

Institut für Wasserwesen
Lehrstuhl für Wassergüte- und Abfallwirtschaft
der Technischen Universität München

Quantifizierung von Lignin aus Papierfabriksabwässern mittels Py-GC/MS und UV/VIS

Christian Schiegl

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Bauingenieur- und Vermessungswesen der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Ing. M. Faulstich

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. Ing. M. Faulstich
2. Univ.-Prof. Dr. Ing. Dr. h.c. P. A. Wilderer
3. Univ.-Prof. Dr. phil. nat. M. Schuster

Die Dissertation wurde am 26.05.2004 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Bauingenieur- und Vermessungswesen am 30.09.2004 angenommen.

Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von Herrn Prof. Dr.-Ing. Dr. h.c. P. A. Wilderer am Lehrstuhl für Wassergüte- und Abfallwirtschaft an der Technischen Universität München.

Mein besonderer Dank gilt

meinem Betreuer, Herrn Professor Dr. phil. nat. Schuster von der Fakultät Chemie für die verständnisvolle Unterstützung.

dem Lehrstuhl für Wassergüte- und Abfallwirtschaft, insbesondere Herrn Professor Dr.-Ing. Dr. h.c. P. A. Wilderer, für die freundliche Aufnahme am Lehrstuhl und die Unterstützung des Projektes.

meiner Betreuerin und Kollegin, Frau Dr. Brigitte Helmreich, für die hilfreichen Anregungen, Diskussionen und die Durchsicht dieser Arbeit. Der mir zugebilligte wissenschaftliche Freiraum, ihre Unterstützung und ihr Vertrauen haben wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

meinem Kollegen, Herrn Dr.-Ing. Klaus Kriebitzsch, für die hervorragende Unterstützung und Kooperation während der Durchführung der Arbeit.

Ferner möchte ich mich herzlich bedanken bei

meinen Kollegen im Labor, Christoph Greil, Myriam Reif, für ihre stete Hilfsbereitschaft und das hervorragende Arbeitsklima in freundlicher Atmosphäre.

der Firma MD Papier Dachau für die Bereitstellung des Abwassers und für die Erlaubnis des Betriebs Zweier SBR-Anlagen im halbtechnischen Maßstab auf dem Firmengelände in Plattling.

Gewidmet ist diese Arbeit allen, die mich bei der Vollendung dieser Arbeit immer wieder unterstützt und motiviert haben, insbesondere meinen Eltern, meiner Frau Silke, Fr. Dr. Helmreich, Fr. Dr. Meischner, Hr. Dr. Barz und Hr. Dr. Fuchs.

Grafring, im April 2004

Christian Schiegl

Kurzfassung

Lignine sind Bestandteil aller Hölzer. Sie sind in Wasser weitgehend unlösliche Biopolymere und fungieren als Stützstoffe in der Pflanzenwelt. Der biologische Abbau der meisten Ligninarten erfolgt nur sehr langsam und unvollständig. Dies ist ein Grund dafür, dass Lignine zu einem großen Teil für die hohe organische Restbelastung in Papierfabriksabwässern verantwortlich sind. Lignine werden beim Holzschliffprozess zum Teil gelöst oder gehen kolloidal in das Kreislaufwasser über.

Neben dem biologischen Abbau spielen auch Koagulations- und Adsorptionsprozesse, sowie die Prozessführung und Art der Abwasserreinigung eine Rolle. Eine Beurteilung der Prozesse ist allerdings nur möglich, wenn Stoffströme und Stoffbilanzen erstellt werden können.

Die einzig gängige Methode zur Quantifizierung von gelöstem Lignin ist die UV/VIS-Spektroskopie bei einer Wellenlänge im Aromatenbereich ($\lambda=281$ nm). Bekannt ist jedoch, dass die spezifische und quantitative Bestimmung von Abwasserinhaltsstoffen aufgrund der Komplexität des Abwassers hinsichtlich der enthaltenen Störstoffe Probleme bereitet. Eine geeignete Methode, Lignin quantitativ in gelöster Form, als auch als Feststoff zu bestimmen, fehlte daher bis heute.

Als mögliches Analysenverfahren, Lignin sowohl in gelöster, als auch fester Form quantitativ zu bestimmen, kam die Curie-Punkt-Pyrolyse zur thermischen Aufspaltung makromolekularer Substanzen mit nachfolgender gaschromatographischer Auftrennung und Detektion über die Massenspektrometrie (Py-GC/MS) in Betracht. Es wurde eine Py-GC/MS Methode entwickelt, der als Vergleichsmethode die in der Praxis standardmäßig eingesetzte UV/VIS-Spektroskopie gegenübergestellt wurde.

Um Lignin in den Abwässern analysieren zu können, fand eine Aufkonzentrierung der Abwasserinhaltsstoffe mittels Phenylfestphasen statt. Als Leitsubstanzen zur Quantifizierung von Nadelholzlignin mittels Py-GC/MS wurden die Ligninfragmente Guajacol und 4-Methylguajacol gewählt, da diese bei der thermischen Aufspaltung von Fichtenlignin die höchsten Anteile an der Summe der Gesamtfragmente aufweisen.

Die bei der Py-GC/MS von Lignin entstehenden schwerflüchtigen Carbonsäuren wurden während der Thermolyse durch online-Methylierung mit Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) bzw. Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH) zu leichtflüchtigen Estern umgewandelt. Die Veresterung brachte keine signifikante Änderung hinsichtlich der Wiederfindungsrate der Fragmente mit sich.

Die Ligninbestimmung mittels UV/VIS-Spektroskopie zeigte, dass die Bestimmung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 281$ nm eine schnelle und kostengünstige Möglichkeit darstellt, gelöstes Lignin zu quantifizieren. Eine geringe Spezifität der Messmethode führte jedoch dazu, dass Moleküle mit ähnlichen Adsorptionseigenschaften wie die des Lignins in die Quantifizierung mit einfließen. Da jedoch feste bzw. unlösliche Proben nicht erfasst werden können, ist diese Methode zur ganzheitlichen Quantifizierung ungeeignet.

Die Ligninbestimmung in Zu- und Abläufen lieferte sowohl mittels UV/VIS-Spektroskopie als auch mittels Py-GC/MS reproduzierbare Daten. Bei der Bestimmung der Ligninwerte im Zulauf wurde bei der UV/VIS-Spektroskopie im Vergleich zur Py-GC/MS-Methode eine größere Ligninmenge mit höherer Standardabweichung erhalten. Dies deutet darauf hin, dass hier Störstoffe einen größeren Einfluss hatten als bei der pyrolytischen Methode. Mit der Py-GC/MS war es möglich aus getrocknetem Belebtschlamm reproduzierbare Werte der Ligningehalte zu erhalten.

Die mit der neu entwickelten Methode der Py-GC/MS erstmals mögliche Bilanzierung des Prozesses der biologischen Abwasserreinigung zeigte, dass das Lignin bei der aeroben biologischen Abwasserreinigung im Sequencing-Batch-Reaktor (SBR) keinem nachweisbaren Abbau unterlag. Die Entfernung eines Teils des Lignins aus dem Abwasser erfolgte durch Fixierung in Form einer Adsorption am belebten Schlamm.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Methode der Py-GC/MS hervorragend geeignet ist, Lignin in wässrigen und festen Proben reproduzierbar zu quantifizieren. Durch den Einsatz der gleichen Methoden bei der Bestimmung von gelöstem und festem Lignin werden Abweichungen, wie sie in der Regel bei Einsatz unterschiedlicher Methoden auftreten, vermieden. Dies war die Voraussetzung, um den Verbleib von Lignin im Abwasser zuverlässig zu verfolgen. Aufgrund der Bestimmung spezifischer aromatischer Bruchstücke bei der Quantifizierung von Lignin ist es zudem möglich, diese Methode auf andere höhermolekulare Stoffe mit signifikant zuordenbaren Molekülfragmenten auszuweiten.

Abstract

Lignins are a component of every wood. They are non-watersoluble biopolymers and work as stabilizing medium in the world of plants. The biological degradation of most types of lignin needs a long time and happens incomplete. This causes that lignin is highly accountable concerning the organic residual in paper mill waste waters. Lignins are partly dissolved during the wood pulp process and are transferred colloidal into the circuit white water.

Beside the biological degradation process, coagulation, adsorption, the process control and the type of waste water treatment have an impact on the results. An evaluation of the process is only possible, if mass transfer and mass balance can be determined.

The only regular used method to quantify dissolved lignin is the UV/VIS-method at a wavelength in the area of maximum absorption of aromatic compounds ($\lambda=281$ nm). It is known that specific and quantitative determinations of waste water compounds generate problems due to its containing interfering substances. A useful method to determine lignin as a dissolved substance as well as a solid substance in a quantitative way lignin, still has been missing until today.

As a possible analytical process to determine lignin quantitatively in a dissolved as well as in a solid state, the Curie-point-pyrolyzes as a method to thermally fraction macromolecular substances with a following gaschromatographic separation and detection by mass-spectrometry (Py-GC/MS), seemed promising. A Py-GC/MS method was build up which is compared to the regular used UV/VIS-spectroscopy.

To be able to analyse lignin in waste waters a reconcentration of the waste water compounds by phenyl-solid-phases took place. The lignin fragments guajacol and 4-methylguajacol were chosen as tracer substances for the quantification of pine wood lignin by Py-GS/MS as the thermally decomposition of spruce lignin showed the highest amounts of the sum of all detected fragments for these substances.

ABSTRACT

The formed carboxylic acids during the Py-GC/MS of the lignin were transferred to volatile esters by online methylation with tetramethylammoniahydroxid (TMAH) or trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH). Esterification did not show a significant change in the rate of retrieval of the fragments.

The determination of lignin by UV/VIS-spectroscopy showed, that the determination of dissolved lignin at a wavelength of $\lambda=281$ nm is a fast and cost-effective method. As the method is not very specific, compounds with similar properties concerning absorption like lignin compounds influence the determined results. As solid or non-soluble compounds cannot be detected, this method is unsuitable for a total mass balance quantification.

The determination of lignin in the influents and effluents show reproducible data for UV/VIS-spectroscopy as well as for PY-GC/MS-spectrometry. The UV/VIS-spectroscopy shows in comparison to the method of Py-GC/MS-spectrometry higher determined lignin quantities and higher mean-square deviations. This means that interfering compounds have a bigger impact on this method than on the pyrolytical method. With the Py-GC/MS method it was possible to determine reproducible lignin quantities out of freeze-dried sludge.

With the new build up Py-GC/MS-method a mass balance of the process of the waste water treatment was possible for the first time. It showed that lignin does not undergo a biological degradation during the aerobic biological waste water treatment in a sequencing-batch-reactor (SBR). The remove of some lignin out of the waste water did only happen by fixation of the lignin via adsorption on the activated sludge.

In this work it was shown that the method of Py-GC/MS is an excellent method to quantify lignin in aqueous and solid samples in a reproducible way. By using the same method to determine dissolved and solid lignin, deviations as they are usually found by using different methods, are avoided. This is the precondition to follow the fate of lignin in waste waters in a reliable manner. Due to the determination of specific aromatic fragments for quantification of lignin, it is possible to broaden this method on to higher molecular substances with significant corresponding molecular fragments.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Stand des Wissens	4
2.1	Lignin	6
2.2	Techniken zur Isolierung und Strukturanalyse von Lignin	8
2.2.1	Strukturerhaltende Techniken zur Ligninanalyse	10
2.2.2	Strukturzerstörende Techniken zur Ligninanalyse	12
2.3	Pyrolyse mit massenspektrometrischer Analyse	13
2.3.1	Curie-Punkt-Pyrolyse	16
2.3.2	Kinetik der pyrolytischen Moleküldissoziation von Lignin	17
2.4	Ligninbestimmung mittels UV/VIS	19
2.5	Anreicherung von Lignin aus Abwässern.....	22
3	Hypothese und Zielsetzung	23
4	Material und Methoden	25
4.1	Chemikalien.....	25
4.2	Verwendete Geräte und Materialien	25
4.3	Versuchsanlage	26
4.3.1	Reaktorzulauf.....	26
4.3.2	Betrieb der Versuchsanlage.....	27
4.3.3	Probenahme aus der Versuchsanlage	28
4.4	Probenvorbehandlung	29
4.4.1	Flüssige Proben	29
4.4.2	Feste Proben	30

4.5	Messprogramme	31
4.5.1	UV/VIS-Spektroskopie	31
4.5.2	Pyrolyse-GC/MS	31
4.5.3	Curie-Punkt-Pyrolyse-GC/MS-Analytik	31
4.6	Isolierung und Quantifizierung von reinem Fichtenlignin	32
4.6.1	Isolierung von Fichtenlignin nach dem Organosolv-Verfahren	32
4.6.2	Lösungen für die Kalibrierkurven	33
4.7	Kalibrierkurven	34
4.7.1	Hexachlorbenzol	34
4.7.2	Guajacol	34
4.7.3	4-Methylguajacol	36
4.7.4	Lignin	36
4.7.5	Fragmentanteile von Lignin nach Pyrolyse	37
5	Ergebnisse und Diskussion	39
5.1	Grundlagen der Methodenentwicklung	39
5.1.1	Chromatogramm des Fichtenligninstandards nach Pyrolyse ..	39
5.1.2	Spezifizierung des Guajacols mittels MS	40
5.1.3	Spezifizierung des 4-Methylguajacols mittels MS	42
5.2	Methode zur Ligninquantifizierung mittels Py-GC/MS	44
5.2.1	Bestimmung des realen Messbereichs	44
5.2.2	Den Messbereich limitierende Querreaktionen	46
5.3	Online-Derivatisierung	50
5.3.1	Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH)	52
5.3.2	Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH)	53
5.4	Isolierung von Lignin aus Abwässern und Schlämmen	55
5.4.1	Abwässer	55
5.4.1.1	Kapazitätsbestimmung der Phenylfestphasen	55
5.4.1.2	Wiederfindungsrate	57
5.4.2	Schlämme	58
5.4.2.1	Ligninverlust bei der Waschung von Schlamm	58
5.4.2.2	Einfluss des Probennahmezeitpunktes	59
5.4.3	Bestimmung geeigneter Probennahmezeitpunkte	61

5.5 Methode der Ligninbestimmung mit UV/VIS-Spektroskopie	64
5.5.1 Wellenlänge und Kalibriergerade	64
5.5.2 Einfluss der Bestrahlungsdauer	66
5.6 Bestimmung der Ligningehalte in realen Proben	69
5.6.1 Zuläufe	69
5.6.2 Abläufe	72
5.6.3 Ligningehalte	75
5.6.4 Bewertung der Messungen an realen Proben	78
5.6.5 Verbleib des Lignins	79
5.7 Kritische Betrachtung der Quantifizierungsmethoden	82
5.7.1 Probennahme	82
5.7.2 Probenaufbereitung	83
5.7.3 Probenvorbereitung	84
5.7.4 Analyse	85
5.7.5 Auswertung	88
5.7.6 Fazit	89
6 Zusammenfassung	93
7 Abkürzungen	95
8 Literatur	99

1 Einleitung

Bei der aeroben biologischen Reinigung von Papierfabriksabwässern verbleibt ein hoher Anteil an organischen Stoffen im gereinigten Abwasser, die bereits in den Zuläufen der Abwasserreinigung vorhanden sind. Papierfabriksabwässer enthalten demnach organische Substanzen, die aerob schwer oder nicht abbaubar sind.

Eine Vermeidung der Belastung von Papierfabriksabwässern mit diesen Stoffen ist bei vielen Produktionsarten nicht möglich. Die Abwässer fallen aus den Wasserkreisläufen der Papiermaschinen und den Faserstofferzeugungsanlagen, die vollständig in das Wassersystem integriert sind, an. Da das Wasser bei der Papierproduktion als Transportmedium fungiert, ist eine Trennung der Wasserkreisläufe nur schwer durchführbar. Der Einsatz wasserunlöslicher Rohstoffe und nur wenig löslicher Hilfsstoffe bei der Papierherstellung führt zwar zunächst zu einer relativ geringen Belastung mit organischen und anorganischen Inhaltsstoffen, die jedoch durch den Grad der Wasserkreislaufeinengung aufkonzentriert werden (MÖBIUS UND WELCKER, 1981). Aufgrund der großen Wassermengen, die bei der Papierproduktion erforderlich sind, lag der Schwerpunkt der Abwassermeidungsmaßnahmen in der Vergangenheit in der Einengung und Schließung der Wasserkreisläufe, in die auch die vorgeschaltete Fasererzeugung mit einbezogen ist. In beiden Produktionsbereichen fällt das Abwasser als überschüssiges Kreislaufwasser an, das durch den Frischwassereinsatz ersetzt wird. Durch diese Maßnahmen konnte bei der Papierproduktion zwischen 1974 und 1992 der Wasserverbrauch um rund 70 % gesenkt werden (DEMEL UND SCHMID, 1995).

Der größte Teil der organischen Abwasserinhaltsstoffe stammt aus der vorgeschalteten Fasererzeugung und aus dem Bereich der Siebpartie der Papiermaschine. Dort treten während des Papierbildungsprozesses trotz des Einsatzes an Retentionsmitteln Verluste an Faser- und Füllstoffen auf (KAMUTZKI, 1983). Bei der Fasererzeugung aus Holzstämmen werden sehr hohe Temperaturen und Drücke erreicht und lassen Lignin zum Teil in Lösung gehen (KRAUSE ET AL., 1986). Die in die Kläranlage fließenden Inhaltsstoffe des Papierfabriksabwassers bestehen daher neben biologisch leicht abbaubaren Kohlenhydraten aus

schwerabbaubaren Lignin- und Harzsäureverbindungen. Die Stickstoff- und Phosphorkonzentrationen liegen in den Abwässern so niedrig, dass der Bedarf der Biozönose in der biologischen Abwasserreinigung nur durch Nährstoffzugabe gedeckt werden kann.

Die Beschreibung des Reinigungserfolges und der Restbelastung an organischen Stoffen findet traditionell vorwiegend in Form von Summenparametern wie dem CSB statt, der die Menge an aerob abbaubaren Stoffen über den chemischen Sauerstoffbedarf angibt. Über den Rest-CSB im Abwasser bestimmen sich die Gebühren für die Abwassereinleitung und stellen somit insbesondere in der Papierindustrie einen ökonomisch bedeutsamen Faktor dar. Weitere Summenparameter wie der gesamte organisch gebundene Kohlenstoffgehalt (TOC), der gelöste organisch gebundene Kohlenstoffgehalt (DOC), der Gehalt an Trockensubstanz (TS) bis hin zu Parametern wie die adsorbierbaren organischen Halogenverbindungen (AOX) sollen Aussagen über die Abwasserqualität geben können (SCHRÖDER, 1992). Gemein haben diese Summenparameter, dass sie relativ wenig über die Toxizität oder über die Art der schwerabbaubaren Einzelstoffe aussagen (GARTISER ET AL., 1996). Doch gerade diese Parameter sind ausschlaggebend, um mit maßgeschneiderten Abwasserreinigungsanlagen die organische Restbelastung weitestgehend minimieren zu können.

Um dieses Ziel zu erreichen, müssen zunächst möglichst viele der im Abwasser und im Klärschlamm vorhandenen Verbindungen bekannt sein. Für eine Erfassung dieser stellt sich zunächst die Frage nach einer optimalen Analyse-methode, denn eine Vielzahl von Methoden liefert nur unzureichende Informationen. Mittels Infrarot-Spektroskopie (IR) können nur Informationen über das Vorhandensein spezieller funktioneller Gruppen der Verbindungen gewonnen werden, wie beispielsweise Hydroxy- oder Carbonsäuregruppen. Die Methode der Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) gibt einen Einblick in die strukturelle Umgebung von Atomkernen und ist damit nicht geeignet für die Abwasserreinigung relevante Daten zu erhalten. Die Ultraviolett-Spektroskopie (UV) lässt Rückschlüsse auf die elektronische Struktur bestimmter Verbindungen zu und ist damit relativ unspezifisch bei der Bestimmung von Molekülen (ABBT-BRAUN UND FRIMMEL, 1991). Optimal erscheint hier die Massenspektrometrie, die auf-

grund ihres hohen Informationsgehaltes hinsichtlich Molekülmasse und Fragmentierungsmuster gut geeignet ist, Einzelstoffe zu identifizieren. (ABBT-BRAUN ET AL., 1990).

Hierzu müssen allerdings die Einzelstoffe aus einem Substanzengemisch aufgetrennt werden. Üblicherweise geschieht dies über eine chromatographische Methode wie Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) oder Gaschromatographie (GC), wobei letztere auf verdampfbare Substanzen beschränkt ist.

Eine Verdampfbarkeit von schwer flüchtigen oder höhermolekularen Stoffen kann durch thermische Fragmentierung mittels Pyrolyse, oder über eine Derivatisierung bestimmter funktioneller Gruppen erreicht werden. Die thermischen Fragmente oder Derivate führen nach der Auftrennung an einer GC-Säule und nachfolgender Bestimmung der Fragmente mit der Massenspektrometrie zu einem "Fingerabdruck" der Ausgangssubstanzen, wobei der strukturelle Zusammenhang der Makromoleküle durch die Spaltung verloren geht (ABBT-BRAUN UND FRIMMEL, 1990).

Das wichtigste biologisch schwerabbaubare Makromolekül im Papierfabriksabwasser ist Lignin. Eine geeignete Methode zur Quantifizierung des Lignins aus der Matrix Papierfabriksabwasser gibt es nicht. Sollte es möglich werden mit einer geeigneten Methode eine Bilanzierung der Ligninstoffströme herbeizuführen, so können verschiedenste Anlagen- und Verfahrensparameter (Schlammalter, Belüftung, Nährstoffzugabe) dahingehend optimiert werden, einen möglichst hohen Anteil der Lignine aus dem Abwasser zu entfernen, damit die Rest-CSB Belastung zu vermindern und folglich dauerhaft Kosten zu senken.

2 Stand des Wissens

Holz ist bis heute der wichtigste Rohstoff zur Papierherstellung. Der aus Holz produzierte und wegen seiner langen Fasern zur Papierproduktion wichtige Zellstoff wird aufgrund der scharfen deutschen Umweltauflagen ausschließlich importiert. Kürzere Fasern werden beim Holzschliffprozess gewonnen.

Zunächst werden dazu die Fichtenhölzer in eine rotierende Trommel transportiert, die in der Regel einen Durchmesser von rund 5 m und eine Länge von rund 25 m aufweist. Durch die gegenseitige Reibung der Hölzer werden diese von Bast und Rinde befreit. Nach diesem Prozess schließt sich die Holzschleiferei an. Zum Einsatz kommt das temperaturgeregelte Thermoschliff-Verfahren, bei dem das Holz in acht Ketten-Stetigschleifern durch rotierende Schleifsteine mechanisch zerfasert wird. Dabei treten hohe Drücke und Temperaturen auf. In diesem Bereich erweicht Lignin stark und wird zum Teil flüssig. Das sonst weitgehend wasserunlösliche Lignin löst sich während dieses Prozesses zum Teil im Schleifwasser, zum Teil ist es dort feindispers verteilt. Nach einer mehrstufigen Sortierung wird der hochverdünnte Holzschliff eingedickt und in einer zweistufigen Anlage mit Wasserstoffperoxid gebleicht (MD-PAPIER, 1990).

Dem gebleichten Holzschliff werden Zellstoff, Kaolin, Harzbekämpfungsmittel und Biozide zugegeben. Bevor das Papier gefertigt wird, setzt sich die Suspension aus 45 % Holzschliff und Zellstoff, sowie aus 10 % Füll- und Hilfsstoffen zusammen. Der Rest ist Wasser. Anhand dieser Zahlen wird deutlich, dass Wasser mit einem Anteil von 45 % ein unersetzbares Element bei der Papiererzeugung ist. In der Papieraufbereitung ist Wasser das Transportmittel für die Faserstoffe. In der Papiermaschine sorgt es für die homogene Verteilung der Fasern auf dem Papiermaschinensieb. Durch Schließung der Wasserkreisläufe konnte die benötigte Wassermenge pro produziertem Kilo Papier von 70 l Anfang der siebziger Jahre auf rund 10 l heute gesenkt werden. Der Frischwasserzufluss beträgt rund 10 % der in der Produktion benötigten Gesamtmenge an Wasser. Ein geringer Teil des Wassers verbleibt im Papier, das restliche Wasser reichert sich mit Salzen und organischen Bestandteilen an. Ein Teil davon wird kontinuierlich in die Kläranlage geführt und durch Frischwasser ersetzt.

Aufgrund der Schließung der Wasserkreisläufe ist das Papierfabriksabwasser heute höher mit Papierinhaltsstoffen belastet, als dies noch zu Zeiten eines extrem hohen Wassereinsatzes war (AUHORN, 1984). Trotz der Schließung der Wasserkreisläufe und der damit verbundenen geringeren Abwassermengen, sind die Kosten für die Abwasserreinigung und die nachfolgende Einleitung in Fließgewässer hoch. Zum einen hat dies damit zu tun, dass aufgrund der Nährstoffarmut des Abwassers Nährstoffe zudosiert werden müssen, um mittels des Belebtschlammverfahrens eine akzeptable Reinigung zu erzielen.

Zum anderen befinden sich biologisch schwer abbaubare Substanzen im Abwasser, die zum Teil auch in den Ablauf geraten. Die Ablaufwerte der biologischen Stufe werden von den Behörden untersucht und überwacht. Die gemessenen Werte müssen jederzeit die geforderten Werte unterschreiten. Sie sind nach der 19. Abwasserverwaltungs-Vorschrift genehmigt, wenn der Betrieb nachweisen kann, dass er bestimmte Werte ganzjährig unterschreitet (N.N., 1992). Dabei handelt es sich um eine Vorschrift, die speziell auf die Papierindustrie zugeschnitten wurde. Die Betriebe möchten die geforderten Werte weiter senken, da die Zahlungen, die sie leisten müssen, direkt mit der Höhe der geforderten Werte und der Abwassermenge zusammenhängen. Daher interessiert vor allem, welche Wasserinhaltsstoffe dafür verantwortlich sind, dass die Ablaufwerte nicht weiter senkbar sind und wie diese aus den Abwässern möglichst optimal entfernt werden können um dieses Ziel doch noch zu erreichen.

Da bei der Papierproduktion vorwiegend auf Holz basierende Rohstoffe eingesetzt werden, finden sich im Abwasser die typischen Holzinhaltsstoffe wie Hemicellulosen, Cellulosen, Harzsäuren und Lignine (BÖTTGER ET AL., 1978). Bei den Cellulosen handelt es sich um Kohlehydrate. Aufgrund der leichten biologischen Abbaubarkeit stellen Cellulosen keinen Problemstoff bei der biologischen Reinigung dar. Harzsäuren sind vor allem bei der Papierproduktion durch Anhaftung an die Papierwalzen mit der Folge der Bildung von Löchern im Papier problematisch. Die Menge an Harzsäuren im Holz ist aber gering im Vergleich zu Lignin. Lignin wiederum ist mit rund 30 % einer der Hauptinhaltsstoffe im Holz und ist bekannt dafür, biologisch nur schwer abbaubar zu sein.

Aus dieser Tatsache heraus ergibt sich Handlungsbedarf den Weg des Lignins innerhalb der Kläranlage zu bestimmen. Dies gilt sowohl für das Abwasser im Zu- und Ablauf, als auch für die biologische Reinigungsstufe mit Belebtschlamm. Voraussetzung dafür ist das Wissen über Struktur, Analysemethoden und Eigenschaften des Lignins.

2.1 Lignin

Lignin ist einer der wichtigsten Bestandteile holziger Pflanzenteile. Zwischen 25 und 35 % des Trockengewichtes von Holz ist dem Lignin zuzuschreiben. Im Gegensatz zur Cellulose, die von allen Pflanzen gebildet wird, tritt die Ausbildung von lignifizierten Zellwänden nur bei an Land lebenden Pflanzen auf, die mit Hilfe von Lignin große aufrechte Formen annehmen können und gleichzeitig für die Bildung stabiler Kanäle zur Durchleitung wässriger Lösungen sorgen.

Große Mengen an modifiziertem Lignin fallen heute als Nebenprodukt bei der Papierherstellung an. Ein kleinerer Teil löst sich bei Holzschliffprozessen im Wasser und stellt aufgrund seiner schweren biologischen Abbaubarkeit ein Problemstoff in der biologischen Abwasserreinigung dar (SCHMITT, 1990). Aus Umweltschutzgesetzen resultierende Beschränkungen führen ebenso wie neuartige technische Entwicklungen zu einem weltweit zunehmenden Interesse an Lignin (KOSIKOVA ET AL., 1995). Als erneuerbare Quelle hat Lignin eine Vielzahl an Möglichkeiten sinnvoll zum Einsatz zu kommen, wie beispielsweise als Brennstoff mit hohem Energieinhalt. Aufgrund der konstant niedrigen Preise für fossile Energien kommt Lignin aber dennoch nur in wenigen kommerziellen Gebieten zum Einsatz, wie beispielsweise in modifizierter Form als Ligninsulfonsäure in der Bauindustrie .

Die Erforschung des Makromoleküls Lignin ist bereits seit 150 Jahren ein wichtiger Aspekt in der chemischen Forschung. Die wichtigsten Erkenntnisse über die Struktur und Bildung des Holzes der Kiefer (*Pinus sylvestris*), die immer wieder als Prototyp des Gymnospermenholzes herangezogen wird, stammen von Karl Sanio (SANIO, 1874). Ergänzt wurden die Befunde im 20. Jahrhundert durch Untersuchungen des amerikanischen Botanikers BAILEY (1954), sowie der deut-

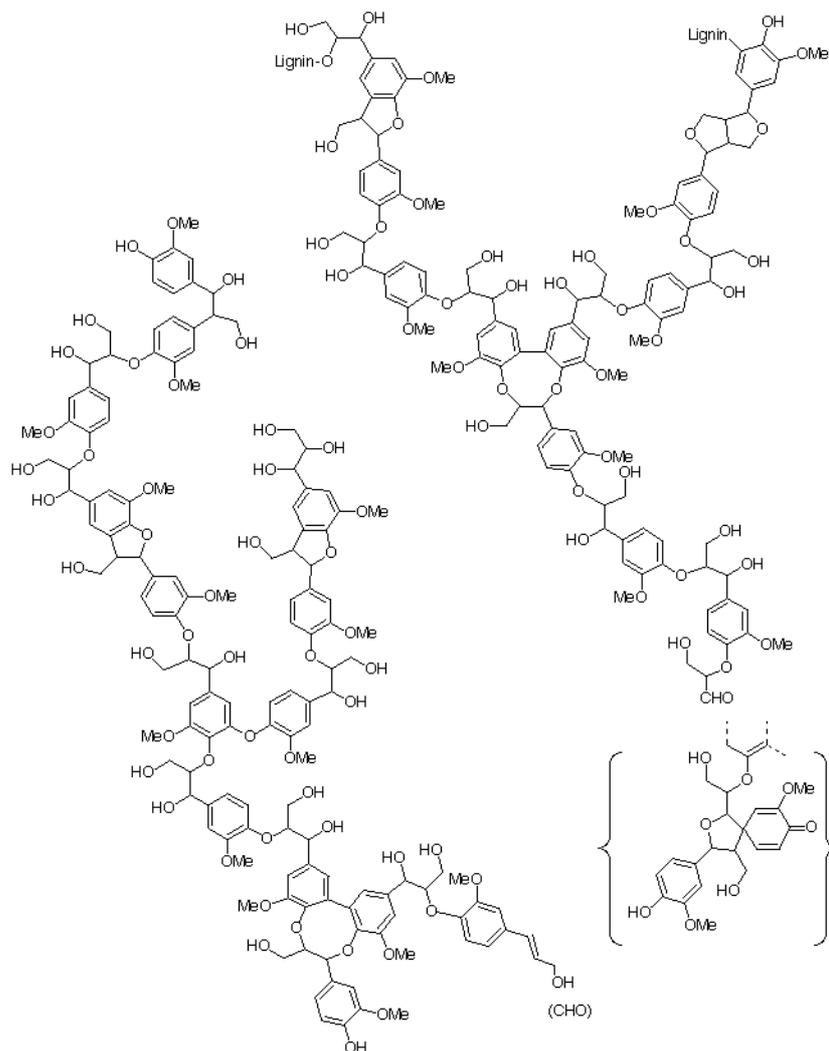


Abb. 2.1.: Das Ligninmodell nach FREUDENBERG (1957). Deutlich wird, daß die Ligninbausteine im Molekül jeweils über Sauerstoffatome verbunden sind. Diese Bindungen weisen zugleich die schwächste Bindung auf und werden thermisch relativ leicht gebrochen.

schen Chemiker FREUDENBERG UND KNOF (1957). Seit dieser Zeit kennt man einen groben Aufbau des Ligninmoleküls, das in *Abbildung 2.1* wiedergegeben ist.

