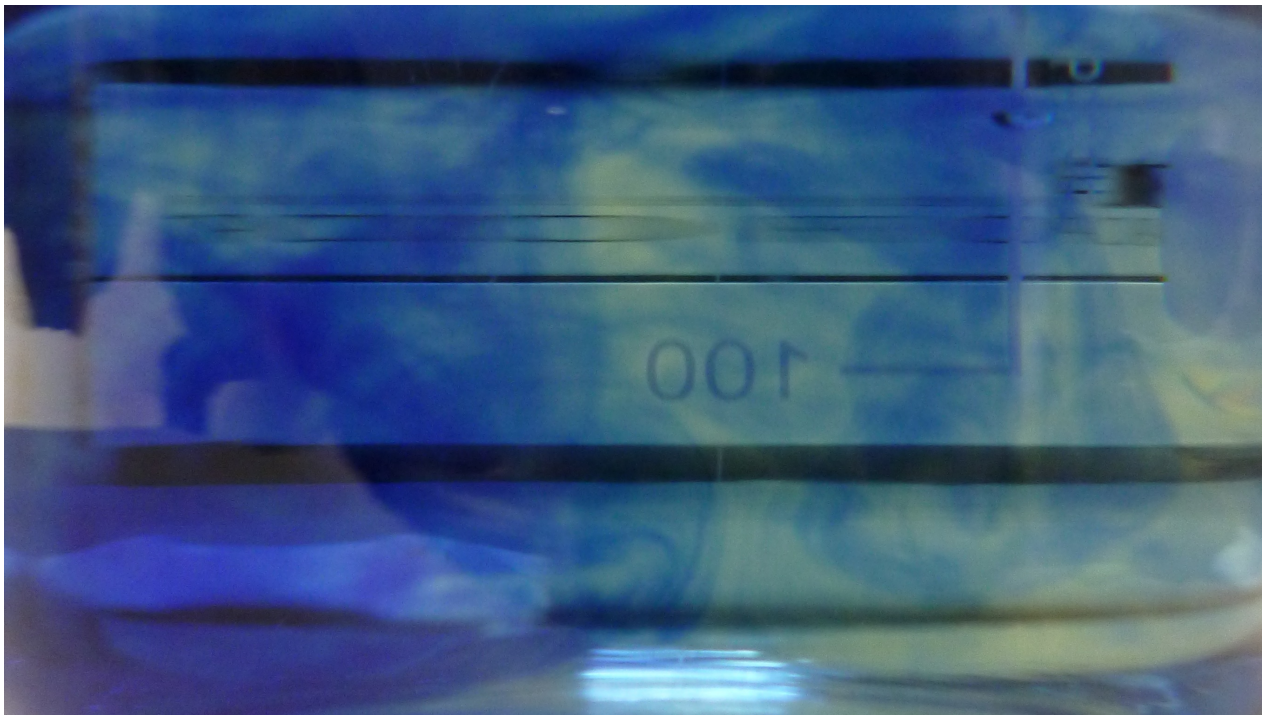
envilab
ANALYTIK AUS LEIDENSCHAFT

Testverfahren zur Beurteilung der Behandelbarkeit von Abwasser mit Ozon



Anleitung zur Durchführung der Laborversuche

Im Auftrag des VSA

(Verband Schweizer Abwasser- und Gewässerschutzfachleute)

VSA

Zofingen, im September 2015

Autoren:

Anna Zappatini, ENVILAB AG, Zofingen, anna.zappatini@envilab.ch

Christian Götz, ENVILAB AG, Zofingen, christian.goetz@envilab.ch

Auftraggeber:

Verband Schweizer Abwasser- und Gewässerschutzfachleute (VSA)

Pascal Wunderlin, VSA, pascal.wunderlin@vsa.ch

Fachexperte:

Urs von Gunten, Eawag, Dübendorf, urs.vongunten@eawag.ch

Projektbegleitung und Projektpartner:

Cornelia Kienle, Oekotoxzentrum

Hana Mestankova, Eawag

Sergio Santiago, Soluval Santiago

Suzanne Mettler, Envilab AG

Yael Schindler-Wildhaber, BAFU (ehem. EAWAG)

Begleitgruppe Testverfahren:

Adriano Joss, Eawag

Christian Abegglen, VSA

Cornelia Kienle, Oekotoxzentrum

Edith Durisch, AWEL

Mirco Weil, ECT

Pascal Wunderlin, VSA

Sergio Santiago, Soluval Santiago

Urs von Gunten (Vorsitz), Eawag

Yael Schindler-Wildhaber, BAFU

1 ZUSAMMENFASSUNG

Die Ozonung von Abwasser ist neben der Adsorption an Pulveraktivkohle eines der vielversprechendsten Verfahren für die Elimination von Mikroverunreinigungen aus dem Abwasser (Abegglen, et al., 2012; Abegglen, et al., 2009; Gälli, et al., 2009; Zimmermann, et al., 2011). Aus verschiedenen Untersuchungen ist bekannt, dass für gewisse Abwässer die Ozonung aufgrund der möglichen Bildung von unerwünschten Transformations- oder Oxidationsnebenprodukten problematisch sein könnte (Margot J., 2013; Escher, et al., 2008). An der Eawag wurde über die letzten Jahre ein Testverfahren im Labormassstab entwickelt, mit dessen Hilfe beurteilt werden kann, ob die Ozonung für ein bestimmtes Abwasser geeignet ist (Wunderlin et al., 2015).

Dieses Verfahren soll in Zukunft von unabhängigen Labors durchgeführt werden. Dafür durfte die Envilab AG im Auftrag des BAFU das Testverfahren bei sich testen. Damit dieses Verfahren nun im Detail allen interessierten Labors zur Verfügung steht, wurde im Auftrag des VSA (Verband Schweizer Abwasser- und Gewässerfachleute) eine Standardanweisung (SOP) verfasst werden.

Mit der vorliegenden SOP kann das modulare Testverfahren in jedem mit den verwendeten Methoden grundlegend vertrauten Labor durchgeführt werden. Als Interpretationshilfe zu den vorliegenden Resultaten, kann der Aqua&Gas Artikel „Behandelbarkeit von Abwasser mit Ozon - Testverfahren zur Beurteilung“ (Wunderlin, et al., 2015) herangezogen werden, oder der VSA kann direkt kontaktiert werden (Pascal Wunderlin, pascal.wunderlin@vsa.ch).

2 INHALTSVERZEICHNIS

3 Konzept 6

4 Methoden 8

4.1 Untersuchungskonzept 8

4.2 Material / Chemikalien 9

4.2.1 Allgemeines 9

4.2.2 Aufbau der Ozonungsanlage 9

4.2.3 Betrieb der Ozonanlage 10

4.2.4 Proben 10

4.2.5 Ozonung von grösseren Mengen an Abwasser zur weiteren Verwendung für Biotests etc 10

4.2.6 Ozonexposition 11

4.2.7 •OH-Radikal-Exposition 11

4.2.8 Reagenzien / Lösungen 12

4.3 Allgemeines zur Durchführung 13

4.4 Probenvorbereitung und -Lagerung 13

4.5 Aufbau der Ozonungsanlage 14

4.6 Herstellung einer Ozonstammlösung 16

4.7 Bestimmung der Konzentration der Ozonstammlösung und Berechnung der benötigten Menge Ozonstammlösung 17

4.8 Ozonung von Abwasser zur Weiterverwendung für die Analytik, Biotests, Bioabbau und Lagerversuch 20

4.9 Ozonexposition 21

4.10 •OH-Radikalexposition 26

4.11 Spurenstoffabbau 28

4.12 Oxidationsnebenprodukte 29

4.13 SPE für Biotests und Messung der Nitrosamine 29

4.14 Bioabbau und Lagerversuch 30

5 Analysen 31

5.1 DOC und Nitrit ... 31

5.2 Ozon ... 31

5.3 •OH-Radikale ... 32

5.4 Bromid und Bromat ... 32

5.5 Nitrosamine ... 33

5.6 Spurenstoffe ... 33

5.7 Biotests ... 33

6 Literaturverzeichnis 35

3 KONZEPT

Das Testverfahren zur Beurteilung der Behandelbarkeit von Abwasser mit Ozon besteht aus den folgenden Modulen (Abbildung **1**).

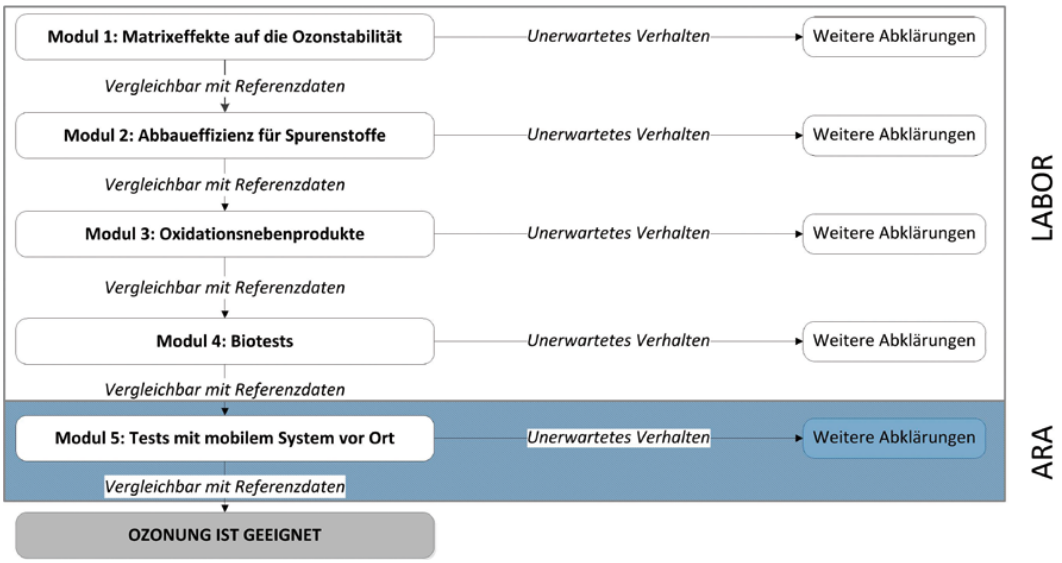


Abbildung **1**: Modularer Aufbau des Testverfahrens (Wunderlin, et al., 2015).

In einem ersten Modul wird das Verhalten von Ozon im entsprechenden Abwasser untersucht. Dazu gehören die Ozonexposition, wo die Abnahme von Ozon über die Zeit bestimmt wird, sowie die OH-Radikal-Exposition. Die Bildung von OH-Radikalen ist entscheidend, da einige Mikroverunreinigungen nicht von Ozon selber oxidiert werden können, sondern nur auf indirektem Weg über die durch das Ozon im Wasser gebildeten OH-Radikale.

