugegeben wird).

Anschließend wird die Probe geschüttelt und für 1 Stunde zur Einstellung des Adsorptionsgleichgewichts stehen gelassen.

Danach werden 7,5 mL alkalisches Aufschlussmedium (Natronlauge c = 1 mol/L und Nitrilotriessigsäure-Trinatriumsalz (NTA) = 0,2 mol/L) zugegeben.

Anschließend wird die Mischung für 1 Stunde im Ultraschallbad (80 kHz, 100 Watt, 50 °C) unter gelegentlichem Umschütteln aufgeschlossen.

Nach der Ultraschallbehandlung wird das Probenröhrchen für 10 Minuten bei 3000 *g* zentrifugiert.

Vom Überstand wird 1 mL aus dem oberen Bereich in ein HPLC-Vial aus Kunststoff überführt (hellbraune alkalische Lösung). Aus tieferen Schichten sollte keine Probe entnommen werden, da sich hier ggf. noch winzige Sedimentpartikel befinden. Den Rest der flüssigen Phase möglichst vollständig absaugen und verwerfen.

Der zurückbleibende Feststoff wird ein weiteres Mal extrahiert. Hierzu werden wieder 7,5 mL demin. Wasser und 7,5 mL Aufschlussmedium in das Zentrifugenröhrchen gegeben. Es ist darauf zu achten, dass der verdichtete Feststoff gut resuspendiert wird. Es folgt die Behandlung mit Ultraschall und die Zentrifugation wie im ersten Extraktionsschritt.

In ein 1,5-mL-Eppendorf-Vial werden 0,5 g Ionentauscher vorgelegt. Dazu kommen jeweils 500 µL Extrakt der ersten und zweiten Extraktion. Die Verdünnung der Proben entspricht nun ca. 1:20 gegenüber der zum Projektbeginn gemessenen Proben, die des IS ca. 1:2.

Die Proben werden für 1 Stunde am Überkopfschüttler geschüttelt, wobei auf eine gute Aufschlämmung des Ionentauschers zu achten ist (der Austauscher neigt dazu am Boden zu verbleiben). Huminstoffe fallen nach der Verringerung des pH durch den Ionentausch aus.

Die Eppendorf-Vials werden für 10 min zentrifugiert (Kleine Tischzentrifuge mit 13000 g). Der Überstand der schwach gelblichen klaren Lösung wird in ein HPLC-Kunststoffvial überführt. Die Lösung zeigt einen pH von ca. 2 bis 3 und enthält < 0,1 mg/L an Calcium oder Magnesium.

11.1.7 Probenvorbereitung: Abwasser-Feststoffe

SOP-07
Stand: Februar 2018

Das faserige Probenmaterial ist sehr voluminös und kann im Mörser nicht zerkleinert werden. Für die Untersuchung dieser Proben hat sich folgendes Vorgehen bewährt:

In ein 50-mL-Plastikgefäß aus PP werden 0,05 g Probe eingewogen und mit 7,5 mL demineralisiertem Wasser und 150 µl Internem Standard versetzt. Die Probe wird geschüttelt und anschließend für 1 Stunde stehen gelassen, damit sich das Adsorptionsgleichgewicht einstellt.

Danach werden 7,5 mL alkalisches Aufschlussmedium (Natronlauge c = 1 mol/L und Nitrilotriessigsäure-Trinatriumsalz (NTA) = 0,2 mol/L) zugegeben.

Anschließend wird die Mischung für 1 Stunde im Ultraschallbad (80 kHz, 100 Watt, 50 °C) unter gelegentlichem Umschütteln aufgeschlossen.

Nach der Ultraschallbehandlung wird das Probenröhrchen für 10 Minuten bei 3000 *g* zentrifugiert.

Vom Überstand wird 1 mL aus dem oberen Bereich in ein HPLC-Vial aus Kunststoff überführt (hellbraune alkalische Lösung). Aus tieferen Schichten sollte keine Probe entnommen werden, da sich hier ggf. noch winzige Partikel befinden. Den Rest der flüssigen Phase möglichst vollständig absaugen und verwerfen.

Der zurückbleibende Feststoff wird ein weiteres Mal extrahiert. Hierzu werden wieder 7,5 mL demin. Wasser und 7,5 mL Aufschlussmedium in das Zentrifugenröhrchen gegeben. Es ist darauf zu achten, dass der verdichtete Feststoff gut resuspendiert wird. Es folgt die Behandlung mit Ultraschall und die Zentrifugation wie im ersten Extraktionsschritt.

In ein 1,5-mL-Eppendorf-Vial werden 0,5 g Ionentauscher vorgelegt. Dazu kommen jeweils 500 µL Extrakt aus den ersten und zweiten Extraktionen. Die Verdünnung der Proben entspricht nun ca. 1:200 gegenüber der zum Projektbeginn gemessenen Proben, die des IS ca. 1:2.

Die Proben werden für 1 Stunde am Überkopfschüttler geschüttelt, wobei auf eine gute Aufschlämmung des Ionentauschers zu achten ist (der Austauscher neigt dazu am Boden zu verbleiben). Nach der Extraktion liegt der pH-Wert der Probe bei ca. 2 bis 3.

Die Eppendorf-Vials werden für 10 min zentrifugiert (Kleine Tischzentrifuge mit 13000 g).

Der Überstand der schwach gelblichen klaren Lösung wird in ein HPLC-Kunststoffvial überführt. Die Lösung zeigt einen pH von ca. 2 und enthält < 0,1 mg/L an Calcium oder Magnesium.

11.1.8 Informativ: Saure Aufschlüsse von Feststoffen

SOP-08
Stand: Februar 2018

Informativ:

In der Literatur sind neben der alkalischen Extraktion (mittels NaOH und NTA) auch saure Aufschlüsse beschrieben. Im Rahmen der Methodenentwicklung wurden mehrere Anläufe zur Etablierung einer alternativen sauren Aufschlussmethode getestet.

Alle Varianten führten zu unbrauchbaren Ergebnissen und zu einer dauerhaften Verschmutzung der Trennsäule. Die Trennsäule musste nach solchen Läufen zur Wiederherstellung mit Säure regeneriert werden, was mehrere Stunden Zeit beansprucht. Die Probleme zeigten sich in einer Verschiebung der Retentionszeit, Verschleppungen, unförmigen Signalen (insbesondere beim HEDP), durch Auftreten von Peak-Splitting (besonders beim EDTMP, DTPMP, seltener beim PBTC) und deutlich höheren Nachweisgrenzen.

Über das saure Aufschlussmedium werden sehr viele Kationen und Anionen aus dem Sediment mobilisiert. Weiterhin wird über die Säure an sich die Anionenkonzentration stark erhöht. Der Kationentausch mit einem H^+-beladenem Ionentauscher führte zu einer sehr starken pH-Erniedrigung und konnte die Calcium- und Magnesiumionen nicht mehr quantitativ entfernen. Zudem bildete sich durch die saure Aufschlusslösung auch Kohlenstoffdioxid, weshalb die Deckel der Extraktionsgefäße undicht wurden bzw. aufgingen.

Auch zwei konsekutive Ionentausch-Schritte lieferten keine Verbesserung.

Folgende Aufschlussmedien wurden getestet, wobei sich blassgelbe Probenüberstände bildeten:

- Salpetersäure 0,05 mol/L
- Salzsäure 0,05 mol/L
- Salzsäure 0,50 mol/L
  Restgehalte nach Ionentausch: Ca = 47 mg/L; Mg = 20 mg/L
- Trichloressigsäure 0,50 mol/L
- Ameisensäure 25%ig
  Klarer Überstand nach Extraktion mit pH 5
  Abblasen der flüchtigen Ameisensäure dauert lange
  pH des Extrakts nach Ionentausch: 1
- Schwefelsäure 0,05 mol/L
  Gelblicher Extraktionsüberstand mit neutralem pH-Wert
  pH des Extrakts nach Ionentauch: 5 – 6

11.2 Standard operating procedure

As part of the UBA project, standard operating procedures for the applied analytical methods were formulated. For method development, ISWA provided samples from the Büsnau teaching and research sewage treatment plant. During the analysis of the first samples from Stuttgart-Mühlhausen and Stuttgart-Möhringen, however, it became apparent that some methodological changes were still necessary. The following standard operating procedures reflect the current status of the analytical methods and were applied for all samples from PN4 (Neckar) and PN1 (Körsch) onwards until the end of the project. Since the different matrices (surface water, wastewater, sediment, suspended matter) require different sample preparation techniques, individual operation instructions were created for each matrix. There may also be variants for the analysis or optional enrichment steps. In order to provide a comprehensive overview, the procedures are presented as individual documents. An overview of the standard operation procedures is presented in Table 27.

Table 27: Overview of the standard operation protocols for phosphonate analysis.