Aufgrund der Komplexität des Makromoleküls gibt es aber bis heute immer noch zahlreiche Fragen bezüglich der Entstehung, Struktur und Aufbau, Auftreten und mögliche kommerzielle Anwendungen dieses Stoffes. Obwohl die Anordnung der Ligninuntereinheiten im Lignin durch diverse analytische Methoden untersucht

wurde, ist das Makromolekül selbst bis heute immer noch nicht vollständig erforscht. Dennoch können auf der Basis von Kenntnissen über Fragmente des Makromoleküls Analyseergebnisse erzielt werden, mit denen die Quantifizierung des gesamten Makromoleküls möglich und sinnvoll erscheint.

2.2 Techniken zur Isolierung und Strukturanalyse von Lignin

Die Isolierung von unveränderten Ligninpolymeren aus Holz und dessen Komponenten ist bis heute eines der größten Probleme in der Lignin-Chemie. GLASSER (1980) schlug vor, dass man sich Lignin als Schicht vorstellen müsse, die von den Pflanzen abgelagert wird, um verstärkte, straff gespannte Fasern aufzubauen, die durch Quervernetzung eine Starrheitskomponente bekommen. Diese Vorstellung wird mittlerweile auch durch Rasterelektronenmikroskopaufnahmen wie in *Abbildung 2.2* unterstützt. Unter dieser Annahme ist die Entfernung oder der Abbau von Lignin nur durch eine schichtweise Entfernung der Fasern möglich.

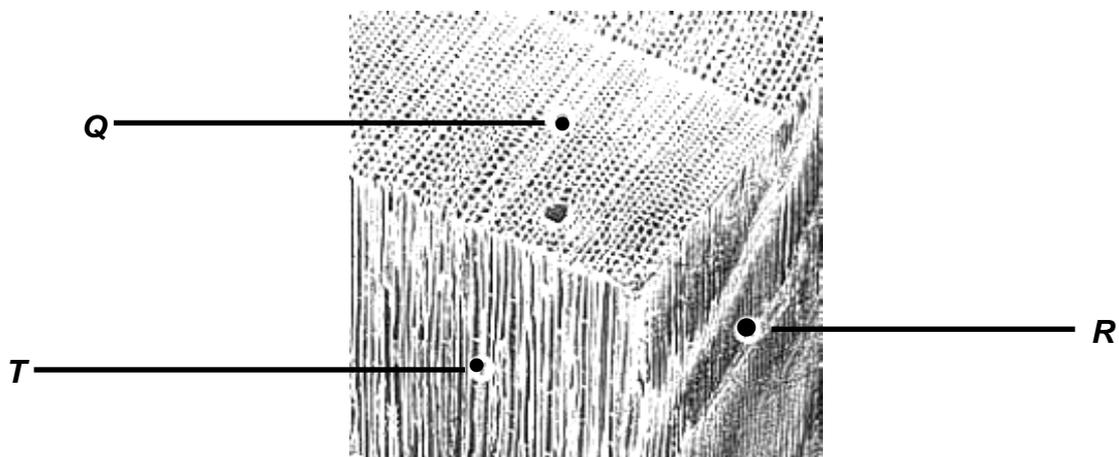


Abb. 2.2.: *Beispiel für ein Gymnospermenholz: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme. Blockdiagramm, aus dem die Beziehung zwischen Quer-, Radial- und Tangentialschnitten (Q, R, T) hervorgeht. (SCHMITT, 1990).*

Der Einsatz unterschiedlichster Analysetechniken richtet sich nach der Art der gewünschten Information. Prinzipiell gibt es zwei deutlich unterscheidbare Tech-

niken. Zum einen ist dies eine Analysetechnik, welche die Ligninstruktur nicht zerstört (spezifische Immunoessays, spezifische Färbemethoden). Diese Form wird vor allem bei topochemischen Untersuchungen angewandt um Anwesenheit und Verteilung von Lignin durch in-situ Analyse von Pflanzenschichten zu bestimmen. Im Gegensatz dazu werden zur Strukturanalyse von Lignin auf molekularer Ebene in der Regel Analysetechniken eingesetzt, bei der das Ligninmolekül modifiziert (Hydrolyse) oder wie bei der chemischen Spaltung (Oxidation, Chemolyse) oder der thermischen Spaltung (Pyrolyse) zerstört wird. Dies ist notwendig, da bei diesen Methoden das Ligninmolekül normalerweise depolymerisiert wird, wobei die Polymer-Fragmente Rückschlüsse auf die ursprüngliche Polymerstruktur zulassen.

Bis heute basiert das Wissen über die molekulare Ligninstruktur vornehmlich aus einigen ausgewählten Herstellungsmethoden oder Studien mit Modellsubstanzen. Ein allgegenwärtiges Problem der Isolierung von Lignin aus einer Kohlenhydratmatrix ist, dass je nach Absicht des Forschers, ein Kompromiss zwischen der weitgehenden Erhaltung der Ursprungsstruktur des Lignins und der Ausbeute bei der Isolierung des Lignins getroffen werden muss (GLASSER UND KELLY, 1987). Im Labormaßstab werden heute zwei unterschiedliche Methoden eingesetzt. Schwerpunkt der ersten Methode liegt auf der vollständigen Isolierung des Lignins durch saure Hydrolyse, wodurch allerdings eine Modifikation der Ligninstruktur auftritt. Schwerpunkt der zweiten Methode ist der Erhalt der Ligninstruktur, was durch organische Lösungsmittel-Extraktionen erreicht wird (BJÖRKMANN, 1954). Diese Methode hat jedoch den Nachteil, dass nur sehr geringe Ausbeuten erreicht werden. Großtechnisch wird in Papierfabriken eine Delignifizierung des eingesetzten Holzes vorgenommen. Hierbei liegt aber das Augenmerk auf der vollständigen Abtrennung der für die Papiererzeugung wichtigen Cellulose-Fasern.

Im industriellen Maßstab basiert die Delignifizierung auf der Auflösung von Lignin in einem wässrigen Medium, das saure oder alkalische Eigenschaften aufweist. Dabei entstehen in ihren Struktureigenschaften modifizierte Ligninpolymere (GLASSER UND KELLY, 1987). Diese isolierten Lignine werden allgemein nach ihrer ursprünglichen Herstellungsmethode bezeichnet, wie beispielsweise Ligninsulfonate oder Kraft Lignine.

Verschiedentlich haben Forscher beschrieben, dass die Delignifizierungsraten der Mittellamelle und der sekundären Zellwand deutliche Unterschiede in Abhängigkeit von den vorherrschenden Bedingungen bei der Herstellung der Pulpe aufweisen (SIXTA UND BORGARDS, 1999). LECLERC UND OLSON (1992) zeigten, dass die Entfernung von Lignin aus der Mittellamelle mit dem Model der Perkolations-Theorie für dreidimensionale quervernetzte Gele beschrieben werden kann, während der Abbau von Lignin aus der sekundären Zellwand sehr gut mit der *Flory-Stockmayer* Theorie übereinstimmt, bei der Netzwerke untereinander nur gering vernetzt sind.

Heute geht man davon aus, dass man die Entfernung des Lignins während der Herstellung der Pulpe als Zusammenspiel dieser zwei Prozesse in Abhängigkeit von den Bedingungen bei der Pulpe-Herstellung beschreiben kann. Zum einen ist dies die Degelation zweier quervernetzter Netzwerke unterschiedlicher Polydispersität (Mittellamelle und sekundäre Zellwand), zum anderen das allgemeine Auftreten von Kondensationsreaktionen in der Sol-Phase (KORDSACHIA ET AL., 1999).

2.2.1 Strukturhaltende Techniken zur Ligninanalyse

Eine Vielzahl histochemischer Farbreaktions-Tests wie die von MÄULE ($\text{KMNO}_4/\text{HCl}/\text{NH}_3$), WIESNER (Phloroglucinol/HCl) und CROSS UND BEAVEN ($\text{HCl}/\text{Na}_2\text{SO}_3$) werden gewöhnlicherweise dazu verwendet, um lignifizierte Schichten in Pflanzen kenntlich zu machen, bzw. um zwischen unterschiedlichen Funktionalitäten des Ligninpolymers zu unterscheiden (GROSS, 1985). Durch Querreaktion mit Lignanen (Phenylpropandimeren) und anderen phenolischen Komponenten werden bei diesen Farbreaktionen allerdings häufig wenig aussagekräftige oder sogar falsche Ergebnisse erhalten. Bei einer anderen Technik zur quantitativen Bestimmung des Ligningehaltes in Holz wird das Lignin zunächst bromiert und nachfolgend mit Hilfe der Raster-Elektronen-Mikroskopie (REM) in Verbindung mit der Energiedispersen-Röntgen-Strahlung (EDXA) analysiert. Die Verteilung des Lignins ist nach der Bromierung in den verschiedenen Teilen der Zelle durch den Bromgehalt definiert (RODRIGUES ET AL., 1999).

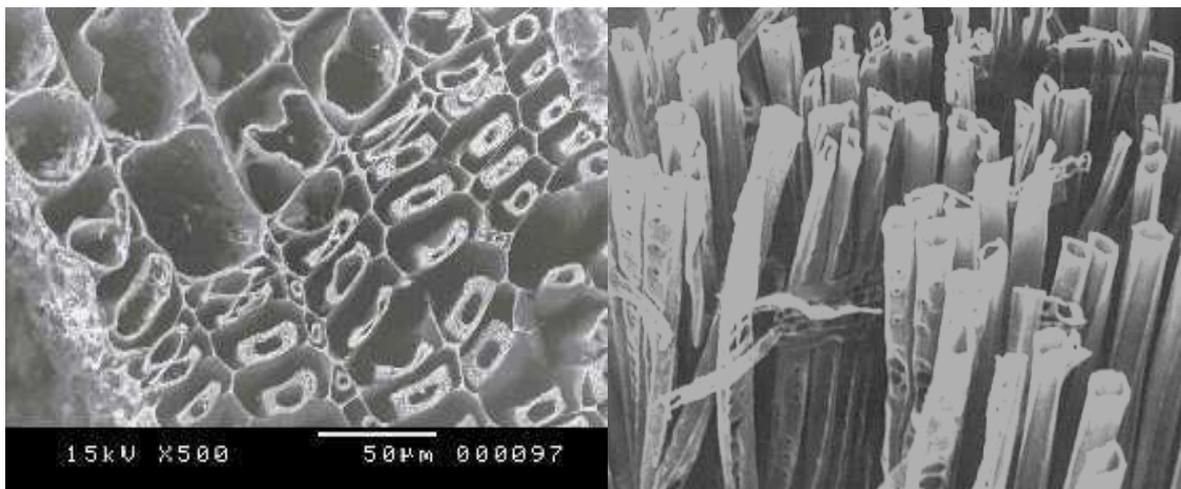


Abb. 2.3: *Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Weißfichte nach einem enzymatischen Aufschluß zur Entfernung aller Holz-inhaltsstoffe bis auf Lignin (HELM, 2001).*

Um den Strukturaufbau des Lignins noch besser untersuchen zu können, werden in jüngster Zeit Holzbestandteile enzymatisch aufgeschlossen, wobei bis auf das Lignin alle Holz-inhaltsstoffe gelöst oder abgebaut werden (YOUNG ET AL., 1995). Zurück bleibt das reine Ligningerüst der Pflanze. In einer REM-Aufnahme wird dies in *Abbildung 2.3* deutlich.

Die Visualisierung des Ablaufs der Lignifizierung an bestimmten morphologischen Stellen unterschiedlicher Xyleme wird mit Hilfe der Mikro-Audio-Radiographie durchgeführt (FUKUSHIMA ET AL., 1998). Bei dieser Methode werden der Pflanze Vorläufersubstanzen des Lignins, die an spezifischen Stellen mit ^{14}C markiert wurden, zur Verfügung gestellt. Die Verteilung des ^{14}C in verschiedenen Gewebeteilen zu unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten des Gewebes kann nachfolgend einfach festgestellt.

Weitere strukturerhaltende optische Techniken zur Ligninanalyse schließen UV- und Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) ein, die vor allem bei der Be-

obachtung der Entwicklung des in vivo Ligninpolymers eingesetzt werden (HARADA UND CÔTÉ, 1985; UCAR UND FENGEL, 1995).

Zur Charakterisierung der löslichen Bestandteile von Ligninpolymeren wird heute vielfach die ^1H - und ^{13}C -Kernspinspektroskopie (NMR) eingesetzt (CHEN UND ROBERT, 1988; ELDER, 2000). Feststoff ^{13}C -NMR erwies sich als sinnvoll bei der quantitativen Bestimmung von Ligninen mit bestimmten funktionellen Eigenschaften innerhalb des Ligninpolymers sowie von isolierten Ligninproben (LEWIS ET AL., 1987; HATFIELD ET AL., 1987). Durch die Komplexität des Ligninpolymers hängt die Möglichkeit der Identifikation bestimmter Ligninstrukturen stark davon ab, ob reine Ligninmodellsubstanzen zur Evaluierung zur Verfügung stehen.

Ein Nachteil dieser Methode ist, dass die im Gewebe durch die natürliche ^{13}C Signalstärke gegebenen Signale des Lignins und der Kohlenhydrate überlappen und damit nicht mehr eindeutig zuzuordnen sind. Lewis konnte mittels ^{13}C -NMR zeigen, dass lebende Pflanzen, die mit ^{13}C markiertem Phenylalanin und anderen ^{13}C markierten Ligninvorläufermonomeren über einen ausgedehnten Zeitraum gefüttert wurden Signale zeigen, die dem Bindungsmuster von Phenylpropan-einheiten entsprechen (LEWIS ET AL., 1987; LEWIS UND YAMAMOTO, 1990; LEWIS, 1998). Die Signale, die für verschiedene natürliche Ligninunterstrukturen erhalten werden, unterscheiden sich signifikant von denen, die synthetisch hergestellt wurden. Eine deutliche Verbesserung stellt die zweidimensionale ^{13}C -NMR dar, die in jüngster Zeit eingesetzt wird (HERNANDEZ ET AL., 2000).

2.2.2 Strukturzerstörende Techniken zur Ligninanalyse

Ligninabbauende Techniken in alkalischen Medien in Kombination mit Metalloxiden (meist Kupferoxid), Nitrobenzol oder Kaliumpermanganat, die als Oxidationsmittel dienen, lassen ein charakteristisches Gemisch aus para-Hydroxybenzaldehyd, Vanillin oder Syringaldehyd entstehen. Diese ligninabbauenden Techniken werden als Standardvorbehandlungsmethoden im Bereich der Holzchemie eingesetzt, um die verhältnismäßigen Anteile von para-Hydroxybenzaldehyd, Vanillin und Syringaldehyd mittels GC oder HPLC bei einer Vielzahl von Pflanzen zu bestimmen. Obwohl hier Informationen über Seitenketten ebenso verloren gehen, wie auch durch auftretende Artefakte durch die extremen chemischen

Reaktionen fehlerhafte Informationen entstehen, eignet sich diese Methodik die botanische Herkunft des Lignins bestimmen zu können.

Der hydrolytische Abbau von Lignin durch die Öffnung von Ether verbrückten Einheiten wurde ursprünglich mit Alkoholen (Methanolyse, Ethanolyse) und katalytischen Mengen an Mineralsäuren durchgeführt, wobei ein Gemisch aus Phenylpropanylketonen entsteht (Hibbert Ketone) (FREUDENBERG, 1968; GLASSER, 1980).

Ligninprobenvorbereitungen, die mit der Spaltung durch Säure arbeiten, wobei vor allem saure Dioxan-Wassergemische zur Anwendung kommen (Dioxan - 2N HCl 9:1 v/v), werden gewöhnlich neben der Hibbert Keton Methode zum Abbau von Ligninen in verschiedene monomere oder dimere Bruchstücke eingesetzt. In jüngster Zeit wird diese Technik zunehmend durch die Methode der schwefelsauren Spaltung ($\text{BF}_3/\text{C}_2\text{H}_5\text{SH}$) verdrängt, die durch selektive Spaltung der Etherbindungen Struktureinheiten ergeben, die eine Mischung aus diastereomeren 1,2,3-Trithioethanphenylpropaneinheiten darstellen. (LAPIERRE ET AL., 1991). CHALLINOR (1995) konnte nachweisen, dass bei vorangehender Methylierung die schwefelsaure Spaltung als Technik eingesetzt werden kann, um die Anzahl der etherverbundenen Phenylpropaneinheiten im Vergleich zu freien phenolischen Gruppen abzuschätzen. Nachteilig dabei ist jedoch, dass die Ausbeuten der oxidativen oder sauren Abbaureaktionen relativ gering sind.

Zu den strukturzerstörenden Analysetechniken muss auch die thermische Spaltung, Pyrolyse genannt, gezählt werden. Diese wird im folgenden beschrieben.

2.3 Pyrolyse mit massenspektrometrischer Analyse

Die unter gesteuerten Bedingungen durchgeführte Pyrolyse hat sich als eine schnelle und reproduzierbare Methode zur Dissoziation von Ligninpolymeren in thermisch flüchtige Produkte erwiesen, die der chromatographischen Auftrennung mit nachfolgender massenspektrometrischer Analyse zugeführt werden können. Im engsten Sinne ist die Pyrolyse als thermischer Abbau von Stoffen unter Luftabschluss definiert.

In der Literatur wird der Begriff Pyrolyse allerdings häufig in einem weiteren Sinne gebraucht. Hier werden jegliche chemische Änderungen beschrieben, welche durch die Anwendung höherer Temperatur und teilweise sogar bei Anwesenheit von Luftsauerstoff entstehen. Ausführliche Beschreibungen der Entwicklung der Pyrolyse in Kombination mit der massenspektrometrischen Analyse (Py-MS) wurden insbesondere von IRWIN (1979), MEUZELAAR ET AL. (1982), SCHULTEN UND LATTIMER (1984) und BOON (1992) veröffentlicht. Eine außerordentlich große Zahl an Veröffentlichungen existiert über die Anwendung der Py-MS von Ligninpolymeren und die daraus resultierenden Ergebnisse, dennoch gibt es bis heute keinen umfassenden Übersichtsartikel über diese Technik. Im Folgenden werden deshalb einige der wichtigsten Erkenntnisse aus der Vielfalt der Literatur zusammengefasst.

Eine Vielzahl von kontinuierlichen und gepulsten Betriebsarten bei der Pyrolyse werden heute kommerziell zur Routineanalyse angeboten. Für analytische Zwecke werden gepulste Pyrolysegeräte, die bei der Anwendung einen steilen Temperaturgradienten aufweisen, bevorzugt, da diese Technik einen sehr schnellen Wärmeübergang bietet und die primären Spaltungsprodukte schnell aus der Pyrolysezone entfernt werden. Dadurch wird die Gefahr der Bildung von sekundären Pyrolyseprodukten minimiert.

Zwei unterschiedliche Methoden werden gewöhnlich zur Analyse unlöslicher komplexer Gemische herangezogen. Zum einen ist dies die direkte Pyrolyse mit nachfolgender massenspektrometrischer Analyse (Py-MS), zum anderen die online-Pyrolyse mit gaschromatographischer Auftrennung der Dissoziationsprodukte und nachfolgender massenspektrometrischer Analyse (Py-GC/MS). Bei der Py-MS wird die Pyrolyse nahe der Ionenquelle oder direkt in der Ionenquelle durchgeführt um ein Fingerprint-Spektrum des Pyrolysatgemisches zu erhalten, das mit chemometrischen Methoden (GOODACRE ET AL., 1994) oder mit Hilfe der Tandem-Massenspektrometrie (ALSBERG ET AL., 1997) weiter analysiert werden kann. Bei der Py-GC/MS trennt die vorangeschaltete Chromatographiesäule das Multikomponentenpyrolysat auf, bevor die einzeln aufgetrennten Dissoziationsprodukte im MS analysiert und identifiziert werden können.

In den frühen siebziger Jahren entwickelte Meuzelaar (ALSBERG ET AL., 1997) ein automatisiertes Py-MS-System (FOMautoPy-MS), das aus einer Curie-Punkt-

Pyrolyse-Einheit und einer goldbeschichteten Expansionskammer besteht, die mit dem Quadrupol-Massenspektrometer verbunden ist.

Es konnte gezeigt werden, dass in Abhängigkeit der Herkunft des analysierten Ligninpolymers verschiedene Phenyl-, Methoxyphenyl- und Dimethoxyphenylstrukturen in den Dissoziationsprodukten bis zu einer Masse von 220 m/z identifiziert werden können. Die Identifikation der Pyrolyseprodukte konnte von mehreren Arbeitsgruppen durch den Einsatz komplementärer Py-GC/MS-Techniken etabliert werden.

Eine Aufstellung von Massesignalen charakteristischer Pyrolyseprodukte von Biopolymeren einschließlich von Lignin wurde von BOON ET AL. (1983) erstmals publiziert und über Jahre hin eingehend untersucht (VAN DER HAGE UND BOON, 1996).

Probleme bereiten bis heute Molekülfragmente, die eine große Masse aufweisen, weil diese deutlichen Transportbeschränkungen innerhalb der Säule bzw. auf dem Weg zur Ionenquelle unterliegen, da die Curie-Punkt-Pyrolyse grundsätzlich räumlich getrennt von der Ionenquelle stattfinden muss, um eine Störung der Ionenquelle des MS durch das hochfrequente Feld zu vermeiden. Für Py-MS konnte dieses Problem so gelöst werden, dass die Probe innerhalb der Ionenquelle auf einem elektrisch heizbarem Widerstand aufgebracht ist und entsprechend pyrolysiert wird.

Diese Methode, in-source-Py-MS genannt, wurde mit Py-GC/MS auf der Basis der Pyrolyse von Stroh verglichen (BOON, 1992). Es konnte gezeigt werden, dass mit in-source-Py-GC/MS aus Lignin stammende Pyrolyseprodukte bis zu einer Masse von 450 m/z detektiert werden können und damit Produkte mit einer doppelt so hohen Masse wie bei der Curie-Punkt Py-MS und Py-GC/MS. Auf der Basis der drei letztgenannten Methoden wurden eine Vielzahl von Untersuchungen hinsichtlich des strukturellen Aufbaus von Lignin in Pflanzenmaterial (SHEVCHENKO UND BAILEY, 1996), der Änderung des Ligninaufbaus durch Ligninisolierungsmethoden (WONG UND DE JONG, 1996) und durch Enzymbehandlung (CHEN UND ROBERT, 1988; ERIKSSON, 1990) durchgeführt und veröffentlicht.

Lignin erweist sich gegenüber dem biologischem Abbau als sehr resistent. Dadurch erlangen Fragmente aus Ligninen eine wichtige Rolle als Marker zur Charakterisierung zersetzten und fossilen Pflanzenmaterials. Py-MS und Curie-Punkt Py-GC/MS werden häufig eingesetzt, um die Modifikationen von Ligninpolymeren im Boden (SCHULTEN, 1999; GUGGENBERGER UND ZECH, 1999), in unaufgereinigten (RODRIGUEZ ET AL., 1996) und in nach Größe der Feststoffe aufgereinigten Torfproben (RYAN, 1987), sowie gesammelten Pflanzenrückständen (MCCARTHY ET AL., 1997, VAN ARENDONK ET AL., 1997) zu bestimmen. STOUT ET AL. (1994) wendeten beispielsweise Py-MS und Py-GC/MS zur Charakterisierung molekularer Aspekte hinsichtlich der Vertorfung und des Beginns der Kohlebildung von Laub- und Nadelhölzern an.

2.3.1 Curie-Punkt-Pyrolyse

Ferromagnetische Stoffe besitzen die Eigenschaft, sich einem Magnetfeld mit entsprechender Impulsfrequenz schockartig innerhalb von Mikrosekunden auf eine definierte Temperatur, die Curie-Punkt heißt, aufzuheizen (SAIZ-JIMENEZ, 1994). Mit zunehmender Temperatur nimmt die Permeabilität des ferromagnetischen Materials ab. Bei Erreichen der Curie-Punkt-Temperatur tritt ein plötzlicher Abfall der relativen Permeabilität auf. Damit wechselt der ferromagnetische Zustand in einen paramagnetischen Zustand. Die von der Legierung aufgenommene Heizleistung sinkt innerhalb von 20 Millisekunden (RÖSLER UND GOHLKE, 1997) auf einen verschwindend geringen Teil ab. Dabei findet wieder ein Wechsel vom paramagnetischen in den ferromagnetischen Zustand. Die Legierung nimmt wieder Energie auf.

Die Technik der Curie-Punkt-Pyrolyse wird allgemein als Probenvorbehandlung für schwer verdampfbare, überwiegend höhermolekulare Stoffe eingesetzt, um eine Erfassung der thermisch gespaltenen Bruchstücke mittels GC/MS durchführen zu können. Die schwerverdampfbaren und höhermolekularen Bestandteile werden dabei in reproduzierbarer Weise in kleinere, verdampfbare Bruchstücke gespalten (VAN LOON UND BOON, 1993).

2.3.2 Kinetik der pyrolytischen Moleküldissoziation von Lignin

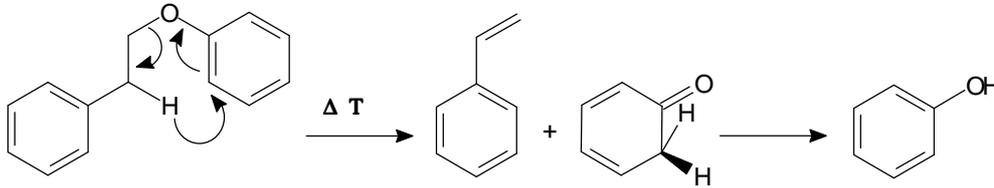
Kinetische Studien an Modellsubstanzen weisen darauf hin, dass der entscheidende Schritt beim thermischen Abbau von Lignin der homolytische Bindungsbruch der vorherrschenden α - und β -Alkylaryletherbindungen ist (BRITT ET AL., 1995). Thermolysen, die mit geringen Heizraten arbeiten (1-20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) wie zum Beispiel die thermogravimetrischen Analysen (TGA), die differentiell thermischen Analysen (DTA) und die differentiell abtastende Kalorimetrie (DSC) haben einen Einblick in das Auftreten von Wasserstoffbindungen, der thermischen Erweichung, sowie der Phasenumwandlung des Ligninpolymers gegeben (Antal, 1985; Kifani-Sahban et al., 1997).

Domburg und sein Arbeitskreis führten zahlreiche und umfassende mechanistische und kinetische Studien zur Pyrolyse von Lignin und weiteren Modellsubstanzen unter Verwendung geringer Heizraten durch (DOMBURG ET AL., 1970). Diese Ergebnisse wurden von VARHEGYI ET AL. (1997) zusammengefasst und daraus der Schluss gezogen, dass dem heterolytischen Bindungsbruch bei der Ligninthermolyse kein Gewicht beizumessen ist.

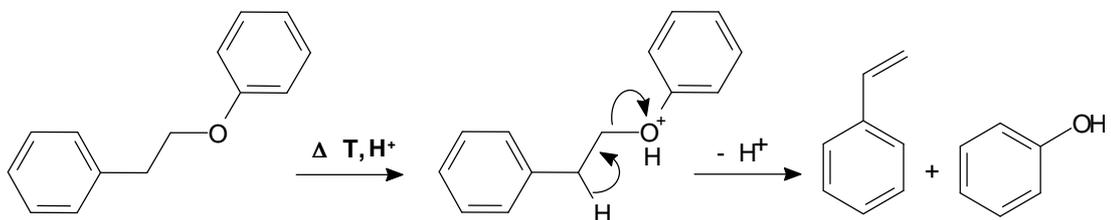
Weitere Studien wurden mit Phenylethylphenylethern, der einfachsten Modellsubstanz für β -Alkylaryletherbindungen durchgeführt. Die große Wichtigkeit von gleichzeitig auftretenden anionischen und freien Radikal-Reaktionen wurden von BRITT (1995) zusammengefasst, diskutiert und die Ergebnisse wurden auf die Modellvorstellung des Mechanismus der Ligninpyrolyse ausgedehnt (Abbildung 2.4).

Basierend auf diesen Ergebnissen konnte gefolgert werden, dass der thermische Abbau von Ligninpolymeren durch einen freien Radikalprozess beherrscht wird. FAIX ET AL. (1988) untersuchte den Pyrolysemechanismus anhand von zwei trimeren Ligninmodellsubstanzen mit DSC und Py-GC/MS (CATHALA ET AL., 1998). Die α - und β -alkylaryletherverbundenen Substanzen ergaben bei einer Pyrolysetemperatur von 600 $^{\circ}\text{C}$ 40 bis 70 thermisch fragmentierte Produkte, wobei ein Großteil als Rekombinationsprodukte von Benzylradikalen identifiziert werden konnte.

A) Eine an 6 Zentren gleichzeitig ablaufende Retro-en Reaktion



B) Ionische Reaktion



C) Radikalische Reaktionen



(1): Initiationsschritt

(2) + (3): Kettenreaktion

Abb. 2.4: Verschiedene Ansätze für Reaktionsmechanismen bei der Pyrolyse von Phenylethylphenylether als Ligninmodellsubstanz: Eine an 6 Zentren gleichzeitig ablaufende Retro-en Reaktion (A), eine ionisch ablaufende Reaktion (B), und die nach dem heutigen Wissensstand hauptsächlich ablaufende freie Radikalkettenreaktion (C) mit Initiationsschritt (1) und den nachfolgenden Kettenreaktionsschritten. Reaktionsschritte in Anlehnung an KLEIN UND VIRK (1983).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es eine Vielzahl von Studien gibt, die zeigen, dass Py-GC/MS und Py-MS schnelle mikroanalytische Methoden zur strukturellen Charakterisierung von isoliertem und in verschiedene Biomatrizes eingebettetem Lignin ohne vorherige Aufreinigung darstellen. Ein weitgehend komplettes Bild der Herkunft von monomeren Ligninpyrolyseprodukten wird mit Hilfe der Py-GC/MS erhalten. Dimere und oligomere Struktureinheiten werden mittels in-source-Py-MS, Py-FI/MS und Pyrolyse in Kombination mit Molekularstrahl-Massenspektrometrie untersucht. Die Grundlagenforschung befasst sich heute vor allem mit der detaillierten Identifikation von oligomeren Ligninpyrolyseprodukten, da diese Informationen bezüglich der Quervernetzung zwischen den Struktureinheiten im Makromolekül liefern können. Eine Methode zur Quantifizierung von Lignin mittels Curie-Punkt-Py-GC/MS anhand von Ligninbruchstücken wurde bis heute noch nicht in der Literatur beschrieben.

2.4 Ligninbestimmung mittels UV/VIS

Die UV/VIS-Spektroskopie ist eines der Analyseverfahren, das in der chemischen Analytik schon lange Zeit zum Einsatz kommt. Bereits 1936 berichtet DEMMERLING über die Anwendung der Absorptionsspektralanalyse zur Überwachung von Oberflächenwasser. Seit Ende der Fünfziger Jahre wird die Konzentration von Wasserinhaltsstoffen über die Messung der UV-Extinktion bei $\lambda = 254$ nm bestimmt. Auf dem Gebiet der Oberflächen- und Trinkwasseranalytik verfeinerte MRKVA (1971) und SONTHEIMER ET AL. (1978) diese Vorgehensweise. Ihre Arbeiten führten zur Formulierung der DIN 38404, welche die Messung des spezifischen Absorptionskoeffizienten (SAK) zur Bestimmung der organischen Belastung eines Gewässers beschreibt. Als Messwellenlänge wird die gut isolierbare Linie einer Quecksilberdampflampe mit einer Wellenlänge von $\lambda = 254$ nm gewählt.

SONTHEIMER ET AL. (1978) zeigt, dass trotz unterschiedlicher Zusammensetzung der organischen Belastung in Gewässern ein guter Zusammenhang zwischen den Summenparametern von gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) und SAK besteht und somit die Messung der UV-Absorption als einfache und schnelle Charakterisierungsmethode zur laufenden Kontrolle von Veränderungen der Wasserqualität herangezogen werden kann.

MATCHE UND RUIDER (1982) erweiterten den Einsatz des SAK auf den Bereich des Abwassers. Dabei gibt der Quotient aus SAK und DOC an, bis zu welchem Maße die in der Lösung vorhandenen organischen Stoffe biologisch abgebaut werden können. Je kleiner der Wert des Quotienten, desto größer sind die Chancen die untersuchte Probe biologisch erfolgreich zu reinigen. Wie gut sich die Probe in der Praxis reinigen lässt, hängt von den organischen Inhaltsstoffen ab. Sind diese weitgehend inert, kann ein biologisches System kaum Wirkung zeigen. Um dies zu erkennen, wird von Proben der biologische Sauerstoffbedarf innerhalb von 5 Tagen gemessen (BSB_5).

Der Quotient aus SAK und DOC informiert aufgrund der Erfassung von weitgehend biologisch inerten organischen und anorganischen Kohlenstoffquellen über die Gesamtbelastung des Wassers (NOWACK UND UEBERBACH, 1995). Insbesondere bei der Untersuchung von refraktären Substanzen im Abwasser spielen diese Summenparameter eine wichtige Rolle. So wird mit Hilfe dieser Analyseverfahren Grundlagenforschung betrieben (ADAMIETZ, 1997).