In einem zweiten Modul wird der Abbau von Spurenstoffen untersucht. Dabei werden als Modellsubstanzen insbesondere Stoffe ausgewählt, welche hauptsächlich über OH-Radikale abgebaut werden, da solche, die rasch mit Ozon reagieren, ohnehin effizient abgebaut werden. Aus den Informationen des ersten und zweiten Moduls können Informationen über die benötigte Dosierung gewonnen werden, welche essentiell sind, um die Wirtschaftlichkeit einer potenziellen Ozonung auf einer Anlage abzuschätzen.

In einem dritten Modul werden die bekannten problematischen Oxidationsnebenprodukte Bromat und Nitrosamine untersucht. Die Bildung von Bromat und/oder von Nitrosaminen aus der Ozonung von Abwasser kann einen Ausschlussgrund für eine Ozonung auf einer bestimmten Anlage darstellen.

Im vierten Modul wird die Toxizität des Abwasser und des ozonierten Wassers anhand von Biotests untersucht. Entscheidend ist dabei, dass nach der Ozonung nicht zusätzliche Toxizität entsteht. Es wird ebenfalls eine nachgeschaltete biologische Stufe simuliert, da sich in Labor- und Pilotversuchen gezeigt hat, dass dadurch toxische Effekte von Oxidationsnebenprodukten wieder verschwinden.

Alternativer Ablauf bzw. Voruntersuchungen:

Bei Verdacht auf eine erhöhte Bromidkonzentration im Abwasser können Voruntersuchungen durchgeführt werden, resp. das Modul 3 kann vorgezogen werden. Erhöhte Bromidkonzentrationen können beispielsweise durch Deponiesickerwässer, Kehrichtverbrennungsanlagen, oder gewisse Industrieeinleitungen im Einzugsgebiet der entsprechenden ARA verursacht werden.

4 METHODEN

4.1 Untersuchungskonzept

In Tabelle **1** wird das Vorgehen und die benötigten Analysen für das Testverfahren etwas detaillierter dargestellt. Dabei wird ersichtlich, dass für die Durchführung des gesamten Verfahrens inklusive der Analytik eine beträchtliche Menge an Abwasser benötigt wird.

Tabelle **1**: Vorgehen beim Testverfahren basierend auf Vorschlag der Eawag (Wunderlin, et al., 2015; Schindler-Wildhaber, et al., 2015).

	Vorgehen Testverfahren	Anz. Proben Volumen[1]	Bemerkungen	Vorbereitung/ Analysen
A	Vorbereitung und Analyse des Abwassers, Bestimmung der Ozondosis	1 x 50 L	Aliquot für die Simulation der biologischen Stufe (gekühlt 4ºC). Aliquot für Biotests bei 4ºC bereitstellen. SPE für Biotests durchführen. Beides (native Probe und SPE-extrahierte Probe) zusammen mit der ozonierten Probe (1.0 gO_3/g DOC) möglichst zeitnah an Biotestlabors verteilen	1x Filtration 50L (0.7µm) 1x DOC (Doppelb.) 1x Nitrit, Nitrat, Gesamt-N, Ammonium 1x Alkalinität 1x Bromid 1x Bromat 1x Nitrosamine 1x Spurenstoffe[2] optional: 1x Schwermetalle (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) 1x SPE (für Biotest) 1x Biotests (div.)
B	Durchführung der Ozonung mit drei verschiedenen Dosierungen *(Charakterisierung und Abbaueffizienz)*: 0.5, 1.0, 1.5 g O_3/g DOC (Module 1 – 3)	1x 10 L daraus je 3 x 0.5 L	Ein Teil des Abwassers für Charakterisierungen mit Spurenstoffen und p-Chlorobenzoesäure spiken. In 3 gleichgrosse Proben Aufteilen, Ozonung mit 3 Dosen durchführen.	**Vor Ozonung:** 1x Spurenstoffe[3] 1x OH-Exposition (p- Chlorobenzoesäure) **Nach Ozonung**: 3x Ozonmessung 3x OH-Exposition (p- Chlorobenzoesäure) 3x Spurenstoffe 3x Nitrosamine 3x Bromat 3x Bromid
C	Durchführung der Ozonung mit 1.0 g O_3/g DOC *(Biotests und Simulation biologischer Stufe)* (Modul 4)	1 x 35 L	Abwasser für Biotests mit Ozon behandeln. Ein Teil des Wassers wird für den nächsten Schritt (D: Simulation biologische Stufe) benötigt	1x SPE 1x Biotests (div.)
D	Simulation der biologischen Stufe (Impfung von biologisch aktivem Abwasser) und Kontrolle (Lagerung ohne Impfung) (Modul 4)	2 x 10 L	Die Probe mit der Dosierung 1.0 g O_3/g DOC mit gefiltertem gereinigtem Abwasser impfen und 7 Tage inkubieren. Mischung 1:1'000. Zusätzlich eine Kontrolle ohne Impfung.	2x Spurenstoffe 2x SPE 2x Biotests (div.)

1 Probevolumen sollen zusammen mit der Eawag angeschaut und gegebenenfalls angepasst werden.

2 Spurenstoffe müssen in der Abwasserprobe vor der Zugabe der Tracersubstanzen bestimmt werden. Die etwaig vorhandene Hintergrundkonzentration muss bei der Berechnung der Eliminationseffizienz berücksichtigt werden.

3 Messung des gespikten Abwassers zur Kontrolle und als Ausgangswert für Bestimmung der Eliminationsrate.

4.2 Material / Chemikalien

4.2.1 Allgemeines

Die Art des Ozongenerators spielt keine grosse Rolle. Es sollte jedoch darauf geachtet werden, dass eine genügende Ozonproduktion (ab ca. 3 g O_3 / h) bei gleichzeitig geringer Gasdurchflussmenge erreicht wird, um eine möglichst hohe Ozonübertragung ins Starkwasser zu erreichen.

Beim Restozonvernichter stellt sich primär die Wahl zwischen dem katalysatorbasierten oder dem thermischen Funktionsprinzip. Beide haben entsprechende Vor- und Nachteile. Der thermische Restozonvernichter, der bei den Versuchen der Envilab AG zur Anwendung kam, ist etwas weniger wartungsintensiv. Konkrete Anweisungen in diesem Dokument, wie zum Beispiel die Erwähnung des Aufheizens, beziehen sich auf einen thermischen Ozonvernichter.

4.2.2 Aufbau der Ozonungsanlage

Die Ozonungsanlage im Labormassstab besteht aus den folgenden Komponenten:

- Ozongenerator
- Restozonvernichter (passend zum Durchfluss des Ozongenerators)
- Sauerstoff, technisch (ggf. auch Druckluft)
- Vakuum- oder Wasserstrahlpumpe zum Anlegen von Unterdruck an den Restozon-ernichter
- Ozonbeständiges Schlauchmaterial für die Apparatur (PTFE / FEP)
- 3 Gaswaschflaschen
- Phosphatpuffer für eine der Gaswaschflaschen (**R1**)
- Ozonreaktor
- Eis zur Kühlung der Ozonstammlösung im Ozonreaktor

Ein Schema der aufgebauten Ozonungsanlage und Abbildungen der an der Envilab aufgebauten Ozonungsanlage sind in den folgenden Kapiteln in den Abbildungen **2**, **3** und **4** wiedergegeben.

4.2.3 Betrieb der Ozonanlage - Allgemeines

- UV/VIS-Fotometer
- Quarzküvette zur Bestimmung der Konzentration der Ozonstammlösung
- Glasspritzen mit Luer-Lock-Anschluss (z.B. 1, 2, 20, 50, 100 ml)
- Passende Luer-Lock-Kanülen aus Edelstahl
- Messzylinder 10 - 1'000 ml
- Messkolben
- 50 mmol/l H_3PO_4 (zur Bestimmung der Konzentration der Ozonstammlösung)
- Oder: 0.1 mmol/l Indigolösung (**R4**)
- Vinylhandschuhe (Nitril geht auch; am besten doppelt anziehen)
- Schutzmaske mit Ozonfilter

4.2.4 Proben

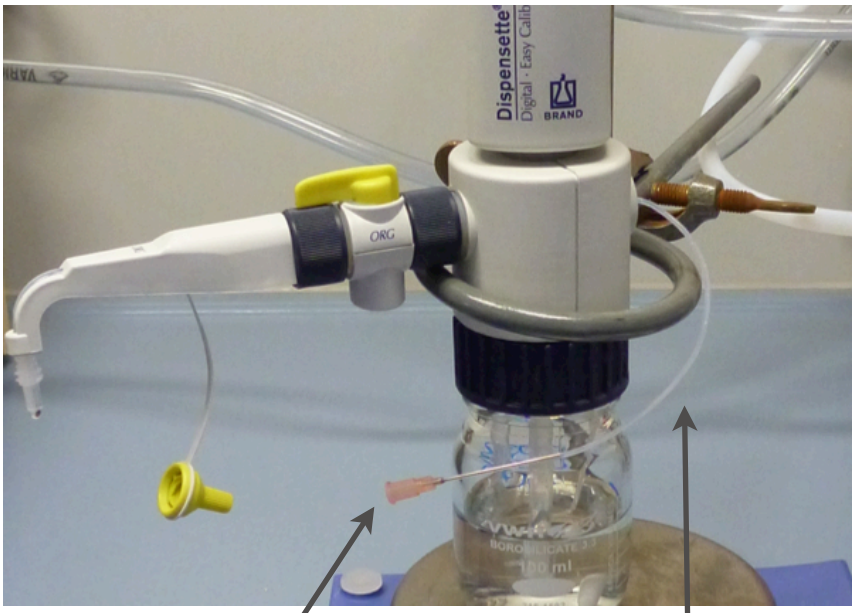
- Kanister für den Probentransport
- ggf. grosser Behälter zum Erstellen von Mischproben
- Kühlschrank mit genügend Platz für die gesamte Abwassermenge
- Glasfaserfilter 0.7 µm
- Behälter zum Aufbewahren der filtrierten Proben (Kanister, Flaschen...)