No.	Method Name
SOP-01	Calibration of phosphonate standards from drinking water
SOP-02	Analytical method: separation and detection
SOP-03	Sample preparation: surface water
SOP-04	Enrichmeht procedures for drinking- and surface water
SOP-05	Sample preparation: waste water
SOP-06	Sample preparation: suspended matter and sediment (river)
SOP-07	Sample preparation: waste water solids
SOP-08	Informative: acid digestion of solid samples

11.2.1 Calibration of phosphonate standards from drinking water

SOP-01
Status: February 2018

Method for direct quantification (DIR) of contaminated samples (1 µg/L to 500 µg/L; e.g. waste water and extracts of solids)
In order to prepare the calibration, a multistandard (intermediate dilution) is prepared from the concentrated stock solutions of the individual phosphonate standards.

The stock solutions each have a concentration of 1000 mg/L.

The multistandard has a concentration of 50 mg/L of each phosphonate.

The calibration points are diluted in 15 mL centrifuge tubes, to which the following quantities of tap water (KaTw), doped with Internal Standard, are added:

Concentr. /(µg/L)	blank	500	250	100	50	10	5	1	0.5
Added volume of KaTW /(µg/L)	5	9.9	5	6	5	8	5	8	5

To the highest calibration point (500 µg/L) 100 µL of the multistandard are added. After mixing, 5 mL are transferred to the sample vessel of the 250 µg/L calibration point. In this way the consecutive calibration points are prepared and filled up to 10 mL of total volume etc.

Add 0.5 g ion exchanger (AG MP-50; Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich) to each tube and shake on an overhead shaker for 1 hour.

1 mL of the supernatant is transferred into a plastic HPLC vial. The Internal Standard contains marked compounds in a content adapted to the environmental samples.

Method for quantification with automated enrichment (OCE) for weakly contaminated samples (0.1 µg/L to 10 µg/L; e.g. river water)
Stated below are only the deviations to the DIR method.

The multistandard has a concentration of 1 mg/L of each phosphonate.

The dilutions are prepared in 15 mL centrifuge tubes. The following amounts of tap water, which is doped with 20-fold diluted Internal Standard, are added:

Concentr. /(µg/L)	blank	10	5	1	0.5	0.1	0.05
Added volume of KaTW /(µg/L)	5	9.9	5	8	5	8	5

Add 100 µL of the multistandard to the highest calibration point (10 µg/L). After mixing, 5 mL are transferred to the sample vessel for the 5 µg/L standard. In this way the following consecutive points are filled up to 10 mL of total volume etc.

11.2.2 Analytical method: separation and detection

SOP-02
Status: February 2018

Sample preparation (References to other SOPs)

Before analysis, the samples must be subjected to adapted sample preparation. The standard operating procedures (SOPs) adapted for the different sample matrices are referred to below:

a) No special sample treatment required for free phosphonic acids or their alkali salts (e.g. analytical standards)
b) SOP-01: drinking water
c) SOP-03: surface water
d) SOP-05: waste water
e) SOP-06: suspended matter and sediment (river)
f) SOP-07: waste water solids

Chromatographic separation

Device parameters:

Chromatography system	Dionex ICS 5000
Separation column	AS16 ionPac (Thermo; 2 mm x 250 mm)
Pre-column	AG16 RFIC (Thermo; 2 mm x 50 mm)
Injection volume	25 µL (DIR-method)or 500 µL (5 consecutive injections of 100 µL each; OCE-Method)
Flow rate	0.25 mL/min
Eluent solution A	HPLC-water
Eluent solution B	Sodium hydroxide(c = 200 mmol/L)
Eluent solution C	Methanol (50% in HPLC-water)
Suppression of conductivity	Membrane suppressor (AERS 500; 2 mm; electrochemical)
Gradient	-10 min = 51% A 9% B 40% C 0 min = Injection + start of mass spectrometer 10 min = 51% A 9% B 40% C 25 min = 10% A 50% B 40% C 25.1 min = 0% A 60% B 40% C 35 min = 0% A 60% B 40% C 35.1 min = 51% A 9% B 40% C

Mass spectrometric detection

Device parameters:

Mass spectrometer	Tandem mass spectrometer(AB Sciex 5500 Triple Quad™; Dreieich)
Detection mode:	negative
Varco Valve:	Eluent fed to MS only between 21 min and 30 min
Curtain Gas Pressure:	35 psi
Collision Gas Press.:	7 psi
Ion Spray Voltage:	-4500 V
ESI Source Temp.:	450 °C
Ion Source Gas 1:	50 psi
Ion Source Gas 2:	70 psi

The following mass transitions were monitored for detection of phosphonates (one transition for the analyte and one for the corresponding IS)

Q1-mass / Da	Q3-mass / Da	Retention time / min	Analyte or corresp. IS, resp.	De-clustering Potential / V	Cell Entrance Potential / V	Cell Exit Potential / V
298	262	25.1	ATMP	-35	-26	-19
301	265	25.1	ATMP-IS	-35	-26	-19
285.5	79	28.6	DTPMP [M-2H]	-45	-130	-7
288	79	28.6	DTPMP-IS [M-2H]	-45	-130	-7
435	335	26.5	EDTMP	-70	-38	-27
439	339	26.5	EDTMP-IS	-70	-38	-27
205	63	22.7	HEDP	-70	-50	-9
208	63	22.7	HEDP-IS	-70	-50	-9
248	63	24.2	HEMPA	-70	-64	-9
250	63	24.2	HEMPA-IS	-70	-64	-9
269	207	27.8	PBTC	-50	-22	-17
272	210	27.8	PBTC-IS	-50	-22	-17

Data evaluation:

The analyst software (version 1.6.2.; AB SCIEX) was used for data evaluation. The automatic integration of the signals was verified and corrected manually when necessary. Quantification was performed using the quotients of the area integral of the analyte signal and the area integral of the corresponding IS signal.

11.2.3 Sample preparation: surface water

SOP-03
Status: February 2018

The aim of sample preparation is to remove the cations from the sample and to decomplex the phosphonates by converting them into their free acids.

For analysis 5 mL of an unfiltered water sample is placed in a 15 mL centrifuge tube made of PP. Turbid samples were filtered through a syringe filter (0.45 µm).

The water sample is mixed with 50 µL of 20-fold diluted Internal Standard solution. After addition of 0.5 g ion exchanger (AG MP-50; Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich) the sample is shaken by use of an overhead shaker for 1 hour.

Due to the exchange of cations for protons during the ion exchange, the pH of the samples decreases (to approx. pH 3). After the ion exchange, calcium and magnesium contents of < 0.1 mg/L are typically found, whereas the phosphonates are converted to the free phosphonic acids.

The resulting solution can now be analyzed for its phosphonate content according to SOP-02 (OCE variant).

11.2.4 Enrichment procedures for drinking- and surface water

SOP-04
Status: February 2018

If trace levels are to be quantified and the determination limit of the analytical method is insufficient, it is necessary to concentrate the analytes. Different variants for the enrichment of phosphonates were evaluated.

A) Enrichment via anion exchange (according to Schmidt *et al.*, 2013)

After conversion of the phosphonates into the free phosphonic acids by cation exchange, enrichment of the analytes via a weak anion exchanger (Strata X-AW; Phenomenex, Aschaffenburg) is possible. A 50-fold enrichment was achieved by elution with ammonia in methanol and subsequent evaporation of the eluate.

B) On-Column-Enrichment (OCE)

This process allows the enrichment of phosphonic acids due to their strong adsorption to the anion exchange material of the chromatographic column. The 20-fold sample volume is injected by multiple injections at a weak eluent strength (18 mmol/L NaOH). At this eluent strength, phosphonic acids show no significant elution, while matrix components such as sulfate or NTA are already eluted. Quantification is performed by using a correspondingly low-concentration calibration series and correspondingly diluted IS doping of the samples (see Section 6.3.3 and SOP-03). During this project this method was used for the quantification of river water samples.

C) Vacuum-concentration

The sample may be enriched by evaporation using a vacuum centrifuge (SpeedDry, Christ, Osterode). For example, a 50-fold enrichment of the non-volatile phosphonates is achieved by reducing the sample volume from 40 mL to 0.8 mL. This method only allowed the quantification of phosphonates from samples with a weak matrix and low ionic strength, even after the ion exchange had been carried out. No useful results were obtained from tap water or surface water samples.

11.2.5 Sample preparation: waste water

SOP-05
Status: February 2018

10 mL of the clear supernatant are filtered through a syringe filter (0.45 µm). 5 mL of this filtrate are transferred into a 15 mL centrifuge tube made of PP and 50 µL of Internal Standard are added. Add 1 g of ion exchanger (AG MP-50; Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich) and shake for 1 hour on the overhead shaker. The sample turns slightly acidic (approx. pH 2.5) and contains less than 0.1 mg/L of magnesium or calcium.

Due to the pronounced content of HEDP and PBTC, dilution of some wastewater sample may even be necessary.

11.2.6 Sample preparation: suspended matter and sediment (river)

SOP-06
Status: February 2018

The dried sediments are coarsely sieved and pre-homogenized in a mortar. The material is then finely sieved (1 mm mesh width) and finely ground in a mortar.