Interessiert ist man heute vor allen Dingen an den nach der biologischen Reinigung im Abwasser verbleibenden organischen Reststoffen, die auch kurz als Rest-CSB bezeichnet werden. Der CSB steht für chemischen Sauerstoffbedarf und gibt die Menge des nötigen Sauerstoffs an, um alle Inhaltsstoffe der Probe zu CO_2 und Wasser umzusetzen. Der Rest-CSB im Abwasser von Papierfabrikskläranlagen setzt sich vor allem aus Lignin, anionischen Detergentien und Tanninen zusammen.

Lignin gehört zu einer Stoffgruppe, die biologisch schwer abbaubar ist. Um einerseits den Verbleib dieses Moleküls in einer Abwasseranlage einer Papierfabrik zu bestimmen, ist die UV/VIS-Spektroskopie sicher hilfreich. Andererseits gibt es wie in *Tabelle 2.4.1* dargestellt eine Fülle von Verbindungen, die in diesem Abwasser einen ähnlichen Absorptionsbereich wie Lignin aufweisen.

Eine genaue Bestimmung des Verbleibs dieses Holzbestandteiles in der biologischen Reinigung ist jedoch nicht möglich, da mittels der beschriebenen UV/VIS-Technik die Untersuchung von Feststoffen, in diesem Fall ist dies der Belebtschlamm, nicht möglich ist. Darüber hinaus lassen sich auch keine Rückschlüsse auf die Menge biologisch leicht abbaubaren Materials, sowie durch den Belebtschlamm

schlamm erzeugtes organisches Material, wie beispielsweise extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) ziehen. Doch gerade solche Substanzen spielen bei der Schadstoffelimination in Kläranlagen eine wichtige Rolle (SPÄTH, 1998).

Tab. 2.4.1: *Übersicht über Absorptionsmaxima verschiedener Stoffe ähnlicher Struktur.*

<u>Molekül oder funktionelle Gruppe</u>	<u>Absorptionsmaxima (nm)</u>
<i>Benzaldehyd</i>	<i>215, 241, 279, 288</i>
<i>Benzol</i>	<i>243, 249, 254, 261, 268</i>
<i>Lignin</i>	<i>281</i>
<i>Phenol</i>	<i>264, 270, 277</i>
<i>Zimtsäure</i>	<i>272</i>

In der Praxis stellt Lignin vor allem ein Problem bei der Papierproduktion dar. Da Lignin aufgrund seiner photochemischen Eigenschaften rasch dunkelt (CASTELLAN ET AL., 1991), wird versucht, dieses Molekül chemisch zu bleichen. Heute verwendet man für diesen Prozess Wasserstoffperoxid, das aufgrund seiner radikalischen Zerfallsreaktionen häufig unspezifisch am Ligninpolymer angreift. Dabei wird das Ligninpolymer oxidativ gespalten bzw. chromophore Gruppen durch Oxidation zerstört. Bei diesen Reaktionen entstehen gleichzeitig Ligninfragmente, die deutlich unterschiedliche Molekülmassen und durch Oxidation verursachte Änderungen ihrer funktionellen Gruppen aufweisen. Vor diesem Hintergrund muss auch die übliche Bestimmung der Abwasserinhaltsstoffe mit dem spezifischen Absorptionskoeffizienten bei einer Wellenlänge von $\lambda = 254$ nm (SAK_{254}) im wässrigen Milieu betrachtet werden, dessen Wellenlänge dem Licht der Quecksilberdampf Lampe entspricht. Da man heute aufgrund der vorgeschrittenen Technik nicht mehr auf die Wellenlänge spezifischer Lampen angewiesen ist, sondern jede beliebige Wellenlänge ohne Aufwand zu Messungen einsetzen kann, setzt man diejenigen Wellenlängen ein, die dem Absorptionsmaximum der zu untersuchenden Stoffe entsprechen. Damit erreicht man eine spezifischere Bestimmung definierter Stoffe und kann somit auch Störungen der

Bestimmungen minimieren.

So tragen bei der Ligninbestimmung neben der Änderung des Absorptionsmaximums durch die Oxidation funktioneller Gruppen auch eine Vielzahl anderer Stoffe zur Lichtabsorption bei, wie beispielsweise Phenole oder auch Wasserstoffperoxid. Gleichzeitig können durch die energiereiche Strahlung Reaktionen ausgelöst werden, die während der Messung zu einer Änderung der Absorption führen. Da bis dato diese Methode der Ligninbestimmung zu den Standardverfahren zählt, wird die genannte Methode in dieser Arbeit kritisch beleuchtet. Die Messungen werden am Absorptionsmaximum des Fichtenlignins bei $\lambda = 281$ nm durchgeführt.

2.5 Anreicherung von Lignin aus Abwässern

Zur Bestimmung der Ligningehalte in den Zuläufen und Abläufen der SBR-Reaktoren muss eine geeignete Probenaufbereitung vorangehen. Diese besteht sowohl bei der UV/VIS-Spektroskopie, als auch bei der Pyrolyse-GC/MS-Analyse darin, die Proben zunächst mittels eines Membranfilters weitgehend von Feststoffen zu befreien.

Für die Pyrolyse-GC/MS-Analytik muss ferner das gelöste Lignin aus der Wasserphase isoliert werden. Hierbei kommt die Festphasenextraktion (SPE) zur Anwendung, mit der man deutlich selektiver Stoffe isolieren und aufkonzentrieren kann als bei der Flüssig/Flüssig-Extraktion. Zudem sinkt der Bedarf an Lösungsmitteln. Die meisten Festphasenextraktionsmethoden zur Reinigung, Extraktion und Aufkonzentrierung von Schadstoffen aus wässrigen Umweltproben verwenden Octyl(8-) oder Octadecyl(18)-Festphasen, die an Kieselgelträgermaterial gebunden sind. Auf diese Weise können nicht polare Kontaminanten mit hoher Wiederfindung gut reproduzierbar nachgewiesen werden (HUANG UND YANG, 1995).

Als effektivste Festphase zur Anreicherung von Lignin wird von SCHIEGL (1994) jedoch die Phenyl(Ph)-Phase bestimmt. Die Festphase ist für unpolare bis mäßig polare Verbindungen, insbesondere aber für aromatische Verbindungen geeignet. Die Aufkonzentrierung von Lignin geschieht deshalb über Adsorption an Phenylfestphasen und nachfolgender Elution mit Methanol/Aceton (1:1).

3 Hypothese und Zielsetzung

Bisher gibt es keine Methode, Fichtenlignin als typischen Vertreter biologisch schwerabbaubarer Stoffe in Papierfabriksabwässern in einer Weise zu quantifizieren, dass sich Rückschlüsse auf den Verbleib des Lignins innerhalb eines Kläranlagensystems ziehen lassen. Da bis heute viele wichtige Informationen hinsichtlich des strukturellen Aufbaus dieses Moleküls fehlen, muss eine Methode entwickelt werden, die trotz dieses Mangels an Basiswissen eine zuverlässige, reproduzierbare, schnelle und kostengünstige Bestimmung zulässt.

Es soll eine Analysenmethode mittels GC/MS entwickelt werden. Um Makromoleküle mit dieser Methode analysieren zu können, wird die GC/MS-Analyse mit einer Pyrolyse-Einheit gekoppelt. Die dort entstehenden thermischen Fragmente sollen gaschromatographisch aufgetrennt und nachfolgend mittels MS identifiziert und quantifiziert werden können. Ziel ist es, mit Hilfe der Curie-Punkt-Py-GC/MS eine quantitative Ligninbestimmung im Abwasser und im Klärschlamm unabhängig von der Molekülgrößenverteilung und von den Veränderungen einzelner funktioneller Gruppen am Ligninmolekül vornehmen zu können. Gleichzeitig soll diese Methode so spezifisch sein, dass ausschließlich Ligninfragmente zur Quantifizierung herangezogen werden und eine hohe Reproduzierbarkeit erreicht wird. Mit der Py-GC/MS sollte auch das Lignin aus einer festen Matrix, wie zum Beispiel Belebtschlamm, analysiert werden können. Um diese Analysenmethode auf Stärken und Schwächen überprüfen zu können, kann parallel mit der standardmäßig eingesetzten UV/VIS-Spektroskopie gearbeitet werden.

Liefert die Py-GC/MS aussagekräftige Ergebnisse, so wird eine Bilanzierung der Ligninstoffströme möglich. Erwartet wird, dass ein Teil der Lignine ohne signifikante Änderung des Molekülgerüsts die Abwasserreinigungsanlage passiert. Es wird vermutet, dass nur ein sehr geringer Anteil an Lignin innerhalb der Kürze der Zeit biologisch abgebaut wird (RODRIGUEZ ET AL., 1996). Es ist allerdings wahrscheinlich, dass ein signifikanter Anteil an Lignin über Schlammsorption dem Abwasser entzogen wird (YAN UND ALLEN, 1994).

3 HYPOTHESE UND ZIELSETZUNG

Wenn mit der Py-GC/MS eine stoffliche Bilanzierung möglich wird, kann die Methode in Zukunft dazu genutzt werden, die entsprechenden für die Lignineliminierung notwendigen Anlagen- und Betriebsparameter dahingehend zu verändern, dass eine möglichst große Menge an Lignin aus dem Abwasser entfernt wird. Neben der dabei eintretenden Minimierung des Rest-CSB, der sich in Form sinkender Abwassereinleitungskosten in der Papierindustrie deutlich bemerkbar macht, steigt auch die Akzeptanz der Abwassereinleitung in der Bevölkerung. Denn ligninhaltige Abwässer zeigen immer eine gelblich bis braune Färbung und suggerieren damit, dass die eingeleiteten Abwässer noch hohe Schadstoffmengen enthalten.

4 Material und Methoden

4.1 Chemikalien

Aceton (p.a., Fa. *Merck*), Eugenol (99 %, Fa. *Lancaster*), Guajacol (GC, 98 %, Fa. *Aldrich*), Hexachlorbenzol (97 %, Fa. *Aldrich*), Hexan (p.a., Fa. *Merck*), Lignin (Organosolv, Acetat; Elementaranalyse: 63,09 % C, 5,25 % H; Fa. *Aldrich*), Methanol (p.a., Fa. *Merck*), 4-Methylguajacol (99 %, Fa. *Aldrich*), Salzsäure (p.a., 37 %, Fa. *Merck*), konz. Schwefelsäure (p.a., Fa. *Merck*), Wasser (deionisiert aus *Milli-Q Plus*-Anlage).

4.2 Verwendete Geräte und Materialien

- zur Filtration: Druckfilterbombe SM 16249, Fa. *Sartorius*.
Glasfaser Rundfilter GF 92, Fa. *Schleicher & Schuell*.
Celluloseacetat Membranfilter, mittlere Porenweite 0,45 µm, Fa. *Sartorius*.
- zur CSB-Bestimmung: Digital Photometer LP2W, Fa. Dr. *Lange*.
LCK 614 50- 300 mg/l CSB-Küvetten, Fa. Dr. *Lange*.
LCK 114 150-1000 mg/l CSB-Küvetten, Fa. Dr. *Lange*.
- zur Gefriertrocknung: Gefriertrockner VaCo I, Fa. *Zirbus*.
- zur Festphasenextraktion (SPE):
Vakuumeinheit spe-9G, Fa. *Baker*.
Supelclean™ Phenyl 500 mg, 3 ml LC-Ph disposable columns, Fa. *Supelco*.
- zur Pyrolyse: Curie-Point-Pyrolyzer 0316, Fa. *Fischer*.
Eingestellte Ofentemperatur: 250 °C
Spiralpyrolysewendeln 973 K

⇒ Gaschromatograph: 5890 Series II, Fa. *Hewlett-Packard*.

Säule:	HP-5
Länge:	50 m
Innendurchmesser:	220 µm
Filmdicke:	0,11 µm
Trägergas:	Helium, 5.0

⇒ Massendetektor: 5971 Series, Fa. *Hewlett-Packard*.

⇒ UV-VIS-Spektrometer: UV-1601, UV-Visible-Spectrometer, Fa. *Shimadzu*.

4.3 Versuchsanlage

Die Versuchsanlage bestand aus drei Sequencing-Batch-Reaktoren (SBR) mit einem Füllvolumen von je 6,5 l. Alle drei Reaktoren wurden mit einem Wasserbad auf 20 °C temperiert. Zur Umwälzung des Reaktorinhaltes diente ein Propellerührer, die Belüftung erfolgte durch eine feinblasige Druckbelüftung mit Umgebungsluft in Bodennähe des Reaktors. Neben der regelmäßigen Kontrolle der Summenparameter von Zu- und Abläufen diente die kontinuierliche Aufzeichnung des pH-Wertes und des gelösten Sauerstoffes der Prozesskontrolle. Gleichbleibende Prozessbedingungen sind die Voraussetzung für eine reproduzierbare Einzelstoffanalytik. In *Abbildung 4.3.1* ist der Aufbau der Versuchsanlage vereinfacht dargestellt.

4.3.1 Reaktorzulauf

Als Reaktorzulauf kam mechanisch vorgereinigtes Abwasser eines Papier produzierenden Betriebes zum Einsatz. Die CSB-Zulaufkonzentration wurde über den gesamten Untersuchungszeitraum auf 400 mg/l eingestellt. Dazu wurde das originäre Papierfabriksabwasser, dessen CSB zwischen 440 und 1600 mg/l schwankte, entsprechend verdünnt. Aufgrund seiner Nährstoffarmut wurde das Abwasser zudem mit den Nährstoffsalzen Ammoniumchlorid und Dikaliumhydrogenphosphat auf ein CSB zu Stickstoff zu Phosphorverhältnis von 200:5:1 angereichert.

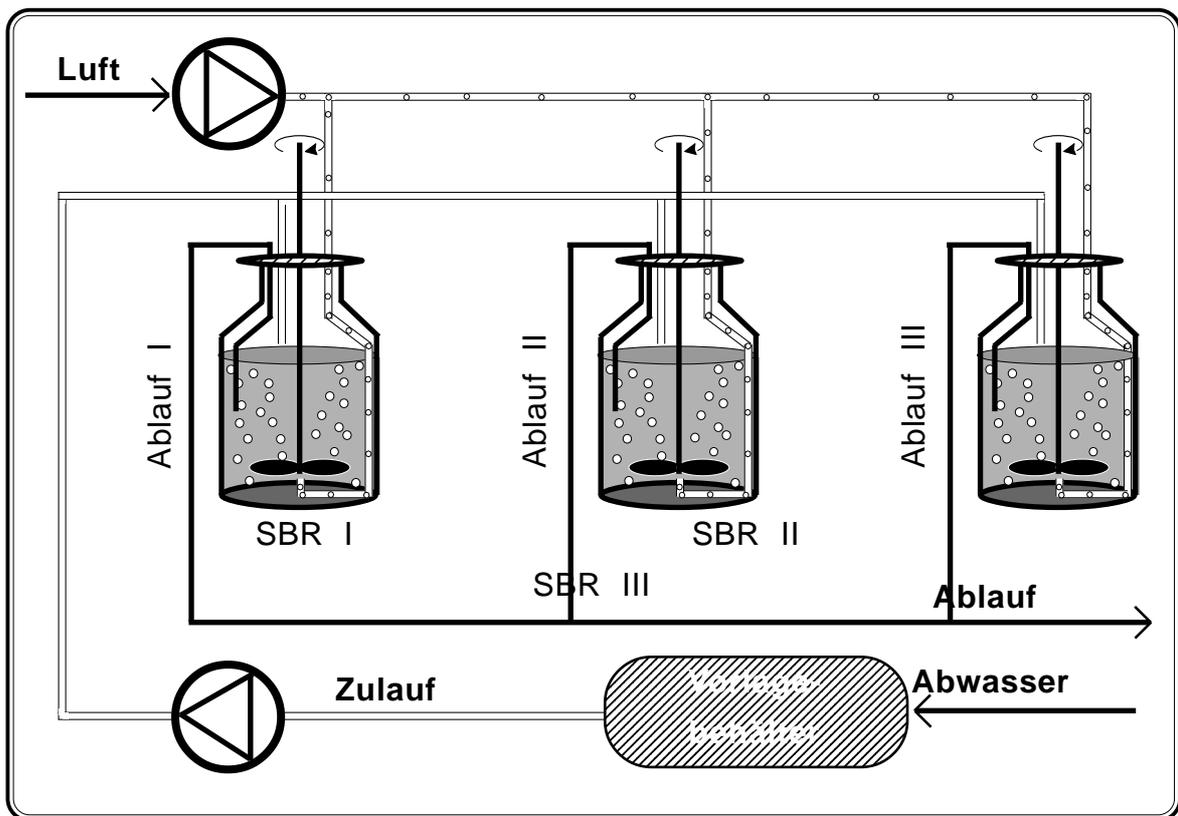


Abb. 4.3.1: Vereinfachtes Schema des Aufbaus der Versuchsanlage mit drei Sequencing-Batch-Reaktoren.

4.3.2 Betrieb der Versuchsanlage

Die Durchmischung des Reaktorinhaltes erfolgte mittels Propellerrührer mit einer Drehzahl von 100 U/min. Zur Belüftung wurden während der aeroben Behandlungsphase ein Volumenstrom von 200 l/h Luft je Reaktor eingeblasen. Es wurden parallel 3 Reaktoren mit 6,5 l Füllinhalt mit 3 x 8-h-Zyklen pro Tag betrieben. Das Schlammalter war abhängig vom Reaktor auf 10, 20 und 30 Tage eingestellt. Die Reaktortemperatur wurde in den Laborreaktoren mit einem Wasserbad konstant bei 20 °C gehalten.

Der Zyklus begann mit einer halbstündigen Füllphase des vorher auf 4 l entleerten Reaktors, in dessen Verlauf der Reaktorinhalt bereits durchmischt und belüftet wurde, folgte eine fünfeinhalbstündige aerobe Reaktionsphase. Nach einer 100-minütigen Absetzphase folgte der Abzug des behandelten Abwassers innerhalb von 10 min bis zu einer definierten minimalen Füllstandsmarke von 4 l (entsprechend 40 % Austauschvolumen). Vor Beginn des nachfolgenden

den Zyklus ruhte das System 10 min. Die *Abbildung 4.3.2* soll diesen Zyklus noch einmal verdeutlichen.

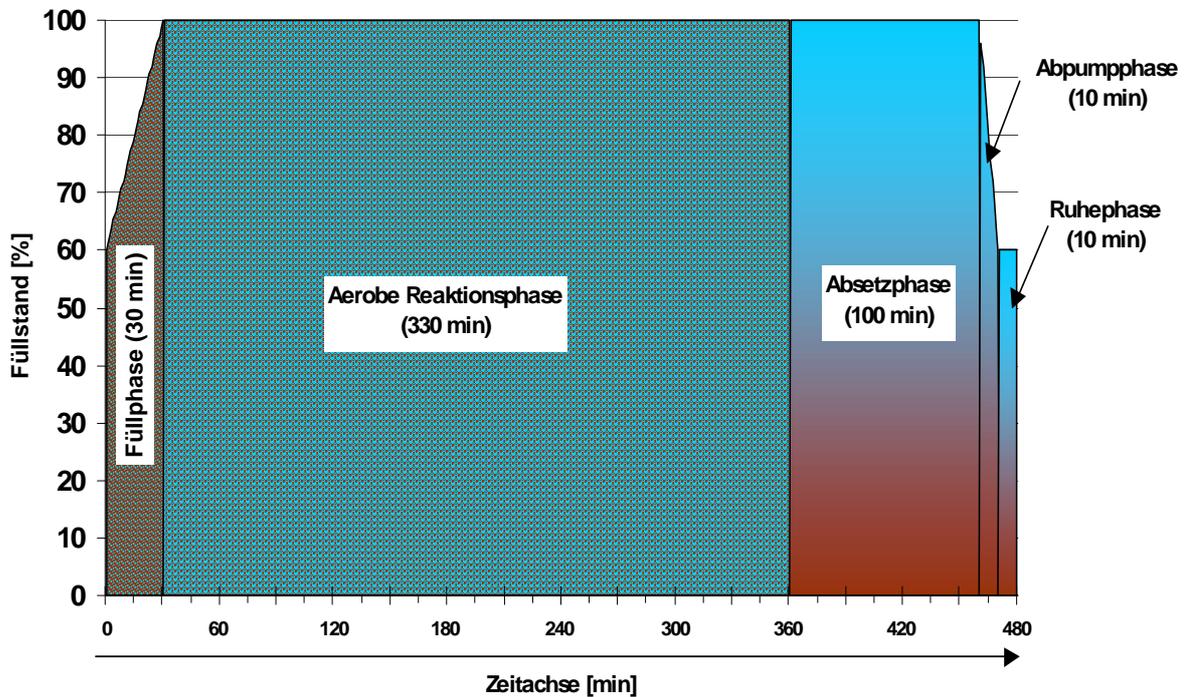


Abb. 4.3.2: Die 5 Phasen während des SBR-Zyklus. Die Länge der einzelnen Phasen ist in Minuten angegeben.

Während des Reinigungszyklus wurde aus der homogen durchmischten Abwasser-Schlamm-Suspension ein definierter Teil des Reaktorvolumens (217 ml, 108 ml bzw. 72 ml) abgepumpt, um so das mittlere Schlammalter einzustellen.

Anhand von drei unterschiedlichen Schlammaltern wurde die Anwendbarkeit der entwickelten Methode zur Analyse des Lignins untersucht. In Reaktor I befand sich Belebtschlamm mit dem Schlammalter von 10 Tagen. Das abgezogene Klarwasser wurde mit Ablauf I bezeichnet. Dementsprechend folgte die Bezeichnung für den Reaktor II, dessen Schlammalter 20 Tage, und den Reaktor III, dessen Schlammalter 30 Tage betrug.

4.3.3 Probenahme aus der Versuchsanlage

Die Probenahme für die analytischen Untersuchungen erfolgte sowohl vom Zufluss, als auch vom Ablauf der jeweiligen Reaktoren.

Zudem wurden Schlammproben während des Reinigungszyklus aus dem durchmischten Reaktor aus der zur Schlammaltereinstellung abgepumpten Abwasser-Schlamm-Suspension gewonnen, um Aussagen über den Gehalt adsorbierten Lig-nins treffen zu können. Der jeweilige Schlamm wurde am Ende der aeroben Reinigungsphase den SBRs entnommen, filtriert und gefriergetrocknet. Zu diesem Zeitpunkt herrscht Adsorptionsgleichgewicht.

4.4 Probenvorbehandlung

4.4.1 Flüssige Proben

Um Störungen bei der Analyse aufgrund von Partikeln zu vermeiden, wurden die flüssigen Proben vor der Extraktion bzw. der UV/VIS-Analyse vorbehandelt. Dazu wurde die Probe über einen Membranfilter (0,45 µm, Cellulosenitrat) filtriert. Vorversuche zeigten, dass es bei Ansäuerung der Proben zur Ausfällung einiger Substanzen, vor allem von Lignin, kommt. Daher wurde im weiteren Verlauf darauf verzichtet.

Für die UV/VIS-Spektroskopie wurden die Proben mit deionisiertem Wasser auf 1:10, 1:25, 1:50 und 1:100 verdünnt.

Zur Vorbereitung der Proben für Extraktion an der Phenylfestphase (Ph-SPE) vor der Py-GC/MS-Analyse wurde pro l Probe 1 ml Methanol/Aceton-Gemisch (1:1) zugegeben. Dadurch wird bei der Extraktion der am Festphasenmaterial befindlichen Lösungsmittelfilm aufrecht erhalten und konstante Bedingungen beim Transport der organischen Stoffe zum stationären Festphasenadsorbens gewährleistet.

Die Festphasen wurden vor Beginn der Extraktion zur Reinigung mit 2 ml Hexan gespült, getrocknet, mit 2 ml Methanol/Aceton-Gemisch (1:1) gespült und wieder getrocknet. Danach wurde die Säule erst mit 2 ml Methanol/Aceton-Gemisch (1:1) und anschließend mit 5 ml deionisiertem Wasser vorkonditioniert.

Jeweils 1 l vorbehandelte Probe wurde über die so vorbereiteten Festphasen in einer Vakuumeinheit extrahiert. Nach Beendigung der Probenaufgabe wurde die

Säule luftgetrocknet. Die Elution der Substanzen von der Säule erfolgt mit 5x1 ml Methanol/Aceton-Gemisch (1:1), wobei die Säule zwischen den Elutionen luftgetrocknet wurde.

Das Eluat wurde im Vakuum auf 1 ml eingengt und die Methanolfraktion mit 40 µl internem Standard Hexachlorbenzol (3,85 g/l, entsprechend 154 µg HCB/l Ausgangsvolumen) versehen.

Um Lignin zu quantifizieren, wurden die mit dem internen Standard versehenen Eluate mit einer 10 µl Spritze auf die Wendel aufgebracht. Um Fehler zu minimieren, wurden mehrmals je nach zu erwartender Ligninmenge Volumina von je 10 µl (insgesamt 70 bis 150 µl) auf die Wendel getropft. Nach der Verflüchtigung des Lösungsmittels wurde die Probe mittels Curie-Punkt-Pyrolyse (Curie-Punkt -Temperatur 973 K) thermolysiert und online zur Analyse in das GC/MS-System eingespritzt. Der Siedepunkt des reinen Hexachlorbenzols beträgt nach dem HANDBOOK OF CHEMISTRY AND PHYSICS (N.N., 1974) 332 °C.

4.4.2 Feste Proben

Aus den zur Einstellung des Schlammalters abgezogenen Abwasser-Schlamm-Suspension wurden insgesamt Volumina von rund 300 ml Probe entnommen. Die frischen Proben wurden sofort nach der Entnahme filtriert, der Schlammrückstand gewaschen und in Petri-Schalen gefüllt. Die Probe wurde dann bei -18 °C eingefroren. Sobald die Probe gefroren war, wurde diese mit geschlossenem Deckel mindestens 24 h bei -60 °C und 15 hPa bis zur Gewichtskonstanz gefriergetrocknet.

Die getrockneten Schlammproben wurden in Methanol suspendiert und auf die Pyrolysewendeln (Curie-Punkt 993 K) aufgebracht. Nachdem sich das Lösungsmittel vollständig verflüchtigt hatte, wurden die Wendeln gewogen. 20 µl des internen Standards Hexachlorbenzol (entsprechend 144 µg HCB) wurden pro mg Trockenmasse der Probenwendel zugegeben. Die Proben wurden mit 10 µl TMSH pro mg Trockenmasse zur online-Veresterung versehen. Das Lösungsmittel verdampfte bei Raumtemperatur von der Wendel. Es wurden Schlammprobenmengen von 1,5 bis 3 mg verwendet.

4.5 Messprogramme

4.5.1 UV/VIS-Spektroskopie

Zur Bestimmung des Ligningehaltes wurde die Absorption der vier verschiedenen verdünnten Proben bei einer Wellenlänge von $\lambda = 281$ nm ermittelt. Anhand der Kalibrierkurve wurde der Ligningehalt bestimmt.

4.5.2 Pyrolyse-GC/MS

Zur optimalen gaschromatographischen Trennung wurde ein Messprogramm entwickelt, das in seinem zeitlichen Ablauf in *Tabelle 4.5.1* dargestellt ist.

Tab. 4.5.1: GC-Programm zur Untersuchung von *pyrolysiertem Lignin*.

Solventdelay:	7,5 min
Anfangstemperatur: 40 °C;	Zeitintervall: 3 min
Aufheizrate: 5 °C/min	
Endtemperatur: 280 °C;	Zeitintervall: 15 min

Obwohl bei der Py-GC/MS kein Lösungsmittel in das System eingespritzt wird, ist ein sogenannter Solventdelay notwendig. Innerhalb dieses Zeitintervalls treten die meisten bei der Pyrolyse entstehenden unspezifischen Abspaltungsfragmente mit niedriger Molekularmasse, wie CO₂, Methan, Formaldehyd etc. aus der Säule aus. Da diese Fragmente ohne wesentlichen Informationsgehalt sind und diese das Massenspektrometer nur belasten würden, wird dieser Bereich ausgeblendet.

4.5.3 Curie-Punkt-Pyrolyse-GC/MS-Analytik

In dieser Arbeit wurden Probenträger verwendet, deren Geometrie eine Wendelform aufweist. Diese bestehen aus Metalllegierungen, die Curie-Temperaturen in 100 K-Intervallen von 573 bis 1073 K abdecken. Für die durchgeführten quan-

titative Analysen diente immer dieselbe Wendel mit einem Curie-Punkt von 973 K. Auch die Pyrolysekammer blieb zur Vermeidung von Fehlern aufgrund unterschiedlicher Geometrien (Nadeldurchmesser, Länge der Pyrolysekammer, unterschiedliche Rauigkeit der Glasinnenfläche) immer dieselbe.

Die Pyrolysekammer wird insgesamt 1½ min lang mit Helium gespült. 40 sec nach Beginn der Spülung beginnt die Pyrolyse über eine Dauer von 9,9 sec. Um eine Kondensation der pyrolysierten Stoffe an der Glasoberfläche weitgehend zu vermeiden, wird die Pyrolysekammer von außen auf 250 °C aufgeheizt. Der Programmstart erfolgt nach dem Ende der Nachspülphase.

4.6 Isolierung und Quantifizierung von reinem Fichtenlignin

Um Fichtenligninanteile im Abwasser zu quantifizieren, wurde ein Fichtenligninstandard hergestellt, da reines Fichtenlignin nicht käuflich war.

Hierzu wurde ein frisch gefällter Fichtenstamm, der nach Auszählung der Baumringe ein Alter von 26 Jahren aufwies, zunächst manuell entrindet und zersägt. Die Sägespäne wurden gefriergetrocknet und dienten als Ausgangsmaterialien zur Isolierung des Fichtenligninstandards nach dem Organosolv-Verfahren.

4.6.1 Isolierung von Fichtenlignin nach dem Organosolv-Verfahren

Die Isolierung des Fichtenlignins fand nach dem Organosolv-Verfahren statt, das in der modifizierten Art und Weise nach PATT UND KORDSACHIA (1990) durchgeführt wird. Dazu werden 10 g Fichtenspäne im Soxhlet mit 300 ml eines Aceton/Wassergemisches im Verhältnis 1:1 über 6 Stunden extrahiert. Ein Extraktionsschritt benötigte ca. 15 Minuten.

Das Aceton wird abdestilliert und das wasserunlösliche Lignin fällt als hellbrauner Feststoff aus. Die Suspension wird zentrifugiert, das Wasser dekantiert und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Der Rückstand ist von brauner, klebriger Konsistenz (Ausbeute bezüglich Trockengewicht der Fichtenspäne: 2 %, bezüglich durchschnittlicher Gesamtligningehalt 8 %).

4.6.2 Lösungen für die Kalibrierkurven

Um einen Zusammenhang zwischen dem Ligninanteil im Abwasser und dem isolierten Lignin herstellen zu können, war es notwendig, die wichtigsten Ligninbruchstücke quantifizieren zu können. Zu diesem Zweck wurden Kalibrierkurven von den in Vorversuchen als geeignet ermittelten Substanzen Guajacol und 4-Methylguajacol erstellt. Dafür wurden bestimmte Mengen an (den Bruchstücken analogen) Reinstoffen in Aceton/Methanol gelöst (Stammlösungen), nachfolgend in Mengenschritten von 10 µl der Lösung auf die Pyrolysewendel getropft, pyrolysiert und mit den mittels GC/MS erhaltenen Flächenintegralen und den bekannten Reinsubstanzmengen Kalibrierkurven erstellt. Die dafür eingesetzten Stammlösungen sind in *Tabelle 4.6.1* aufgelistet, die Kalibrierkurven finden sich in *Kapitel 4.7*.

Substanz	Konzentration I	Konzentration II	Konzentration III
Guajacol	0,58 g/l	1,74 g/l	3,48 g/l
4-Methylguajacol	0,38 g/l	1,14 g/l	2,28 g/l
Hexachlorbenzol	0,64 g/l	1,93 g/l	3,85 g/l

Tab. 4.6.1: *Standardlösungen in einem Methanol/Aceton (1:1) Gemisch für Kalibrierkurven bzw. für einen internen Standard.*

Als Ligninstandard wird folgende Lignin/Aceton/Methanol-Lösung verwendet, die zur quantitativen Bestimmung des Anteils der Bruchstücke am Gesamtlignin mittels der oben aufgelisteten Kalibrierkurven dient.

⇒ Organosolv-Fichtenlignin: 20,18 g/l mit ISTD 0,64 g/l HCB

Bei der angegebenen Pyrolysetemperatur von 973 K enthält das hier eingesetzte Fichtenlignin einen Gewichtsanteil von 5,72 % Guajacol und von 3,13 % 4-Methylguajacol am Gesamtgewicht des Ligninmoleküls.

4.7 Kalibrierkurven

Durch Pyrolyse-GC/MS eines reinen Fichtenligninstandards wurden die Gehalte an Guajacol und 4-Methylguajacol bestimmt und Kalibrierkurven unter Verwendung eines internen Standards erstellt

Dafür wurden 3 Stammlösungen verschiedener Konzentration eingesetzt (siehe *Tab. 4.6.1*), wobei die Menge des Pyrolyseausgangsproduktes durch verschiedene Volumenaufgaben der jeweiligen Stammlösungen auf die Pyrolysewendel variiert wurde. Für jede der 20 Konzentrationen wurde eine 3-fach Bestimmung durchgeführt. Die jeweiligen Mittelwerte sind die Messpunkte in den Kalibrierdiagrammen, die in *Abbildung 4.7.1 bis 4.7.4 dargestellt sind*.