4.2.5 Ozonung von grösseren Mengen an Abwasser zur weiteren Verwendung für Biotests etc.

- Schottflaschen für die portionenweise Ozonung
- Magnetrührgerät
- Magnetrührstäbe

4.2.6 Ozonexposition

- Dispenser, 1 - 10 ml, beständig gegen Ozon, wie folgt umgebaut (Abbildung 2):



Spritzenspitze für die Zugabe der Ozonstammlösung

Ozonbeständiger Schlauch für die Zugabe der Ozonstammlösung zur 100ml Schottflasche

Abbildung **2**: Dispenser, umgebaut für Ozonexpositions-bestimmung.

- 1 Schottflasche je Ozondosis, Volumen 100 ml
- 1 Magnetrührer je Ozondosis
- je Dosis 15-20 Vials mit Deckel, Volumen ca. 4 ml
- Indigo-Stammlösung, 1 mmol/l (**R2**)
- Braunglasflasche zur Aufbewahrung der Indigostammlösung
- Phosphatpuffer ≈ pH 2 (**R3**), zur Verdünnung der Indigostammlösung
- Stoppuhr
- Stativ mit Klemme zur Befestigung des Dispensers (empfehlenswert)

4.2.7 $^{\bullet}$OH-Radikal-Exposition

- pCBA-Stammlösung (**R5**)

4.2.8 Reagenzien / Lösungen

R1: Phosphatpuffer für die Gaswaschflasche

0.53 g Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$) und 3.4 g Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat ($NaH_2PO4 \cdot 2\ H_2O$) mit Reinstwasser auf 500 ml auffüllen.

R2: Indigo-Stammlösung, 1 mmol/l

Kaliumindigotrisulfonat (0.154 g) und H_3PO_4 (250 µl, 85 %) werden mit Reinstwasser zur Marke aufgefüllt und gut geschüttelt, bis sich das Indigo vollständig gelöst hat. In einer Braunglasflasche im Kühlschrank aufbewahren.

R3: Phosphatpuffer zur Verdünnung der Indigostammlösung

10 g Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat ($NaH_2PO_4 \cdot 2\ H_2O$) und 7 ml H_3PO_4 (85 %) werden mit Reinstwasser auf 1 l aufgefüllt.

R4: Indigolösung, 0.1 mmol/l

Die Indigostammlösung (**R2**) wird mit Phosphatpuffer (**R3**) um Faktor 10 verdünnt.

R5: pCBA-Stammlösung, 1 mmol/l

0.0391 g 4-Chlorobezoesäure (pCBA) in etwa 150 ml Reinstwasser und 400 µl NaOH (1 M) über Nacht lösen und auf 250 ml auffüllen. Die Lösung wird mit ca. 50 µl HCl (1 M) auf einen pH-Wert von 6.5 - 7.5 eingestellt. Die Konzentration kann am Fotometer bei 234 nm verifiziert werden, wobei ε (pCBA) = 13'600 $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

4.3 Allgemeines zur Durchführung

Im Gegensatz zu einer grosstechnischen Anlage wie sie auf einer ARA oder in der Trinkwasseraufbereitung zum Einsatz kommt, kann im Labormassstab Ozon als Gas nicht genügend genau dosiert werden. Deshalb wird hier die Herstellung einer Stammlösung von Ozon in Reinstwasser verwendet, um bestimmte Ozondosierungen vorzunehmen. Die Ozonkonzentration in dieser Ozonstammlösung kann dann mittels Fotometrie genau bestimmt werden. Die Löslichkeit des Ozons ist stark von der Temperatur des Wassers abhängig; es ist also bei der Herstellung der Ozonstammlösung auf eine konstante Kühlung des Gefässes mit der Ozonstammlösung zu achten. Bei einer Ozonkonzentration in der Gasphase von beispielsweise 10 g/m^3 kann eine Konzentration in der Wasserphase von 4.4 mg/l bei 5°C, von 3.8 bei 10°C und von 2.9 bei 20°C erreicht werden (Kurzmann, 1993).

Die Ozonstammlösung mit einer bestimmten Konzentration kann in gewünschten Mengen zum Abwasser dosiert werden. Hier zeigt sich ein Nachteil der Zugabe von Ozon in gelöster Form: das Abwasser wird durch die Ozonzugabe je nach Dosis und Konzentration unterschiedlich stark verdünnt. Diese Verdünnungsfaktoren müssen genau dokumentiert und bei sämtlichen weiteren Analysen mit einberechnet werden. Um diese Verdünnung möglichst gering zu halten, ist es wichtig, eine möglichst hohe Ozonkonzentration in der Stammlösung zu erreichen (>1 mmol/l, >48 mg/l).

4.4 Probenvorbereitung und -Lagerung

Das Abwasser wird ab dem Zeitpunkt der Probenahme bei 4°C aufbewahrt und möglichst schnell weiterverwendet. Beim Eintreffen im Labor wird bei Bedarf zuerst eine Mischprobe erstellt, die das Abwasser über die gesamte Probenahmedauer hinweg repräsentieren soll. Danach wird das Abwasser über 0.7 µm Glasfaser-Mikrofilter filtriert. Achtung: Davon ausgenommen werden ca. 100 ml des unfiltrierten Abwassers, das später zum Spiken des Abwassers für den Bio-Abbau verwendet wird. Vor jeder Verwendung sollte ausserdem der pH-Wert des filtrierten Abwassers überprüft und nötigenfalls angepasst werden, da dieser Parameter einen wichtigen Einfluss auf die Stabilität von Ozon im Abwasser hat.

4.5 Aufbau der Ozonungsanlage

Der Aufbau der Ozonungsanlage ist in Abbildung **3** schematisch dargestellt.

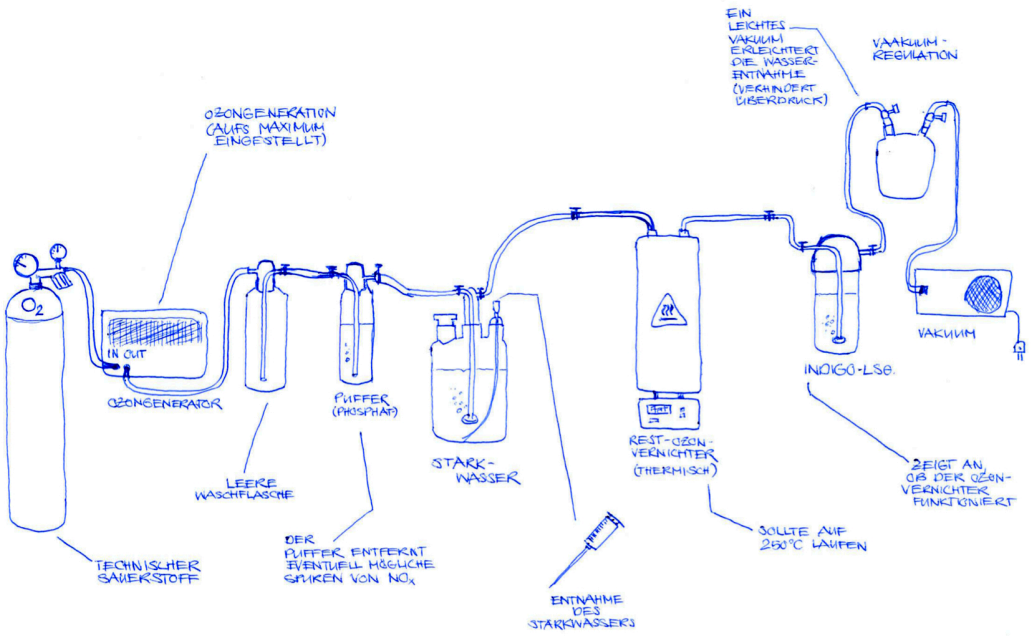


Abbildung **3**: Schematische Darstellung des Aufbaus der Ozonungsanlage.

Die Apparatur zum Herstellen der Ozonlösung besteht vereinfacht aus drei Teilen: dem Ozongenerator, dem „Reaktor" und dem Restozonvernichter. Im Ozongenerator wird Sauerstoff mit Ozon angereichert. Dieses Gasgemisch passiert zwei Waschflaschen (davon eine leer und eine mit Phosphatpuffer) und gelangt zum Gefäss wo das ozonangereicherte Gas kontinuierlich durch eisgekühltes Reinstwasser geleitet wird. Ein Teil des im Sauerstoff enthaltenen Ozons löst sich im Reinstwasser. Die so mit Ozon gesättigte Lösung erreichte in unserem Labor Konzentrationen um 1 mM. In der Luft, welche die Lösung verlässt, befindet sich immer noch Ozon, weshalb der Apparatur ein Restozonvernichter nachgeschaltet ist, der das verbleibende Ozon zerstört (Abbildung **4**). Die Entstehung eines Überdrucks in der Anlage wird durch ein schwaches Vakuum verhindert, das mit einer Vakuumpumpe nach dem Restozonvernichter generiert wird. Dabei wird darauf geachtet, dass nur ein minimer Unterdruck entsteht, um die Löslichkeit des Ozons nur möglichst geringfügig zu beeinträchtigen.

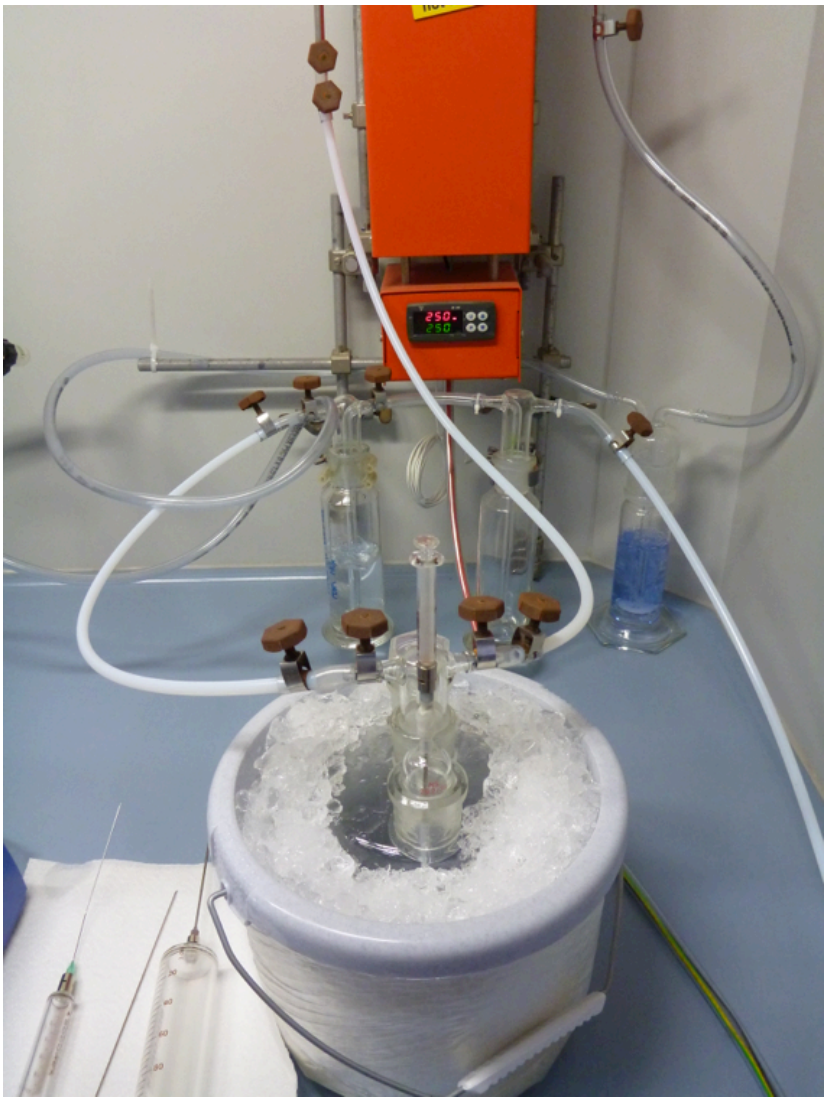


Abbildung **4**: Apparatur zur Herstellung der Ozonstammlösung. Im Bild vorne das Gefäss mit Reinstwasser im Eisbad, der rote Apparat im Hintergrund ist der Restozonvernichter.