After homogenization in the mortar, the freeze-dried suspended solids can be used without sieving.

Weigh 0.5 g of the material into a 50 mL plastic tube made of PP. The remaining homogenized material is kept as a retention sample.

The sample is mixed with 7.5 mL demineralized water and 150 µL Internal Standard (the triple volume of IS is required here, as further digestion medium is added later up to a total volume of 15 mL).

The sample is then shaken and left to stand for 1 hour to allow establishment of the adsorption equilibrium.

Then 7.5 mL alkaline digestion reagent (sodium hydroxide c = 1 mol/L and nitrilotriacetic acid trisodium salt (NTA) = 0.2 mol/L) is added.

The mixture is digested for 1 hour in an ultrasonic bath (80 kHz, 100 Watt, 50 °C) with occasional inversion.

After the ultrasonic treatment the sample tube is centrifuged for 10 min at 3000 g.

1 mL of the upper layer of the supernatant is transferred into a plastic HPLC vial (light brown alkaline solution). The sample should not be drawn from deeper layers, as these may still contain minute particles. Drain the rest of the liquid phase as completely as possible and discard.

The solid residue is extracted for a second time. Add 7.5 mL of demin. water and 7.5 mL digestion reagent to the centrifuge tube. Make sure that the compacted solid is well resuspended. The second extraction is performed in an identical manner as the first extraction.

Place 0.5 g ion exchanger in a 1.5 mL Eppendorf vial. Add 500 µL of each extract. The dilution of the analytes now corresponds to approx. 1:20 compared to the samples prepared at the beginning of the project, the dilution of the IS to approx. 1:2.

The samples are shaken on the overhead shaker for 1 hour, ascertaining well suspension of the ion exchanger (the material tends to remain at the bottom of the vessel). The decrease of the pH due to the ion exchange causes the precipitation of humic substances.

The Eppendorf vials are centrifuged for 10 min in a small table centrifuge (13000 g). The slightly yellowish supernatant is transferred into a HPLC plastic vial. The solution has a pH of approx. 2 and contains < 0.1 mg/L of calcium or magnesium.

11.2.7 Sample preparation: waste water solids

SOP-07
Status: February 2018

The fibrous sample material is very voluminous and cannot be crushed in a mortar. The following procedure has proven itself for the analysis of these samples:

Weigh 0.05 g of sample into a 50 mL PP plastic container, add 7.5 mL demineralized water and 150 µl Internal Standard. The sample is then shaken and left to stand for 1 hour to allow establishment of the adsorption equilibrium.

Then 7.5 mL alkaline digestion reagent (sodium hydroxide c = 1 mol/L and nitrilotriacetic acid trisodium salt (NTA) = 0.2 mol/L) is added.

The mixture is digested for 1 hour in an ultrasonic bath (80 kHz, 100 Watt, 50 °C) with occasional inversion.

After the ultrasonic treatment the sample tube is centrifuged for 10 min at 3000 g.

1 mL of the upper layer of the supernatant is transferred into a plastic HPLC vial (light brown alkaline solution). The sample should not be drawn from deeper layers, as these may still contain minute particles. Drain the rest of the liquid phase as completely as possible and discard.

The solid residue is extracted for a second time. Add 7.5 mL of demin. water and 7.5 mL digestion reagent to the centrifuge tube. Make sure that the compacted solid is well resuspended. The second extraction is performed in an identical manner as the first extraction.

Place 0.5 g ion exchanger in a 1.5 mL Eppendorf vial. Add 500 µL of each extract. The dilution of the analytes now corresponds to approx. 1:200 compared to the samples prepared at the beginning of the project, the dilution of the IS to approx. 1:2.

The samples are shaken on the overhead shaker for 1 hour, ascertaining w suspension of the ion exchanger (the material tends to remain at the bottom of the vessel).

The Eppendorf vials are centrifuged for 10 min in a small table centrifuge (13000 g). The slightly yellowish supernatant is transferred into a HPLC plastic vial. The solution has a pH of approx. 2 and contains < 0.1 mg/L of calcium or magnesium.

11.2.8 Informative: acid digestion of solid samples

SOP-08
Status: February 2018

Informative:

In addition to alkaline extraction (using NaOH and NTA), acidic digestions are also described in the literature. Within the scope of method development, several attempts to establish an alternative acid digestion method were tested.

All variants led to unusable results and to persistent deterioration of the chromatographic separation. After such runs, the separation column had to be regenerated with acid, which takes several hours. The problems involved shifts of retention times, carryovers, misshapen signals (especially with HEDP), peak splitting (especially with EDTMP, DTPMP, less with PBTC) and significantly elevated detection limits.

A large number of cations and anions from the sediment are mobilized by the acidic digestion medium. Furthermore, the anion concentration is greatly increased by the acid itself. The cation exchange with an ion exchanger in its H^+-form leads to a strong pH reduction and could no longer remove the calcium and magnesium ions quantitatively. In addition, the acid digestion solution released carbon dioxide, which is why the lids of the digestion vessels leaked or opened.

Two consecutive ion exchange steps also did not provide any improvement.

The following digestion reagents were tested, resulting in pale yellow sample supernatants:

- Nitric acid 0.05 mol/L
- Hydrochloric acid 0.05 mol/L
- Hydrochloric acid 0.50 mol/L
  Cations detected after ion exchange: Ca = 47 mg/L; Mg = 20 mg/L
- Trichloroacetic acid 0.50 mol/L
- Formic acid 25%ig
  Clear supernatant after extraction, pH 5
  Evaporation of formic acid is time consuming
  pH of the extract after ion exchange: 1
- Sulfuric acid 0.05 mol/L
  Yellowish supernatant after extraction, pH 7
  pH of the extract after ion exchange: 5 – 6

11.3 Analysen (Einzelwerte in Tabellenform)

11.3.1 Messwerte der Phosphonate: S-Mühlhausen am Neckar

Tabelle 28: Abwasserproben Standort S-Mühlhausen am Neckar.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(µg/L)	DTPMP /(µg/L)	EDTMP /(µg/L)	HEDP /(µg/L)	PBTC /(µg/L)
Kläranlagen-Zulauf	PN01	02.08.2016	KW31	3,11	15,10	<BG	57,05	88,20
	PN02	04.10.2016	KW40	3,11	44,80	<BG	133,00	78,10
	PN03	22.11.2016	KW47	3,14	70,80	1,45	94,00	74,30
	PN04	14.02.2017	KW07	1,14	38,40	<BG	153,00	95,40
	PN05	28.03.2017	KW13	14,90	59,60	4,70	196,00	109,00
	PN06	09.05.2017	KW19	6,67	34,50	<BG	196,00	113,00
	PN07	06.06.2017	KW23	3,28	31,30	<BG	231,00	56,90
	PN08	18.07.2017	KW28	5,18	23,50	<BG	197,00	118,00
	PN09	19.09.2017	KW38	9,26	58,80	<BG	204,00	74,20
	PN10	24.10.2017	KW43	2,72	16,10	<BG	137,00	119,00
Ablauf Vor-klärung	PN01	02.08.2016	KW31	Kein IS	24,90	<BG	125,00	105,00
	PN02	04.10.2016	KW40	<BG	<BG	<BG	169,00	90,80
	PN03	22.11.2016	KW47	2,73	59,40	<BG	108,00	84,70
	PN04	14.02.2017	KW07	6,45	60,10	1,14	232,00	126,00
	PN05	28.03.2017	KW13	12,50	76,80	3,17	197,00	121,00
	PN06	09.05.2017	KW19	6,07	51,80	<BG	155,00	119,00
	PN07	06.06.2017	KW23	4,25	34,70	<BG	92,60	67,00
	PN08	18.07.2017	KW28	5,27	62,00	1,07	188,00	140,00
	PN09	19.09.2017	KW38	5,72	70,70	<BG	172,00	75,80
	PN10	24.10.2017	KW43	<BG	22,50	<BG	147,00	123,00
Ablauf Nach-klärung	PN01	02.08.2016	KW31	<BG	<BG	<BG	4,84	8,44
	PN02	04.10.2016	KW40	<BG	3,63	<BG	15,20	10,50
	PN03	22.11.2016	KW47	<BG	10,20	<BG	15,30	26,70
	PN04	14.02.2017	KW07	<BG	3,39	<BG	10,20	9,05
	PN05	28.03.2017	KW13	<BG	1,92	<BG	16,50	12,70
	PN06	09.05.2017	KW19	<BG	<BG	<BG	8,99	18,90
	PN07	06.06.2017	KW23	<BG	2,42	<BG	13,30	17,20
	PN08	18.07.2017	KW28	<BG	6,52	<BG	17,20	14,70
	PN09	19.09.2017	KW38	<BG	7,65	<BG	28,20	23,00
	PN10	24.10.2017	KW43	<BG	3,40	<BG	8,13	11,50