4.7.1 Hexachlorbenzol

Hexachlorbenzol wird aufgrund seiner thermischen Stabilität und aufgrund seines scharfen und intensiven Signals bei der GC/MS-Messung als interner Standard verwendet. Dieser wurde bei der Erstellung der Kalibrierkurven für Guajacol, 4-Methylguajacol und für Lignin eingesetzt. Die Kalibrierfunktion für Hexachlorbenzol ist in *Abbildung 4.7.1* dargestellt. Im Bereich von 0,5 bis 40 µg ergab sich ein linearer Verlauf. Bei Gehalten an Hexachlorbenzol über 40 µg traten Abweichungen von der Linearität auf.

4.7.2 Guajacol

Bei der Erstellung der Kalibrierfunktion für Guajacol ergab sich der in *Abbildung 4.7.2* dargestellte Verlauf. Hier wird deutlich, dass sich bei der Pyrolyse des reinen Fragments im Bereich 10 bis 300 µg ein linearer Verlauf der Messpunkte in Abhängigkeit von der eingesetzten Menge Guajacol ergab. Bei Gehalten an Guajacol über 300 µg traten Abweichungen von der Linearität auf. Alle Werte über 300 µg blieben daher zur Ermittlung der Kalibrierkurve unberücksichtigt.

4 MATERIAL UND METHODEN

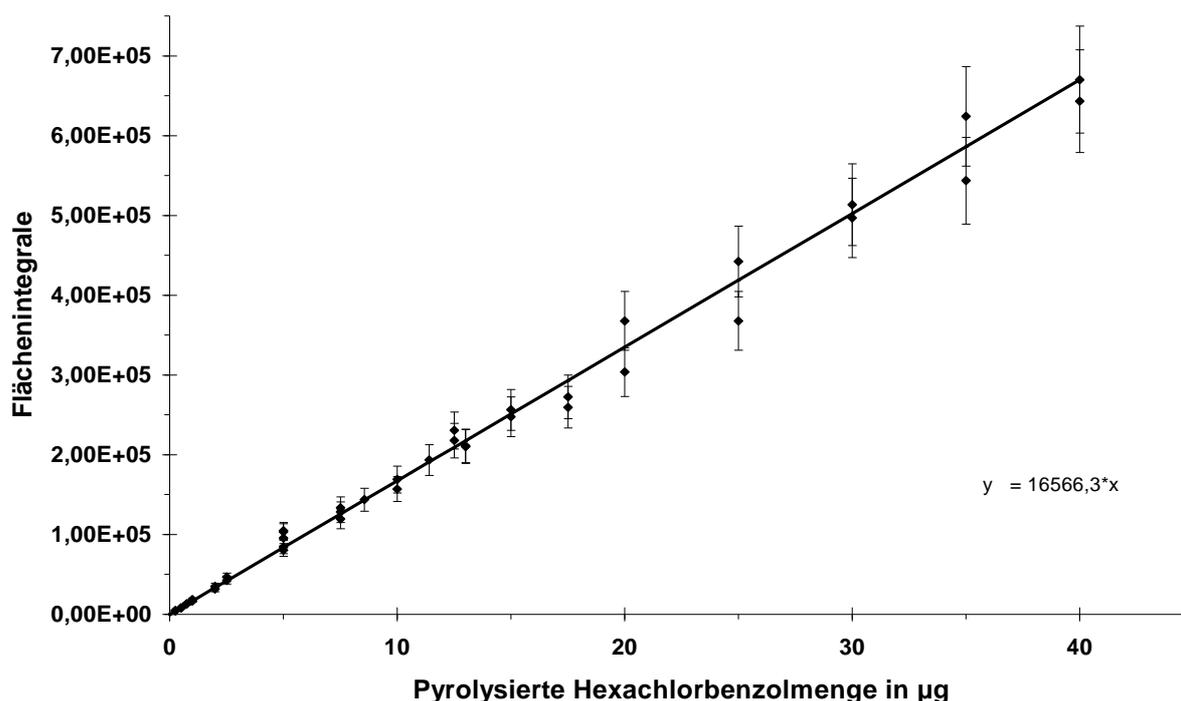


Abb. 4.7.1: Die Kalibriergerade von Hexachlorbenzol mit einem linearen Bereich von 0,5 bis 40 µg weist ein Bestimmtheitsmaß von 0,9798 und eine Korrelation von 0,9897 auf. Der Messfehler beträgt ± 10 %.

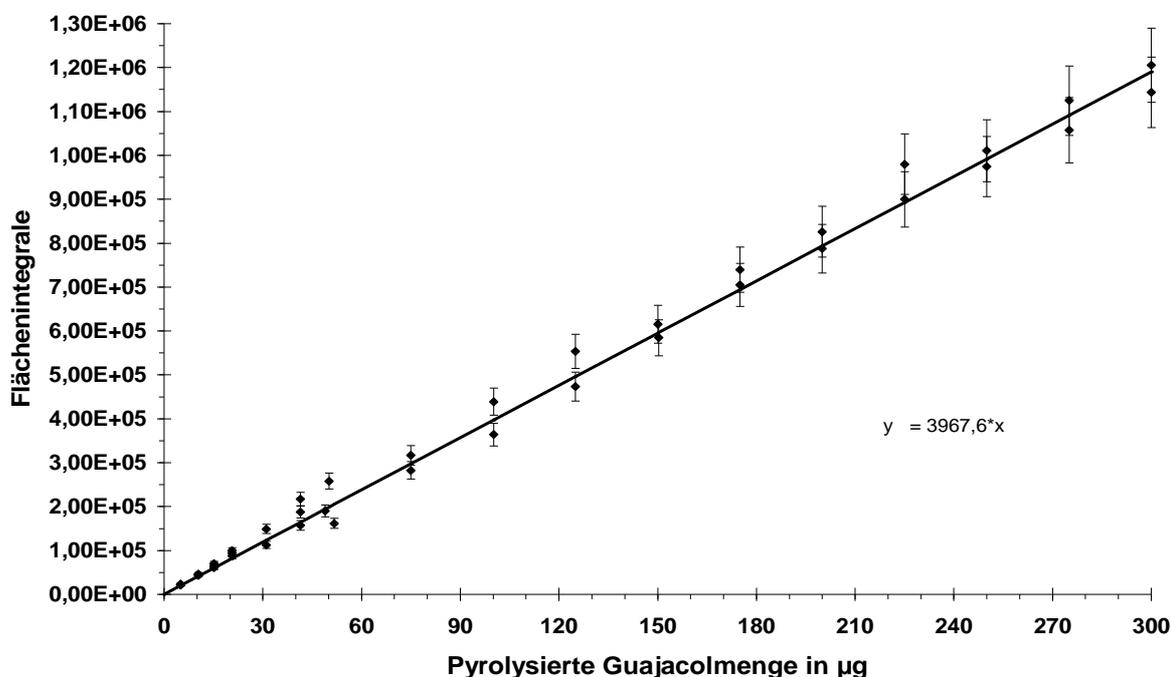


Abb. 4.7.2: Die Kalibriergerade von Guajacol mit einem linearen Bereich von 5 bis 300 µg weist ein Bestimmtheitsmaß von 0,9974 und eine Korrelation von 0,9973 auf. Der Messfehler beträgt ± 10 %.

4.7.3 4-Methylguajacol

Bei der Erstellung der Kalibrierfunktion für 4-Methylguajacol ergab sich der in *Abbildung 4.7.3* dargestellte Verlauf. Der lineare Verlauf des Integrals zur eingesetzten Reinstoffmenge wurde für den Bereich 10 bis 300 µg untersucht. Bei Gehalten an 4-Methylguajacol über 250 µg traten Abweichungen von der Linearität auf. Alle Werte über 250 µg blieben daher zur Ermittlung der Kalibrierkurve unberücksichtigt.

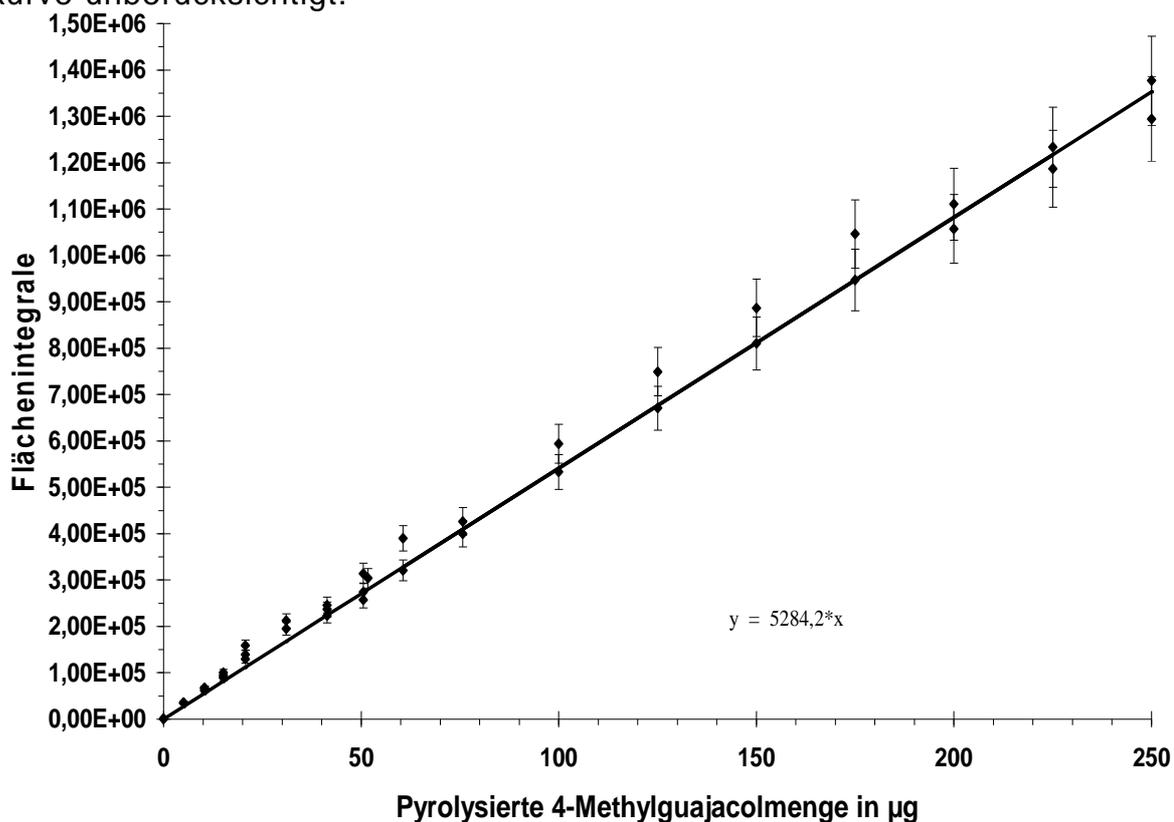


Abb. 4.7.3: Die Kalibriergerade von 4-Methylguajacol mit einem linearen Bereich von 5 bis 250 µg weist ein Bestimmtheitsmaß von 0,9948 und eine Korrelation von 0,9974 auf. Der Messfehler beträgt $\pm 10\%$.

4.7.4 Lignin

Bei der Pyrolyse von Lignin entstehen unter anderem Guajacol und 4-Methylguajacol. Diese Produkte können bei hohen Temperaturen miteinander reagieren (s. Kap. 5). Im linearen Kalibrierbereich der beiden Stoffe, kann bei der Pyrolyse der Gehalt der beiden Bruchstücke jeweils gegeneinander aufgetragen

werden. So lange die beiden quantifizierten Bruchstücke eine Gerade bilden und gleiche Ligninmengen ergeben, ist der Messbereich gültig. Dies konnte für den Bereich von 0,1 bis 3,0 mg Lignin verifiziert werden. Die Abhängigkeit der Gehalte der Ligninbruchstücke von der eingesetzten Gesamtmenge an Lignin ist in *Abbildung 4.7.4* dargestellt.

4.7.5 Fragmentanteile von Lignin nach Pyrolyse

Die in *Abbildung 4.7.4* dargestellten Messpunkte dienten neben der Kontrolle des linearen Messbereichs gleichzeitig der Bestimmung der Anteile an Guajacol bzw. 4-Methylguajacol bei einem bekannten Einsatz von reinem Fichtenlignin.

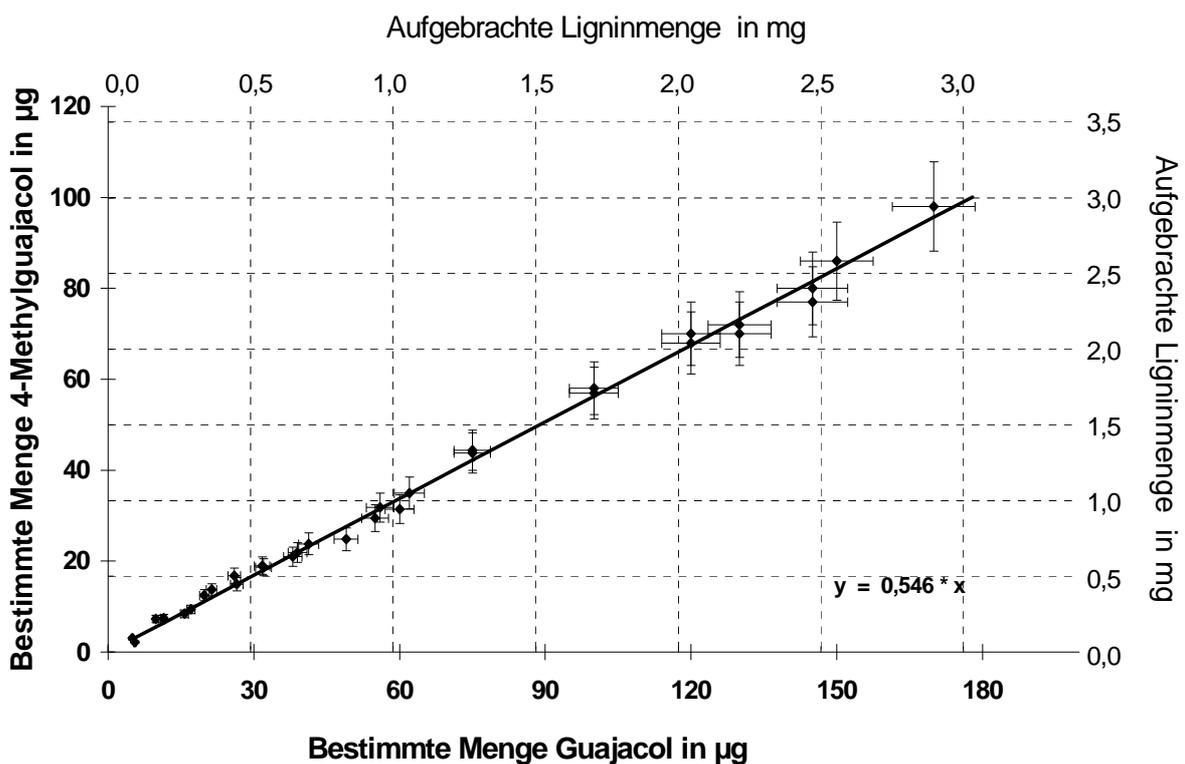


Abb. 4.7.4: Die bei der Pyrolyse von 100 µg bis 3 mg reinen Fichtenlignins bei 973 K entstandenen Mengen an 4-Methylguajacol sind gegen die entstandenen Mengen an Guajacol aufgetragen. Zur besseren Zuordnung sind die aufgebrachten Ligninmengen im Abstand von 0,5 mg auf den sekundären XY Achsen als Strichlinien dargestellt. Die Ligninmengen sind am Schnittpunkt mit der Kalibriergerade ablesbar.

Aus diesen Werten ergaben sich innerhalb des gültigen Messbereichs die in *Tabelle 4.7.1* dargestellten Werte.

Tab 4.7.1: *Bestimmung des Gewichtsanteils der Fragmente Guajacol und 4-Methylguajacol in reinem Fichtenlignin bei einer Pyrolysetemperatur von 973 K.*

	Guajacol	4-Methylguajacol
Mittlerer Fragmentgehalt im Lignin	5,87 %	3,36 %
Mittelabweichung (in absoluten Prozentpunkten)	±0,50%	±0,29%
Quadratsummenabweichung (abs. Prozentpunkten)	±0,13%	±0,06%

Bei den bestimmten Werten handelt es sich um Gewichtsanteile bezogen auf die Gewichtseinheit von Lignin (100%) und dient in der Folge zu Quantifizierung des Lignins. Aus der Tabelle ergeben sich für die Bestimmung der absoluten Menge von Lignin Standardabweichungen von knapp 10 %.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Grundlagen der Methodenentwicklung

Kommerziell sind Lignine nur als Mischungen von Nadel- und Laubholzligninen erhältlich. Da aus wirtschaftlichen Gründen in den Papierfabriken in Süddeutschland ausschließlich Nadelhölzer und hier vornehmlich Fichtenholz (MD-PAPIER, 1990) eingesetzt wird, wurde Fichtenlignin wie unter *Kapitel 4.6.1* beschrieben isoliert und diente als Standard bei der Quantifizierung von Lignin.

5.1.1 Chromatogramm des Fichtenligninstandards nach Pyrolyse

Die Methode der Ligninquantifizierung durch Py-GC/MS (SCHIEGL, 1994) basiert auf dem Prinzip die bei der Pyrolyse aus Lignin entstehenden Bruchstücke quantitativ zuordnen zu können. Um unabhängig von äußeren Einflüssen (z.B. Schwankungen der Geräteempfindlichkeit) zu sein, wurde mit dem internen Standard Hexachlorbenzol gearbeitet. In *Abbildung 5.1.1* ist ein Chromatogramm einer Pyrolyse des Fichtenligninstandards bei einer Temperatur von 973 K dargestellt. Die wichtigsten Ligninfragmente sind gekennzeichnet und die Retentionszeit von Hexachlorbenzol angegeben.

Bei der Pyrolyse-GC/MS des Ligninstandards entstanden vor allem Bruchstücke von Guajacol-Derivaten in unterschiedlichen Mengen. Insbesondere Guajacol selbst, sowie 4-Methylguajacol und Eugenol ergaben die größten Signalflächen im Chromatogramm. HÖLL (1994) konnte zeigen, dass der Gehalt von Eugenoleinheiten im Lignin abhängig von der Jahreszeit ist und damit für eine allgemeingültige Bestimmungsmethode nicht herangezogen werden kann.

Das Chromatogramm lässt sich in drei Teilbereiche aufteilen. In einem Retentionsintervall von 7 bis 18 min traten Pyrolysefragmente auf, die weitgehend unspezifisch sind. Im Intervall von 18 bis 35 Minuten ist der für das Fichtenlignin typische Fingerprint-Bereich zu finden. Alle dort auftretenden Fragmente waren dem Fichtenlignin zuzuordnen. Bei größeren Retentionszeiten traten makromolekulare Holzinhaltstoffe auf, sowie möglicherweise während der Pyrolyse entstandene Kondensationsprodukte. Die Bildung solcher Produkte soll allerdings

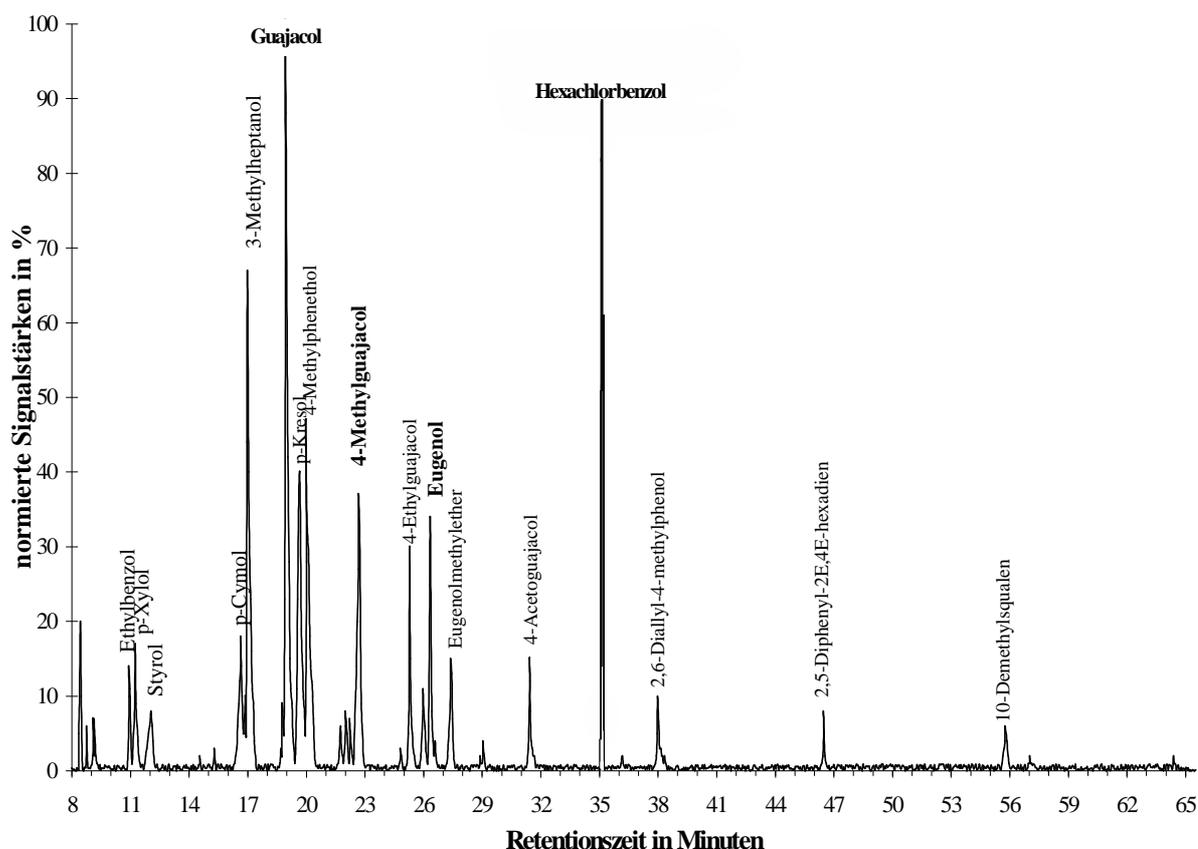


Abb. 5.1.1: Pyrogramm des Fichtenligninstandards mit Stoffzuordnung zu den wichtigsten Signalen. Die Pyrolysetemperatur ist 973 K. Der interne Standard HCB ist im Pyrogramm ebenfalls enthalten.

schon im Bereich der Pyrolysekammer dadurch weitgehend verhindert werden, dass während der Pyrolyse ein Gasstrom die Substanzen auf die Säule spült, wo zu Beginn der Analyse die Probe angesammelt wird.

5.1.2 Spezifizierung des Guajacols mittels MS

Das bei der Pyrolyse aus Nadelholzlignin am häufigsten freigesetzte Molekül ist das Guajacol, dessen IUPAC-Name 2-Methoxyphenol lautet. Es weist eine Molekülmasse von 124,14 g/mol auf und ist der Grundbaustein des Lignins in Nadelhölzern.

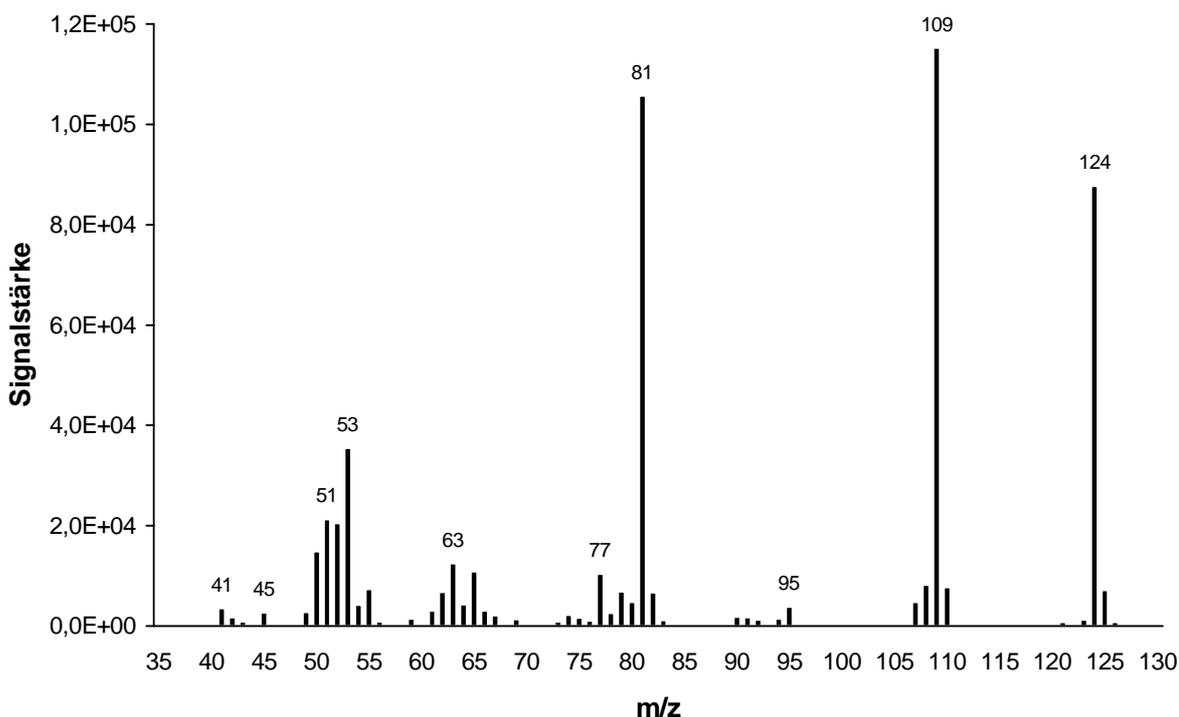


Abb. 5.1.2: Massenspektrum von Guajacol mit Strukturformel nach Pyrolyse des Fichtenligninstandards bei 973 K.

Das Massenspektrum des Guajacols in *Abbildung 5.1.2* weist dabei insbesondere folgende, typische Molekülfragmente auf:

m/z: 124 [M^+], 109 [M^+-CH_3], 81 [$M^+-CH_3,-CO$], 77 [$C_6H_5^+$], 65 [$C_5H_5^+$].

Durch den leichten Bruch der schwachen Phenylmethyletherbindung wird eine Methylgruppe freigesetzt und führt zu dem Basisionsignal 109 m/z. Alle weiteren Abspaltungen spiegeln die typischen Fragmentierungen von Phenylethern bzw. aromatischen Ringsystemen wieder. Das Fehlen des Benzylkations (m/z 91) zeigt außerdem, dass der Aromat am Kern nicht alkyliert ist.

Bei der Pyrolyse von reinem Guajacol zeigte sich, dass durch die Temperaturen keine strukturellen Veränderungen auftreten, da innerhalb des Chromatogramms ausschließlich das Signal des Guajacols neben dem des eingesetzten internen Standards zu finden war. Aufgrund der Flüchtigkeit und der Stabilität gegenüber thermischen Reaktionen eignete sich Guajacol zur Erstellung einer Kalibrierkurve.

5.1.3 Spezifizierung des 4-Methylguajacols mittels MS

Methylguajacol ist bei der Pyrolyse von Lignin das Molekül, das im Chromatogramm das zweitgrößte Flächenintegral nach Guajacol aufweist. Der IUPAC-Name lautet 2-Methoxy-4-methylphenol. Es besitzt eine Molekülmasse von 138,17 g/mol und unterscheidet sich vom Guajacol lediglich durch eine zusätzliche Methylgruppe. Das Massenspektrum des 4-Methylguajacols in *Abbildung 5.1.3* weist dabei insbesondere folgenden, typischen Molekülfragmente auf:

m/z: 138 [M⁺], **123** [M⁺-CH₃], 94 [C₆H₆O⁺], 77 [C₆H₅⁺], 65 [C₅H₅⁺], 51 [C₄H₃⁺].

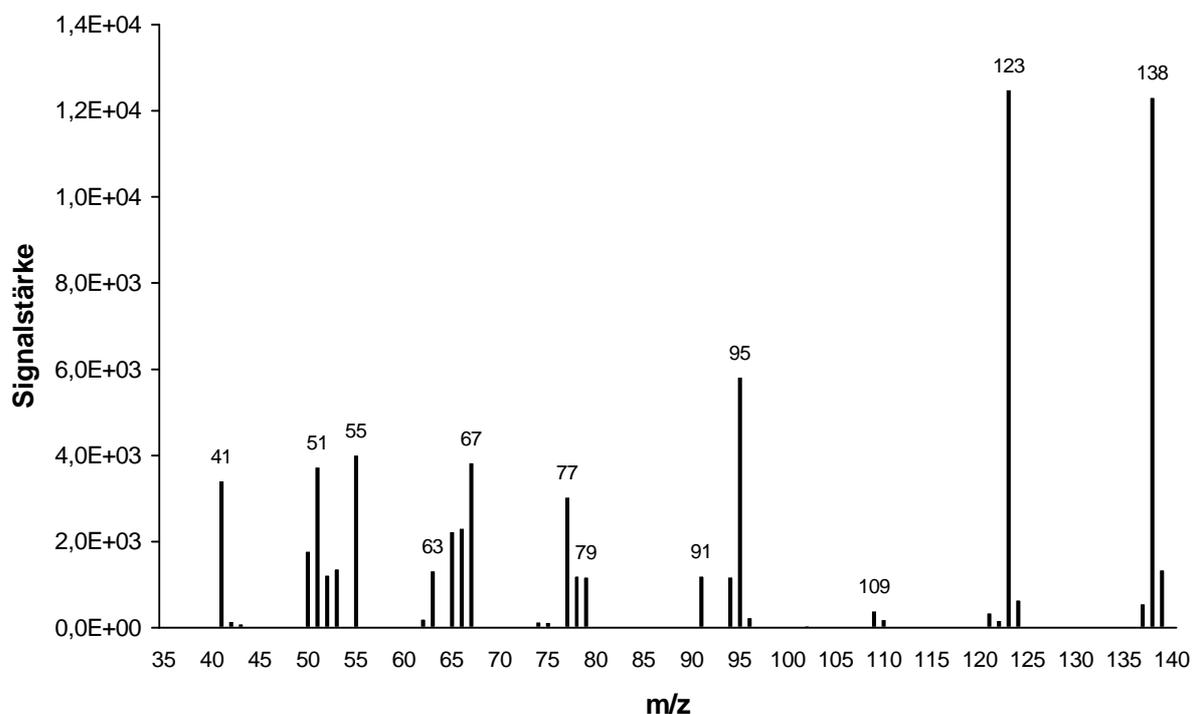


Abb. 5.1.3: Massenspektrum von 4-Methylguajacol mit Strukturformel nach Pyrolyse des Fichtenligninstandards bei 973 K.

Durch den leichten Bruch der Phenylmethyletherbindung wird eine Methylgruppe freigesetzt und führt zu der stabilen Verbindung der Masse mit dem Basisionen-signal m/z 123. Alle weiteren Abspaltungen spiegeln die typischen Fragmentierungen von Phenylethern bzw. aromatischen Ringsystemen wieder.

Bei der thermischen Dissoziation von Lignin werden vor allem Etherbrücken, die Verbindung der Alkylketten zum Ring und als Konkurrenzreaktion Bindungen innerhalb der Alkylkette gespalten (DOMBURG ET AL., 1970), welche die aromatischen Ringe miteinander vernetzend verbindet.

Neben dem 4-Methylguajacol konnten bei der Pyrolyse von Lignin auch 4-Ethyl- und 4-Propylguajacol nachgewiesen werden, allerdings mit deutlich abnehmenden Signalstärke bzw. Mengen. Die genauen thermodynamischen Abläufe hinsichtlich der auftretenden Bindungsbrüchen sind bis heute allerdings noch nicht vollständig geklärt (SHEVCHENKO ET AL., 1999).

Bei der Pyrolyse des reinen Ligninfragments 4-Methylguajacol zeigte sich, dass durch die eingesetzte Pyrolysetemperaturen keine weiteren Spaltungen auftraten, da innerhalb des Chromatogramms ausschließlich das Signal des 4-Methylguajacols neben dem des internen Standards zu finden war. Dies spricht dafür, dass zwischen Guajacol und 4-Methylguajacol keine Gleichgewichtsreaktionen auftreten, sondern dass beide Fragmente, sobald sie aus Lignin entstanden sind, weitgehend stabil sind. In der Praxis zeigte sich jedoch bei hohen Probenmengen, dass doch Reaktionen auftreten könnten. Diese Hypothese wird in *Kapitel 5.2.2* näher betrachtet.