4.6 Herstellung einer Ozonstammlösung

Das gekühlte Reinstwasser wird in das Ozonlösungsgefäss gegeben und dieses ins Eisbad gestellt (siehe oben, Abbildung **4**). Der Restozonvernichter wird eingeschaltet und es wird gewartet, bis er seine Betriebstemperatur erreicht hat. Die Vakuumpumpe wird eingeschaltet und so eingestellt, dass in der Apparatur nur ein kleiner Unterdruck entsteht. Der Sauerstoff wird zugeschaltet und die Apparatur für ein paar Minuten mit Sauerstoff gespült. Der Ozongenerator wird gestartet. Die Anlage wird für eine Stunde laufen gelassen, damit sich die Ozonkonzentration im Wasser equilibrieren kann. Danach wird die Anlage kontinuierlich laufen gelassen, bis das jeweilige Experiment abgeschlossen ist. Der Ozonreaktor (Volumen ca. 2 Liter) ist in der folgenden Abbildung **5** dargestellt.

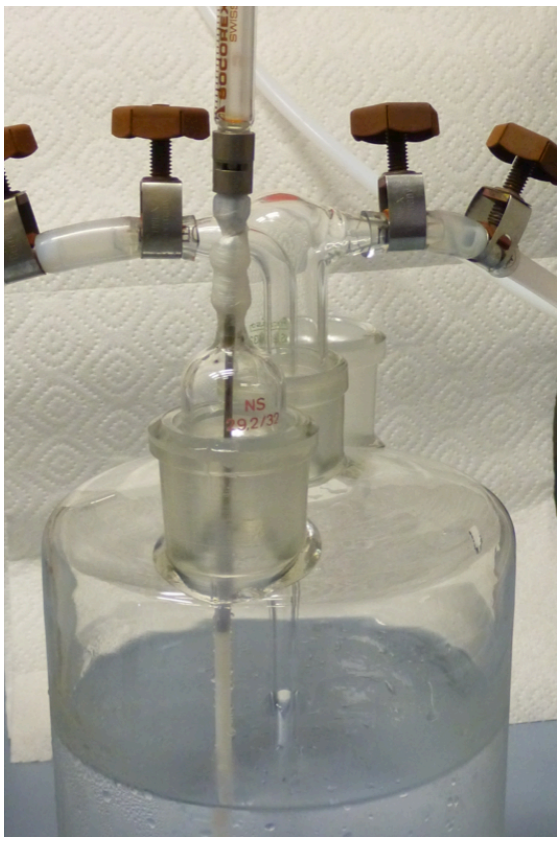


Abbildung **5**: Ozonreaktor. In diesem Gefäss wird die Ozonstammlösung durch einblasen gasförmigen Ozons hergestellt. Mittels einer Glasspritze kann die Stammlösung quantitativ entnommen werden.

4.7 Bestimmung der Konzentration der Ozonstammlösung und Berechnung der benötigten Menge Ozonlösung

Die Konzentration der Ozonlösung kann auf zwei Arten bestimmt werden: entweder direkt mittels Fotometer oder indirekt via Zugabe zu einer Indigolösung. Das direkte Verfahren eignet sich eher für geübtere Anwender, da die direkte Messung des Ozons möglichst schnell erfolgen sollte. Dafür sollte der Weg von der Apparatur, wo die Ozonlösung hergestellt wird, zum Fotometer möglichst kurz sein. Ausserdem wird dazu eine Quarzküvette benötigt, die bei 258 nm verwendbar ist. Die Indigo-Variante benötigt hingegen etwas mehr Zeit zur Vorbereitung, dafür ist der Zeitpunkt der fotometrischen Messung nicht kritisch. Im Folgenden werden beide Verfahren erklärt.

Direktmessung

Das Fotometer wird auf 258 nm eingestellt und mit 50 mM Phosphorsäure auf Null gestellt. Die (verschliessbare) Quarzküvette wird mit 2 ml 50 mM Phosphorsäure befüllt. Die Glasspritze wird mit Ozonlösung gespült, langsam 1 ml der Ozonlösung werden aufgezogen und in die mit Phosphorsäure befüllte Küvette geben. Die Spitze der Kanüle muss dabei in die Phosphorsäure eingetaucht sein! Die Küvette wird verschlossen, 2-mal gekippt und möglichst sofort am Fotometer gemessen.

(1) $$O_3\ [mmol/l] = \frac{E \cdot 1'000 \cdot 3\ ml}{d \cdot \varepsilon \cdot 1\ ml}$$

wobei	ε	gemessene Extinktion (dimensionslos)
	d	Dicke der Messküvette, üblicherweise 1 cm
	E	molarer dekadischer Extinktionskoeffizient von Ozon bei 258 nm ($3'200\ l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
	1'000	Faktor zur Umrechnung von mol auf mmol

Indirekte Messung via Indigo

Die Messung von Ozon mit der Indigo-Methode beruht auf dem Prinzip, dass Ozon mit der Indigotrisulfonsäure in wässriger Lösung stöchiometrisch reagiert und dabei die blaue Färbung neutralisiert. Die Schwächung der blauen Farbintensität der Reaktionslösung wird als Mass für die Ozonkonzentration verwendet (Messung mit Fotometer). Das Fotometer wird auf 600 nm eingestellt und mit Reinstwasser auf Null gestellt. Eine Indigolösung von ca. 0.1 mmol/l in Phosphatpuffer pH=2 wird hergestellt (**R4**). Für den Blind werden 30 ml der Indigolösung mit 2 ml Reinstwasser versetzt. Zur Bestimmung der Ozonkonzentration wird ein weiteres Vial mit 30 ml Indigolösung vorbereitet. Die Glasspritze wird mit Ozonlösung gespülte, langsam 2 ml der Ozonlösung werden aufgezogen und zum Vial mit der Indigolösung gegeben. Dabei soll die Spitze der Kanüle in die Indigolösung eintauchen. Das Vial wird verschlossen und 2-mal vorsichtig gekippt. Am Fotometer wird zuerst die Blindprobe und dann die Probe mit der Ozonlösung gemessen. Die Konzentration der Ozonlösung errechnet sich folgendermassen:

(2) $$O_3\ [mmol/l] = \frac{(E_{Blind} - E_{mit\ Ozon}) \cdot 1'000 \cdot 3\ ml}{d \cdot \varepsilon \cdot 1\ ml}$$

wobei	ε	gemessene Extinktion (dimensionslos)
	d	Dicke der Messküvette, üblicherweise 1 cm
	E	molarer dekadischer Extinktionskoeffizient von Indigo bei 600 nm (20'000 $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
	1'000	Faktor zur Umrechnung von mol auf mmol

Berechnung der benötigten Menge Ozonstammlösung für ein Experiment

Die benötigte Ozonkonzentration, um ein Abwasser in Bezug auf den DOC mit einer bestimmten Dosis (g O_3 / g DOC) zu ozonieren berechnet sich nach folgender Formel:

(3) $$benötigte\ c(O_3)\ im\ Abwasser\ [mmol/l] = \frac{DOC \cdot Dosis}{48}$$

wobei	DOC	„Dissolved Organic Carbon“ [mg/l]
	Dosis	gewünschte Ozondosis [g O_3 / g DOC]
	48	molare Masse von Ozon [g/mol]

Die im Abwasser zu erreichende Ozonkonzentration sollte bezüglich dem Nitritgehalt korrigiert werden. Nitrit reagiert mit Ozon im stöchiometrischen Verhältnis von 1:1. Die um den Nitritgehalt korrigierte Formel sieht folgendermassen aus:

(4) $$benötigte\ c(O_3)\ im\ Abwasser\ [mmol/l] = \left(\frac{DOC \cdot Dosis}{48}\right) + \frac{(Nitrit - N)}{1'000 \cdot 14}$$

wobei	DOC	„Dissolved Organic Carbon“ [mg/l]
	Dosis	gewünschte Ozondosis [g O_3 / g DOC]
	48	molare Masse von Ozon [g/mol]
	Nitrit-N	Nitrit-Gehalt normiert auf den Nitrit-Stickstoff [µg/L]
	14	molare Masse von Stickstoff [g/mol]
	1'000	Faktor zur Umrechnung von µg nach mg

Zuletzt wird nun die benötigte Menge an Ozonstammlösung, die zugegeben werden muss, um eine bestimmte Menge an Abwasser oder Probe mit einer bestimmten Dosis Ozon zu behandeln, berechnet. Die zugehörige Formel **5** lautet:

(5) $$O_3 - Lösung\ [ml] = \frac{Abwassermenge\ [ml] \cdot benötigte\ c(O_3)\ im\ Abwasser}{(c(Ozonlösung) - \ benötigte\ c(O_3)\ im\ Abwasser)}$$

wobei alle Konzentrationen in mmol/l angegeben werden.