Ablauf Sand-filter	PN01	02.08.2016	KW31	<BG	<BG	<BG	6,79	5,30
	PN02	04.10.2016	KW40	<BG	3,39	<BG	18,60	8,49
	PN03	22.11.2016	KW47	<BG	4,66	<BG	12,70	25,00
	PN04	14.02.2017	KW07	<BG	3,50	<BG	14,90	12,10
	PN05	28.03.2017	KW13	<BG	12,10	1,60	38,20	14,20
	PN06	09.05.2017	KW19	<BG	<BG	<BG	7,89	2,73
	PN07	06.06.2017	KW23	<BG	2,14	<BG	11,70	15,40
	PN08	18.07.2017	KW28	<BG	2,21	<BG	13,80	12,30
	PN09	19.09.2017	KW38	<BG	6,20	<BG	27,00	20,10
	PN10	24.10.2017	KW43	<BG	3,00	<BG	8,27	3,04
Ablauf Aktiv-kohlefilter	PN01	02.08.2016	KW31	<BG	<BG	<BG	5,35	1,63
	PN03	22.11.2016	KW47	<BG	2,15	<BG	5,88	2,30
	PN05	28.03.2017	KW13	<BG	3,95	<BG	14,60	5,05
	PN06	09.05.2017	KW19	<BG	1,04	<BG	11,00	14,60
	PN07	06.06.2017	KW23	<BG	1,57	<BG	5,36	1,89
	PN09	19.09.2017	KW38	<BG	5,51	<BG	5,74	1,08
	PN10	24.10.2017	KW43	<BG	3,34	<BG	13,60	8,00

Tabelle 29: Flusswasserproben Standort S-Mühlhausen am Neckar.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(µg/L)	DTPMP /(µg/L)	EDTMP /(µg/L)	HEDP /(µg/L)	PBTC /(µg/L)
Flusswasser vor Einleit-stelle	PN01	02.08.2016	KW31	<BG	0,3	<BG	0,2	2,4
	PN02	04.10.2016	KW40	<BG	0,3	<BG	0,2	3,4
	PN03	22.11.2016	KW47	<BG	0,6	<BG	0,8	4,4
	PN04	14.02.2017	KW07	<BG	0,8	<BG	1,3	3,0
	PN05	28.03.2017	KW13	<BG	0,1	0,2	1,2	3,1
	PN06	09.05.2017	KW19	<BG	0,7	<BG	0,4	1,3
	PN07	06.06.2017	KW23	<BG	0,7	<BG	0,5	2,6
	PN08	11.07.2017	KW28	<BG	0,5	<BG	2,0	3,0
	PN09	19.09.2017	KW38	<BG	0,9	0,1	0,4	3,5
	PN10	24.10.2017	KW43	<BG	0,6	<BG	0,3	2,9
Flusswasser nach Einleit-stelle	PN01	02.08.2016	KW31	<BG	0,2	<BG	0,2	2,1
	PN02	04.10.2016	KW40	<BG	0,2	<BG	0,3	2,7
	PN03	22.11.2016	KW47	<BG	0,6	<BG	0,9	5,1
	PN04	14.02.2017	KW07	<BG	0,8	<BG	1,1	2,3
	PN05	28.03.2017	KW13	<BG	0,3	<BG	0,7	3,4
	PN06	09.05.2017	KW19	<BG	0,7	<BG	0,4	1,4
	PN07	06.06.2017	KW23	<BG	0,7	<BG	0,8	2,8
	PN08	11.07.2017	KW28	<BG	0,5	<BG	1,2	4,7
	PN09	19.09.2017	KW38	<BG	0,7	<BG	0,6	3,6
	PN10	24.10.2017	KW43	<BG	0,6	<BG	0,4	2,8

Tabelle 30: Sedimentproben Standort S-Mühlhausen am Neckar.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(mg/kg)	DTPMP /(mg/kg)	EDTMP /(mg/kg)	HEDP /(mg/kg)	PBTC /(mg/kg)
Sediment vor Einleitstelle	PN01	02.08.2016	KW31	0,4	1,0	0,1	8,8	7,7
	PN02	04.10.2016	KW40	0,2	0,4	0,0	2,0	4,2
	PN03	22.11.2016	KW47	0,4	0,7	0,1	4,1	9,0
	PN04	15.02.2017	KW07	0,57	1,44	0,16	12,86	14,40
	PN05	28.03.2017	KW13	0,31	0,66	0,06	13,56	7,17
	PN06	09.05.2017	KW19	0,26	0,53	0,03	7,80	5,28
	PN07	06.06.2017	KW23	0,20	0,69	0,05	5,94	5,01
	PN08	11.07.2017	KW28	0,14	0,44	<BG	5,52	4,47
	PN09	19.09.2017	KW38	0,24	1,98	0,05	14,43	9,45
	PN10	24.10.2017	KW43	0,21	1,22	0,04	11,79	7,35
Sediment nach Einleit-stelle	PN01	02.08.2016	KW31	0,5	1,2	0,1	12,8	7,4
	PN02	04.10.2016	KW40	0,4	1,0	0,1	6,1	10,3
	PN03	22.11.2016	KW47	0,47	0,96	0,12	7,64	12,59
	PN04	15.02.2017	KW07	0,57	1,96	0,11	13,80	15,73
	PN05	28.03.2017	KW13	0,81	2,41	0,14	27,03	17,10
	PN06	09.05.2017	KW19	0,44	1,33	0,08	14,58	12,27
	PN07	06.06.2017	KW23	0,34	1,41	0,05	15,09	8,37
	PN08	11.07.2017	KW28	0,39	1,89	0,06	25,08	10,35
	PN09	19.09.2017	KW38	0,68	4,65	0,10	31,20	16,83
	PN10	24.10.2017	KW43	0,38	1,96	0,05	24,72	10,32

Tabelle 31: Schwebstoffproben Standort S-Mühlhausen am Neckar.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(mg/kg)	DTPMP /(mg/kg)	EDTMP /(mg/kg)	HEDP /(mg/kg)	PBTC /(mg/kg)
Schwebstoffe vor Einleit-stelle	PN01	02.08.2016	KW31	0,74	4,86	0,38	9,18	20,91
	PN02	04.10.2016	KW40	<BG	3,65	<BG	1,46	0,89
	PN03	22.11.2016	KW47	0,12	2,58	0,04	6,24	6,90
	PN04	14.02.2017	KW07	0,09	1,91	0,10	5,61	4,89
	PN05	28.03.2017	KW13	0,07	1,93	0,09	6,12	3,99
	PN06	09.05.2017	KW19	0,62	2,93	0,17	15,15	11,16
	PN07	06.06.2017	KW23	0,14	1,87	0,12	12,24	5,58
	PN08	11.07.2017	KW28	<BG	0,99	0,10	2,35	6,42
	PN09	19.09.2017	KW38	0,06	6,87	0,17	4,02	8,82
	PN10	24.10.2017	KW43	1,26	9,33	0,38	123,30	53,10
Schwebstoffe nach Einleit-stelle	PN01	02.08.2016	KW31	1,39	3,54	0,25	24,84	16,35
	PN02	04.10.2016	KW40	0,08	2,51	0,07	11,07	4,05
	PN03	22.11.2016	KW47	0,21	2,44	0,10	9,15	7,68
	PN04	14.02.2017	KW07	0,07	1,55	0,03	6,21	0,91
	PN05	28.03.2017	KW13	0,20	3,42	0,24	8,13	11,85
	PN06	09.05.2017	KW19	0,58	2,83	0,20	13,74	11,37
	PN07	06.06.2017	KW23	0,21	2,24	0,10	4,47	2,44
	PN08	11.07.2017	KW28	0,08	1,77	0,15	10,89	13,41
	PN09	19.09.2017	KW38	0,05	8,91	0,17	7,38	10,44
	PN10	24.10.2017	KW43	0,98	9,84	0,30	102,90	40,20

Tabelle 32: Feststoffproben KA-Zulauf Standort S-Mühlhausen am Neckar.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(mg/kg)	DTPMP /(mg/kg)	EDTMP /(mg/kg)	HEDP /(mg/kg)	PBTC /(mg/kg)
Feststoffe Kläranlagen-zulauf	PN01	02.08.2016	KW31	8,64	4,39	1,91	180,60	40,14
	PN03	22.11.2016	KW47	7,23	15,81	2,10	170,40	27,33
	PN04	14.02.2017	KW07	15,96	312,00	4,32	720,00	83,70
	PN05	28.03.2017	KW13	13,86	56,70	1,66	360,00	51,60
	PN06	09.05.2017	KW19	18,52	56,90	0,88	543,10	58,97
	PN07	06.06.2017	KW23	16,98	36,60	0,47	582,00	35,10
	PN08	18.07.2017	KW28	21,42	119,70	0,62	2340,00	73,80
	PN09	19.09.2017	KW38	14,43	150,00	1,46	591,00	36,00
	PN10	24.10.2017	KW43	21,30	132,00	2,94	768,00	74,70