5.2 Methode zur Ligninquantifizierung mittels Py-GC/MS

Mit den Erkenntnissen aus *Kapitel 5.1* konnte folgende Analysenmethode zur Quantifizierung von Lignin entwickelt werden:

- 1) Kalibrierkurven mit reinem Guajacol und 4-Methylguajacol unter Einsatz eines internen Standards mittels Py-GC/MS wurden erstellt.
- 2) Durch Pyrolyse-GC/MS des reinen Fichtenligninstandards wurden die Gehalte an Guajacol und 4-Methylguajacol über die Flächenintegrale im Chromatogramm bestimmt.
- 3) Aus dem prozentualen Gewichtsverhältnis von Guajacol bzw. 4-Methylguajacol zum Fichtenligninstandard konnte bei weiteren Messungen unter Beachtung der auf das ursprüngliche Volumen bezogenen, aufgebrauchten Mengen der absolute Ligningehalt der Probe ermittelt werden.

5.2.1 Bestimmung des realen Messbereichs

Die verdampfbaren Reinsubstanzen Guajacol und 4-Methylguajacol zeigten bei den Messungen keine strukturelle Änderungen. In dieser Arbeit sollte jedoch Lignin untersucht werden. Dieses Makromolekül besteht aus Guajacolderivat-Einheiten. Bei der thermischen Spaltung war mit den verschiedensten Bindungsbrüchen innerhalb des Makromoleküls ebenso zu rechnen, wie mit thermischen Umlagerungen.

Die schwächsten Bindungen im Lignin sind jedoch die Etherbindungen. Diese werden quantitativ gebrochen (BRITT ET AL., 1995). Andere mögliche Bindungsbrüche aufgrund thermischer oder radikalischer Reaktion, bzw. durch die Pyrolysewendel ausgelöste katalytische Reaktionen, spielen bei dieser Art der Pyrolyse nur eine untergeordnete Rolle (SAIZ-JIMENEZ, 1994).

Aus Abbildung 4.7.4 wird ersichtlich, dass bei der Pyrolyse die Hauptfragmente Guajacol und 4-Methylguajacol in dem Bereich von 0 bis ca. 175 µg Guajacol/Probe, bzw. in dem Bereich von 5 bis ca. 80 µg 4-Methylguajacol/Probe in einem zueinander konstanten und reproduzierbaren Verhältnis standen.

Höhere Werte zeigten eine deutliche Abweichung von einem konstanten Verhältnis. Damit wird der Messbereich zur Ligninquantifizierung nicht durch die Kalibriergeraden der Reinstoffe begrenzt (Guajacol bis 300 µg, 4-Methylguajacol bis 250 µg), sondern von der auf der Pyrolysewendel eingesetzten Ligninmenge. In Relation zur Ligninmenge ergab sich für Lignin ein Messbereich von 0 bis 3,0 mg reinen Fichtenlignins.

Die bei größeren Mengen an pyrolysiertem Lignin abweichenden Verhältnismäßigkeiten zeigten mehr Fragmente 4-Methylguajacol als Guajacol. Eine gesicherte Begründung für diese Tatsache ist nicht möglich, da bis heute die genauen Mechanismen der Pyrolyse kaum bekannt sind. Eine Betrachtung möglicher limitierender Querreaktionen findet sich im folgenden *Kapitel 5.2.2* wieder.

Mit Hilfe der sich aus *Tabelle 4.7.1* ergebenden Werte von 5,9 Gewichtsprozent Guajacol bzw. 3,4 % 4-Methylguajacol bezogen auf Fichtenlignin wird es möglich, über die Quantifizierung der Bruchstücke eine indirekte Quantifizierung von Fichtenlignin durchzuführen. Vorteil dabei ist, dass diese Fragmente sehr große Stabilität aufweisen. Dies bedeutet, dass selbst bei einer Modifizierung von Seitengruppen innerhalb des Ligninmakromoleküls oder bei einer Oxidation von chromophoren Gruppen stets die Fragmenteinheiten Guajacol und 4-Methylguajacol im Lignin ihre Strukturen beibehalten. Lediglich bei extremen chemischen Bedingungen, wie beispielsweise bei Einsatz stark oxidierender Substanzen zusammen mit hohen Temperaturen und Katalysatoren, muss damit gerechnet werden, dass sich aufgrund chemischer Reaktionen die Grundstruktur des Ausgangsmoleküls so stark ändert, dass die Werte aus *Tabelle 4.7.1* nicht angewendet werden können. Da die Fragmente in Gewichtsprozent angegeben sind, spielt auch die Größe des Makromoleküls keine Rolle, da vorausgesetzt werden darf, dass der prozentuale Anteil dieser Fragmente gleich bleibt.

Mit dieser Methode, bei der allerdings die Kalibrierung und Messmethodik noch nicht optimiert war, wurden bereits Holzschliffabwässer auf ihre Ligningehalte vor und nach der aerob-biologischen Behandlung im SBR-Laborreaktor untersucht (SCHIEGL, 1994).

5.2.2 Den Messbereich limitierende Querreaktionen

Bei der Pyrolyse entsteht eine große Menge an niedermolekularen Abspaltungsprodukten wie Formaldehyd und Methanol. Diese Fragmente sind unspezifisch und spielen daher bei der qualitativen Analyse keine Rolle. Die Möglichkeit der Querreaktion von Ligninbruchstücken mit diesen niedermolekularen Stoffen war gegeben, wenn zum Beispiel durch eine zu dicke Probenschicht auf der Pyrolysewendel die Pyrolyseprodukte nicht rasch genug aus der Reaktionszone entfernt werden konnten. Dies war wahrscheinlich auch der Grund für die Abweichungen der analysierten Mengen von Guajacol bzw. 4-Methylguajacol bei der Ligninpyrolyse. Aus den am häufigsten auftretenden Pyrolyseprodukten lassen sich Querreaktionen beschreiben, von denen die wichtigsten nachfolgend diskutiert werden.

Eine Reaktion ist die Ringalkylierung von Guajacol mit Methanol bei hohen Temperaturen unter Freisetzung von Wasser. Möglicherweise spielt die Pyrolysewendel als Katalysator eine entscheidende Rolle. Das Reaktionsschema ist in *Abbildung 5.2.1* wiedergegeben.

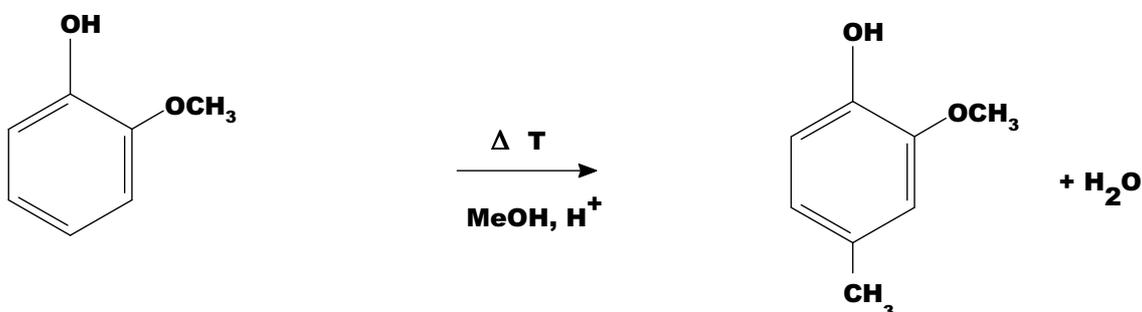


Abb. 5.2.1: Bei der Pyrolyse entstandenes Methanol reagiert unter Pyrolysebedingungen mit Guajacol zu 4-Methylguajacol (Hultsch, 1950).

Durch diese Reaktion könnte auf direktem Wege aus Guajacol 4-Methylguajacol gebildet werden. Da diese Reaktion lediglich aus einem Schritt besteht, ist die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer solchen Reaktion sehr hoch. Unterstützt wird diese These durch die Beobachtung, dass sich bei höheren Ligninkonzentrationen das Verhältnis Guajacol zu 4-Methylguajacol zugunsten des 4-Methylguajacols verschiebt.

Auch Formaldehyd ist ein Molekül, das in großen Mengen während der Pyrolyse entsteht. Formaldehyd kann mit zwei Guajacolmolekülen zu einem dimeren Harz kondensieren. Diese Reaktion wird auch Baeyer-Reaktion genannt (HULTZSCH, 1950). In der Folge zerfällt das Dimer aber infolge hoher Temperaturen und Angriff eines Protons zu 4-Methylguajacol und Guajacol. Daher lässt sich mit diesem Mechanismus die geringere Menge Guajacol und die erhöhte Menge 4-Methylguajacol bei größeren Probenmengen begründen. Diese in *Abbildung 5.2.2* dargestellte Reaktion kann auch mit größeren Aldehyden oder mit Ketonen stattfinden. In jedem Fall wird durch diese Reaktion aber der Guajacolgehalt reduziert.

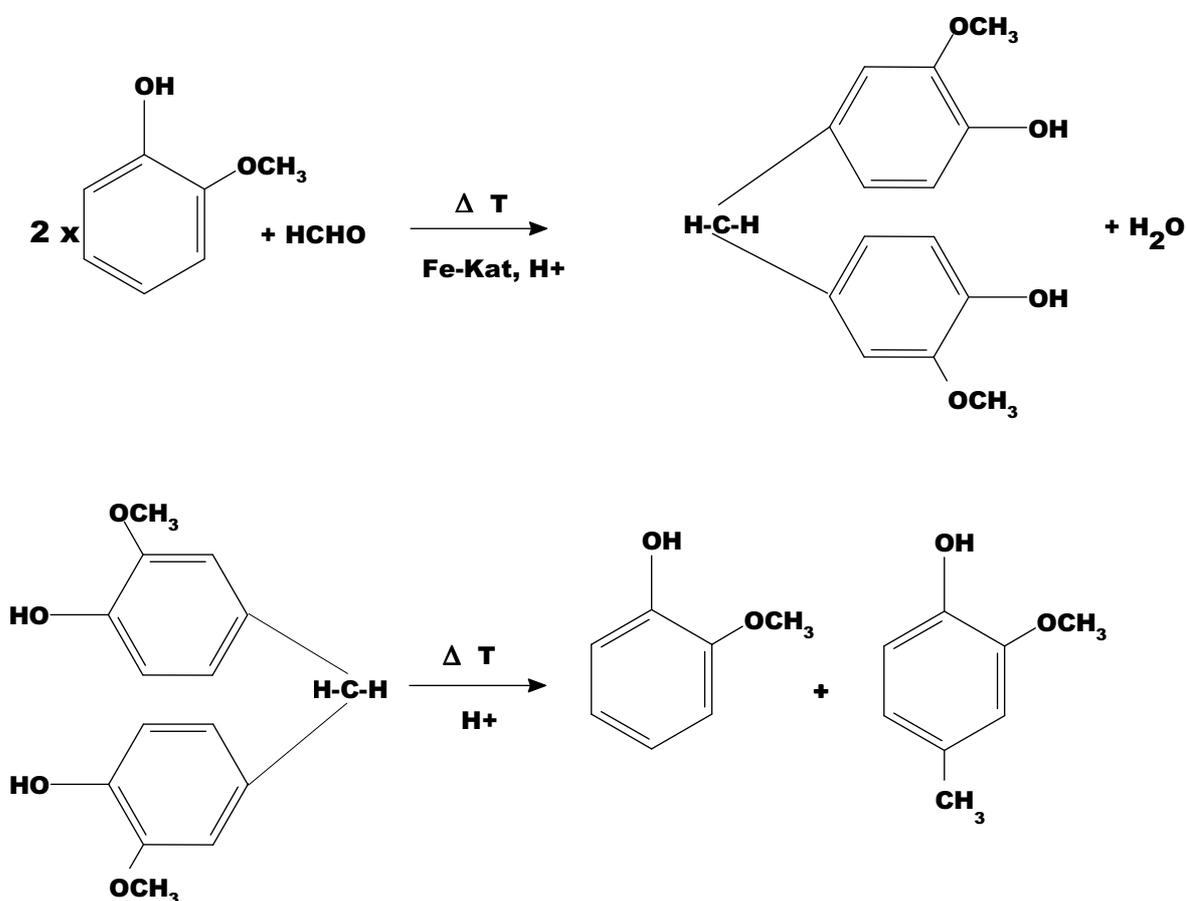


Abb. 5.2.2: Nach der Baeyer-Reaktion reagiert bei der Pyrolyse entstandenes Formaldehyd zunächst mit zwei Molekülen Guajacol zu einem dimeren Harz (HULTZSCH, 1950). Dieses wird unter hohen Temperaturen und Anwesenheit von Protonen in Guajacol und 4-Methylguajacol gespalten.

Bei der qualitativen Analyse konnten dimere aromatische Verbindungen nachgewiesen werden, die durch ein C-Atome verbundenen waren. Daher ist das Auftreten der Kondensation als erster Reaktionsschritt sehr wahrscheinlich. Inwieweit nachfolgend ein Zerfall stattfindet, ist schwierig abzuschätzen. Pyrolyseversuche mit Diphenylmethan bei 973 K ergaben einen Bindungsbruch bei etwa 75 % der Dimeren. Anzumerken ist hierbei allerdings, dass sich bei reellen Messungen das entstandene Dimer häufig nicht mehr im Reaktionsraum aufhält. Daher dürfte der zweite in *Abbildung 5.2.2* dargestellte Reaktionsschritt nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Eine weitere mögliche Reaktion ist die *Lederer-Manasse-Reaktion* (NOLLER, 1960), bei der Formaldehyd an den aromatischen Ring addiert wird und damit einen Benzylalkohol entsteht. Im Falle von Guajacol würde sich so Vanillylalkohol bilden, womit der Gehalt an Guajacol bei konstantem 4-Methylguajacol sinkt. Aus Vanillylalkohol könnte in einem zweiten Schritt durch Hydrierung 4-Methylguajacol entstehen, allerdings ist diese Reaktion rein hypothetisch, denn spätestens wenn Vanillylalkohol gebildet wurde, sollte sich der Großteil dieser Moleküle aus dem

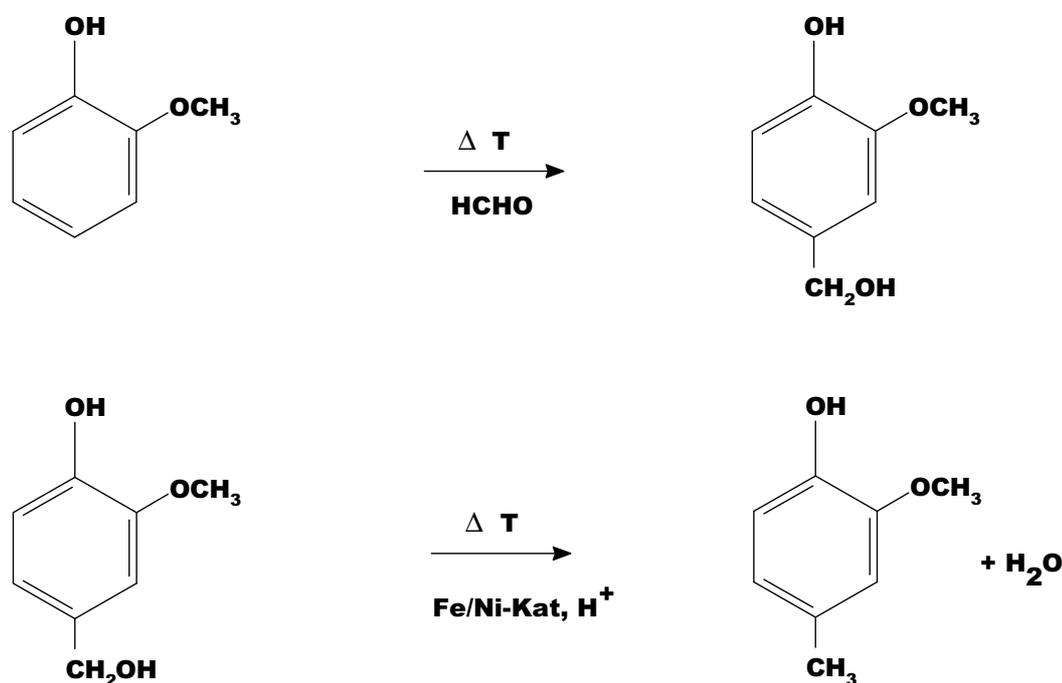


Abb. 5.2.3: Bei der Pyrolyse entstandenes Formaldehyd reagiert zunächst mit Guajacol zu Vanillylalkohol. Dieser wird in einem zweiten Schritt unter Wasserabspaltung zu 4-Methylguajacol reduziert. Diese zweistufige Reaktion wird als Lederer-Manasse-Reaktion bezeichnet.

Bereich der Pyrolyse entfernt haben. Die Reaktionen sind in *Abbildung 5.2.3.* dargestellt.

Bei der in *Abbildung 5.2.3.* dargestellten Reaktion wird der Gehalt an Guajacol reduziert und möglicherweise durch den zweiten Reaktionsschritt der Gehalt an 4-Methylguajacol erhöht. Dieser zweite Schritt ist aber aufgrund des raschen Transportes aus dem Reaktionsraum wenig wahrscheinlich. Da bei der qualitativen Analyse nur Spuren von Vanillylalkohol nachgewiesen werden konnten und dieses Molekül auch direkt aus der Pyrolyse von Lignin entstanden sein kann, ist das Auftreten dieser Reaktion eher unwahrscheinlich.

Fazit ist, dass Guajacol wahrscheinlich durch die Ringalkylierung mit Methanol oder durch die Ausbildung eines dimeren Harzers mit Formaldehyd dem Pyrolyse-System entzogen wird. Möglicherweise auftretende Zerfälle dieser Produkte führen jeweils zu einer höheren Menge an 4-Methylguajacol als ursprünglich durch die Pyrolyse von Lignin entstanden ist.

5.3 Online-Derivatisierung

Derivatisierungen werden in der Chemie häufig zur gezielten Veränderung bestimmter Moleküleigenschaften herangezogen. Bei der GC/MS Analytik spielt die VFlüchtigkeit von Molekülen eine wichtige Rolle. Daher war es wichtig, möglicherweise vorhandene Carbonsäuren zu verestern und damit eine ausreichende Flüchtigkeit der Moleküle zu erreichen. Während die Veresterung als Probenvorbereitung vor der Pyrolyse eine gängige Standardmethode ist, wird in jüngster Zeit und insbesondere bei der Methode der Pyrolyse-GC/MS eine *in situ* Probenderivatisierung durchgeführt. Vorteil dieser Methode ist, dass die Moleküle erst mit Beginn der Analyse derivatisiert werden und damit Querreaktionen oder Zerfallsreaktionen dieser Moleküle vor Analysenbeginn ausgeschlossen sind (Challinor, 1996 und 1998). Weiterer Vorteil ist, dass durch die Derivatisierung schwer flüchtige Substanzen in leichtflüchtige Substanzen umgewandelt werden, wie beispielsweise Carbonsäuren in Ester. Damit wird eine geringere Belastung der GC-Säule erreicht, aber auch erwartet, eine größere Menge an Bruchstücken im Fingerprintbereich des Fichtenlignins bestimmen zu können.

Zu diesem Zwecke wurden jeweils Ligninpyrolysen mit den zwei am häufigsten eingesetzten Derivatisierungssubstanzen Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) und Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH) durchgeführt und mit denen der reinen Ligninpyrolyse verglichen. Diese beiden Verbindungen werden seit einiger Zeit zur *in-situ* Methylierung von Carbonsäuren und Aminen verwendet (PASTOROVA ET AL., 1997; HATCHER UND CLIFFORD, 1994). Dabei haben diese Verbindungen den Effekt, dass eine radikalische Methylierung bei Temperaturen oberhalb von 200 °C stattfindet (B ENTO ET AL., 1998). Dieser Vorgang wird auch Thermochemolyse genannt. Hierdurch wird gewährleistet, dass auch Etherbindungen, die bei der Pyrolyse nicht gebrochen, bzw. gebrochen wurden aber sofort wieder rekombinieren, auf diesem Wege quantitativ gespalten werden. Andererseits erreicht man dadurch auch die Veresterung von Carbonsäuregruppen, wodurch schwerflüchtige organische Säuren in leichter flüchtige Ester überführt werden, die dann chromatographisch auftrennbar werden bzw. polaren GC-Säule keinen Schaden zufügen (MARTIN ET AL., 1995). Es besteht aber auch die Gefahr, dass bei einer Überdosierung des Methylierungsmittels Querreaktion auftreten, die nicht gewünscht sind. Dazu gehören radikalische Rekombinationsprozesse

des Methylierungsmittels ebenso, wie unspezifische Methylierungsreaktionen (HARDELL UND NILVEBRANT, 1999). Der Mechanismus des Methylierungsvorganges galt bereits seit Ende der siebziger Jahre als geklärt und ist in *Abbildung 5.3.1* anhand der Methylierung einer Carbonsäure mit TMAH beispielhaft wiedergegeben.

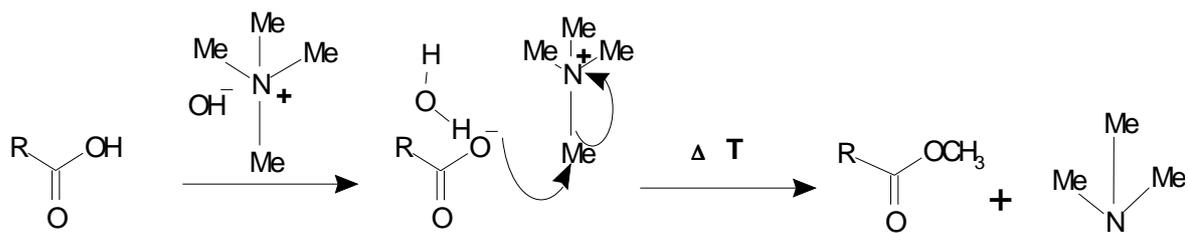


Abb. 5.3.1: Mechanismus der thermischen Methylierung einer Carbonsäure mit TMAH nach KOSSA ET AL. (1979).

Wenn die Thermochemolyse tatsächlich für einen quantitativeren Bindungsbruch als die Pyrolyse selbst sorgen würde, müsste man auf Basis der Kalibrierfunktionen für die Ausbeute an Lignin im Vergleich zur Pyrolyse ohne Methylierungsmittel (=100 %) höhere Wiederfindungswerte erhalten. Falls durch die Methylierung andere Reaktionen ablaufen und andere Moleküle gebildet werden, die nicht als Leitsubstanz erfasst werden, muss die Wiederfindungsrate für Lignin signifikant unter 100 % liegen.

Nachfolgend werden die jeweils durch die Mittelung der aus den Bruchstücken Guajacol und 4-Methylguajacol erhaltenen Ligninmengen in Relation zur erwarteten Ligninmenge auf Basis der angegebenen Kalibrierfunktionen dargestellt. Alle Messungen wurden jeweils dreimal durchgeführt, so dass sich damit die Anzahl von 6 gemessenen Ligninwerten pro Parameterkombination ergibt.

5.3.1 Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH)

Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) wird bereits seit mehr als zehn Jahren zur Methylierung eingesetzt (MARTIN ET AL., 1995). Trotz seiner für das GC/MS-System nachteiligen wasserziehenden Eigenschaften ist TMAH als gutes Methy-

Tab. 5.3.1: Wiederfindungsrate des Lignins in Abhängigkeit von der eingesetzten Ligninmenge und der Menge des eingesetzten TMAH.

TMAH / Lignin	250 µg	500 µg	1000 µg
0,0 µl	99 % ± 4 %	102 % ± 4 %	97 % ± 4 %
2,5 µl	97 % ± 5 %	94 % ± 7 %	100 % ± 9 %
5,0 µl	98 % ± 12 %	100 % ± 14 %	98 % ± 15 %
10,0 µl	103 % ± 15 %	106 % ± 18 %	109 % ± 25 %

lierungsmittel bekannt und wurde daher eingesetzt. Dadurch wird neben dem aus der Pyrolyse entstehenden Wasser zusätzliches Wasser in das GC System gebracht. Das Ergebnis ist Säulenbluten, durch das wiederum eine genaue Bestimmung des Integralbereichs erschwert wird (PASTOROVA ET AL., 1997). Trotz der aufgrund des Wassereintrags breiteren Signale im Chromatogramm waren die Integralfächen bestimmbar. In *Tabelle 5.3.1* sind die über die Bruchstücke berechneten Wiederfindungsraten der Ligninwerte dargestellt.

Aus der Tabelle wird ersichtlich, dass bei eingesetzten Ligninmengen zwischen 250 µg und 1 mg und von 0 bis 5 µl TMAH gegenüber den Messungen ohne Methylierungsmittel sowohl beim Vergleich der Standardabweichungen, als auch beim Vergleich der Wiederfindungsraten kein signifikanter Unterschied feststellbar war.

Anders verhält es sich bei Einsatzvolumina von 5 µl TMAH oder mehr. Zwar liegen die aus den Mittelwerten berechneten Wiederfindungsraten im Bereich der aus den Kalibrierkurven erhaltenen Werte. Die Einzelmesswerte weisen aber eine größere Schwankungsbreite auf, was sich an den Standardabweichungen von 12 bis 25 % widerspiegelt.

Diese größeren Abweichungen kamen vor allem durch die Verbreiterung der GC-Signale und eine damit verbundene fehlerhafte Integralflächenbestimmung zustande.

Fazit ist, dass der Einsatz von TMAH bei frischem Lignin keine signifikante Verbesserung bei der Py-GC/MS-Analyse bewirkt und bei Einsatz höherer Mengen nur einen zusätzlichen Störfaktor darstellt. Aufgrund des Eintrags von Wasser eignet sich der Einsatz von TMAH nicht zur Derivatisierung bei der Online-Untersuchung von Lignin mittels Py-GC/MS.

5.3.2 Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH)

Trimethylsulfoniumhydroxid kam erst in jüngster Zeit zum Einsatz und findet vornehmlich im Bereich der online-Veresterung von Fettsäuren Anwendung (GOODACRE ET AL., 1994), die durch ihre spezifische Zusammensetzung auf bestimmte Mikroorganismen Rückschlüsse zulassen. Vorteil dieses Methylierungsmittels gegenüber TMAH ist seine spezifischere Wirkweise ausschließlich Hydroxylgruppen zu methylieren, ungesättigte Bindungen werden nur bei hohem Überschuss methyliert (MÜLLER ET AL., 1998). Ferner weist TMSH nur leicht wasserziehende Eigenschaften auf, wodurch während der Auftrennung der Fragmente durch den geringeren Wassereintrag in der eingesetzten GC-Säule kaum Säulenbluten eintritt. In *Tabelle 5.3.2* sind die über die Bruchstücke Guajacol und 4-Methylguajacol berechneten Wiederfindungsraten der Ligninwerte aufgeführt.

Tab. 5.3.2: *Wiederfindungsraten des Lignins in Abhängigkeit von der eingesetzten Ligninmenge und der Menge des eingesetzten TMSH.*

TMSH / Lignin	250 µg	500 µg	1000 µg
0,0 µl	98 % ± 4 %	102 % ± 6 %	97 % ± 5 %
2,5 µl	101 % ± 5 %	94 % ± 6 %	100 % ± 6 %
5,0 µl	99 % ± 7 %	101 % ± 8 %	98 % ± 9 %
10,0 µl	103 % ± 9 %	106 % ± 8 %	109 % ± 13 %

Es wird ersichtlich, dass im Gegensatz zur Bestimmung mit TMAH alle Werte in dem vorgegebenen Bereich sowohl hinsichtlich der Standardabweichungen, als auch hinsichtlich der Wiederfindungsraten keinen signifikanten Unterschied zu Messungen ohne Methylierungsmittel aufweisen.

Auffällig in den hier nicht dargestellten Chromatogrammen war die Änderung der Retentionszeiten zu einer längeren Verweildauer der Leitsubstanzen auf der eingesetzten Säule. Dies lässt auf eine Methylierung der phenolischen Hydroxygruppe schließen. Massenspektrometrisch war jedoch keine Änderung der Molekülmasse von Guajacol und 4-Methylguajacol feststellbar.

Als Fazit ergibt sich, dass TMSH gegenüber TMAH deutlich schärfere und damit besser quantifizierbare Signale liefert. Da sich jedoch auch hier die Wiederfindungsrate nicht signifikant ändert, ist der Einsatz von TMSH für frisches Lignin bei einer Pyrolysetemperatur von 973 K nicht unbedingt notwendig. Da durch den Einsatz von TMSH aber die Messungen auch nicht beeinträchtigt wurden, erschien es sinnvoll, TMSH bei Messungen des Ligningehalts von Industrie- oder Klärabwässern präventiv einzusetzen, da damit bei der Pyrolyse entstehende Carbonsäuren verestert wurden und dadurch verursachtes Säulenbluten weitgehend verhindert werden konnte. Damit stieg die Empfindlichkeit und Genauigkeit der Messungen an und hatte gleichzeitig positive Auswirkungen auf die Lebensdauer der GC-Säule.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Quantifizierung von Lignin über die Bruchstücke Guajacol und 4-Methylguajacol mittels Py-GC/MS gut reproduzierbare Messergebnisse generierte. Die erstellten Kalibrierfunktionen für reines Fichtenlignin waren für Probenmengen zwischen 0 und 3 mg Fichtenlignin gültig. Der interne Standard Hexachlorbenzol zeigte keine nachweisbaren Querreaktionen bei der Pyrolyse auf. Durch sein scharfes Signal war der interne Standard sehr gut bestimmbar. Der Einsatz von TMSH zur Veresterung von Carbonsäuren hatte keinen Einfluss auf die Ligninquantifizierung. Bei der Quantifizierung von Lignin in Industrieabwässern mittels Py-GC/MS erhöht TMSH die Messgenauigkeit und verhindert dadurch ein vermehrtes Säulenbluten. Die Einsatzmenge des Derivatisierungsmittel sollte etwa die Größenordnung von 1 % der Probenmenge erreichen.

5.4 Isolierung von Lignin aus Abwässern und Schlämmen

5.4.1 Abwässer

Zur Bestimmung des Ligninanteils in Abwasserproben wurde Lignin aus Abwasserproben isoliert und musste aufgrund der geringen Mengen aufkonzentriert werden. Hierzu erfolgte zunächst die Filtration der Probe, um störende Partikel zu entfernen. Daran schloss sich die Festphasenextraktion an. Aus der Vielzahl der am Markt gängigen Festphasenmaterialien wurde in Vorarbeiten (SCHIEGL, 1994) die Phenylfestphase als die am besten geeignete Festphase ermittelt. Die Phenylfestphase war dabei für unpolare bis mäßig polare Verbindungen, insbesondere aber für aromatische Verbindungen wie Lignine geeignet.

Die Isolierung und Aufkonzentrierung von Lignin aus Abwässern wurde daher durch Adsorption an die Phenylfestphase mit nachfolgender Elution durch eine Methanol-/Acetongemisch (1:1) durchgeführt.

5.4.1.1 Kapazitätsbestimmung der Phenylfestphasen

Zur Bestimmung der Kapazität der Phenylfestphasen hinsichtlich der Ligninadsorption wurden jeweils 2 Festphasen in Reihe hintereinandergeschaltet. Dabei diente die zweite Festphase zur Kontrolle der Kapazitätsgrenze der ersten Festphase. Jede Reihe wurde mit unterschiedlichen Mengen eines aus 3 Tagen gemischten Holzschliffabwassers der Papierfabrik beschickt, das durchschnittlich mit organischen Substanzen belastet war (CSB 1000 mg/l). Nach der Elution wurde eine Ligninbestimmung des jeweiligen Festphaseneluats durchgeführt. In *Tabelle 4.2.1* sind die absoluten Mengen an Lignin in Abhängigkeit von den aufgegebenen Abwasservolumina dargestellt. Alle Messwerte sind Mittelwerte aus 3 Messungen bzw. 6 Ligninwerten, da bei jeder Messung über die Bestimmung von Guajacol und 4-Methylguajacol zwei Ligninwerte generiert wurden. Die Werte spiegeln nicht die wahren Werte in der Zulaufprobe wieder, da die Wiederfindungsrate zur Normierung der Werte noch nicht berücksichtigt ist.

Wie aus *Tabelle 5.4.1* ersichtlich wird, wurde die Kapazitätsgrenze einer Festphase bei einer vollständigen Extraktion des Lignins aus 2 l bis 3 l Wasserprobe überschritten. Voraussetzung dafür war, dass die Wasserprobe mit Lignin belastet war und einen CSB-Wert von 1000 mg/l aufwies.

Tab. 5.4.1: Absolute Ligningehalte in den Festphasen in Abhängigkeit von den aufgegebenen Holzschliffabwassermengen.

Wasservolumen	Ligningehalt obere Festphase	Ligningehalt untere Festphase
1000 ml	13,6 ± 2,0 mg	n.n.
2000 ml	27,5 ± 4,6 mg	n.n.
3000 ml	34,9 ± 7,8 mg	6,4 ± 4,6 mg
4000 ml	37,4 ± 9,6 mg	17,2 ± 7,4 mg

Auffallend war die zunehmend größere Schwankungsbreite. Dies war auf zunehmende Probleme bei der Festphasenextraktion mit größeren Probenvolumina zurückzuführen, bei der Poren durch ausfallende organische Stoffe oder durch Mikropartikel verstopft wurden. Dadurch wurde die Festphase nicht mehr homogen durchströmt und damit traten zunehmende Schwankungen von Messung zu Messung in Abhängigkeit der verstopften Poren auf. Dies führte zu einer mit zunehmendem Probenvolumen abnehmenden Reproduzierbarkeit.