4.8 Ozonung von Abwasser zur Weiterverwendung für die Analytik, Biotests, Bioabbau und Lagerversuch

Das gekühlte Reinstwasser wird in das Ozonlösungsgefäss gegeben und dieses ins Eisbad gestellt (siehe oben, Abbildung 4). Der Restozonvernichter wird eingeschaltet und es wird gewartet, bis er seine Betriebstemperatur erreicht hat. Die Vakuumpumpe wird eingeschaltet und so eingestellt, dass in der Apparatur nur ein kleiner Unterdruck entsteht. Der Sauerstoff wird zugeschaltet und die Apparatur für ein paar Minuten mit Sauerstoff gespült. Der Ozongenerator wird gestartet. Die Anlage wird für eine Stunde laufen gelassen, damit sich die Ozonkonzentration im Wasser equilibrieren kann. Danach wird die Anlage kontinuierlich laufen gelassen, bis das jeweilige Experiment abgeschlossen ist.

Die benötigte Menge Abwasser wird auf Raumtemperatur temperiert. Der pH-Wert des Abwassers sollte vor jeder Verwendung überwacht werden, da er einen grossen Einfluss auf die Stabilität von Ozon im Wasser hat. Der pH-Wert kann sich während der Lagerung verändern, zum Beispiel durch Ausgasen von CO_2. Falls der pH-Wert stark vom Startwert (bei Erhalt des Abwassers) abweicht, sollte das Abwasser mit Natronlauge bzw. Salzsäure wieder auf den Anfangswert eingestellt werden. Das Abwasser wird auf Schottflaschen verteilt und ein Magnetrührstab wird zugegeben. Nun wird die Konzentration der Ozonlösung bestimmt und daraus die Menge Ozonlösung für die gewünschte Dosierung im Abwasser, üblicherweise bezogen auf den DOC, berechnet. Zudem wird der Nitritgehalt der Probe auch in die Berechnung einbezogen, da Nitrit Ozon konsumiert, und zwar mit einer Stöchiometrie von 1:1. (Details dazu siehe nächster Abschnitt) Das so berechnete Volumen an Ozonlösung wird nun unter Rühren per Glasspritze zum Abwasser dosiert. Dabei muss darauf geachtet werden, dass die Ozonlösung jeweils in einem Schritt zugegeben wird und sich die Nadelspitze während der Zugabe stets unter der Oberfläche des Abwassers befindet. Der Magnetrührer wird ca. 20 Sekunden nach erfolgter Zugabe ausgeschaltet und die Flasche verschlossen. Mit der Weiterverwendung der Proben sollte gewartet werden, bis das Ozon vollständig gezehrt ist (ca. 6h).

4.9 Ozonexposition

Unter Ozonexposition wird die Ozonmenge mal die Zeit verstanden, in welcher ein Stoff im Wasser dem Ozon exponiert ist. Angegeben wird diese beispielsweise in Mol·Sekunden. Die Ozonexposition und die •OH-Radikal-Exposition werden herangezogen, um allgemeine Aussagen über das Verhalten von Ozon (und Hydroxylradikalen) im zu untersuchenden Abwasser zu machen (Nöthe, et al., 2009). Die •OH-Radikalexposition erlaubt zudem eine Voraussage der Elimination von Spurenstoffen, die nur mit •OH-Radikalen reagieren (keine Reaktion mit O_3).

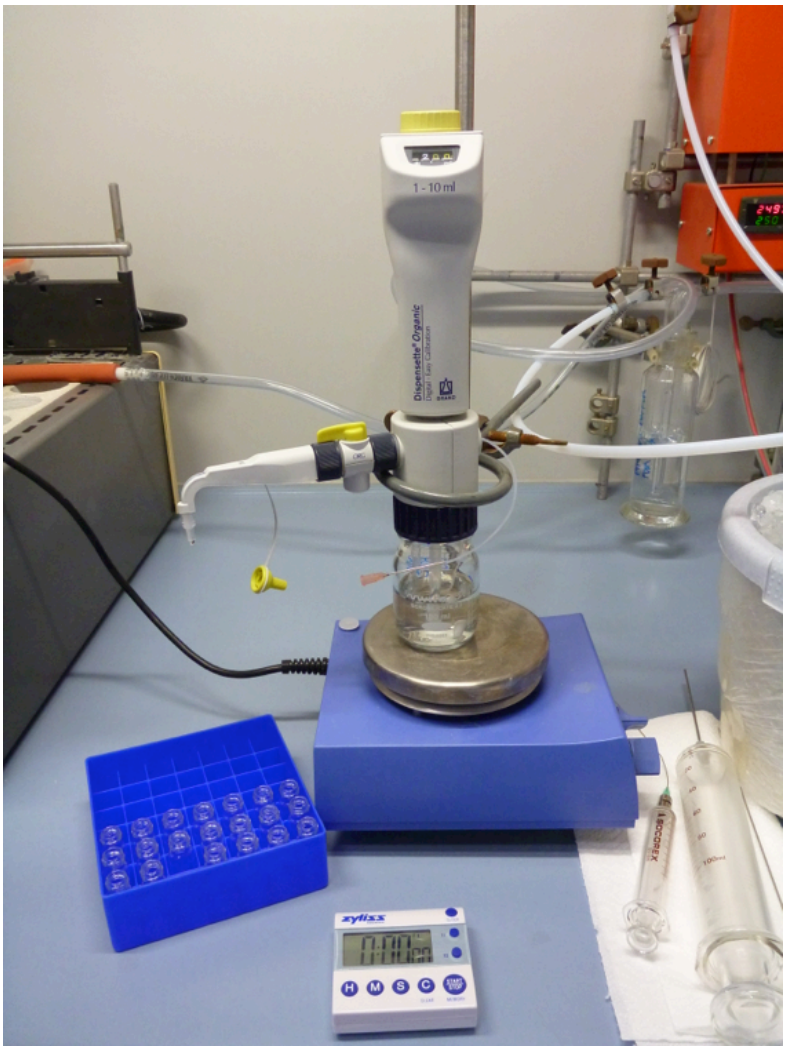


Abbildung **6**: Versuchsaufbau zur Bestimmung der Ozonexposition mit Magnetrührgerät, Dispenser, Stoppuhr und Vials (mit vorgelegter Indigolösung) zum Beproben des mit Ozon versetzten Abwassers.

Dieses Experiment wird für jedes Abwasser mit drei verschiedenen Ozondosen durchgeführt: 0.5, 1.0 und 1.5 g O_3 / g DOC, jeweils korrigiert um den Nitritgehalt der Probe. Es werden je Dosis ca. 60-100 ml Abwasser benötigt. Das Gesamtvolumen an Abwasser zuzüglich der nötigen Menge Ozonstammlösung sollte in eine 100 ml-Schottflasche passen. Deshalb wird bei hohem DOC bzw. Nitritgehalt bzw. tiefer Konzentration der Ozonstammlösung weniger Abwasser eingesetzt, um sicher genügend Restvolumen für die Ozonstammlösung zu haben. Zur ungefähren Abschätzung der Abwassermenge kann die obenstehende Formel Nr. 5 zur Berechnung der benötigten Menge an Ozonstammlösung verwendet werden, indem unter Beibehaltung der übrigen Variablen verschiedene Abwassermengen eingegeben werden. Die Summe von Abwasser und Ozonstammlösung sollte dabei 100 ml nicht überschreiten. Das so für jede Ozondosis berechnete Volumen an Abwasser wird je in eine 100 ml-Schottflasche gefüllt, dazu wird je ein Magnetrührer gegeben. Ausserdem wird pro Dosis eine der Anzahl aufzunehmender Messpunkte entsprechende Menge kleine Vials bereitgestellt (je ca. 20, zuzüglich 2-3 für die Blindproben) und nummeriert bzw. beschriftet (Blind). Pro Vial wird je 1 ml der entsprechend hergestellten Indigolösung vorgelegt (siehe hier folgende Erklärungen).

Für jede Dosis wird die finale Ozonkonzentration im Abwasser nach der Zugabe der Ozonlösung berechnet. Dies geschieht unter Berücksichtigung des zugegebenen Volumens an Ozonlösung analog untenstehender Formel **6**.

(6) $$c(O_3)_{final}\,[mmol/l] = \frac{Abwassermenge\,[ml] \cdot benötigte\ c(O_3)\,[mmol/l]}{(Abwasser\,[ml] + benötigte\ Menge\ Ozonlösung\,[ml])}$$

Diese Berechnung wird zum Abschätzen der Menge an Indigo benötigt, welche vorgelegt werden muss, um den Ozonabbau möglichst gut darzustellen. Das Ziel ist, dass bei der ersten Probenahme des ozonierten Abwassers das Indigo fast vollständig entfärbt wird, um so eine möglichst aussagekräftige Ozonabbaukurve zu erhalten. Da zu jeweils 1 ml Indigolösung 2 ml mit Ozon versetztes Abwasser gegeben werden, muss die Konzentration der vorgelegten Indigolösung mindestens der doppelten finalen Ozonkonzentration im Abwasser entsprechen. Es gilt somit für die Herstellung der Indigolösung die folgende Faustregel:

(7) $$c(Indigo) \cong 2 \cdot c(O_3)_{final}$$

Diese Indigolösung muss für jede zu untersuchende Ozondosis [g O_3 / g DOC] einzeln berechnet und hergestellt werden.

Das benötigte Volumen an Ozonlösung wird berechnet. Auf die Schottflasche mit der zu untersuchenden Probe wird der vorbereitete Dispenser aufgeschraubt und die Vorrichtung auf die Magnetrührplatte gestellt und mit Vorteil mittels Stativ und Klemme befestigt. Der Rührer wird eingeschaltet und so eingestellt, dass ein kleiner Vortex gebildet wird, jedoch keine Gasblasen in die Lösung eingerührt werden. Die entsprechende Serie Vials, die Stoppuhr und ein Papier zum Notieren der Probenahmezeiten werden bereitgelegt.