11.3.2 Messwerte der Phosphonate: S-Möhringen an der Körsch

Tabelle 33: Abwasserproben Standort S-Möhringen an der Körsch.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(µg/L)	DTPMP /(µg/L)	EDTMP /(µg/L)	HEDP /(µg/L)	PBTC /(µg/L)
Kläranlagen-Zulauf	PN01	12.12.2016	KW50	1,2	56,8	1,3	127,0	53,7
	PN02	31.01.2017	KW05	7,1	30,6	10,6	60,4	21,9
	PN03	29.03.2017	KW13	3,4	14,1	<BG	140,0	93,1
	PN04	02.05.2017	KW18	4,6	24,9	<BG	124,0	37,6
	PN05	07.06.2017	KW23	3,8	34,5	1,4	178,0	79,7
	PN06	11.07.2017	KW28	2,0	15,0	<BG	86,0	59,0
	PN07	16.08.2017	KW33	6,5	47,3	<BG	157,0	60,1
	PN08	19.09.2017	KW38	6,6	45,2	<BG	178,0	41,7
	PN09	24.10.2017	KW43	<BG	43,2	<BG	195,0	74,7
	PN10	28.11.2017	KW48	4,8	24,4	<BG	133,0	41,8
Ablauf Vor-klärung	PN01	12.12.2016	KW50	1,5	59,1	1,7	160,0	66,7
	PN02	31.01.2017	KW05	6,6	30,8	4,7	87,0	24,6
	PN03	29.03.2017	KW13	2,6	18,7	<BG	98,5	76,1
	PN04	02.05.2017	KW18	4,2	24,1	<BG	88,5	29,9
	PN05	07.06.2017	KW23	3,3	62,5	2,0	218,0	79,9
	PN06	11.07.2017	KW28	4,5	37,4	2,0	129,0	57,1
	PN07	16.08.2017	KW33	8,6	56,3	1,2	154,0	67,4
	PN08	19.09.2017	KW38	5,8	53,4	<BG	138,0	38,0
	PN09	24.10.2017	KW43	No IS	42,3	1,3	180,0	76,7
	PN10	28.11.2017	KW48	3,2	27,2	<BG	105,0	43,5
Ablauf Nach-klärung	PN01	12.12.2016	KW50	<BG	<BG	<BG	20,1	10,0
	PN02	31.01.2017	KW05	<BG	<BG	<BG	25,8	13,8
	PN03	29.03.2017	KW13	<BG	0,3	<BG	16,1	10,0
	PN04	02.05.2017	KW18	<BG	<BG	<BG	31,0	8,0
	PN05	07.06.2017	KW23	<BG	2,5	<BG	20,0	10,9
	PN06	11.07.2017	KW28	<BG	2,0	<BG	18,5	12,7
	PN07	16.08.2017	KW33	<BG	2,2	<BG	17,5	9,9
	PN08	19.09.2017	KW38	<BG	5,4	<BG	21,8	5,6
	PN09	24.10.2017	KW38	<BG	3,3	<BG	19,8	12,2
	PN10	28.11.2017	KW43	<BG	3,6	<BG	19,8	8,9

Tabelle 34: Flusswasserproben Standort S-Möhringen an der Körsch.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(µg/L)	DTPMP /(µg/L)	EDTMP /(µg/L)	HEDP /(µg/L)	PBTC /(µg/L)
Flusswasser vor Einleit-stelle	PN01	12.12.2017	KW50	<BG	<BG	<BG	0,2	<BG
	PN02	31.01.2017	KW05	<BG	0,1	<BG	0,9	<BG
	PN03	29.03.2017	KW13	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
	PN04	02.05.2017	KW18	<BG	0,6	<BG	0,9	<BG
	PN05	07.06.2017	KW23	<BG	0,2	<BG	0,5	0,1
	PN06	11.07.2017	KW28	<BG	0,3	<BG	1,2	0,2
	PN07	16.08.2017	KW33	<BG	0,2	<BG	0,2	<BG
	PN08	19.09.2017	KW38	<BG	0,1	<BG	0,1	<BG
	PN09	24.10.2017	KW43	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
	PN10	28.11.2017	KW48	<BG	<BG	<BG	0,3	<BG
Flusswasser nach Einleit-stelle	PN01	12.12.2017	KW50	<BG	0,4	<BG	18,7	9,0
	PN02	31.01.2017	KW05	<BG	0,9	<BG	24,3	13,4
	PN03	29.03.2017	KW13	<BG	0,3	<BG	11,1	7,5
	PN04	02.05.2017	KW18	<BG	0,3	<BG	28,2	6,7
	PN05	07.06.2017	KW23	<BG	0,3	<BG	14,7	11,0
	PN06	11.07.2017	KW28	<BG	0,4	<BG	10,1	10,6
	PN07	16.08.2017	KW33	<BG	1,2	<BG	16,5	9,4
	PN08	19.09.2017	KW38	<BG	0,3	<BG	14,2	4,1
	PN09	24.10.2017	KW43	<BG	0,5	<BG	13,9	10,2
	PN10	28.11.2017	KW48	<BG	0,4	<BG	14,0	6,4

Tabelle 35: Sedimentproben Standort S-Möhringen an der Körsch.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(mg/kg)	DTPMP /(mg/kg)	EDTMP /(mg/kg)	HEDP /(mg/kg)	PBTC /(mg/kg)
Sediment vor Einleitstelle	PN01	12.12.2016	KW50	0,04	0,29	0,01	3,15	0,21
	PN02	31.01.2017	KW05	<BG	0,05	<BG	2,03	0,14
	PN03	29.03.2017	KW13	<BG	0,18	<BG	2,72	0,17
	PN04	02.05.2017	KW18	0,08	0,34	<BG	4,26	0,39
	PN05	07.06.2017	KW23	<BG	0,59	<BG	2,23	0,11
	PN06	11.07.2017	KW28	<BG	0,32	<BG	1,24	0,21
	PN07	16.08.2017	KW33	<BG	0,38	<BG	1,93	0,13
	PN08	19.09.2017	KW38	0,04	0,77	<BG	2,90	0,27
	PN09	24.10.2017	KW43	<BG	1,01	<BG	3,00	0,25
	PN10	28.11.2017	KW48	0,03	0,88	<BG	2,73	0,24
Sediment nach Einleit-stelle	PN01	12.12.2016	KW50	0,46	1,28	0,09	9,66	7,08
	PN02	31.01.2017	KW05	0,38	1,25	0,04	10,08	6,39
	PN03	29.03.2017	KW13	0,38	1,21	0,05	15,15	5,88
	PN04	02.05.2017	KW18	0,73	3,06	0,09	30,60	7,98
	PN05	07.06.2017	KW23	0,83	3,24	0,09	38,40	8,97
	PN06	11.07.2017	KW28	0,54	2,39	0,05	23,64	5,61
	PN07	16.08.2017	KW33	0,41	1,45	0,03	18,45	4,86
	PN08	19.09.2017	KW38	0,44	2,69	0,04	22,11	3,90
	PN09	24.10.2017	KW43	0,55	2,39	0,05	30,90	6,27
	PN10	28.11.2017	KW48	0,37	1,46	0,04	19,47	4,38

Tabelle 36: Schwebstoffproben Standort S-Möhringen an der Körsch.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(mg/kg)	DTPMP /(mg/kg)	EDTMP /(mg/kg)	HEDP /(mg/kg)	PBTC /(mg/kg)
Schwebstoffe vor Einleit-stelle	PN01	12.12.2016	KW50	0,11	1,01	<BG	0,94	1,40
	PN02	31.01.2017	KW05	0,18	2,88	<BG	4,23	0,77
	PN03	29.03.2017	KW13	0,03	1,37	0,04	3,06	0,62
	PN04	02.05.2017	KW18	0,12	6,11	<BG	5,69	1,16
	PN05	07.06.2017	KW23	1,05	7,44	0,26	13,05	3,06
	PN06	11.07.2017	KW28	0,51	1,47	0,11	6,33	0,51
	PN07	16.08.2017	KW33	2,77	24,63	0,45	83,10	6,48
	PN08	19.09.2017	KW38	<BG	1,46	<BG	1,29	0,38
	PN09	24.10.2017	KW43	0,29	140,70	<BG	56,40	3,78
	PN10	28.11.2017	KW48	0,53	23,94	<BG	53,10	2,23
Schwebstoffe nach Einleit-stelle	PN01	12.12.2016	KW50	0,41	2,67	0,04	5,28	8,10
	PN02	31.01.2017	KW05	1,25	3,00	0,30	37,20	20,37
	PN03	29.03.2017	KW13	0,73	3,69	0,21	27,78	32,10
	PN04	02.05.2017	KW18	1,22	7,23	0,30	47,40	14,04
	PN05	07.06.2017	KW23	0,94	5,25	0,46	56,40	24,99
	PN06	11.07.2017	KW28	3,54	8,37	0,46	168,00	158,70
	PN07	16.08.2017	KW33	22,86	58,20	3,39	945,00	155,40
	PN08	19.09.2017	KW38	46,20	43,50	6,84	1401,00	210,60
	PN09	24.10.2017	KW43	6,87	3,87	1,31	870,00	117,60
	PN10	28.11.2017	KW48	30,30	38,70	4,83	1203,00	175,20

Tabelle 37: Feststoffproben KA-Zulauf Standort S-Möhringen an der Körsch.