Als Fazit daraus ist zu schließen, dass bei realen Kläranlagenproben Mengen von 1 l das Optimum an aufgegebener Probenmenge darstellen, um Fehler aufgrund verstopfter Poren und damit inhomogener Bereiche auf der Festphase zu vermeiden. Dies ist Voraussetzung für eine gute Reproduzierbarkeit und Wiederfindungsrate. In der Realität steht dem aber die Forderung entgegen, auch in Abläufen mit geringen Ligninmengen eine genügend große Menge an Lignin zu isolieren, um anschließend reproduzierbar quantifizieren zu können.

Als Kompromiß wurde bei Abläufen ein größeres Probenvolumen (1,5 l bis 2 l) eingesetzt, um ausreichend Substanz für die quantitativen Bestimmungen zu erhalten.

5.4.1.2 Wiederfindungsrate

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate wurde in Methanol gelöstes Standardlignin in Wasser gegeben (v/v Methanol/H₂O 1:100) und so ein Ligningehalt von 25 mg/l eingestellt. Damit lag der Ligningehalt pro Liter Probenvolumen in einem Bereich nahe der Kapazitätsauslastung der Säule.

Von einer annähernd vollständigen Adsorption von Lignin auf der Festphase ist aufgrund der in *Kapitel 5.4.1.1* durchgeführten Bestimmungen auszugehen. Daher sollte die Wiederfindungsrate nahe 100 % liegen, sofern eine vollständige Elution des extrahierten Lignins möglich war. Die Wahl des Lösungsmittels ist für eine optimale Elution wichtig. In *Tabelle 5.4.2* sind die Wiederfindungsraten für verschiedenen Eluenten angegeben.

Tab. 5.4.2: *Wiederfindungsraten mit Standardabweichungen bezogen auf Lignin bei Verwendung von Phenylfestphasen und einer wäßrigen Probe von 1 l mit einem Ligningehalt von 25 mg/l. Die Elutionsversuche finden mit verschiedenen Lösungsmitteln statt.*

Lösungsmittel	Wiederfindungsrate
Aceton	63 % ± 17 %
Aceton / MeOH (1:1)	82 % ± 12 %
MeOH	75 % ± 14 %
CHCl ₃	7 % ± 24 %

Hierbei erwies sich ein 1:1 Aceton/Methanolgemisch als das günstigste Gemisch zur Elution des Lignins von der Festphase hinsichtlich der Wiederfindungsrate, bei der auch die kleinste Standardabweichung auftrat. Auch die Standardabweichung mit diesem Gemisch zeigte, dass der Bereich der Abweichung unter allen untersuchten Lösungsmitteln am geringsten ist.

Als Fazit ist zu ziehen, dass neben der Untersuchung einer Probenmenge von 1 l auf einer einzelnen Phenyl-Festphase für Fichtenlignin ein volumengleiches

Gemisch aus Methanol und Aceton als optimales Elutionsmittel bestimmt wurde. Bei dieser Lösungsmittelkombination wurde ein Ligninverlust von 18 % berücksichtigt. Dies bedeutet, dass die mittels Py-GC/MS ermittelten Ligninwerte mit dem Faktor 1,22 multipliziert werden mussten, um den tatsächlichen Lignin-gehalt der Probe zu ermitteln.

5.4.2 Schlämme

Um bestimmen zu können, ob Lignin während der biologischen Abwasserreinigung abgebaut wurde, oder ob es lediglich an den Belebtschlamm adsorbiert und damit dem Abwasser entzogen wurde, musste eine Bilanzierung des gesamten SBR-Systems durchgeführt werden. Davor musste jedoch zunächst eine Methode zur Quantifizierung von Lignin in Schlämmen erstellt werden, die der für flüssige Proben angewandten Methode sehr ähnlich war, um Fehler durch den Einsatz verschiedener Methoden auszuschließen. Da bei der Py-GC/MS sowohl flüssige, als auch feste Proben auf die gleiche Weise analysiert werden konnten, musste nur die Probenvorbereitung angepasst werden. Der gewaschene und gefriergetrocknete Schlamm konnte direkt pyrolysiert werden, wodurch Fehler durch Aufbereitungsschritte minimiert wurden.

5.4.2.1 Ligninverlust bei der Waschung von Schlamm

Ein fehlergenerierendes Problem ist das Vorhandensein mineralischer Salze, insbesondere die des Natriums, welche Störungen bei der Py-GC/MS verursachen können (HOLZER UND ORÓ, 1977; KLEEN UND GELLERSTEDT, 1997). Diese Störungen äußern sich in breiteren Signalen mit einer geringeren Integralfläche im Vergleich zu einer Probe ohne Natriumionen. Deshalb wurde der Schlamm sofort nach Entnahme bei der Filtration mit Leitungswasser gewaschen. Es war jedoch zu vermuten, dass dabei geringe Mengen adsorbierten Lignins desorbiert wurden. Um dies zu prüfen, wurde das Waschwasser auf den Ligningehalt untersucht.

Hierfür wurde aus einem SBR mit 20 Tagen Schlammalter 1 l homogen durchmischter Reaktorinhalt als Probe entnommen und abfiltriert. Danach wurde der

Schlamm dreimal mit jeweils 150 ml Leitungswasser gewaschen und das Filtrat aufgefangen. Das Filtrat wurde analog normaler Abwasserproben aufbereitet. Umgerechnet auf das Trockengewicht des Schlammes trat durch den Waschvorgang pro Gramm Trockenmasse zwischen 15 und 20 mg Lignin Austrag auf. Dieser Wert wurde bei der Fehlerbetrachtung anschließend eingerechnet. SCHIEGL ET AL. (1997B) wiesen nach, dass der Ligninanteil des TS bis zu 30 % ausmachen kann. Bei dem hier untersuchten Schlamm wurde bei der Pyrolyse ein Ligningehalt von 285 mg/g Trockenmasse ermittelt. Addiert man hier das beim Waschvorgang ausgewaschene Lignin hinzu, ergibt sich ein ursprünglicher Ligningehalt von etwa 305 mg/g TS. Damit ist der Austrag von Lignin bei der Waschung mit etwa 8 % anzugeben. Dieser Wert wurde bei der Bestimmung des ursprünglichen Ligningehaltes im Belebtschlamm mit berücksichtigt.

5.4.2.2 Einfluss des Probennahmezeitpunktes

Schlämme bestehen aus vergesellschafteten Mikroorganismen. Das biologische System der Schlammflocke weist unterschiedliche Eigenschaften gegenüber seiner Umwelt bei verschiedenen Einflüssen auf. Insbesondere beim Belebtschlammverfahren ändert sich die Redoxaktivität des biologischen Systems (BMBF, 1998), was wiederum auf die Adsorption Einfluss hat. So konnte in Systemen, die zunächst absatzweise belüftet wurden, beobachtet werden, dass diese eine größere Menge an Substanzen adsorbieren, als im Vergleich zu einer Ruhephase ohne Belüftung. Dies führte letztendlich zu der Erkenntnissen, dass Belebtschlamm-systeme während ihrer Ruhephase bis zu 10 % der adsorbierten Substanzen wieder desorbieren können, was am Ligninbruchstück Eugenol nachgewiesen werden konnte (HUBER, 1998). Daher sollte der Zeitpunkt der Probennahme des Schlammes mit dem Zeitpunkt der Probennahme des Abwassers identisch sein. Da jedoch nur während der Durchmischungs- und Belüftungsphase der Belebtschlamm homogen im Abwasser verteilt ist, macht eine Schlammbeprobung nur zu diesem Zeitpunkt Sinn. Das gereinigte Abwasser, das nach der Reinigung aus dem SBR gepumpt wird, sollte deswegen aufgrund der Desorption von Stoffen der Schlammflocken eine höhere Belastung als am Ende der aeroben Durchmischungsphase aufweisen.

Um den Einfluss des Beprobungszeitpunktes nach der Reinigung des Abwassers von leichtabbaubaren Verbindungen zu bestimmen, wurde ein SBR mit 20 Tagen Schlammalter und den weiteren üblichen Betriebsparametern mit Holzschliffabwasser beschickt, das eine Belastung von 1000 mg/l CSB aufwies. Der Ligningehalt wurde vom Abwasser am Ende der aeroben Reaktionsphase (s. Abb. 4.3.2), sowie während des Abpumpvorganges bestimmt. Da der Reaktor während der Belüftungsphase homogen durchmischt war, veränderte sich der Gesamtfeststoffgehalt pro Volumen trotz der großen entnommenen Volumenmenge nicht. Daher war es möglich im gleichen Zyklus zwei große Probenmengen zu entnehmen. Allerdings wurde die Biologie im Reaktor für den nachfolgenden Zyklus aus dem Gleichgewicht gebracht. Dies hätte zur Folge gehabt, für eine Probenmehrfachbestimmung 20 bis 40 Tage warten zu müssen, bis sich das Gleichgewicht wieder eingestellt hätte. Aus diesem Grunde wurden nur die zwei einzelnen Proben mittels Mehrfachmessung auf ihren Lignininhalt untersucht. Mit der während der Belebungsphase gezogenen Probe wurde der Gesamtfeststoffgehalt TS bestimmt, um die durch den Belebtschlamm desorbierte Menge an Lignin bestimmen zu können. Die in den Proben bestimmten Ligninmengen sind in *Tabelle 5.4.3* dargestellt.

Tab. 5.4.3: *Im Abwasser bestimmte Ligningehalte bei einem auf 2,2 g/l bestimmten Gesamtfeststoffgehalt TS.*

Zeitpunkt	Ende aerobe Behandlung (5,9 h nach Zyklusbeginn)	Ende Sedimentation (7,5 h nach Zyklusbeginn)
Lignin im Abwasser	9,4 ± 1,2 mg/l	11,1 ± 1,4 mg/l

Aus den Zahlen wird deutlich, dass die Ligninmenge im Abwasser während der Ruhephase um knapp 20 % anstieg. Umgerechnet auf den Belebtschlamm ergab sich hier eine Desorption von 1,7 mg pro 2,2 g Belebtschlamm entsprechend einem Masseverlust im Bereich von 0,8 %. Die Bestimmung des am Belebtschlamm adsorbierten Lignins am Ende der aeroben Behandlung ergab einen Wert von 305 mg/g (± 10 mg/g). Daher wurden knapp 0,3 % des gesamten am Belebtschlamm adsorbierten Lignins während des Ruhezeitraumes desorbiert.

Um einen Bezug herzustellen, müssen jedoch die pro Zyklus umgesetzten Ligninmengen berechnet werden. So ergibt sich bei einem mittleren Schlammalter von 20 Tagen eine Anzahl von 60 Behandlungszyklen. Umgerechnet auf den Belebtschlamm bedeutete dies, dass pro Zyklus etwa 5 mg Lignin pro Gramm Belebtschlamm adsorbiert wurden. Bei einer während der Ruhephase desorbierten Ligninmenge von knapp 0,8 mg/g Schlamm bedeutet dies, dass knapp 20 % des in der aeroben Behandlung frisch adsorbierten Lignins während der Ruhephase desorbiert wurde.

Die geringe desorbierte Menge spielt für die Bestimmung des Ligningehaltes im Schlamm keine Rolle, da diese Menge innerhalb der Schwankungsbreite der Messungen lag. Da der Belebtschlamm allerdings eine große Gesamtmenge an Lignin gleich eines Reservoirs adsorbiert hat, sind bereits die hier bestimmten prozentual gesehenen Kleinmengen, die desorbiert wurden, von erheblichem Einfluss auf die Belastung des gereinigten Abwassers.

5.4.3 Bestimmung geeigneter Probennahmezeitpunkte

Voraussetzungen für repräsentative Ergebnisse sind die Probennahmezeitpunkte des Abwassers und des Belebtschlammes, in denen das Lignin im Abwassersystem in einem Gleichgewicht mit dem am Belebtschlamm adsorbierten Lignin vorliegt. Hierfür wurden über den gesamten Reinigungszyklus Ligninmengenbestimmungen nach Aufkonzentration über Ph-SPE mittels Py-GC/MS an einem halotechnischen SBR-Reaktor mit einem mittleren Schlammalter von 20 Tagen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in *Abbildung 5.4.1* dargestellt.

Wie aus *Abbildung 5.4.1* ersichtlich ist, steigt während der Füllphase die Konzentration des Lignins an, deren Maximum am Ende der Füllphase erreicht wird. Von diesem Zeitpunkt an benötigt das System 45 Minuten bis zu einem gleichbleibenden Ligningehalt im System, gleichbedeutend mit einem Adsorptions-/Desorptionsgleichgewicht zwischen im System frei verfügbaren Lignin und an den Belebtschlamm biosorptiv gebundenen Lignins. Die Dauer bis zur Einstellung dieses Gleichgewichts ist vergleichsweise groß, was auf die Größe und die Spermigkeit des Ligninmoleküls zurückgeführt werden kann (NIELSEN, 1996).

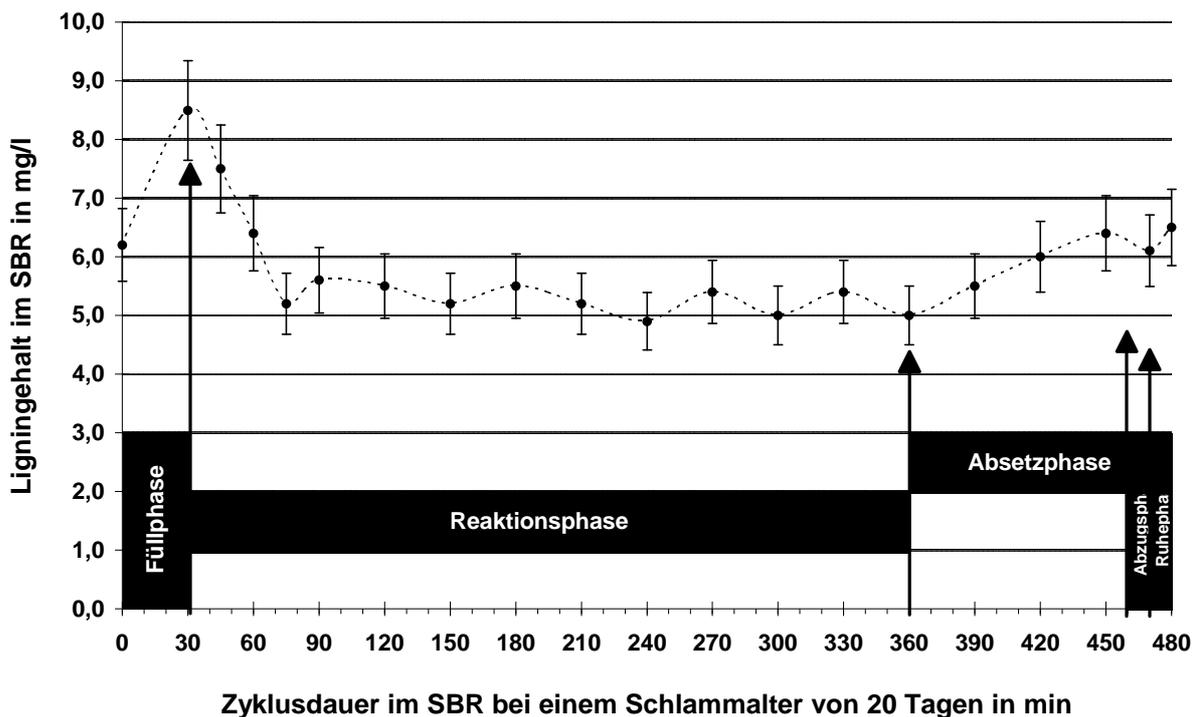


Abb. 5.4.1: Über Py-GC/MS bestimmte Ligningehalte im halbtechnischen SBR in Abhängigkeit von der Zyklusdauer. Zur besseren Übersicht sind die Zyklusphasen angegeben.

In einer Vielzahl von Studien konnte gezeigt werden, dass die Einstellung eines Gleichgewichtes von niedermolekularen Stoffen durch Biosorption an Belebtschlamm nur wenige Minuten beansprucht (JORAND ET AL., 1995; PUJOL UND CANLER, 1992). Bei komplexeren Systemen, wie beispielsweise kommunalem Abwasser, wird mit rund 20 Minuten eine deutlich langsamere Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes beobachtet (GUELIL ET AL., 2001).

In *Abbildung 5.4.1* lässt sich erkennen, dass sich während der Sedimentationsphase das Biosorptionsgleichgewicht dahingehend verändert, daß Lignin desorbiert wird und damit die Ligninwerte in der Lösung wieder ansteigen. Diese Effekte sind bekannt und wurden bei HUBER (1996), so wie bei HALL UND LIVER (1996) detailliert beschrieben.

Anhand der *Abbildung 5.4.1* ergibt sich ein optimaler Probennahmezeitraum von 75 bis 360 Minuten nach Zyklusbeginn, der rein empirisch auf Basis von Mes-

sungen ermittelt wurde. In der Vergangenheit gab es zahlreiche Versuche die Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes in Belebtschlammssystemen über die klassischen *Langmuir*- oder die *Freundlich*-Gleichungen mit experimentellen Ergebnissen so zu verknüpfen, dass für die einzelnen Systeme gültige Ergebnisse erzielt werden sollten. In den meisten Fällen misslang dies aber sowohl aufgrund der Komplexität des Belebtschlammsystems als auch aufgrund der Zusammensetzung der Abwässer. Eine spezifische Belebtschlamm-Adsorptions-Gleichgewichtsgleichung (ASAE) wurde von CROMBIE-QUILTY UND MCLOUGHLIN (1983) entwickelt. Bei dieser Gleichung handelt es sich aber genau genommen um eine enzymatische Gleichgewichtsreaktion, die daher nur eingeschränkt gültig ist, jedoch zum Verständnis der Vorgänge bei der Einstellung eines Adsorptionsgleichgewichtes beiträgt. Allgemein wird angenommen, dass Biosorption durch elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen in Abhängigkeit der Eigenschaften der organischen Abwasserstoffe verursacht wird (YAN UND ALLEN, 1994; DOBBS ET AL., 1995; HALL UND LIVER, 1996). Dennoch ist bis heute immer noch weitgehend unklar, welche Mechanismen bei der Adsorption von löslichen, kolloidalen oder partikulären organischen Stoffen ablaufen (GUELIL ET AL., 2001).

5.5 Methode der Ligninbestimmung mit UV/VIS-Spektroskopie

Die UV/VIS-Spektroskopie wird in der Chemie seit den sechziger Jahren zur Bestimmung von Reaktionsgeschwindigkeiten über die Messung bestimmter Absorptionsbanden und ihrer Veränderung standardmäßig eingesetzt (SCHRÖDER, 1992). In Verbindung mit anderen spektroskopischen Untersuchungen kann die UV/VIS-Spektroskopie eine wertvolle Methode für die qualitative Analyse und Strukturbestimmung sein. Mit dem in den letzten Jahrzehnten sprunghaft angewachsenen Wissen zur Chemie der elektronischen Zustände ist ein neues Feld für die UV/VIS-Spektroskopie erschlossen worden.

In jüngerer Zeit diente diese Technik bereits der Online-Überwachung des Wasserverschmutzungsgrades bei Zu- und Abläufen von Kläranlagen (KUNZ, 1995). Bei spezifischen Wellenlängen sollten spezifische Stoffe mit der Methode der UV/VIS-Spektroskopie quantifiziert werden. Bei Lignin ist dies auf Basis der Aromatenbestimmung nach Vorgabe der Deutschen Einheitsverfahren DEV (FACHGRUPPE WASSERCHEMIE DER GDCh, 1980) die Wellenlänge $\lambda = 254$ nm. Problematisch in diesem Zusammenhang sind andere Wasserinhaltsstoffe, die ebenfalls bei dieser Wellenlänge absorbieren. Das Absorptionsmaximum von reinem Fichtenlignin liegt jedoch bei einer Wellenlänge von $\lambda = 281$ nm. Durch ein Abweichen von der durch die DEV vorgegebenen Wellenlänge von $\lambda = 254$ nm zu einer Wellenlänge von $\lambda = 281$ nm gelingt es, Störungen durch andere aromatische Stoffe zu verringern. Vorteilhaft ist in diesem Zusammenhang zudem, dass das untersuchte Papierfabriksabwasser die Menge von Substanzen und damit der Störstoffe, die nicht der Gruppe der Lignine angehören, beschränkt war. Deshalb erschien es sinnvoll die Ergebnisse aus der Pyrolyse-GC/MS mit den Ergebnissen aus den UV/VIS-Messungen bei einer Wellenlänge von $\lambda = 281$ nm zu vergleichen.

5.5.1 Wellenlänge und Kalibriergerade

Messungen mit hydrolysiertem Lignin an SBR-Anlagen, die mit einem genau definierten Modellabwasser beschickt wurden, wurden von ADAMIETZ ausgeführt (1997). Da käufliches wasserlösliches Lignin aus einem Gemisch von Nadel- und Laubholzlignin besteht, ist dieses Lignin nicht zur Kalibrierung für Abwässer, die

ausschließlich Nadelholzlignin enthalten, geeignet. Aus diesem Grunde wurde das als Standard gewonnene Fichtenlignin in Methanol gelöst und eine Kalibrierkurve für den Bereich 0 bis 12 mg/l erstellt. Der Messbereich der Ligninmenge wurde durch Vorversuche ermittelt, in denen Werte ab 15 mg/l Lignin eine Lichtabsorption in dem Maße bewirken, dass die Messungen nicht mehr reproduzierbar waren. Aufgrund anderer Lösungseigenschaften des Standardlignins konnte im Gegensatz zur Arbeit von ADAMIETZ (1997) keine vollständige Lösung des Standardlignins in alkalisch-wässrigem Medium, sondern nur in methanolisch-wässrigem Medium erreicht werden. Zur Ligninbestimmung wurde die Wellenlänge von $\lambda=281$ nm gewählt, bei der Fichtenlignin sein Absorptionsmaximum aufweist, da die nach den DEV üblicherweise für den Aromatenbereich eingesetzte Wellenlänge von $\lambda = 254$ nm nicht im Bereich des Absorptionsmaximums von Lignin

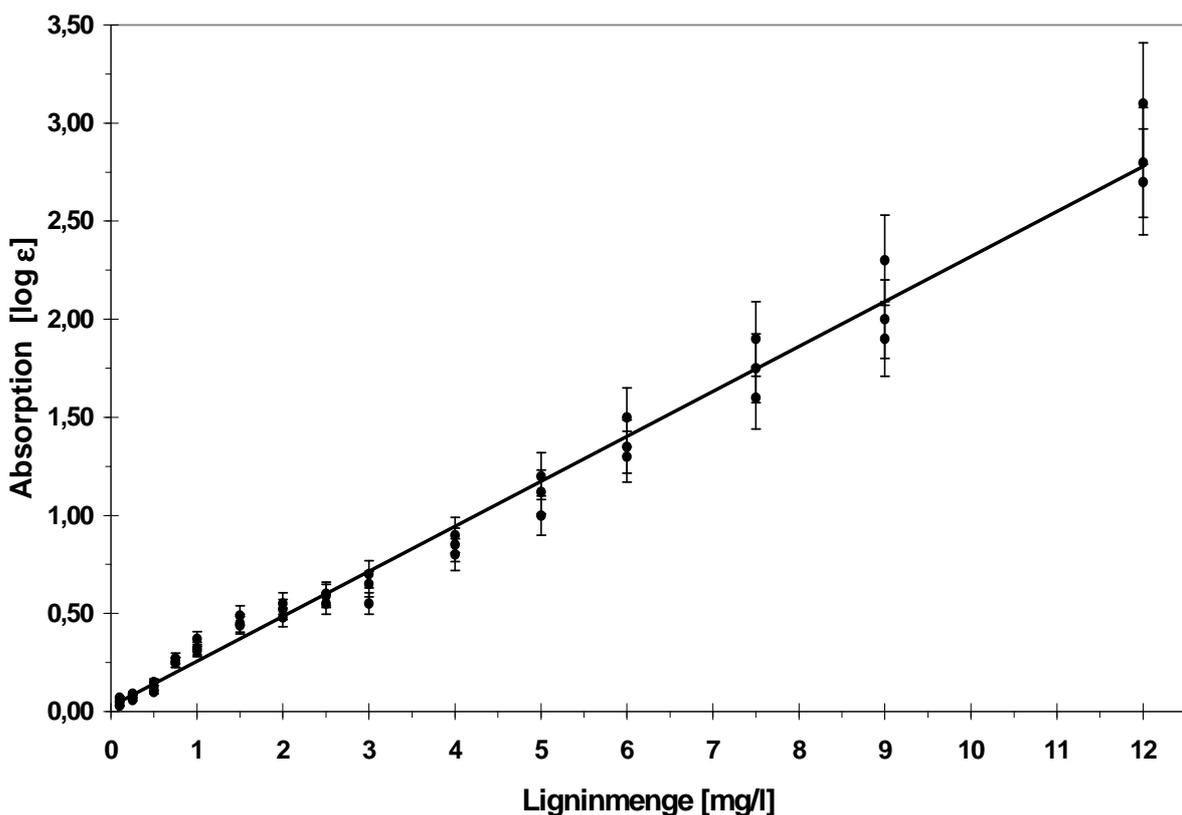


Abb. 5.5.1: Kalibriergerade zur Bestimmung der Ligninmenge in Abhängigkeit von der Absorption bei einer Wellenlänge von $\lambda = 281$ nm in einem linearen Bereich von 0 bis 12 mg/l Lignin. Die Kalibriergerade weist zu den Messpunkten ein Bestimmtheitsmaß von 0,9850 und eine Korrelation von 0,9924 auf. Der Messfehler beträgt ± 10 %.

lag. Die Wellenlänge wurde mit $\lambda = 281$ nm bestimmt, da hier Fichtenlignin sein Absorptionsmaximum aufwies. Die Kalibrierkurve für reines, in einer methanolisch-wässrigen Mischung gelösten Fichtenlignins bei $\lambda = 281$ nm findet sich in *Abbildung 5.5.1* wieder.

Hierbei zeigte sich, dass im erwarteten Messbereich eine lineare Beziehung zwischen Absorption und Ligninkonzentration bestand. Auf Basis dieser Beziehung wurden die quantitativen Ligningehalte in reellen verdünnten Proben bestimmt. Zu beachten war dabei, dass die Strahlung eine hohe Energiedichte aufweist und dadurch photochemische Reaktionen in Gang setzen kann. Dies konnte man anhand von Proben zeigen, die mehrmals hintereinander bestrahlt wurden.

5.5.2 Einfluss der Bestrahlungsdauer

Um den Einfluss der Bestrahlung von Lignin im Bereich seines Absorptionsmaximums auf die Ergebnisse zu bestimmen, wurden von einer Lösung mit 8 mg/l Standardlignin in einem Wellenlängenbereich von 270 bis 290 nm mehrere Spektren erstellt. In *Abbildung 5.5.2* wurden die bei wiederholter Messung der selben Probe sich verändernden Absorptionsintensitäten in Abhängigkeit von der Wellenlänge dargestellt. Deutlich wird eine Abnahme der Absorption von der ersten zur sechsten Messung ersichtlich.

Berechnet man aus der Absorption wiederum die Ligninmenge zurück, so ergibt sich von der ersten zur sechsten Messung eine theoretische Abnahme der Ligninmenge von 7,94 mg/l auf 7,49 mg/l entsprechend einer prozentualen Abweichung von 6 %. Dieser Fehler addierte sich zur bestehenden Messungengenauigkeit von 10 %. Bei mehrfacher oder längerer Bestrahlung der Probe traten unkalkulierbare Abweichungen auf, die auf photochemische Bindungsbrüche oder Oxidationsvorgänge hinwiesen (CASTELLAN ET AL., 1991; SCHMIDT ET AL., 1991).

Dementsprechend konnte eine Mehrfachbestimmung einer Probe mit der UV/VIS-Methode nicht durchgeführt werden. Um dennoch verlässliche Ergebnisse zu erhalten, mussten mehrere Proben aus der gleichen Probennahme nach dieser Methode untersucht werden. Eine besonders gute Reproduzierbarkeit erreichte man durch den Einsatz von Durchlaufküvetten, bei denen die Probe durch Volumen-

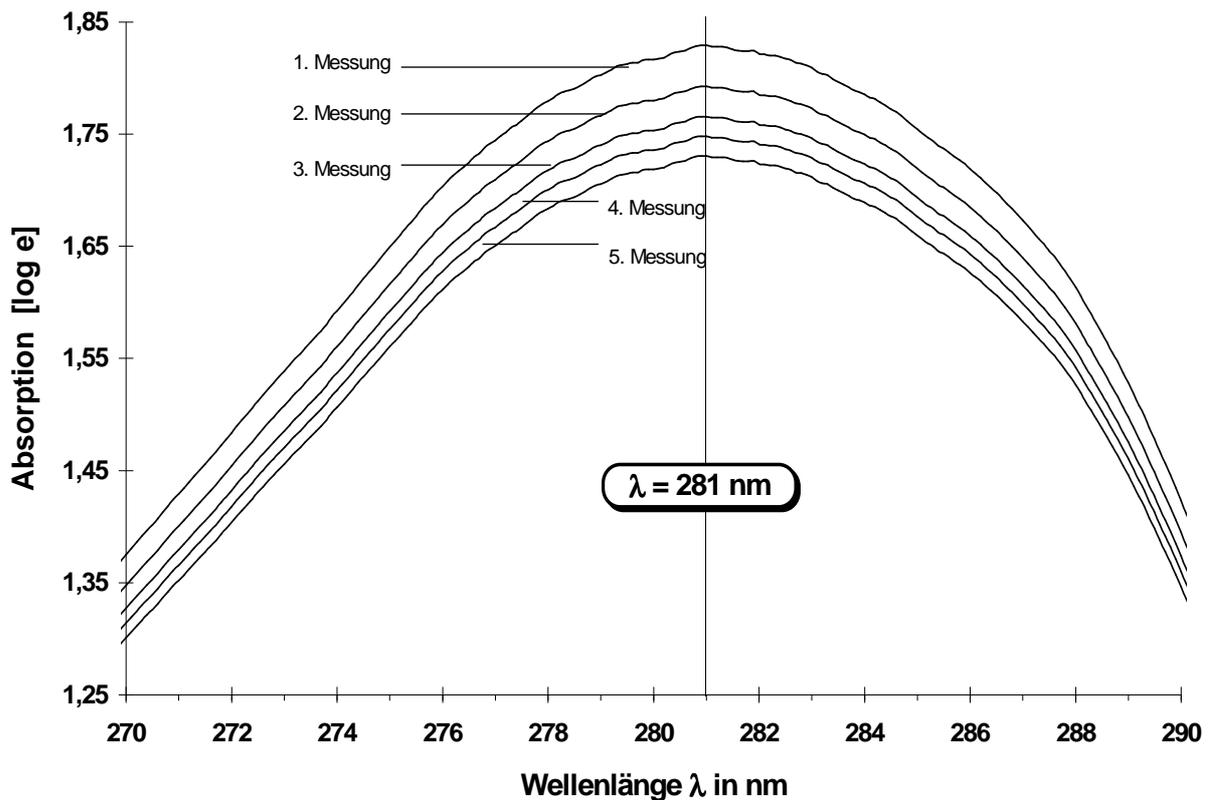


Abb. 5.5.2: 5 Absorptionsintensitäten einer wässrigen Lösung mit 8 mg/l Fichtenlignin bei Mehrfachmessung (Bestrahlungsdauer jeweils 20 s) einer Probe in Abhängigkeit von der Wellenlänge.

austausch ersetzt wurde, ohne dass ein möglicher leicht veränderter Abstand oder eventuelle Kratzer an bestimmten Stellen der Küvette zu Einzelabweichungen führen konnten.

Durch die hohe Energiedichte der Strahlung können auch Reaktionen ausgelöst werden, die in der Folge Einfluss auf das Lignin haben. In realen Abwasserproben der Papierfabrik konnten aus dem Bleichprozess stammende Wasserstoffperoxidkonzentrationen von bis zu 5 mg/l nachgewiesen werden (KRIEBITZSCH, 1998). Wasserstoffperoxid hat sein Absorptionsmaximum in einem ähnlichen Wellenlängenbereich wie Lignin. Wasserstoffperoxid zerfällt bei dieser hochenergetischen Bestrahlung allerdings unter der Bildung reaktiver Radikale, die im Abwasser enthaltene Stoffe oxidieren. Daher birgt diese Methode die Gefahr, Lignin direkt oder indirekt durch die UV-Strahlung zu spalten oder zu modifizieren (SCHECK UND FRIMMEL, 1995). Bei der Anwendung dieser Methode sollte da-

her auf möglichst kurze Bestrahlzeiten und die Abwesenheit hochreaktiver Substanzen, die bei Bestrahlung zu einer chemischen Reaktion führen können, geachtet werden bzw. gegebenenfalls diese Substanzen durch geeignete Maßnahmen entfernt (Fällung) oder zerstört werden (Katalysator).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Bestimmung von Lignin bei einer Wellenlänge von $\lambda = 281$ nm eine schnelle und kostengünstige Möglichkeit darstellte Lignin zu quantifizieren, sofern die Menge der Störstoffe bzw. reaktiver Photooxidantien vernachlässigbar blieb.