Die Berechnete Menge Ozonlösung wird per Glasspritze entnommen, die Spritze wird an den am Dispenser angebrachten Luer-Lock-Verschluss aufgesetzt und die Ozonlösung durch einen dünnen Teflonschlauch zum Abwasser zugegeben. Die Stoppuhr wird gestartet. Der Rührer wird gestoppt, gleichzeitig wird der Dispenser mit 3-4 Hüben gespült. Beginnend bei ca. 10 s werden in bestimmten Zeitintervallen Proben genommen, indem jeweils 2 ml des mit Ozon versetzten Abwassers per Dispenser in die mit Indigolösung versetzten Vials dosiert werden. Der Zeitplan der Probenahme richtet sich nach der Ozondosis; so sollte bei einer kleinen Ozondosis in kleineren Zeitabständen beprobt werden, da das Ozon in diesem Fall schneller abgebaut wird. Als Faustregel ist der Ozonabbau bei einer Ozondosis von 0.5 g O_3 / g DOC nach etwa 5 min. komplett, bei 1.5 g O_3 / g DOC erst nach ca. 30 - 40 min. Diese Zeiten variieren jedoch von Probe zu Probe und sollten angepasst werden, wenn festgestellt wird, dass nach einer bestimmten vorgegebenen Zeit das Ozon noch nicht vollständig abgebaut ist. Ein Beispiel der Probenahmezeiten ist in Tabelle 2 angegeben:

	0.5 g O_3 / g DOC	1.0 g O_3 / g DOC	1.5 g O_3 / g DOC
Nr.	**Zeit [min:s]**	**Zeit [min:s]**	**Zeit [min:s]**
1	00:10	00:10	00:10
2	00:15	00:15	00:20
3	00:20	00:20	00:30
4	00:25	00:25	00:40
5	00:30	00:30	00:50
6	00:35	00:40	01:00
7	00:40	00:50	01:20
8	00:45	01:00	01:40
9	00:50	01:20	02:00
10	00:55	01:40	02:30
11	01:00	02:00	03:00
12	01:10	02:30	04:00
13	01:20	03:00	05:00
14	01:30	03:30	06:00
15	01:40	04:00	08:00
16	02:00	05:00	10:00
17	02:30	06:00	15:00
18	03:00	08:00	20:00
19	03:30	15:00	28:00
20	05:00	20:00	40:00

Tabelle **2**: Beispiel von Probenahmezeiten zur Bestimmung des Ozon-Abbaus.

Nach abgeschlossener Beprobung werden die Proben der Reihe nach am Fotometer bei 600 nm gemessen. Aus den so erhaltenen Extinktionswerten werden die Ozonkonzentrationen der einzelnen Proben berechnet:

(8)
$$O_3\ [mol/l] = \frac{(E_{Blind} - E_{Probe}) \cdot 3\ ml}{d \cdot \varepsilon \cdot 2\ ml}$$

wobei **ε** gemessene Extinktion (dimensionslos)

d Dicke der Messküvette, üblicherweise 1 cm

E molarer dekadischer Extinktionskoeffizient von Indigo bei 600 nm (20’000 $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

Aus der gemessenen Abnahme der Ozonkonzentration über die Zeit erhält man eine Ozonzerfallskurve. Um verschiedene Ozonabbaukurven besser vergleichen zu können, wird die relative Abnahme des Ozons (c/c_0) aufgetragen. In Abbildung **7** sind die Ozonzerfallskurven bei unterschiedlichen relativen Ozondosen in einem Abwasser als Beispiel angegeben.

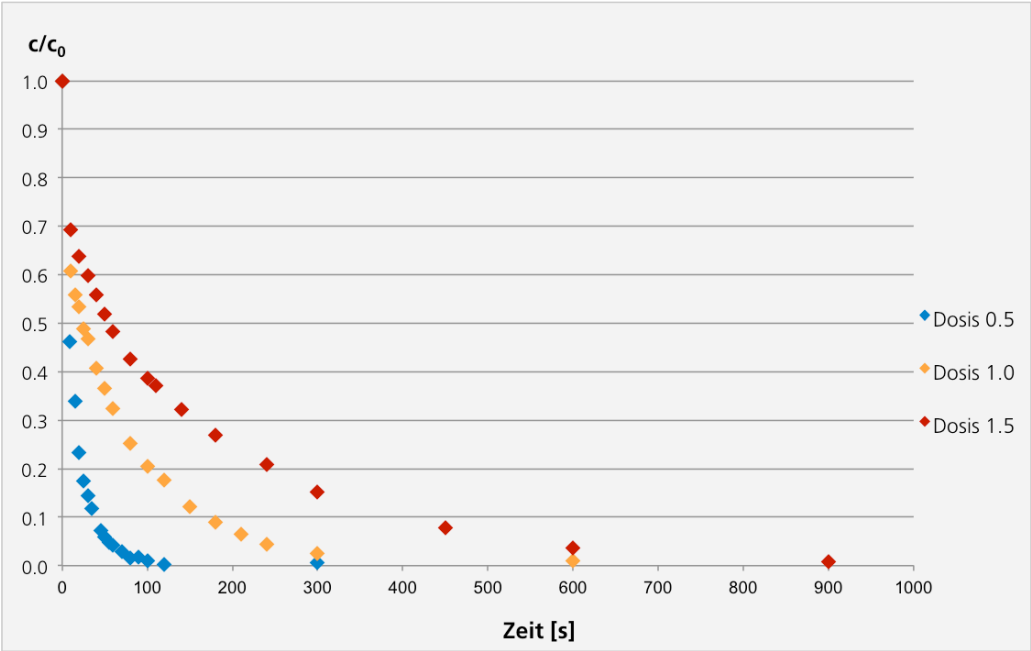


Abbildung **7**: Ozonzerfallskurven bei unterschiedlichen relativen Ozondosen (g O_3 / g DOC) in einem Abwasser (Beispiel).

Aus den Flächen unter den Ozonzerfallskurven kann die Ozonexposition (in Mol Sekunde; M·s) berechnen werden (Abbildung **8**).

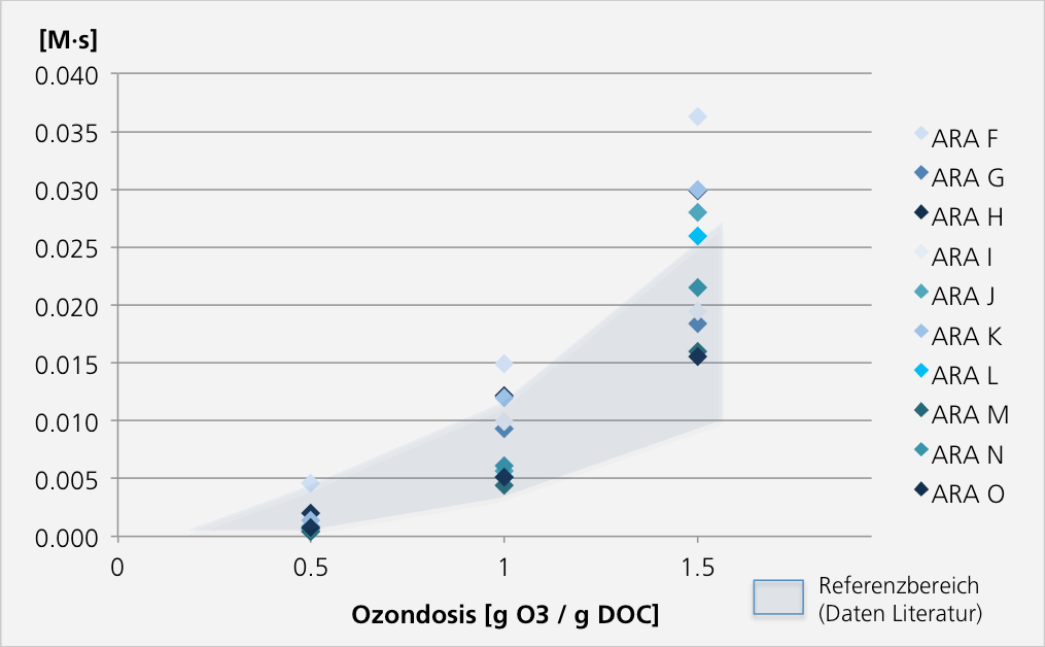


Abbildung **8**: Ozonexposition in Abhängigkeit der relativen Ozondosen (g O_3 / g DOC). Beispiele für verschiedene untersuchte ARA.

4.10 •OH-Radikalexposition

Die Hydroxylradikal-Exposition wird anhand des Abbaus von para-Chlorobenzoesäure (4-Chlorobenzoic acid, pCBA) bestimmt. pCBA reagiert mit •OH-Radikalen, aber nicht mit Ozon. So kann von der Abnahme der pCBA-Konzentration in einer mit Ozon behandelten Probe auf die Hydroxylradikal-Exposition geschlossen werden. Dafür werden 5 ml Abwasser mit einer pCBA-Lösung auf eine Zielkonzentration von ca. 1 µM versetzt und das für die jeweilige Dosis berechnete Volumen Ozonlösung zugegeben. Dieses Experiment wird im Normalfall ebenfalls mit den drei verschiedenen Ozondosen durchgeführt (0.5, 1.0 und 1.5 g O_3 / g DOC). Ausserdem wird eine gespikte Blindprobe zur Messung der Anfangskonzentration benötigt.

Das verbleibende pCBA in den Proben kann beispielsweise per HPLC-UV gemessen werden. Um die resultierenden Konzentrationen vergleichbar zu machen, müssen sie noch mit den entsprechenden Verdünnungen durch die Ozonlösung verrechnet werden.

(9) $$c(pCBA)_{final}\,[mol/l] = \frac{c(pCBA)_{Stammlösung}[mol/l] \cdot Stammlösung\,[ml]}{Abwasser\,[ml] + Ozonlösung\,[ml] + Stammlösung\,[ml]}$$

Danach kann die •OH-Radikalexposition in Prozent und Mol Sekunde berechnet werden. Die Formel für diese Reaktion zweiter Ordnung lautet:

(10)
$$\int [\,^{\bullet}\mathrm{OH}]\,dt = \frac{-\ln\left(\frac{[pCBA]}{[pCBA]_0}\right)}{k_{\bullet\mathrm{OH}}}$$

wobei $k_{\bullet OH} = 5 \cdot 10^9\ M^{-1} \cdot s^{-1}$.

Die Hydroxylradikal-Exposition in Abhängigkeit der relativen Ozondosen (g O_3 / g DOC) für verschiedene untersuchte ARA ist in Abbildung **9** zur Illustration wiedergegeben.