Matrix	Probe-nahme	Datum	Kalender-woche	ATMP /(mg/kg)	DTPMP /(mg/kg)	EDTMP /(mg/kg)	HEDP /(mg/kg)	PBTC /(mg/kg)
Feststoffe Kläranlagen-zulauf	PN01	12.12.2016	KW50	13,83	27,39	1,62	149,10	41,70
	PN02	31.01.2017	KW05	15,78	289,50	3,45	402,00	14,55
	PN03	29.03.2017	KW13	11,07	45,00	0,87	375,00	41,40
	PN04	02.05.2017	KW18	6,00	19,65	<BG	307,50	13,05
	PN05	07.06.2017	KW23	10,29	37,80	1,18	627,00	46,20
	PN06	11.07.2017	KW28	11,73	116,70	5,04	546,00	28,23
	PN07	16.08.2017	KW33	12,84	71,40	0,89	639,00	28,14
	PN08	19.09.2017	KW38	10,11	150,00	1,37	681,00	19,38
	PN09	31.10.2017	KW43	8,67	68,40	1,49	699,00	37,50
	PN10	28.11.2017	KW48	9,33	81,90	0,63	555,00	15,45

12 Quellenverzeichnis

Ahlgrena J, Reitzel K, Danielsson R, Gogoll A, Rydin E (**2006**): Biogenic phosphorus in oligotrophic mountain lake sediments: Differences in composition measured with NMR spectroscopy, Water Res., 40:3705-3712.

Alder A C, Siegrist H, Gujer W, Giger W (**1989**): Behaviour of NTA and EDTA in biological wastewater treatment, Water Res., 24(6):733-742.

Allard A S, Renberg L, Neilson A H (**1996**): Absence of ^{14}CO2 evolution from ^{14}C-labelled EDTA and DTPA and the sediment-water partition ratio, Chemosphere, 33(4):577-583.

Ammann A A (**2002a**): Determination of strong binding chelators and their metal complexes by anion-exchange chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 947(2):205-216.

Ammann A A (**2002b**): Speciation of heavy metals in environmental water by ion chromatography coupled to ICP-MS, Anal. Bioanal. Chem., 372(3):448-452.

Bai X, Ding S, Fan C, Liu T, Shi D, Zhang L (**2009**): Organic phosphorus species in surface sediments of a large, shallow, eutrophic lake, Lake Taihu, China, Environmental Pollution, 157:2507-2513.

Bauer K H, Knepper T P, Maes A, Schatz V, Voihsel M (**1999**): Analysis of polar organic micropollutants in water with ion chromatography-electrospray mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 837(1-2):117-128.

Benitez-Nelson C R, O'Neill L, Kolowith L C, Pellechia P, Thunell R (**2004**): Phosphonates and particulate organic phosphorus cycling in an anoxic marine basin, Limnol. Oceanogr., 49(5):1593-1604.

Bernabé-Zafón V, Micó-Tormos A, Simó-Alfonso E F, Ramis-Ramos G (**2007**): Rapid characterization of alkylpolyphosphonates by CZE with indirect photometric and mass spectrometric detection, Electrophoresis, 28(3):341-352.

Black S N, Bromley L A, Davey R J, Dobbs B, Rout J E (**1991**): Interactions at the organic/inorganic interface: binding motifs for phosphonates at the surface of barite crystals, J. Chem. Soc. Faraday Trans., 87:3409-3414.

BMU (**1991**), Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit: Erklärung zur Reduzierung der Gewässerbelastung durch EDTA, Bek. d. BMU v. 31.7.1991 – WA I 3 – 23 011/15, https://iho.de/themen/selbstverpflichtungen/213-erklaerung-zur-reduzierung-der-gewaesserbelastung-durch-edta (Zugriff: Oktober 2015).

Bordas F, Bourg A C M (**1998**): Effect of Complexing Agents (EDTA and ATMP) on the Remobilization of Heavy Metals from a Polluted River Sediment, Aquatic Geochemistry, 4(2):201-214.

Bowman R A (**1989**): A Sequential Extraction Procedure with Concentrated Sulfuric Acid and Dilute Base for Soil Organic Phosphorus, Soil Science Society of America Journal, 53(2):362-366.

Bowman R A and Moir J O (**1993**): Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus, Soil Science Society of America Journal, 57(6):1516-1518.

Cade-Menun B J, Liu C W, Nunlist R, Mc Coll J G (**2002**): Soil and litter phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy - extractants, metals, and phosphorus relaxation times, J. Environ. Qual., 31(2):457-465.

Cade-Menun B J, Preston C M (**1996**): A comparison of soil extraction procedures for ^{31}P NMR spectroscopy, Soil Science, 161(11):770-785.

Cembella A D, Antia N J (**1986**): The determination of phosphonates in seawater by fractionation of the total phosphorus, Marine Chemistry, 19(3):205-210.

Chester T L (**1980**): Dual flame photometric phosphorus-selective detector for high performance liquid chromatography, Anal. Chem., 52(11):1621-1624.

Chirby D, Franck S, Troutner D E (**1988**): Adsorption of ^{153}Sm-EDTMP on calcium hydroxyapatite, Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Part A, 39:495-499.

Condron L M, Frossard E, Tiessen H, Newmans R H, Stewart J W B (**1990**): Chemical nature of organic phosphorus in cultivated and uncultivated soils under different environmental conditions, European Journal of Soil Science, 41(1):41-50.

Daley-Yates P T, Gifford L A, Hoggarth C R (**1989**): Assay of 1-hydroxy-3-aminopropylidene-1,1-bisphosphonate and related bisphosphonates in human urine and plasma by high-performance ion chromatography, J. Chromatogr., 490(2):329-338.

Day G M, Hart B T, McKelvie I D, Beckett R (**1997**): Influence of natural organic matter on the sorption of biocides onto goethite. II. Glyphosate, Environ. Technol., 18(8):781-794

DIN 15040:**2014**: Produkte zur Aufbereitung von Wasser für den menschlichen Gebrauch - Antiscalants für Membranen - Phosphonsäuren und deren Salze. Beuth Verlag GmbH, Berlin.

DIN 38402-11:**2009**: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Allgemeine Angaben (Gruppe A) – Teil 11: Probenahme von Abwasser (A 11). Beuth Verlag GmbH, Berlin.

DIN 38409-2:**1987**-03: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H); Bestimmung der abfiltrierbaren Stoffe und des Glührückstandes (H 2). Beuth Verlag GmbH, Berlin.

DIN 6878:**2004**: Bestimmung von Phosphor - Photometrisches Verfahren mittels Ammoniummolybdat, Wasserbeschaffenheit. Beuth Verlag GmbH, Berlin.

EPA (**1999**): U.S. Environmental Protection Agency, Hautman D P, Munch D J, Eaton A D, Haghani A W, Method 314.0: Determination of perchlorate in drinking water using ion chromatography, 1999, https://www.o2si.com/docs/epa-method-314.0.pdf (Zugriff: 15.10.2015).

EPA (**2015**): European Phosphonates Association - input to the revision of the EU Ecolabels related to detergents, 2015, http://www.phosphonates.org/images/Images/Documents/ EPA%20phosphonate%20input%20detergent%20Ecolabel.pdf (Zugriff: Oktober 2015).

Felber H, Hegetschweiler K, Muller M, Odermatt, R, Wampfler B (**1995**): Quantitative Bestimmung von Phosphonaten in Waschmitteln, Chimia, 49(6):179-181.

Fischer K (**1991**): Sorption of chelating agents (HEDP and NTA) onto mineral phases and sediments in aquatic model systems, Part I: Sorption onto clay minerals, Chemosphere, 22(1–2):15-27.

Fischer K (**1992**): Sorption of chelating agents (HEDP and NTA) onto mineral phases and sediments in aquatic model systems, Part II: Sorption onto sediments and sewage sludges, Chemosphere, 24(1):51-62.

Fischer K (**2002**): Distribution and elimination of HEDP in aquatic test systems, Water Res., 27(3):485-493.

Fitzgerald E A (**1983**): Separation of Aminoalkylphosphonic Acids by Isotachophoresis, J. Chromatogr. Sci., 21(4):188-189.

Flesch G, Hauffe S A (**1989**): Determination of the bisphosphonate pamidronate disodium in urine by pre-column derivatization with fluorescamine, high-performance liquid chromatography and fluorescence detection, J. Chromatogr., 489(2):446-451.

Forlani G, Prearo V, Wieczorek D, Kafarski P, Lipok J (**2011**): Phosphonate degradation by Spirulina strains: Cyanobacterial biofilters for the removal of anticorrosive polyphosphonates from wastewater, Enzyme and Microbial Technology, 48(3):299-305.