Voraussetzung für alle Messungen der UV/VIS-Methode war, dass das Lignin gelöst vorlag. Feste bzw. unlösliche Proben konnten nur mit der Py-GC/MS erfasst werden. Als nachteilig erwies sich bei der UV/VIS-Spektroskopie auch die geringe Spezifität der Messmethode, wodurch in Proben Moleküle mit ähnlichen Adsorptionseigenschaften wie die des Lignins in die Quantifizierung mit einfließen. Dadurch war es unmöglich, Lignin in einem biologischen Reinigungssystem vollständig mittels UV/VIS-Spektroskopie zu quantifizieren und damit zu bilanzieren. Bei der Py-GC/MS hingegen gaben die Ergebnisse tatsächlich die Lignin-gehalte wieder.

5.6 Bestimmung der Ligningehalte in realen Proben

Die entwickelte Methode zur Quantifizierung von Lignin in Abwässern und Belebtschlamm mit Hilfe der Py-GC/MS sollte auf reale Proben angewandt werden. Parallel wurden mit der UV/VIS-Spektroskopie für flüssige Proben Messungen durchgeführt

Da die Abwasserzusammensetzung vor der biologischen Reinigung (Zulauf) anders als nach dieser ist (Ablauf), werden die Proben getrennt betrachtet und die Methoden mit ihren Fehlerquellen jeweils auf diese Abwassertypen bezogen verglichen. Die Analyse des Belebtschlammes ist mittels UV/VIS-Spektroskopie aufgrund der Beschaffenheit als Feststoff nicht möglich.

5.6.1 Zuläufe

Bei den drei untersuchten SBR-Laborreaktoren wurde jeweils der Ligningehalt des abfiltrierten Zulaufs mittels Py-GC/MS und UV/VIS-Spektroskopie untersucht. Damit vorhandene Harzsäuren und eventuell vorhandene Carbonsäuren im Ligninmolekül der GC-Säule nicht schaden konnten bzw. die Flüchtigkeit dieser Substanzen gewährleistet war, wurde bei der Py-GC/MS TMSH als Methylierungsmittel eingesetzt.

Da der Betrieb der Reaktoren nicht immer parallel durchgeführt werden konnte und über den Versuchszeitraum mehrere Chargen von realem Abwasser verwendet wurden, musste für jeden zu einem bestimmten Reaktor und Abwassercharge zugehörigen Zulauf der Ligningehalt bestimmt werden. Die mit den beiden Methoden ermittelten Ergebnisse finden sich in *Tabelle 5.6.1*. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist in dieser Tabelle darüber hinaus der mittlere CSB-Gehalt mit Standardabweichungen angegeben.

Auffallend ist, dass bei allen Zuläufen mittels UV/VIS-Spektroskopie 15 bis 20 % höhere Ligninwerte als mittels Py-GC/MS ermittelt wurden. Aufgrund vorangegangener Einzelstoffanalysen (SCHIEGL, 1994) kann dies damit begründet werden, dass in den Proben vorkommende Harzsäuren und Phthalate aufgrund ihrer

Tab. 5.6.1: Bestimmung des Ligningehaltes mit Standardabweichung in den Zulaufen dreier SBR (verschiedene Schlammalter) mittels Py-GC/MS und UV/VIS. Als Vergleich wird der gelöste Gesamt-CSB der filtrierten Proben mit Standardabweichungen angegeben.

Messmethode	SBR I (10 Tage)	SBR II (20 Tage)	SBR III (30 Tage)
Py-GC/MS	13,2 ± 1,3 mg/l	12,9 ± 1,4 mg/l	13,6 ± 1,4 mg/l
UV/VIS	15,7 ± 3,8 mg/l	14,5 ± 3,5 mg/l	15,3 ± 3,9 mg/l
CSB_{gesamt}	485 ± 80 mg/l	470 ± 75 mg/l	510 ± 90 mg/l

strukturellen Ähnlichkeiten ebenfalls bei einer Wellenlänge von $\lambda = 281$ nm einen Teil des Lichtes absorbieren und damit einen höheren Ligningehalt vortäuschen.

Ferner fielen die deutlich größeren Standardabweichungen bei Messungen mit UV/VIS auf. Auch dies dürfte mit Störstoffen zusammenhängen, wie zum Beispiel dem Wasserstoffperoxid.

Der Einfluss des Wasserstoffperoxids und der UV-Strahlung auf den Zulauf wurde bereits im BMBF-Abschlußbericht (BMBF 02-WA9572/8, 1998) beschrieben. Denn durch diese Abwasserbehandlung wird Lignin teilweise gespalten und oxidiert. Es konnte festgestellt werden, dass bei einer Wasserstoffperoxidkonzentration bis zu 10 mg/l ohne Bestrahlung keine Änderung des CSB-Wertes auftritt. Erst bei Werten über 20 mg/l war die Oxidationswirkung ohne Einwirkung zusätzlicher energiereicher Strahlung ausreichend, um nachfolgend eine signifikant verbesserte Bioabbaubarkeit zu gewährleisten.

Zum einen lässt die Oxidation durch Radikale eine veränderte Bioverfügbarkeit von persistenten Verbindungen wie Ligninen erwarten. Zum anderen können biotoxische bzw. inhibierend wirkende Verbindungen durch Oxidation gerade diese Eigenschaften verlieren und damit eine verbesserte Abwasserreinigung ermöglichen (BOWERS ET AL., 1989, N.N., 1997). In den vom BMBF veranlassten Untersuchungen wurde durch Aktivierung des Wasserstoffperoxids mittels UV-Bestrahlung die Peroxidkonzentration bis unter die Nachweisgrenze verringert. Die dabei freigesetzten OH-Radikale verändern die Charakteristik des Zulaufs.

Dies wurde anhand von CSB und BSB₅ ausgehend von einem identischen Zulauf mit ursprünglich 440 mg/l CSB und 83 mg/l BSB₅ nachgewiesen, da der CSB um 10 % sinkt, der BSB₅ hingegen um 30 % ansteigt. In Hinblick auf die Veränderung der beiden Summenparameter kommt der oxidativen Spaltung von Etherbindungen in den Ligninmolekülen große Bedeutung zu. Durch die Entstehung von niedermolekularen Alkoholen sowie Carbonsäuren erhöht sich der mittlere Oxidationsgrad des Kohlenstoffs und der Anteil biologisch abbaubarer Verbindungen (SCHIEGL ET AL., 1998). Dies zeigte sich auch in einer Verringerung des Quotienten aus CSB zu BSB₅ und lässt eine verbesserte Ablaufbeschaffenheit nach der biologischen Behandlung erwarten. Der Einfluss von UV/VIS-Strahlung bei der quantitativen Analyse muss unter Berücksichtigung dieser Erkenntnisse mit Vorsicht betrachtet werden.

Bei der Analyse mittels Py-GC/MS konnten keine Störeinflüsse bestimmt werden. Sowohl Salze, als auch Wasserstoffperoxid wurde bereits bei der Probenaufbereitung entfernt. Diese Stoffe konnten daher keinen direkten Einfluss auf die Messergebnisse haben. Indirekte Einflüsse durch bereits vor der Probenaufbereitung oxidierte Ligninmoleküle spielen keine Rolle, da die Methode weitgehend unempfindlich auf Molekülgröße und Oxidationsgrad des Lignins ist.

Aus *Tabelle 5.6.1* lässt sich für den Zulauf eine grobe Abschätzung des Ligningehaltes über den Summenparameter CSB herstellen. Da der Beitrag des Lignins zum CSB im Mittel das 2,75-fache seines Eigengewichtes ist, kann aus den durch Py-GC/MS und UV/VIS erhaltenen Ligninwerte auf den durch das Lignin verursachten CSB-Anteil geschlossen werden. Rein rechnerisch trägt das Lignin im Zulauf mit ca. 10 % zum Gesamt-CSB bei.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl die Py-GC/MS, als auch mit den in *Kapitel 5.5* verdeutlichten Einschränkungen die UV/VIS-Spektroskopie als weitgehend verlässliche Methoden zur Bestimmung des Ligningehaltes in Zulaufen dar. Größere Standardabweichungen und höher bestimmte Ligninwerte bei der UV/VIS-Spektroskopie im Vergleich zur Py-GC/MS-Methode deuten darauf hin, dass hier Störstoffe einen größeren Einfluss als bei der pyrolytischen Methode haben. Aus den hier gewonnenen Ergebnissen ließ sich ein Ligninanteil am gelösten Gesamt-CSB von etwa 10 % ermitteln.

5.6.2 Abläufe

Analog den Zuläufen werden Bestimmungen des Ligningehaltes mittels Py-GC/MS, als auch mittels UV/VIS-Spektroskopie an filtrierten Abläufen der drei Reaktoren durchgeführt. Damit vorhandene Harzsäuren und eventuell vorhandene Carbonsäuren im Ligninmolekül der GC-Säule nicht schaden bzw. die Flüchtigkeit dieser Substanzen gewährleistet ist, wird bei der Py-GC/MS als Methylierungsmittel TMSH eingesetzt. Als Vergleichsgröße wird der CSB des Ablaufes bestimmt. Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind in *Tabelle 5.6.2* wiedergegeben.

Tab. 5.6.2: *Bestimmung des Ligningehaltes mit Standardabweichung in den Abläufen dreier SBR mittels Py-GC/MS und UV/VIS in Abhängigkeit vom mittleren Schlammalter (in Klammern angegeben). Als Vergleich wird der Gesamt-CSB der filtrierten Proben mit Standardabweichungen angegeben.*

Messmethode	SBR I (10 Tage)	SBR II (20 Tage)	SBR III (30 Tage)
Py-GC/MS	7,4 ± 1,9 mg/l	5,2 ± 1,4 mg/l	5,2 ± 1,3 mg/l
UV/VIS	6,5 ± 1,8 mg/l	4,4 ± 1,2 mg/l	4,7 ± 1,0 mg/l
CSB _{gesamt}	115 ± 12 mg/l	95 ± 10 mg/l	90 ± 12 mg/l

Im Gegensatz zu den Ergebnissen bei den Zuläufen fällt bei diesen Messergebnissen ein deutlicher Unterschied der Ligningehalte in Abhängigkeit von der Messmethode auf. Die Methode Py-GC/MS liefert zwischen 10 und 20 % höhere Ligninwerte, als mit der UV/VIS-Methode bestimmt werden.

Die in *Abbildung 5.6.1* im Vergleich zur Py-GC/MS-Messung durchweg niedrigeren Ligninwerte bei den UV/VIS-Messungen können mehrere Gründe haben. Zum einen darf angenommen werden, dass ein Großteil der Störstoffe aus dem Zulauf fehlt, da diese abgebaut oder adsorbiert wurden. Zum anderen ist davon auszugehen, dass durch Biozönose das Lignin zum Teil verändert wurde und damit beispielsweise chromophore Gruppen eliminiert wurden. Daraus resultiert eine geringere Lichtabsorption, wodurch sich ein geringerer Ligninwert bestimmt. Andererseits werden mit der Methode Py-GC/MS nur Grundkörper, jedoch nicht das

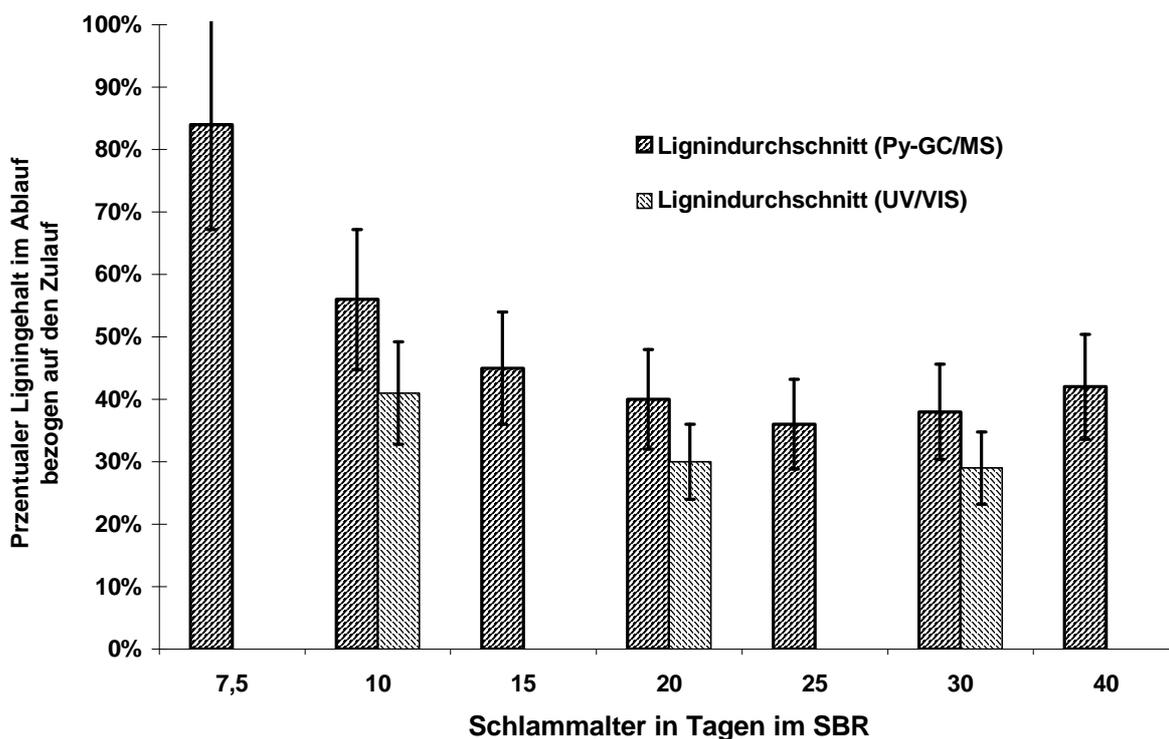


Abb. 5.6.1: Mit Py-GC/MS und UV/VIS bestimmte, auf den Zulauf normierte, Restmenge an Lignin in den Abläufen von SBR-Reaktoren unterschiedlicher Schlammalter.

Makromolekül und dessen Eigenschaften betrachtet. Es ist anzunehmen, dass mit dieser Methode Verfälschungen auszuschließen sind, während die UV/VIS-Spektroskopie auf den frischen Fichtenligninstandard abgestimmt ist, nicht jedoch auf biologisch oder chemisch verändertes Fichtenlignin. Gleichzeitig dürften auch ein Reihe von Störstoffen, die im Zulauf noch für zu hohe Ergebnisse sorgen durch die biologische Reinigung aus dem System entfernt worden sein. Trotz der im Vergleich zur Py-GC/MS-Analyse zu niedrigen Ligninwerte, eignet sich die UV/VIS-Spektroskopie durchaus für die Bestimmung des Ligningehaltes in den Kläranlagenabläufen. Die bei beiden Methoden ähnlich großen Standardabweichungen führen dazu beide Methoden als ähnlich verlässlich einzustufen.

Mit Hilfe dieser Methoden lassen sich auch Rückschlüsse auf die Reinigungsleistungen der SBR-Reaktoren bei verschiedenen Schlammaltern ziehen. Neben den in *Tabelle 5.6.2* dargestellten Werten wurden auch noch weitere Ligningehalte in Abläufen bei anderen Schlammaltern mittels Py-GC/MS, nicht jedoch mit UV/VIS-Spektroskopie untersucht. Um diese Ergebnisse vergleichbar zu

machen, wurden die Ligningehalte der Abläufe in Prozent normiert auf den entsprechenden Zulaufwert angegeben. Diese Ergebnisse finden sich in *Abbildung 5.6.1* wieder.

Aus der *Abbildung 5.6.1* geht hervor, dass sowohl mittels UV/VIS-Spektroskopie, als auch mittels Py-GC/MS ein Minimum an Lignin im Ablauf bei einem Schlammalter zwischen 20 und 30 Tagen zu finden war. Bei höheren und niedrigeren Schlammaltern traten höhere Ligninwerte im Ablauf auf. Aus diesen Ergebnissen konnte hinsichtlich der Eliminationsleistung von Lignin ein optimales Schlammalter von etwa 25 Tagen angegeben werden. Bei der Elimination von Lignin aus dem Abwasser handelte es sich um keine Abbaureaktion. Lignin wurde durch Adsorption an Belebtschlamm dem System gelöster Stoffe entzogen wird. Die in *Abbildung 5.6.1* dargestellten Ligninrestgehalte sind dahingehend zu erklären, dass mit zunehmendem Schlammalter der Gesamtfeststoffgehalt in den Reaktoren anstieg. Steht der Belebtschlamm als Adsorbens zur Verfügung, so sind mit zunehmendem Schlammalter über den steigenden Feststoffanteil größere Mengen Lignin adsorbierbar. Ab einem Schlammalter von etwa 20 bis 30 Tagen stieg der Feststoffgehalt nur noch gering an. Es war daher davon auszugehen, dass bei einem Schlammalter von etwa 25 Tagen das Optimum an der pro Zyklus adsorbierbaren Menge an Lignin vorliegt. Bei höheren Schlammaltern war ein Großteil der ligninadsorbierenden Flächen bereits mit Lignin belegt, die Menge an neu adsorbierbarem Lignin sank und damit stieg der Ligningehalt in den Abläufen wieder an. Um diese Vorstellung zu untermauern, wurde im folgenden der Belebtschlamm auf seinen Ligningehalt untersucht (siehe *Kap. 5.6.3*).

Zusammenzufassen ist, dass sowohl die Py-GC/MS, als auch die UV/VIS-Spektroskopie bei der Bestimmung des Ligningehaltes aus wässrigem Medium reproduzierbare Werte lieferte. Zweitere Methode lieferte etwa 10 bis 20 % niedrigere Werte als die pyrolytische Methode. Dies begründet sich in einem niedrigeren Störstoffanteil im Ablauf im Vergleich zum Zulauf, der während der Reinigung biologisch entfernt wurde. Bei der biologischen Reinigung auftretende Strukturveränderung des Ligninmoleküls im Vergleich zum eingesetzten Standardlignin sind ein weiterer Grund für die niedrigeren Ligninwerte. Die mit beiden Methoden bei verschiedenen Schlammaltern bestimmten Ligninwerte zeigten, dass der SBR bei einem Schlammalter von rund 25 Tagen die niedrigsten Ligninablaufwerte aufwies.

5.6.3 Ligningehalte

Die Methode der Py-GC/MS eignete sich auch zu Bestimmung des Ligningehaltes von Feststoffen. Bei den hier untersuchten Reinigungssystemen war der Belebtschlamm ein Feststoff, der gute Eigenschaften zur Adsorption verschiedenster Wasserinhaltsstoffe aufwies. Durch die Untersuchung von Zulauf, Ablauf und Belebtschlamm eröffnete sich die Möglichkeit Aussagen über den Verbleib oder den Abbau des Lignins treffen zu können. Dazu wurden folgende Untersuchungen durchgeführt, bei denen Schlämme verschiedenen Schlammalters pyrolysiert und auf den Ligningehalt hin untersucht wurden.

In *Tabelle 5.6.3* sind die quantitativen Ergebnisse der Ligninbestimmung aus der Pyrolyse von Belebtschlamm bei 973 K bei verschiedenen Schlammaltern dargestellt. Gleichzeitig ist der Gesamtfeststoffgehalt (TS) pro Volumeneinheit angegeben. Der Feststoffgehalt ist insbesondere vor dem Hintergrund interessant, welchen Anteil adsorbiertes Lignin am Gesamtfeststoffgehalt hat, da das Lignin durch Adsorption an den Schlamm gebunden war. Hierdurch konnte der Anteil von Lignin, bzw. die relative Adsorptionskapazität des Belebtschlammes berechnet werden.

Tab. 5.6.3: *Bestimmung des Ligningehaltes mit Standardabweichung in den Belebtschlämmen mittels Py-GC/MS in Abhängigkeit vom mittleren Schlammalter (in Klammern angegeben). Die während des Waschprozesses desorbierte Ligninmenge von etwa 8 % ist hier additiv berücksichtigt. Zur besseren Übersicht ist der Feststoffgehalt TS der Reaktoren ebenfalls angegeben.*

Messmethode	SBR I (10 Tage)	SBR II (20 Tage)	SBR III (30 Tage)
Lignin mit Py-GC/MS	190 ± 20 mg/g TS	275 ± 25 mg/g TS	295 ± 25 mg/g TS
TS _{gesamt}	1,30 ± 0,10 g/l	1,95 ± 0,13 g/l	2,05 ± 0,15 g/l

Allerdings ergab sich bei der Berechnung der relativen Adsorptionskapazität das Problem, dass die Größe der Ligninmoleküle hierbei eine Rolle spielte. Je kleiner die Ligninmoleküle waren, desto mehr dieser Moleküle konnten zwar adsorbiert werden. Gleichzeitig sank damit aber auch die absolut adsorbierte Ligningesamtmasse (BMBF 02-WA9572/8, 1998).

Aus den Ergebnissen ließ sich erkennen, dass bei einem Schlammalter von 10 Tagen deutlich weniger adsorbiertes Lignin pro Gramm Feststoff enthalten ist, als bei einem Schlammalter von 20 Tagen. Der Unterschied zwischen Schlamm eines mittleren Alters von 20 und 30 Tagen war dagegen deutlich geringer. Zu bemerken war, dass der absolute Gehalt an Feststoffen (TS) nicht außer Acht gelassen werden durfte, da der TS die Gesamtaufnahme an Lignin über die zur Verfügung stehende Adsorptionsfläche bzw. Schlammmasse limitierte. Geht man davon aus, dass ein Großteil des Lignins durch adsorptive Prozesse aus dem Abwasser entfernt wurde, so findet man ein Optimum für die Lignineliminierung (Lignin_{el}), indem man das Produkt aus der Menge des im TS enthaltenen Lignins (Lignin_{ads}) mit dem TS_{gesamt} multipliziert und dieses Produkt durch das mittlere Schlammalter in Tagen ($t_{Schlammalter}$) teilt. Hierdurch erhielt man die mittlere, pro Tag und pro Liter adsorptiv entfernte Ligninmenge. Diese Formel ist in *Formel 5.6.1* dargestellt.

Formel 5.6.1: Berechnung der Lignineliminierungsrate (Lignin_{el}) in mg/ pro Liter und Tag aus dem Gesamtfeststoffgehalt (TS_{gesamt}), dem mittleren Schlammalter in Tagen ($t_{Schlammalter}$) und der am TS_{gesamt} adsorbierten Ligninmenge (Lignin_{ads}).

$$\text{Lignin}_{el} = \frac{\text{TS}_{gesamt}}{t_{Schlammalter}} \times [\text{Lignin}_{ads}]$$

Aus dieser Formel errechneten sich die nachfolgenden Lignineliminierungsmengen. Die genauen zur Berechnung herangezogenen Werte sind in *Tabelle 5.6.4* angegeben.

Tab. 5.6.4: Die auf Basis von *Tabelle 5.6.3* und *Formel 5.6.1* ermittelten Ligninmengen in mg, die durch Adsorption pro Tag und l Reaktorinhalt in Abhängigkeit vom Schlammalter (in Klammern angegeben) eliminiert wurden.

Messmethode	SBR I (10 Tage)	SBR II (20 Tage)	SBR III (30 Tage)
TS_{gesamt} [g/l]	1,30 ± 0,10	1,95 ± 0,13	2,05 ± 0,15
Lignin_{ads} [mg/gTS]	190 ± 20	275 ± 25	295 ± 25
Lignin_{el} [mg/(l*d)]	24,7 ± 4,7	26,8 ± 5,9	20,2 ± 3,2

Bei einem Schlammalter von 10 Tagen ergab sich aus *Formel 5.6.1* ein Wert von 24,7 mg/l pro Tag, bei 20 Tagen ein Wert von 26,8 mg/l und bei 30 Tagen von 20,2 mg/l. Bei diesen Messungen wurde deutlich, dass bei den untersuchten Schlammaltern ein Schlammalter von rund 20 Tagen die größte Ligninelimination aus dem Abwasser durch Adsorption bewirkte. Die Relationen werden in *Abbildung 5.6.2* noch einmal verdeutlicht. Dort ist der TS ohne dem adsorbierten Lignin aufsummiert mit dem am TS adsorbierten Lignin dargestellt. Gleichzeitig ist die pro Tag und Volumeneinheit adsorptiv eliminierte Ligninmenge in mg in geglätteter Form auf der Sekundärachse aufgetragen.

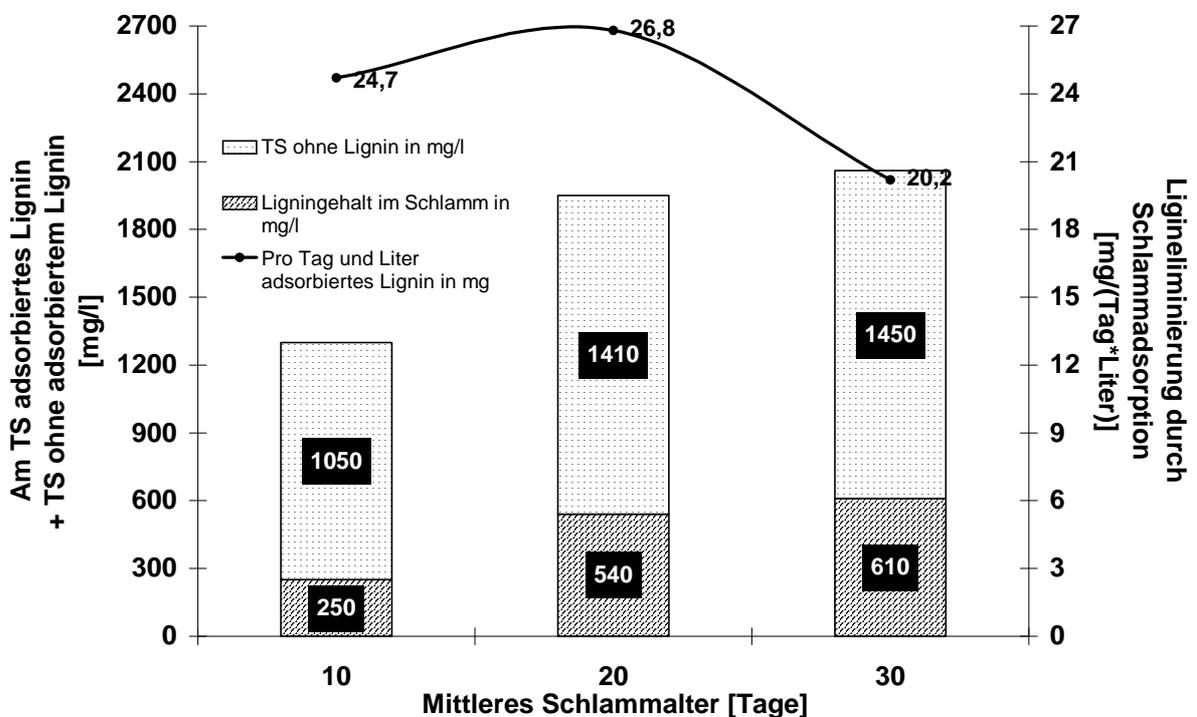


Abb. 5.6.2: Auf der Primärachse ist die Feststoffmenge bestehend aus TS ohne adsorbiertem Lignin und dem am TS adsorbierten Lignin in mg/l in Abhängigkeit vom Schlammalter dargestellt. Die Sekundärachse gibt die tägliche durch Adsorption verursachte Lignineliminierungsrate mg/(l *Tag) und in Abhängigkeit vom Schlammalter wieder.

Das Phänomen, dass Schlamm eine so große Menge an Lignin adsorbieren kann, könnte in Zukunft zur Lignineleminierung genutzt werden. Ähnliche adsorptive Eigenschaften konnten bereits an, dem Lignin strukturell ähnlich aufgebauten,

Huminstoffen beobachtet werden. AMIN UND JAYSON (1996) konnten nachweisen, dass mit bestimmten Lehmarten und deren ionischen Inhaltsstoffen Huminstoffe aus dem Wasser eliminiert werden können.

Eine andere Möglichkeit zur Lignineliminierung besteht in der Fällung von Lignin aus Papierfabriksabwässern bei verschiedenen pH-Werten und dem Einsatz von Al_2O_3 . Dies wurde im Labor von CHERNOBEREZHSKII UND DYAGILEVA (1994) untersucht. Insbesondere bei niedrigen pH-Werten kommt es zu einer Koagulation des Lignins. Problem war allerdings, dass in der Realität die erforderlichen pH-Werte die Biomasse in der Kläranlage schädigen würden. Der Eintrag von anorganischen Stoffen in die Kläranlage war ebenfalls nicht erwünscht, erhöhte sich dadurch doch der zu entsorgende Schlackenanteil nach der Verbrennung des Klärschlammes.

Zusammenfassend ergibt sich aus den vorliegenden Py-GC/MS-Messungen, dass die Pyrolyse von Belebtschlamm problemlos zur Bestimmung von Lignin eingesetzt werden kann. Parallel zu den Ergebnissen aus der Bestimmung der Ligninwerte in den Abläufen bei verschiedenen Schlammaltern zeigte sich, dass die maximale pro Zyklus und Abwasservolumeneinheit entfernte Ligninmenge bei SBR-Reaktoren mit einem Schlammalter von rund 20 Tagen erreicht wurde. Damit passen die Ergebnisse aus der Ablaufanalyse und der Schlammanalyse bezüglich der Lignineliminierung gut zusammen. Bei der Abwasseranalyse weisen die Abläufe mit einem mittleren Schlammalter von 25 Tagen (s. *Abb. 5.6.1*) die niedrigsten Ligningehalte auf. Für dieses Schlammalter sind keine Daten zur Ligninadsorption verfügbar. Es kann davon ausgegangen werden, dass das optimale Schlammalter hinsichtlich der Lignineliminierung aus dem Abwasser bei rund 25 Tage liegt.

5.6.4 Bewertung der Messungen an realen Proben

Ausgehend von den Messergebnissen zeigte sich, dass mittels der UV/VIS-Spektroskopie im Zulauf 15 bis 20 % höhere Ligninwerte als bei der Py-GC/MS-Methode bestimmt wurden, während im Ablauf mit dieser Methode 20 bis 25 % niedrigere Werte als mit Py-GC/MS erhalten wurden. Hierin zeigte sich ein

entscheidender Vorteil der Py-GC/MS Analytik, da im Gegensatz zur UV/VIS-Spektroskopie spezifische Moleküle zur Messung herangezogen wurden, die darüber hinaus gegenüber Oxidation sehr stabil waren. Bei der UV/VIS-Spektroskopie wurde ein ganzes Molekülspektrum mit dessen Eigenschaften, das im Bereich des Lignins Licht absorbiert, bestimmt. Daraus resultierend waren relativ große Fehler bei Stoffgemengen zu erwarten. Da sich spezielle Eigenschaften innerhalb des Stoffgemenges bei der biologischen Reinigung durch Oxidation oder durch Substitution, Elimination oder Addition bestimmter funktioneller Gruppen verändern konnten, änderte dies gleichzeitig auch die Absorption des Stoffgemenges, ohne dass die Stoffe abgebaut oder gespalten wurden. Im Gegensatz dazu stand die Bestimmung eines weitgehend inerten Grundkörpers des Lignins mit der Py-GC/MS-Methode. Da der Grundkörper nicht abhängig von der Größe des gesamten Makromoleküls, von chromophoren Gruppen oder zwischen den Grundkörpern sitzenden funktionellen Gruppen war, eignete sich diese Methode hervorragend zur Bilanzierung der Ligninmenge, ohne eine Aussage über die Größe bzw. Größenverteilung und den Oxidationsgrad von Lignin anstellen zu müssen.

5.6.5 Verbleib des Lignins

Eine Verifizierung der Methode ließ sich über eine Bilanzierung auf Basis der Ergebnisse aus der Py-GC/MS anstellen, sofern Lignin während der aerob-biologischen Behandlung nicht abgebaut wurde. Da Lignin als schwer biologisch abbaubar gilt (HEINZ ET AL., 1992), war auch hier anzunehmen, dass kein bzw. nur sehr geringe Mengen an Lignin abgebaut wurde. In *Tabelle 5.6.5* sind die auf einen Zyklus pro Liter standardisierten Ligninströme dargestellt. Die Aufnahme von Lignin durch den Schlamm wurde dabei bereits über das Schlammalter und den Gesamtfeststoffgehalt aus dem Gesamtligningehalt des Schlammes berechnet.

Aus *Tabelle 5.6.5* ergab sich eine Diskrepanz zwischen dem Ligninsollwert (Differenz) im Ablauf und dem wahren Ligningehalt im Abwasser dahingehend, dass sich im Ablauf real immer mehr Lignin als berechnet fand. Dies war auf techni-

Tab. 5.6.5: Bestimmung der gelösten Ligninmengen in Zulauf und Ablauf, sowie Menge pro Zyklus durch an Schlamm adsorbiertes Lignin in mg/l. Die Ligninwerte des Ablaufs sollten mit der Differenz aus den Ligninwerten von Ablauf und Schlammadsorption übereinstimmen.