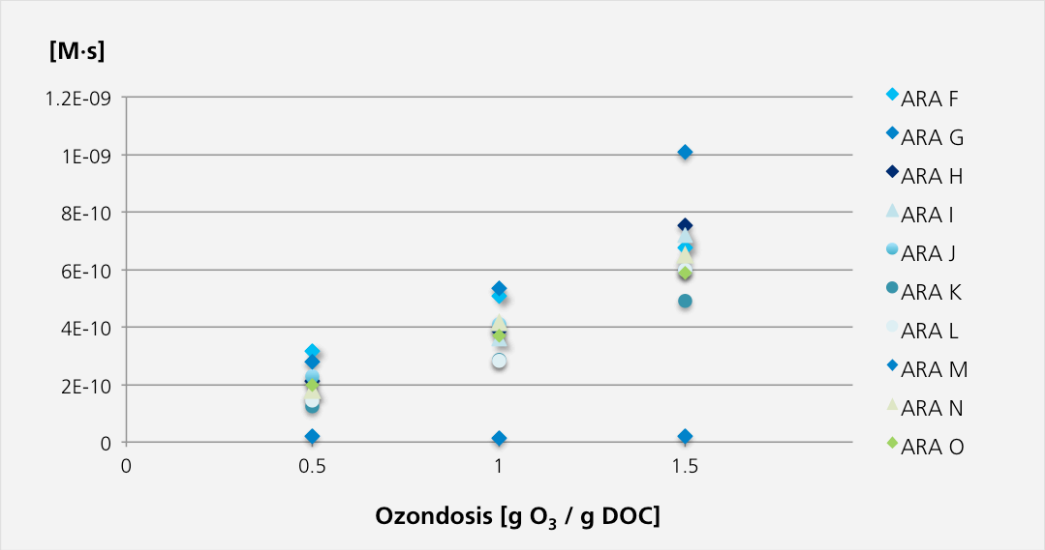


Abbildung **9**: Hydroxylradikal-Exposition in Abhängigkeit der relativen Ozondosen (g O_3 / g DOC). Beispiele für verschiedene untersuchte ARA.

4.11 Spurenstoffabbau

Um den prognostizierten Abbau von Spurenstoffen via Hydroxylradikale zu prüfen, wird in einem Experiment die Abbaueffizienz von zwei häufig im Abwasser gefundenen Spurenstoffen, DEET (Diethyltoluamid, ein Insektizid) und Atrazin (ein Herbizid), untersucht. Dafür wird mit den beiden Spurenstoffen versetztes Abwasser (100 ml je Dosis) ebenfalls mit den drei verschiedenen Ozondosen durchgeführt (0.5, 1.0 und 1.5 g O_3 / g DOC). Die verbliebene Konzentration an Spurenstoffen kann mit der aus der •OH-Radikalexposition berechneten Abbaueffizienz verglichen werden. Zudem wird zur Quantifizierung wiederum eine nicht ozonierte Blindprobe benötigt. In Abbildung **10** ist das Experiment anhand eines Beispiels illustriert.

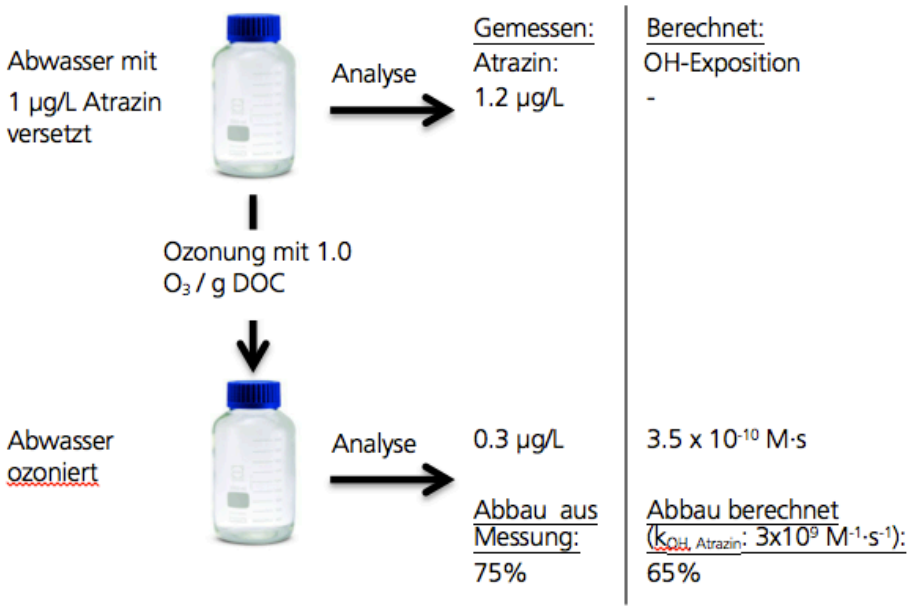


Abbildung **10**: Beispiel für die Quantifizierung des Spurenstoffabbaus anhand von Atrazin bei einer Ozondosis von 1.0 O_3 / g DOC. Weitere Beispiele und die Methode im Detail finden sich in Lee et al. 2013b.

WICHTIG: Zu beachten ist hier, dass die Spurenstoffe als wässrige Lösung gespikt werden und nicht gelöst in organischen Lösungsmitteln, wie das üblicherweise in der Spurenstoffanalytik gemacht wird. Die im Standard enthaltenen organischen Lösungsmittel können zu einem beschleunigten Zerfall von Ozon führen und/oder $^{\bullet}$OH-Radikale quenchen.

4.12 Oxidationsnebenprodukte

Neben den Spurenstoffen reagieren auch andere Stoffe der Abwassermatrix mit Ozon bzw. $^{\bullet}$OH-Radikalen (z.B. Nitrit, organische Amine, Bromid). Manche der dabei entstehenden sogenannten Oxidationsnebenprodukte sind potentiell toxisch, darunter Nitrosamine und Bromat (von Gunten, et al., 1994; Lee, et al., 2013a; Mestankova, et al., 2014). Diese Oxidationsnebenprodukte werden deshalb ebenfalls näher untersucht. Dafür wird das Abwasser vor und unmittelbar nach der Ozonung sowie nach dem Bio-Abbau und dem Lagerversuch auf Bromat und Nitrosamine untersucht. Um die Nitrosamine auch bei tiefen Gehalten detektieren zu können, werden die für diese Messung vorgesehenen Proben vor dem Analysieren mittels SPE aufkonzentriert (Details dazu unter 3.12 - SPE für Biotests und Messung der Nitrosamine).

4.13 SPE für Biotests und Messung der Nitrosamine

Für manche Biotests (AMES, YES/YAS, Algentox-Kombitest) und die Messung der Nitrosamine (je nach Messprinzip) muss die Probe zuerst mittels SPE (solid phase extraction) aufkonzentriert werden. Dazu werden je Probe und Testlabor 500 ml des Abwassers benötigt, welche auf 1 ml Extrakt aufkonzentriert werden (Anreicherungsfaktor 500).

Bei den ozonierten Proben verwendet man mit Vorteil die Menge an Probe, die unter Berücksichtigung der Verdünnung 500 ml Abwasser entsprechen würde: D.h. wenn beispielsweise bei der Ozondosis von 1.0 O_3 / g DOC 150 ml Ozonstarkwasser zu 500 ml Abwasser zugegeben wurden, können 650 ml Wasser extrahiert werden, dadurch müssen die Ergebnisse nicht mehr auf den Anteil Abwasser umgerechnet werden. Zusätzlich braucht es zur Quantifizierung je Biotestlabor eine SPE-Blindprobe, durchgeführt mit ca. 500 ml Reinstwasser. Für die Extraktion werden Oasis HLB-Säulen von Waters (6 cc, 0.2 g) verwendet. Der Ablauf entspricht dem SPE-Verfahren des Ökotoxzentrums (www.oekotoxzentrum.ch), welches für deren Algentox- oder YES/YAS-Test zur Anwendung kommt (Ecotox Centre, 2014).

Ablauf SPE, nach Vorgabe Ökotoxzentrum:

1. Einstellen des Abwassers auf pH 3
2. Konditionierung der Kartusche (Oasis HLB) mit 2 ml Hexan, 2 ml Aceton, 3x 2ml Methanol, 3x 2ml Reinstwasser pH3
3. Extraktion des Abwassers (500ml)
4. Kartusche trockenlaufen lassen, Kartusche unter N_2-Strom trocknen
5. Eluieren mit 4x 1ml Aceton, danach 1ml Methanol
6. Einengen auf ca. 500 µl, Volumen mit Ethanol auf genau 1 ml einstellen

4. 14 Bioabbau und Lagerversuch

Um den biologischen Abbau zu untersuchen, der auch in einer Kläranlage nach der Ozonung stattfindet (z.B. auf einem Sandfilter), wird der Ozonung auch im Labormassstab eine biologische Abbaustufe nachgeschaltet. Dafür werden 10 L des ozonierten Abwassers mit 10 ml des unfiltrierten Abwassers versetzt, um wieder eine biologische Aktivität im Abwasser zu erhalten. Dieses Abwasser wird bei mindestens 24°C für 7 Tage im Dunkeln inkubiert (siehe Abbildung **11**). Parallel wird als Kontrolle mit derselben Menge an ozoniertem Abwasser ohne zugegebene Aktivität gleich verfahren (Lagerversuch). Nach der Inkubation bzw. der Lagerung werden die Proben nochmals mit 0.7 µm Glasfaserfilter filtriert.

5 ANALYSEN

Im Folgenden sind die von der Envilab und den beauftragten Drittlabors verwendeten Analysenmethoden und teilweise Analysengeräte für die Durchführung der Ozonungsversuche angegeben. Diese dienen als Beispiele. Es gibt auch andere geeignete Prüfverfahren und -mittel, die zur Anwendung kommen können.

5.1 DOC und Nitrit

Zwei Parameter werden in die Berechnung der benötigten Ozonkonzentration mit einbezogen und sollten daher nach Erhalt des Abwassers möglichst schnell bestimmt werden: der DOC (dissolved organic carbon) und der Nitritgehalt. Die Ozondosen beziehen sich primär auf den DOC, müssen jedoch stets um den Nitritgehalt des Abwassers korrigiert werden, da Nitrit Ozon rasch zehrt. Dabei reagiert 1 mol Nitrit mit 1 mol Ozon. Wenn in diesem Bericht also von X g O_3 / g DOC gesprochen wird, ist dabei stets die um den Nitritgehalt korrigierte Dosis gemeint.

DOC-Werte wurden an einem DIMATOC® 2000 mittels thermisch-katalytischer Oxidation mit nachgeschalteter NDIR-Detektion gemessen. Nitrit wurde fotometrisch analog zur EDI 36 bestimmt.

5.2 Ozon

Die Bestimmung der Konzentration der Ozonlösung kann, wie bereits erwähnt, auf zwei Arten geschehen: Einerseits kann die Ozonlösung direkt fotometrisch (λ = 258 nm, ε = 3’200 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) gemessen werden. Alternativ erfolgt die Messung mit Indigolösung, die bei Zugabe von Ozon entfärbt wird (Bader, et al., 1981). Dabei reagiert 1 mol Ozon mit 1 mol Indigo. Über die verbleibende Menge Indigo (λ = 600 nm, ε = 20’000 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) kann auf die Konzentration der Ozonlösung geschlossen werden.