Frigge E, Jackwerth E (**1991**): Preconcentration and determination of organophosphonic: application to natural waters, Anal. Chim. Acta, 254(1–2):65-73.

Fürhacker M, Lesueur C, Pfeffer M, Popp M, Mentler A (**2005**): Phosphonate – AMPA (Aminomethylphosphonsäure), Herkunftsabschätzung, Umweltkonzentrationen und Photolyseabbau. Endbericht, Wien.

Gillard R D, Newman P D, Collins J D (**1989**): Speciation in aqueous solutions of di-ethylenetriamine-*N,N,N',N'',N''*-pentamethylenephosphonic acid and some metal complexes, Polyhedron, 8(16):2077-2086.

Gledhill W E, Feijtel T C (**1992**): Environmental properties and safety assessment of organic phosphonates used for detergent and water treatment applications. In: The Handbook of Environmental Chemistry, Hutzinger O (Ed.). Springer, Berlin, Vol. 3(F):260-285.

Groß R, Leisewitz A, Moch K (**2012**): Untersuchung der Einsatzmengen von schwer abbaubaren organischen Inhaltsstoffen in Wasch- und Reinigungsmitteln im Vergleich zum Einsatz dieser Stoffe in anderen Branchen im Hinblick auf den Nutzen einer Substitution. Im Auftrag des Umweltbundesamtes. Berichtsnummer UBA-FB 3709 65 430, http://www.bmub.bund.de/fileadmin/Daten_BMU/Pools/Forschungsdatenbank/fkz_3709_65_430_wasch_und_reinigungsmittel_bf.pdf (Zugriff: 01.06.2012).

Günther K, Henze W, Umland F (**1987**): Mobilisationsverhalten von Thallium und Cadmium in einem Flußsediment, Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie, 327:301-303.

Happel O, Armbruster D, Müller U (**2017**): Verhalten von Phosphonaten als Antiscalants bei der Membranfiltration, Abschlussbericht zum DVGW-F&E-Vorhaben W 201506, DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), Karlsruhe, TZW-Schriftenreihe Band 78 (ISSN 1434-5765).

Happel O, Brauch H-J, Schmidt C K, Kramer M (**2012**): Transformation von *N,N*-Dimethylsulfamid bei der Chlor-Desinfektion, Energie Wasser Praxis, 11:48-52.

Happel O, Scheurer M, Schmutz B, Storck F R, Wülser R, Brauch H-J (**2014**): Photochemische Umsetzung des künstlichen Süßstoffs Acesulfam unter Labor- und Praxisbedingungen, Vom Wasser – Das Journal, 112(3):83-85.

HERA (**2004**): Human & Environmental Risk Assessment on ingredients of European household cleaning products – HERA (Hrsg.): Phosphonates, Draft, 2004, http://www.heraproject.com/files/30-f-04-%20hera%20phosphonates%20full%20web%20wd.pdf (Zugriff: Oktober 2015).

Hinedi Z R, Chang A C, Lee R W K (**1987**): Characterization of Phosphorus in Sludge Extracts Using Phosphorus-31 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Journal of Environmental Quality, 18(3):323-329.

Jung A, Bisaz S, Fleisch H (**1973**): The binding of pyrophosphate and two diphosphonates by hydroxyapatite crystals, Calcif. Tissue Res., 11:269-280.

Kari F G, Giger W (**1996**): Speciation and fate of ethylenediaminetetraacetate (EDTA) in municipal wastewater treatment, Water Res., 30(1):122-134.

Klinger J (**1997**): Analytische Bestimmung organischer Phosphonsäuren und deren Verhalten im Prozess der Trinkwasseraufbereitung. Dissertation Technische Universität Dresden.

Klinger J, Sacher F, Brauch H-J, Maier D (**1997**): Determination of Organic Phosphonates in Aqueous Samples Using Liquid Chromatography/Particle- beam Mass Spectrometry, Acta Hydrochim. Hydrobiol., 25(2):79-86.

Klinger J, Sacher F, Brauch H-J, Maier D, Worch E (**1998**): Verhalten organischer Phosphonsäuren bei der Trinkwasseraufbereitung, Vom Wasser, 91:15-27.

Knepper T P, Driemler J, Maes A, Müller J, Soßdorf D (**2002**): Einträge synthetischer Komplexbildner in die Gewässer. Im Auftrag des Umweltbundesamtes. Berichtsnummer UBA-FB 299 24 284, http://www.umweltbundesamt.de /sites/default/files/medien/publikation/long/2066.pdf (Zugriff: 01.06.2015).

Kolowith L C, Ingall E D, Benner R (**2001**): Composition and cycling of marine organic phosphorus, Limnol. Oceanogr., 46(2):309-320.

Lange G, Lecher K, (**1993**): Gewässerregelung, Gewässerpflege, Naturnaher Ausbau und Unterhaltung von Fließgewässern, 3. Auflage, Berlin: Parey, ISBN 978-3-528-02581-6.

Li C Y, Gao L Z, Zhao G H, Kang J W, He H H (**1997**): Determination of stability constants of Cu(II), Fe(III) and Pb(II) chelates with *N,N,N',N'*-ethylenediamine tetrakis (methylenephosphonic acid) by reversed-phase ion-pair chromatography, Chromatographia, 46(9–10):489-494.

Liggett S J (**1973**): Determination of ethane-1-hydroxy-1,1-diphosphonic acid (EHDP) in human feces and urine, Biochem. Med., 7(1):68-77.

Liggett S J, Libby R A (**1970**): Spectrotitration of ethane-1-hydroxy-1,1-diphosphonic acid (EHDP(tm)) with thorium diaminocyclohexanetetra-acetate, Talanta, 17(11):1135-1140.

Liu Y, Gao L, Yu L, Guo J (**2000**): Adsorption of PBTCA on Alumina Surfaces and Its Influence on the Fractal Characteristics of Sediments, Journal of Colloid and Interface Science, 227:164-170.

Lovdahl M J, Pietrzyk D J (**1999**): Anion-exchange separation and determination of bisphosphonates and related analytes by post-column indirect fluorescence detection, Journal of Chromatography A, 850(1-2):143-152.

Matthus E, de Oude N T, Bolte M, Lemaire J (**1989**): Photodegradation of ferric ethylenediaminetetra(methylenephosphonicacid) (EDTMP) in aqueous solution, Water Res., 23(7):845-851.

Meek S E, Pietrzyk D (**1988**): Liquid chromatographic separation of phosphorus oxo acids and other anions with post-column indirect fluorescence detection by aluminum-morin, Anal. Chem., 60(14):1397-1400.

Metzner G (**1990**): Verhalten von organischen Komplexbildnern auf Phosphonsäurebasis in Kläranlagen. Umweltverträglichkeit von Wasch- und Reinigungsmitteln, Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flußbiologie 44, 323-336, R. Oldenbourg Verlag GmbH, München, ISBN 3-486-26198-3.

Moedritzer K, Irani R R (**1966**): The Direct Synthesis of α-Aminomethylphosphonic Acids. Mannich-Type Reactions with Orthophosphorous Acid, J. Org. Chem., 31(5):1603-1607.

Morillo E, Undabeytia T, Maqueda C (**1997**): Adsorption of glyphosate on the clay mineral montmorillonite: effect of Cu(II) in solution and adsorbed on the mineral, Environ. Sci. Technol., 31:3588-3592.

Müller G, Steber J, Waldhoff H (**1984**): Zum Einfluß von Hydroxyethandiphosphonsäure auf die Phosphatelimination mit $FeCl_3$ und die Remobilisierung von Schwermetallen: Ergebnisse von Labor- und Feldversuchen, Vom Wasser, 63:63-78.

Nowack B (**1997**): Determination of phosphonates in natural waters by ion-pair high-performance liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 773(1-2):139-146.

Nowack B. (**1998**): The behavior of phosphonates in wastewater treatment plants of Switzerland, Water Res., 32(4):1271-1279.

Nowack B (**2002a**): Aminopolyphosphonate removal during wastewater treatment, Water Res., 36:4636-4642.

Nowack B (**2002b**): Determination of phosphonic acid breakdown products by high-performance liquid chromatography after derivatization, Journal of Chromatography A, 942(1–2):185-190.

Nowack B (**2002c**): Environmental chemistry of aminopolycarboxylate chelating agents, Environ. Sci. Technol., 36:4009-4016.

Nowack B (**2003**): Environmental chemistry of phosphonates, Water Res., 37:2533-2546.

Nowack B, Kari F G, Hilger S U, Sigg L (**1996**): Determination of dissolved and adsorbed EDTA species in water and sediments by HPLC, Anal. Chem., 68:561-566.

Nowack B, Stone A T (**1999a**): Adsorption of Phosphonates onto Goethite-Water Interface, Journal of Colloid and Interface Science, 214(1):20-30.

Nowack B, Stone A T (**1999b**): The Influence of metal ions on the adsorption of phosphonates onto goethite, Environ. Sci. Technol., 3:3627-3633.

Nowack B, Stone A T (**2000**): Degradation of nitrilotris(methylenephosphonic acid) and related (amino)phosphonate chelating agents in the presence of manganese and molecular oxygen, Environ. Sci. Technol., 34(22):4759-4765.

Oromí-Farrús M, Minguell J M, Oromi N, Canela-Garayoad R (**2013**): A Reliable Method for Quantification of Phosphonates and Their Impurities by ^{31}P NMR, Analytical Letters, 46(12):1910-1921.

Ortega-Gadea S, Bernabé-Zafón V, Simó-Alfonso E F, Ochs C, Ramis-Ramos G (**2006**): Characterization of industrial alkylpolyphosphonates by infusion electrospray ionization-ion trap mass spectrometry with identification of the impurities by tandem capillary zone electrophoresis, J. Mass Spectrom., 41(1):23-33.

Padilla-Sánchez J A, Plaza-Bolaños P, Romero-González R, Grande-Martínez A, Thurman E M, Garrido-Frenich A (**2012**): Innovative determination of polar organophosphonate pesticides based on high-resolution Orbitrap mass spectrometry, J. Mass Spectrom., 47(11):1458-1465.

Popov K, Rönkkömäki H, Lajunen H L (**2001**): Critical evaluation of stability constants of phosphonic acids (IUPAC Technical Report), Pure and Applied Chemistry, 73(10):1641-1677.

Prutthiwanasan B, Suntornsuk L (**2010**): Rapid analysis of alkylphosphonate drugs by capillary zone electrophoresis using indirect ultraviolet detection, J. Sep. Sci., 33(2):228-34.

Reichert J K (**1995**): Organophosphonsäuren - Bewertung der Leistungsfähigkeit biologischer Abwasserbehandlungsanlagen zu ihrer Eliminierung und Beurteilung ihres Umweltgefährdungspotentials, Statusreport Deutsche Bundesstiftung Umwelt, AZ 04225/01.

Rott E, Steinmetz H, Metzger J W (**2018**): Organophosphonates: A review on environmental relevance, biodegradability and removal in wastewater treatment plants, Science of the Total Environment, 615:1176-1191.

Riches J, Morton I, Read R W, Black R M (**2005**): The trace analysis of alkyl alkylphosphonic acids in urine using gas chromatography–ion trap negative ion tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 816(1–2):251-258.

Scheurer M, Godejohann M, Wick A, Happel O, Ternes T, Brauch H-J, Ruck W, Lange F T (**2012**): Structural elucidation of main ozonation products of the artificial sweeteners cyclamate and acesulfame, Envrion. Sci. Poll. Res., 19:1107-1118.

Scheurer M, Schmutz B, Happel O, Brauch H-J, Wülser R, Storck F R (**2014**): Transformation of the artificial sweetener acesulfame by UV light, Science of the Total Environment, 481:425-432.

Schmidt C K, Brauch H-J (**2005**): Analysis of Aminopolycarboxylates and Organophosphonates. In: Biogeochemistry of Chelating Agents, Nowack B and VanBriesen J M (Ed), American Chemical Society, Chapter 4:76-107.

Schmidt C K, Raue B, Brauch H-J, Sacher F (**2013**): Trace-level analysis of phosphonates in environmental waters by ion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry, International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 94(4):385-398.

Schowanek D, Verstraete W (**1990**): Phosphonate utilization by bacterial cultures and enrichments from environmental samples, Applied and Environmental Microbiology, 56(4):895-903.

SES (**2009**): Das Hauptklärwerk Mühlhausen (Faltblatt). Landeshauptstadt Stuttgart, Tiefbauamt, Eigenbetrieb Stadtentwässerung Stuttgart (SES).

SES (**2013**). Klärwerk Möhringen Kurzbeschreibung (Kurzinfo). Stadtentwässerung Stuttgart (SES).

Shamsi S A, Danielson N D (**1995**): Ribonucleotide Electrolytes for Capillary Electrophoresis of Polyphosphates and Polyphosphonates with Indirect Photometric Detection, Anal. Chem., 67(11):1845-1852.

Sillanpää M, Rämö J (**2001**): Adsorption of metal–ethylenediaminetetraacetic acid chelates onto lake sediment, Chemosphere, 45(6–7):881-885.

Snyder W R, Law J H (**1970**): A quantitative determination of phosphonate phosphorus in naturally occurring aminophosphonates, Lipids, 5(10):800-802.

Steber J, Wierich P (**1986**): Properties of hydroxyethane diphosphonate affecting its environmental fate: degradability, sludge adsorption, mobility in soils, and bioconcentration, Chemosphere, 15:929-945.

Steber J, Wierich P (**1987**): Properties of aminotris(methylenephosphonate) affecting its environmental fate: degradability, sludge adsorption, mobility in soils, and bioconcentration, Chemosphere, 16(6):1323-1337.

Stover F S, Wagenknecht J H (**1982**): Determination of organic phosphonates by isotachophoresis, Anal. Chim. Acta, 135(2):347-350.

Studnik H, Liebsch S, Forlani G, Wieczorek D, Kafarski P, Lipok J (**2015**): Amino polyphosphonates – chemical features and practical uses, environmental durability and biodegradation, N. Biotechnol., 32(1):1-6.

Taulli A T (**1967**): New chromogenic system for organophosphinic acid detection with TLC, Anal. Chem., 39(14):1901-1901.

Tewari K M J, van Stroe-Bieze S A M (**1997**): Analysis of amine-containing phosphonates in detergent powders by anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection, Journal of Chromatography A, 771:155-161.

Thompson R, Grinberg N, Perpall H, Bicker G, Tway P (**1994**): Separation of Organophosphonates by Ion Chromatography with Indirect Photometric Detection, J. Liquid Chromatogr., 17(11):2511-2531.

Tsai E W, Chamberlin S D, Forsyth R J, Bell C, Ip D P, Brooks M A (**1994**): Determination of bisphosphonate drugs in pharmaceutical dosage formulations by ion chromatography with indirect UV detection, J. Pharm. Biomed. Anal., 12(8):983-991.

Tschäbunin G, Fischer P, Schwedt G (**1989**): Zur Analytik von Polymethylenphosphonsäuren. I. Ionen-Chromatographie von Organophosphonsäuren, Fresenius Z. Anal. Chem., 333:111-116.

Tschabunin G, Fischer P, Schwedt G (**1989**): Zur Analytik von Polymethylenphosphonsäuren. II. Post-column-Derivatisierung nach

ionen-chromatographischer Trennung, Fresenius Z. Anal. Chem., 333:117-122.

Vaeth E, Sladek P, Kenar K (**1987**): Ionen-Chromatographie von Polyphosphaten und Phosphonaten, Fresenius Z. Anal. Chem., 329:584-589.

Varenne F, Bourdillon M, Meyer M, Lin Y, Brellier M, Baati R, Charbonnière L C, Wagner A, Doris E, Taran F, Hagège A (**2012**): Capillary electrophoresis–inductively coupled plasma-mass spectrometry hyphenation for the determination at the nanogram scale of metal affinities and binding constants of phosphorylated ligands, Journal of Chromatography A, 1229:280-287.

Voigt W, Winkler A, Kreher T, Liebsch S, Rudolph C (**2015**): Verfahren zur Herstellung hochreiner Aminoalkylenphosphonsäuren. DE 102014210378

Waldhoff H, Sladek P (**1985**): Autoanalyzer-System zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Phosphonsäuren, Fresenius Z. Anal. Chem., 320(2):163-168.

Weiss J, Hägele G (**1987**): Ionen-chromatographische Analyse anorganischer und organischer Komplexbildner, Fresenius Z. Anal. Chem., 328:46-50.

Wong D, Jandik P, Jones W R, Hagenaars A (**1987**): Ion chromatography of polyphosphonates with direct refractive index detection, J. Chromatogr., 389(1):279-285.

WSA (**2016**): E-Mail-Mitteilung am 20.07.2016 von Sonja Blanarsch (Wasserstraßen- und Schifffahrtsamt Stuttgart), Betreff: WG: Probenahmen im Neckar.

Xue H, Sigg L, Kari F G (**1995**): Speciation of EDTA in Natural Waters: Exchange Kinetics of Fe-EDTA in River Water, Environ. Sci. Technol., 29(1):59-68.

Xyla A G, Mikroyannidis J, Koutsoukos P G (**1992**): The inhibition of calcium carbonate precipitation in aqueous media by organophosphorous compounds, J. Colloid. Interface Sci., 153:537-551.

Yuzawa T, Watanabe C, Tsuge S, Freeman R R, Matherly R (**2009**): Rapid estimation of trace organophosphonate used as a scale inhibitor in aqueous systems by reactive pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 1216(27):5292-5295.

Zenobi M C, Rueda E H (**2012**): Ternary Surface Complex: Coadsorption of Cu^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+} and Nitrilotris(methylene phosphonic) acid onto boehmite, Química Nova, 35(3):505-509.