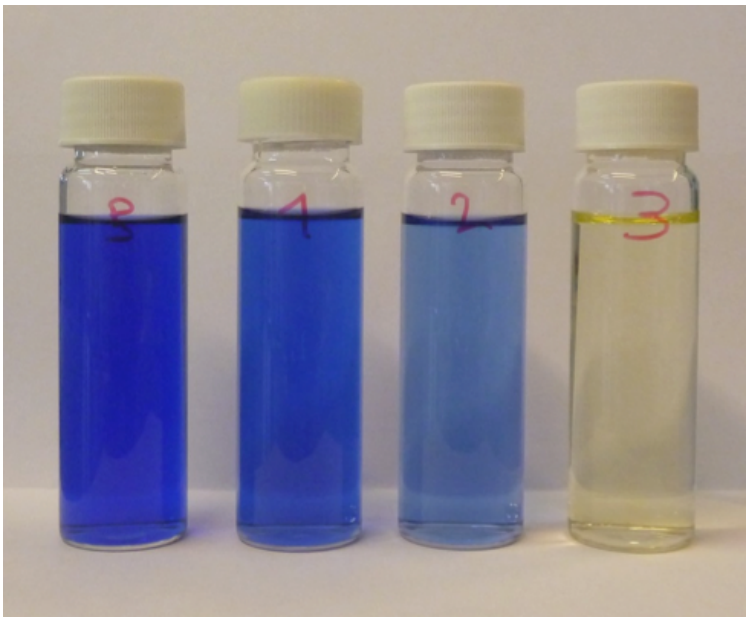


Abbildung **11**: Veranschaulichung der Entfärbung von Indigo durch Ozon. Das erste Vial links ist die Blindprobe, die Zahlen auf den anderen Vials entsprechen der Anzahl zugegebener ml Ozonlösung. Im Vial rechts wurde das Indigo komplett entfärbt, in diesem Fall ist eine Bestimmung der Ozonmenge nicht möglich.

5.3 •OH-Radikale

Die •OH-Radikalexposition während der Ozonung wurde indirekt über die Bestimmung des Abbaus von para-Chlorobenzoesäure (pCBA, 4-CBA) bestimmt. pCBA reagiert nicht mit Ozon, wird jedoch von Hydroxylradikalen umgesetzt (Elovitz, et al., 1999). Quantifiziert wurde pCBA per LC-MS/MS über einen internen Standard.

5.4 Bromid und Bromat

Der Bromidgehalt des Abwassers ist interessant, weil Bromid im Verlauf der Ozonung teilweise zum Oxidationsnebenprodukt Bromat umgewandelt wird (von Gunten, et al., 1994). Bromat ist ein potenziell kanzerogenes Oxidationsnebenprodukt und wird zur Einschätzung der Toxizität des Abwassers nach der Ozonbehandlung herangezogen.

Bromid und Bromat wurden per Ionenchromatografie in Anlehnung an die DIN EN ISO 10304-Methode gemessen (Salhi, et al., 1999).

5.5 Nitrosamine

Nitrosamine sind mutagene Oxidationsnebenprodukte der Ozonung bekannt. Per GC-TEA (TEA = Thermal Energy Analysator) quantifiziert wurden NDMA (N-Nitrosodimethylamin) als Leitsubstanz sowie die Nitrosamine NMEA (N-Nitrosomethylethylamin), NDEA (N-Nitrosodiethylamin), NDIPA (N-Nitrosodiisopropylamin), NDPA (N-Nitrosodi-n-propylamin), NDBA (N-Nitrosodi-n-butylamin), NPIP (N-Nitrosopiperidin), NPYR (N-Nitrosopyrrolidin) und NMOR (N-Nitrosomorpholin). Alternativ können die Nitrosamine per HPLC-MS gemessen werden. Diese Bestimmungsmethode wurde (Lee, et al., 2013a)beispielsweise an der Eawag angewendet (Lee, et al., 2013a).

5.6 Spurenstoffe

Das Insektizid DEET (Diethyltoluamid) und das Herbizid Atrazin wurden nach erfolgtem Spurenstoffabbauversuch per LC-MS über je einen entsprechenden strukturgleichen isotopenmarkierten internen Standard quantifiziert, analog anderen LC-MS Methoden der Eawag (Singer, et al., 2009; Otto, et al., 2014). Alternativ können auch höhere Konzentrationen (0.5 - 1 µM) dazugegeben werden, so dass die Messung über HPLC-UV erfolgen kann (Lee, et al., 2013b).

5.7 Biotests

In alle Abwasserproben, ozonierten Proben, Proben nach der Simulation des biologischen Abbaus sowie die Proben der Lagerungsversuche, wurden fünf verschiedene Biotestverfahren angewendet. Die Biotests wurden ausschliesslich von spezialisierten Drittlabors durchgeführt. In Tabelle **3** sind die durchgeführten Tests und die entsprechenden Auftragslabors angegeben, erweitert um das ungefähr benötigte Probenvolumen je Test.

Biotests	**Auftragslabor**	**Probenvolumen**
AMES Test (je mit und ohne SPE)	Xenometrix	2 x 40 ml nativ, 500 ml für SPE
YES/YAS Test (je mit und ohne SPE)	Xenometrix	
Algentox-Kombi (je mit und ohne SPE)	Oekotoxzentrum	100 ml nativ, 500 ml f. SPE
Wasserflohtest (Ceriodaphnia dubia)	Soluval Santiago	3 l nativ
Fischeitest (Danio rerio)	ECT	500 ml nativ

Tabelle **3**: Biotests und in diesem Projekt beauftragte Drittlabors.

Für das Labor, das die Ozonungsversuche durchführt ist eine vorzeitige Kontaktaufnahme und gute Koordination mit den verschiedenen Drittlabors entscheidend. Die Proben müssen bei ökotoxikologischen Untersuchungen immer vorangekündigt sein, da diese für toxikologische Untersuchungen nicht lange aufbewahrt werden können. Im Weiteren ist die Organisation eines geeigneten Transports von grosser Wichtigkeit. In diesem Projekt wurden alle Proben mit einem Übernacht-Express Kurierdienst versandt. Bei SPE-Extrakten ist sowohl Lagerung als auch Transport weniger kritisch.

6 LITERATURVERZEICHNIS

Abegglen, Christian und Siegrist, Hansruedi. 2012. *Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser - Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen.* Bern : Bundesamt für Umwelt, 2012. Umwelt-Wissen Nr. 1214: 210S.

Abegglen, Christian, et al. 2009. *Ozonung von gereinigtem Abwasser - Schlussbericht Pilotversuch Regensdorf.* Dübendorf : Eawag, 2009.

Bader, H. und Hoigné, J. 1981. Determination of ozone in water by the indigo method. *Water Research.* 15, 449 - 459, 1981.

Ecotox Centre. 2014. Standard Operating Procedure: S*olid Phase Extraction (SPE) of Aqueous Samples for Testing in Bioassays.* 2014. 20 pages.

Elovitz, Michael und von Gunten, Urs. 1999. Hydroxyl Radical/Ozone Ratios During Ozonation Processes. *Ozone Science and Engineering.* 21, 239 - 260, 1999.

Escher, B. I., et al. 2008. Toxic equivalent concentrations (TEQs) for baseline toxicity and specific modes of action as a tool to improve interpretation of ecotoxicity testing of environmental samples. *Journal of Environmental Monitoring.* 10(5), 2008, Bde. 612-621.

Gälli, René, Ort, Christoph und Schärer, Michael. 2009. *Mikroverunreinigungen in den Gewässern. Publikation Umwelt-Wissen.* Bern : Bundesamt für Umwelt (BAFU), 2009.

Kurzmann, Gerhard E. 1993. *Ozonanwendung in der Wasseraufbereitung: Geschichte - Herstellung - Eigenschaften - Technologien - Reaktionen - Korrosion und Korrosionsschutz.* s.l. : expert verlag, 1993.

Lee, Minju, et al. 2013a. Analysis of N-nitrosamines and other nitro(so) compounds in water by high-performance liquid chromatography with post-column UV photolysis/Griess reaction. *Water Research.* 4893 - 4903. 47 2013a.

Lee, Yunho, et al. 2013b. Prediction of micropollutant elimination during ozonation of municipal wastewater effluents: Use of kinetic and water specific informantion. *Environmental Science and Technology.* 5872-5881. 47 2013b.

Margot J., Kienle C., Magnet A., Weil M., Rossi L., de Alencastro L.F., Abegglen C., Thonney D., Chèvre N., Schärer M., Barry D.A. 2013. Treatment of micropollutants in municipal wastewater: Ozone or powdered activated carbon? *Science of the Total Environment.* 2013, Bde. 461-462: 480-498.

Mestankova, H., et al. 2014. Development of mutagenicity during degradation of N-nitrosamines by advanced oxidation processes. *Water Research.* 66, 399 - 410, 2014.

Nöthe, Tobias, Fahlenkamp, Hans und von Sonntag, Clemens. 2009. Ozonation of Wastewater: Rate of Ozone Consumption and Hydroxyl Radical Yield. *Environmental Science and Technology.* 43, 5990–5995, 2009.

Otto, Johanna, Singer, Heinz und Götz, Christian. 2014. *Substanzen zur Überprüfung des Reinigungseffekts weitergehender Abwasserbehandlungsverfahren - Studie im Auftrag des BAFU.* Dübendorf und Zofingen : Eawag / Envilab, 2014.

Salhi, Elisabeth und von Gunten, Urs. 1999. Simultaneous determination of bromide, bromate and nitrite in low µg/l levels by ion chromatography without sample pretreatment. *Water Research.* 33, 3239 - 3244, 1999.

Schindler-Wildhaber, Yael, et al. 2015. Novel test procedure to evaluate the treatability of wastewater with ozone. *Water Research*. 74, 324-335, 2015.

Singer, Heinz, et al. 2009. *Screening-Messungen von organischen Mikroverunreinigungen im Bodensee - Substanzinventarisierung für das Freiwasser. In Zusammenarbeit mit der IGKB und dem AfU Graubünden.* Dübendorf : Eawag, 2009.

von Gunten, Urs und Hoigné, Jürg. 1994. Bromate Formation during Ozonation of Bromide-Containing Waters: Interaction of Ozone and Hydroxyl Radical Reactions. *Environmental Science and Technology.* 28, 1234 - 1242, 1994.

Wunderlin, Pascal, et al. 2015. Behandelbarkeit von Abwasser mit Ozon - Testverfahren zur Beurteilung. *Aqua & Gas.* 7/8, 2015.

Zimmermann, S.G., et al. 2011. mKinetic assessment and modeling of an ozonation step for full-scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection. *Water Research.* 45, 605 - 617, 2011.