Probe	SBR I (10 Tage)	SBR II (20 Tage)	SBR III (30 Tage)
Zulauf	13,2 ± 1,3 mg/l	12,9 ± 1,4 mg/l	13,6 ± 1,4 mg/l
Schlamm	8,3 ± 0,8 mg/l	8,9 ± 0,9 mg/l	6,7 ± 0,7 mg/l
Differenz	4,9 ± 1,1 mg/l	4,0 ± 1,1 mg/l	6,9 ± 1,1 mg/l
Ablauf	5,6 ± 1,9 mg/l	5,1 ± 2,2 mg/l	6,3 ± 2,3 mg/l

sche Gründe bei der Probenahme zurückzuführen. Der Schlamm wurde den Anlagen während der Belüftungsphase entnommen, da der Schlamm zu dieser Zeit homogen im Reaktor verteilt war. Die Abläufe wurden dagegen nach der Sedimentationsphase des Schlammes entnommen.

Mehrfach konnte beobachtet werden, dass während der Sedimentationsphase der CSB in der Lösung anstieg. Dies war auf Desorption von an den Schlamm adsorbierten Substanzen während der Sedimentationsphase im SBR zurückzuführen. HUBER (1995) bewies diesen Sachverhalt anhand des Ligninbruchstücks Eugenol unter Verwendung der Festphasenmikroextraktions-Technik (SPME). Bei Einsatz dieses Ligninfragmentes stieg der CSB während der 90 minütigen Sedimentationsphase um rund 10 % an. Die Desorption erklärte auch, warum neben der erwarteten Ligninmenge eine zusätzliche Menge an Lignin im Ablauf zu finden war, obwohl der Schlamm verglichen zur maximal möglichen adsorbierten Menge von 30 % nach SCHIEGL ET AL. (1997B) lediglich etwa 15 Gewichtsprozent Lignin adsorbiert hatte.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass bei der Bestimmung des Verbleibs von Lignin mittels Py-GC/MS eine Diskrepanz zwischen den berechneten Ligninwerten im Ablauf und den tatsächlich bestimmten Ligninwerten auftrat. Diese Diskrepanz hatte die Ursache nicht in der Messmethode, sondern in den Probenahmezeitpunkten. Rechnet man den Effekt durch Desorption des Lignins vom Schlamm während der Sedimentationsphase mit ein, so zeigt sich, dass die Werte innerhalb

ihrer Schwankungsbreite übereinstimmen. Damit konnte gezeigt werden, dass das Lignin bei der aerob-biologischen Abwasserreinigung im SBR keinem nachweisbaren Abbau unterlag. Die Entfernung des Lignins aus dem Abwasser findet daher durch Fixierung in Form einer Adsorption am Belebtschlamm statt.

Aus den Messungen an realen Proben zeigte sich, dass die Methode der Py-GC/MS hervorragend geeignet war Lignin in wässrigen und festen Proben zu quantifizieren. Da Lignin in festen und flüssigen Proben mit ein und derselben Methode quantifiziert werden konnte, wurden Fehler durch den Einsatz unterschiedlicher Methoden ausgeschlossen. Dies war die Voraussetzung um den Verbleib von Lignin im Abwasser zuverlässig zu klären. Aufgrund der Bestimmung bestimmter aromatischer Bruchstücke bei der Quantifizierung von Lignin war es möglich diese Methode auf andere höhermolekulare Stoffe mit aromatischen Bestandteilen auszudehnen, sofern diese bei der Pyrolyse molkelülspezifische Fragmente zur Quantifizierung ausbildeten.

5.7 Kritische Betrachtung der Quantifizierungsmethoden

Die durchgeführten Messungen an realen Proben mittels UV/VIS-Spektroskopie und Py-GC/MS führten ebenso wie der Aufbau der Methoden zu Erkenntnissen, welche Methoden für genau definierte Messanforderungen in der Praxis vorteilhaft sind und welche weniger sinnvoll erscheinen. Dabei waren insbesondere die einzelnen Schritte von der Probennahme, über die Probenaufbereitung bis hin zum endgültigen Ergebnis jeweils einzeln zu betrachten.

Besonderes Augenmerk wurde dabei neben den auftretenden Fehlerquellen und der damit erreichbaren Genauigkeit, auch auf den Aufwand hinsichtlich Zeit und Material, sowie der erreichbaren Aussagekraft der Ergebnisse gelegt. Der besseren Übersicht wegen, wurden die einzelnen Schritte von der Probennahme bis zu den Analyseergebnissen einzeln behandelt und jeweils vergleichend gegenübergestellt. Die Anwendung der Py-GC/MS zur Bestimmung von Makromolekülen in Belebtschlammern wird nicht behandelt, denn hier war ein Vergleich zur UV/VIS-Spektroskopie unmöglich, da diese Makromoleküle an Feststoffe gebunden waren. Eine Übersicht über die im folgenden diskutierten Ergebnisse liefert *Tabelle 5.7.1a* und *5.7.1 b* in *Kapitel 5.7.6*.

5.7.1 Probennahme

Bei der Probennahme war auf die benötigte Probenmenge zu achten. Während für die UV/VIS-Spektroskopie kleine Probenmengen (50-100 ml) schon für Mehrfachmessungen ausreichend waren, benötigte man für die GC/MS bzw. Py-GC/MS-Analyse für mehrmalige Messungen mindestens 1000 ml Probe, da für diese Methode eine Aufkonzentration der Wasserinhaltsstoffe notwendig war. Diese Probenmengen waren in der Praxis bei Industrieanlagen problemlos erreichbar ohne das System messbar zu beeinflussen. Fehler bei der Probennahme waren weitgehend auszuschließen, solange darauf geachtet wurde, dass das beprobte System eine homogene Zusammensetzung aufwies. Da aus einer einzigen Probennahme für beide Methoden genügend Probenmenge zur Verfügung stand, sind somit die untersuchten Abwässer auch identisch. Dementsprechend waren bei der Probennahme möglicherweise generierte Fehler für beide Proben gleich.

5.7.2 Probenaufbereitung

Die Vorbereitung der Proben zur Analyse erfolgte für beide Analysenmethoden zunächst gleich. Einziger Unterschied war, dass für die UV/VIS-Spektroskopie deutlich geringere Probenmengen aufbereitet werden mussten, was natürlich einen Zeitvorteil in sich barg. Die Proben wurden mit Faltenfilter, Glasfaser- und Mikrofilter von Feststoffen gereinigt.

Für die UV-Analyse musste die Probe in der Regel verdünnt werden. Hierbei konnte ein Verdünnungsfehler auftreten, der jedoch je nach hergestelltem Probenvolumen weniger als 1 % betrug. Gleichzeitig sollte die Probe auf einen pH-Wert von 6 eingestellt werden, da die Absorption der hier untersuchten Proben pH-Wert abhängig war und es bekannt ist, dass Lignin bei niedrigeren pH-Werten koaguliert, teilweise ausfällt (CHERNOBEREZHSKII UND DYAGILEVA, 1994) und damit zum einen bei der Messung nicht erfasst werden kann und zum anderen als Feststoff einen Störstoff darstellt. Der Zeitaufwand für die Probenvorbereitung war mit 30 bis 60 Minuten - je nach Probenvolumen - recht gering. Durch den äußerst geringen Einsatz von anorganischen Chemikalien war diese Methode vergleichsweise umweltfreundlich.

Für die Py-GC/MS Probenvorbereitung mussten 1000 ml der filtrierten Probe über Phenylfestphasen extrahiert werden. Nach dem Trocknen wurde mit 3 x 25 ml Wasser möglicherweise vorhandenes Salz ausgewaschen, das bei der Pyrolyse hätte stören können. Dabei ging gleichzeitig recht konstant bei den verschiedenen Proben 5 % der adsorbierten Probenmenge verloren. Diesen Verlust galt es bei der nachfolgenden Analyse wieder herauszurechnen. Nach der Trocknung und der Desorption mit Methanol, musste die Probe zunächst eingeeengt werden und nachfolgend mit dem internen Standard Hexachlorbenzol versetzt werden. Dabei entstand ein Fehler von ± 5 %.

Damit war die Probe bereit, um auf die Pyrolysewendel aufgebracht oder direkt in das GC/MS-System eingespritzt zu werden. Die Probenaufbereitungsdauer lag je nach Durchflussgeschwindigkeit der Proben durch die Phenylfestphasen bei 12 bis 36 Stunden, der reine Arbeitsaufwand für Personal lag bei etwa 3 Stunden.

Vom Aspekt des Umweltschutzes ist zu bemerken, dass vorwiegend niedermolekulare organische Lösungsmittel, die biologisch sehr rasch abgebaut werden, verwendet wurden. Lediglich der interne Standard Hexachlorbenzol stellte eine Umweltgefährdung dar, die Konzentration in den flüssigen Proben war aber mit 0,64 µg HCB/ml Probenmenge sehr gering. Die reinen Materialkosten der Aufbereitung lagen etwa doppelt so hoch, der Zeitaufwand für das Personal etwa viermal so hoch, wie für die UV/VIS-Analyse.

5.7.3 Probenvorbereitung

Für die Analyse mittels UV/VIS-Spektroskopie mussten die Probe zunächst in Küvetten gefüllt werden. Es wurde darauf geachtet, dass keine Bläschen oder Fingerabdrücke auf das Küvettenglas gelangten, da hierdurch Messfehler hätten entstehen können. Kratzer im Glas könnten ebenfalls eine Fehlerquelle darstellen. In diesem Fall wäre ein anderes Küvettenglas zu verwenden. Der Einsatz unterschiedlicher Küvettengläser könnte bei den Messungen ebenfalls zu Abweichungen führen. Die größte Reproduzierbarkeit erhielt man mit sogenannten Durchlaufküvetten. Hierbei musste nur darauf geachtet werden, dass die Durchlaufzelle zwischen den Messungen ausreichend gereinigt wurde und sich die Probe nicht mit dem Waschwasser vermischte. Die Vorbereitungszeit betrug etwa 5 Minuten. Für die Messvorbereitung entstanden bei beiden Methoden (Küvettenglas oder Durchlaufküvette) keine weiteren Materialkosten.

Für die Vorbereitung zur Py-GC/MS musste die Probe mit einer Mikroliterspritze auf die Wendel aufgetropft werden. Dies geschah in der Regel mit einer 10 µl Spritze, die einen maximalen Fehler von $\pm 5\%$ aufwies. Zwischen den einzelnen Auftragungen der Probenvolumina auf die Pyrolysewendel verdampfte das Lösungsmittel an der Luft. Neben der gerätespezifischen Abweichungen könnten noch Fehler durch den Experimentator in gleicher Größenordnung hinzukommen. Da die Probe allerdings einen internen Standard enthielt, wurden diese Fehler bereits bei Bestimmung der Messwerte wieder ausgeglichen.

Der Zeitaufwand ergab sich aus der maximal aufgetragenen Gesamtmenge an gelöster Probe. Es konnten lediglich 20 µl Probe auf die Wendel aufgebracht werden, danach musste je nach Probenkonsistenz zwischen 5 und 15 Minuten gewartet werden, bis das Lösungsmittel sich verflüchtigt hatte und weitere Probenmenge aufgebracht werden konnten. Der Zeitaufwand hing von der Probenkonsistenz ab und lag zwischen 15 und 60 Minuten. Für die Messvorbereitung entstanden keine weiteren Materialkosten.

5.7.4 Analyse

Bei der UV/VIS-Spektroskopie wurde zur quantitativen Bestimmung von Molekülen die Absorption bei ein oder zwei verschiedenen Wellenlängen gemessen. Bei modernen Geräten lässt sich die exakte Wellenlänge automatisch einstellen. Der Zeitaufwand für die Messung lag daher im Minutenbereich.

Nachteilig war allerdings, dass es häufig eine Reihe anderer Moleküle in einem Abwassergemisch gibt, die zwar nicht ihre Absorptionsmaxima, aber doch Ihre Absorptionsbanden im genau bestimmten Wellenlängenbereich besitzen. Daraus resultierte eine große Messungenauigkeit aufgrund einer unspezifischen quantitativen Stoffbestimmung. Auch durch energiereiche Strahlung ausgelöste Photoreaktionen könnten zu einer Verfälschung der Messergebnisse geführt haben. Ein ganz besonderes Problem stellten Makromoleküle dar, deren Oxidationszahl einen Einfluss auf die absorbierte Lichtmenge hatten. Grund dafür waren unter anderem Elektronenverschiebungen und darüber natürlich auch die Änderung der Anzahl chromophorer Bereiche im Makromolekül. Durch die Veränderung der Oxidationszahl veränderten sich somit die physikalischen Eigenschaften des Makromoleküls, während chemisch gesehen nur geringe Modifikationen auftraten.

Das gleiche gilt für Medien mit verschiedenen pH-Werten. Dies konnte aber durch eine Einstellung auf einen bestimmte pH-Wert verhindert werden. Diese Modifikationen wären ausreichend, um die Absorptionsmaxima zu verschieben, wodurch falsche Ergebnisse generiert würden. Insbesondere bei Lignin, bei dem zum Teil bereits Struktureinheiten des Makromoleküls unterschiedliche Oxidationsstufen aufwiesen, ergab sich das Problem, neben den Störstoffen auch das

Makromolekül in geeigneter Weise quantitativ zu erfassen. Auch die Verteilung der Molekülgrößen spielte bei der Absorption eine Rolle. Damit war diese Methode äußerst unspezifisch und mit einer Vielzahl von nicht genau bestimmbar Fehler behaftet.

Die Kosten für die Messung waren allerdings etwa um das 20-fache niedriger, als für die Py-GC/MS. Der Bereich der durch Störstoffe veränderten Messergebnisse und den dadurch erhaltenen Fehlern war stark abhängig vom Abwasser. Bei der Bestimmung von Lignin in den hier untersuchten Abwässern dürften durch Störstoffe die erhaltenen Messwerte um bis zu 30 % über den wahren Gehalten liegen. Vorteil der UV/VIS-Spektroskopie war der geringe Zeitaufwand bei der Messung, die geringen Betriebskosten des Gerätes und auch deutlich geringere Kosten zur Anschaffung des Gerätes, wie bei einem GC/MS-System. Die Messmethode war umweltfreundlich vorbehaltlich entstehender toxischer Photoreaktionsprodukte bei der Messung.

Bei der Py-GC/MS wurde die Pyrolyse online durchgeführt, das heißt, dass die Pyrolysefragmente mit Inertgas sofort bei ihrer Entstehung ins GC/MS-System gespült wurden. Dadurch wurden ungewollte thermische Reaktionen der Fragmente untereinander in der Pyrolysekammer minimiert. Einzig auftretender Fehler dabei waren Produkte, die an der Glaswand der Pyrolysekammer kondensierten. Die Pyrolysekammer wurde zwar von außen geheizt, aber die Temperaturen bleiben unter der Pyrolysetemperatur (RÖSLER UND GOHLKE, 1997).

Bei den Kondensationsprodukten sollte es sich demzufolge um Ruß oder um Makromoleküle handeln, die aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften (Schmelzpunkt, Dampfdruck etc.) die GC-Säule nicht passieren. Da die Messungen sehr gut reproduzierbar waren, ist jedoch davon auszugehen, dass der durch Kondensation auftretende Fehler ebenfalls reproduzierbar war. Die Größe des hier entstehenden Fehlers ließ sich trotz des internen Standards nicht bestimmen und ist vermutlich abhängig von der Größenverteilung der Ligninmoleküle in der Probe.

Eine weitere mögliche Fehlerquelle trat bei den von Zeit zu Zeit auftretenden Problemen mit durch die Pyrolysenadel ausgestanzten Dichtungsgummis auf, welche die Nadel ganz oder teilweise verstopften. In der Regel erkannte man diese Feh-

lerquelle bei der Pyrolyse sofort an einem Druckabfall innerhalb der GC-Säule.

Eine zusätzliche Fehlerquelle sind Halogensalze und hier insbesondere NaCl (HARTGERS ET AL., 1995; KLEEN UND GELLERSTEDT, 1995). Durch die mehrfache Waschung der Probe auf der Festphase wurde der Salzgehalt jedoch minimiert.

Weitere Fehlerquellen, abgesehen von Geräteschwankungen während des Messvorganges, die durch den internen Standard nicht ausgeglichen werden konnten, wurden nicht erkannt.

Die hohe Spezifität der Methode erlaubte es Fragmente von Makromolekülen sehr genau zu bestimmen. Beim Lignin entstanden bei der Pyrolyse vor allem Molekülgrundeinheiten mit einem aromatischen Ring. Die Kohlenwasserstoffverbindungen zwischen den Ringen wurden bei der Pyrolyse in kleinste organische Moleküle gespalten. Da an diesen Stellen im Gegensatz zu aromatischen Gruppen Oxidationen zuerst stattfanden, die Quantifizierung des Lignins aber über die aromatischen Gruppen stattfindet, war diese Methode weitgehend unabhängig vom Oxidationsgrad des Lignins bzw. von der ursprünglichen Größe des Makromoleküls. Das bedeutete, dass diese Methode hochspezifisch auf Fragmente des Lignins reagierte, während die Methode gegenüber dem Oxidationsgrad, bzw. veränderter physikalischer Eigenschaften des Makromoleküls weitgehend unspezifisch war.

Insbesondere in Abwässern, bei denen Makromoleküle durch die Biozönose bzw. durch chemische Reaktionen im Vergleich zu den Ausgangssubstanzen bereits modifiziert wurden, stellt diese Methode ein unschlagbares Werkzeug dar, insbesondere wenn man den Weg bzw. die Abbauraten von biologisch schwerabbaubaren Molekülen bestimmen möchte.

Bei der Py-GC/MS durch den internen Standard Hexachlorbenzol, sowie durch möglicherweise in Spuren vorhandener Halogensalze, bestand die Gefahr der Bildung von Dioxinen (RITTERBUSCH ET AL., 1994). Aufgrund der relativ niedrigen Probemengen erschien dieses Risiko dennoch als vertretbar. Des weiteren könnten natürlich die bei der Pyrolyse entstandenen Produkte eine höhere Toxizität als ihre Ausgangssubstanzen aufweisen. Bei den hier durchgeführten

Messungen konnten Produkte mit einer bekanntermaßen relativ hohen Toxizität allerdings nicht nachgewiesen werden. Es ist aber davon auszugehen, daß solche Substanzen entstehen, aber aufgrund der geringen Mengen mit den hier eingesetzten Geräten nicht detektiert werden können. Die Messdauer für die Untersuchungen betrug je nach Messprogramm 40 bis 90 Minuten und war damit deutlich länger als bei der UV/VIS-Spektroskopie.

5.7.5 Auswertung

Bei beiden Methoden konnte die Ergebnisermittlung automatisch durchgeführt werden. Während bei der UV/VIS-Spektroskopie die Absorption bei einer festen Wellenlänge von $\lambda=281$ nm gemessen wurde, was im UV/VIS-Spektrum der Höhe des Messpunktes im Spektrum entspricht, wurde bei der Py-GC/MS die Fläche über das bei einem bestimmten Retentionszeitraum auftretende Signal integrativ bestimmt.

Da im Py-GC/MS-Spektrum eine Vielzahl von Signalen auftraten, könnten geringste Retentionszeitänderung durch Alterung der Säule etc. zu einem falschen Ergebnis führen. Ferner bestand die Möglichkeit, dass Signale anderen Molekülen mit einer ähnlichen Retentionszeit in das Gesamtsignal einfließen.

Diese Möglichkeit bestand bei realen Proben immer und musste daher geprüft werden. Deshalb war die manuelle Definition der Integrationsfläche im Spektrum nach qualitativer Analyse des Signals im Gegensatz zu einer automatisierten Integration zu empfehlen. Die Berechnung der Integralfläche mit der Zuordnung zu einem Wert auf der Kalibrierkurve wurde automatisch durchgeführt.

Bei der manuellen Bestimmung der Integrationsfläche des Py-GC/MS-Spektrums konnten Fehler in Abhängigkeit von der Gesamtintegrationsfläche von ± 1 bis ± 3 % auftreten, während im UV/VIS-Spektrum durch eine festgelegte Wellenlänge ($\lambda = 281$ nm) kein Fehler durch eine abweichende Wellenlänge bei der Auswertung auftreten konnten. Der Zeitaufwand war für die Auswertung mit der Py-GC/MS geringfügig höher als für die UV/VIS-Methode.

5.7.6 Fazit

Beide Methoden hatten bei der Untersuchung von Papierfabriksabwässern zu Ergebnissen geführt, die sich allerdings von der Aussagekraft und der Eindeutigkeit unterschieden. Größter Vorteil der UV/VIS-Spektroskopie war der geringe Zeit-, Material- und Kostenaufwand von der Probennahme bis zum Erhalt der Ergebnisse. In dieser Arbeit konnten Ergebnisse bereits 3 Stunden nach der Probennahme ausgewertet werden.

So eignete sich die UV/VIS-Spektroskopie hervorragend um summenparametrische Eigenschaften zu erfassen. Seit einiger Zeit werden damit sogar dem CSB Wert analoge Lichtabsorptionen im Abwasser von Kläranlagen online überwacht (KUNZ, 1995) und daraus Rückschlüsse auf die Abwasserqualität, bzw. organische Restverschmutzung im Ablauf gezogen. Diese Überwachungsmethoden könnten damit die Überwachung bestimmter Summenparameter ersetzen. In Abwässern mit einer stark beschränkten Anzahl an Substanzen kann mit dieser Methodik auch eine Abschätzung des Abbaus einzelner Substanzen im Abwasser gezogen werden (CHRISTIADI-MANGKUSEPUTRO ET AL., 1994).

Wurden Substanzen während der biologischen Reinigung modifiziert, absorbieren diese möglicherweise mit anderer Stärke oder aber bei einer anderen Wellenlänge. Diese Substanzen waren ebenso wie auftretende Störstoffe bei dieser Methodik extrem schwer zu erkennen und könnten zu einer Verfälschung der Ergebnisse beitragen (HELMREICH UND WILDERER, 1997).

Dies stand im Gegensatz zur Py-GC/MS-Analyse, da hier bei der Quantifizierung der Leitsubstanzen auch alle anderen Substanzen qualitativ analysiert werden konnten. Nachteilig in diesem Zusammenhang war allerdings der große Zeitaufwand von der Probennahme bis zur Generierung der Ergebnisse. Damit eignete sich die Methode nicht, um auf Ereignisse während des biologischen Reinigungsprozesses schnell zu reagieren. Andererseits waren die Ergebnisse eindeutig und zum Teil sogar unabhängig vom Oxidationsgrad der untersuchten Makromoleküle. Aufgrund der Möglichkeit, die qualitative und die quantitative Analyse miteinander zu verbinden, konnten Abbauege bzw. Senken für die organischen Moleküle nachgewiesen werden.

Tab 5.7.1 a: Vergleich der beiden Methoden UV/VIS und Py-GC/MS in der Übersicht.

	UV - VIS - Methode	Py - GC/MS - Methode
Probennahme	50 - 100 ml benötigte Probenmenge	1000 ml benötigte Probenmenge
Fehler	Probenahme aus inhomogenem System	Probenahme aus inhomogenem System
Fazit	Schnell und kostengünstig	Schnell und kostengünstig
Probenaufbereitung	<ul style="list-style-type: none"> - Filtration (für Grobpartikel) - Mikrofiltration (0,45 µm für Feinpartikel) - Verdünnung 	<ul style="list-style-type: none"> - Filtration - Mikrofiltration - Festphasenextraktion - Waschung - Desorption
Fehler	<ul style="list-style-type: none"> - Verdünnungsfehler 	<ul style="list-style-type: none"> - Volumenmessfehler - Fehler durch Adsorption, - Auswaschung, - unvollständige Desorption. - Volumenfehler bei Zugabe des ISTD
Chemikalien	<ul style="list-style-type: none"> - Salzsäure 	<ul style="list-style-type: none"> - organische Lösungsmittel - ISTD Hexachlorbenzol
Zeitaufwand	1 h	24 h
Arbeitsaufwand	1 h	2 - 3 h
Kosten	gering	deutlich höher als für UV/VIS
Fazit	<p>Schnell, umweltverträglich, geringe Fehlerquellen bei der Probenvorbereitung, kostengünstig.</p> <p>Spezifische Einzelstoffbestimmung nicht möglich, quantitative spezifische Stoffbestimmungen unterliegen in realen Systemen Störungen durch ähnliche Moleküle (hier aromatische Verbindungen).</p>	<p>Langsamer, umweltgefährdend durch ISTD, mehr mögliche Fehlerquellen, arbeitsaufwendiger und dadurch teurer. Spezifische Einzelstoffbestimmung.</p>

Tab 5.7.1 b: Vergleich der beiden Methoden UVVIS und Py-GC/MS in der Übersicht.

	UV - VIS - Methode	Py - GC/MS - Methode
Messvorbereitung	Füllen in Küvette bzw. Durchlaufküvette	Aufbringen der Probe auf die Wendel
Chemikalien	aus der Probenaufbereitung	aus der Probenaufbereitung
Fehler	- Luftblasen - Feststoffe in d. Lösung	- Fehler bei der Mengenaufgabe auf Wendel
Zeitaufwand	10 - 15 Minuten reine Arbeitszeit	10 - 15 Minuten reine Arbeitszeit 15 - 60 Minuten für Trocknung d. Probe
Fazit	Schnell, keine Materialkosten, geringe Fehlerquellen, leicht behebbarer Fehler	Trocknung der Probe ist zeitlimitierend, keine Materialkosten, geringe Fehlerquellen
Messung	- Wenig spezifisch. - Abhängig vom Oxidationsgrad d. Makromoleküls.	- Sehr spezifisch. - Fragmente unabhängig vom Oxidationsgrad des Makromoleküls.
Fehler	- Photoreaktionen - Moleküle mit ähnlichen Absorptionsbereichen - Gerätefehler.	- Thermoreaktionen - Kondensation an Glashülle d. Pyrolysekammer - Salze - Gerätefehler.
Zeitaufwand	3 - 5 Minuten reine Arbeitszeit Messdauer 1 Minute	5 Minuten reine Arbeitszeit Messdauer 40 - 90 Minuten.
Fazit	Schnell aber rel. unspezifisch große Fehler möglich, Gefahr der Bildung toxischer photochemischer Produkte, sehr kostengünstig.	Langsam, sehr spezifisch, geringe Fehler, Gefahr der Dioxinbildung und toxischer thermischer Produkte, um ein Vielfaches teurer als mit UV/VIS - Spektroskopie.
Auswertung	Vollautomatisch	Vollautomatisch, aber halbautomatisch durchgeführt
Fehler	Geringe Fehler in der Kalibriergerade	- Geringe Fehler in der Kalibriergerade - Bestimmung des falschen Integral bereichs bei Vollautomatik.
Zeitaufwand	1 Minute	5 Minuten
Fazit	Schnell, geringe Fehlerwahrscheinlichkeit, kostengünstig.	Schnell, geringe Fehlerwahrscheinlichkeit, kostengünstig.

Die Minimierung der Rest-CSB-Gehalte in Kläranlagenabläufen auf Basis von CSB- Bestimmungen, anderen summenparametrischen Untersuchungen, sowie durch die UV/VIS-Spektroskopie gewonnenen Kenntnisse stößt mittlerweile an ihre Grenzen. Daher interessierte zunehmend die Analyse der makromolekularen Stoffe, die schwer abbaubar waren und deren Verhalten unter dem Einfluss der aeroben biologischen Behandlung.

Hier lag die Stärke der Methode der Py-GC/MS, da neben der Quantifizierung der Leitsubstanzen gleichzeitig Molekülfragmente qualitativ analysiert werden konnten, die Aufschluss über Modifikationen oder Molekülspaltungen geben konnten. Die Analyse wies nur geringe Fehlerquellen auf, die mit der hier entwickelten Methode weitgehend minimiert bzw. herausgerechnet wurden. Dadurch wiesen die quantitativen Ergebnisse nur geringe Fehler bzw. Standardabweichungen von maximal 10 % auf.

6 Zusammenfassung

Es gelang eine Methode zu entwickeln, mit der Fichtenlignin als typischer Vertreter biologisch schwerabbaubarer Stoffe in Papierfabriksabwässern quantifiziert werden kann. Durch die Analyse verschiedener Fraktionen im Verlauf der Abwasserreinigung lassen sich Rückschlüsse auf den Verbleib des Lignins innerhalb eines Kläranlagensystems ziehen. Dies gelang obwohl bis heute viele wichtige Informationen hinsichtlich des strukturellen Aufbaus von Ligninen fehlen.

Es wurde eine Analysenmethode entwickelt, bei der durch die Pyrolyse Makromoleküle gespalten die Fragmente gaschromatographisch getrennt und massenspektrometrisch identifiziert und quantifiziert werden konnten. Mit Hilfe der Curie-Punkt-Py-GC/MS wurde eine quantitative Ligninbestimmung im Abwasser und im Klärschlamm unabhängig von der Molekülgrößenverteilung und von den Veränderungen einzelner funktioneller Gruppen am Ligninmolekül möglich. Diese Methode war so spezifisch, dass aus einer Matrix ausschließlich Ligninfragmente zur Quantifizierung herangezogen wurden und ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit erreicht werden konnte. Die Methode war sowohl bei flüssigen, als auch bei festen Proben einsetzbar.

Die Py-GC/MS lieferte so spezifische Ergebnisse, dass erstmals die Bilanzierung der Ligninstoffströme möglich wurde. Dabei bestätigte sich die Hypothese, dass ein Teil des Lignins ohne signifikante Änderung des Molekülgerüsts die Abwasserreinigungsanlage passiert und höchstens ein im Bereich des Messfehlers liegender Anteil an Lignin innerhalb der Kürze der Zeit biologisch abgebaut wurde. Auch wurde nachgewiesen, dass ein signifikanter Anteil an Lignin über Schlammadsorption dem Abwasser entzogen wird. Beide Punkte konnten mit der Py-GC/MS mit positivem Ergebnis belegt werden. Bezogen auf den Belebtschlamm konnte eine adsorbierte Ligninmenge von 30 % ermittelt werden, die während der nicht belüfteten Ruhephase auf rund 20 % sank. Dies ist gleichbedeutend mit einer Lignindesorption. Werden diese Ergebnisse über den gesamten Messzeitraum als Ganzes betrachtet, ergibt sich kein signifikanter Ligninabbau während der biologischen Abwasserreinigung mit den in dieser Arbeit beschriebenen Parametern.

Um in einer Kläranlage den Rest-CSB zu minimieren, der auf dem Eintrag von Lignin basiert, müsste die Schlammmenge bzw. die Oberfläche des Schlammes deutlich erhöht werden. Eine Forderung, die in der Praxis schwer zu erreichen ist. Möglicherweise könnte man diese Effekte mit großen mit Biofilmen bedeckten Flächen erreichen. Dies hätte zum Beispiel den Vorteil, dass die Biofilme aus dem belüfteten Klärraum genommen werden könnten, in einem anaeroben Becken einen Teil des Lignins desorbieren könnten und man somit eine Art teilweise Regenerierung der Adsorptionsflächen erreichen könnte.

Die UV/VIS-Spektroskopie als eines der Analyseverfahren, das in der chemischen Analytik bereits seit Jahrzehnten als Standardverfahren zur quantitativen Bestimmung von bestimmten Wasserinhaltsstoffen, so auch von Lignin, zum Einsatz kommt, diente als Vergleichsverfahren. Da sich aber gezeigt hat, dass für das untersuchte Fichtenlignin ein Absorptionsmaximum von $\lambda = 281$ nm bestand, wurden die Ergebnisse auf der Basis dieser Wellenlänge und nicht gemäss der bei den Deutschen Einheitsverfahren empfohlenen Wellenlänge für den Aromatenbereich bei $\lambda = 254$ nm durchgeführt. Ein besonderes Problem bei der UV/VIS-Analyse stellte die Störstoffproblematik dar (z.B. Störung durch H_2O_2), die sowohl Einfluss auf Struktureigenschaften des Ligninmoleküls haben kann, als auch durch ähnliche Absorptionsbereiche zu einer Verfälschung der Messergebnisse führen konnte. Die ausschließliche Anwendbarkeit der Methode auf flüssige Proben lässt es nicht zu, mit dieser Methode eine Bilanzierung der gesamten Abwasserreinigung durchzuführen. Gezeigt hat sich allerdings, dass trotz der erwarteten Störstoffproblematik die UV/VIS-Messungen für die Abwasserzuläufe vergleichbare Ergebnisse wie die Py-GC/MS lieferte. Für die Abläufe waren die Ergebnisse der UV/VIS-Spektroskopie mit einer sehr großen Standardabweichung versehen, es lassen sich bei der Ligninbestimmung in den Abläufen somit nur grobe Anhaltspunkte gewinnen. Aufgrund der Schnelligkeit und Kosteneffizienz hat diese Methode insbesondere für die ständige Kontrolle der Abwässer ihre Berechtigung.

7 Abkürzungen

AOX:	Adsorbierbare o rganische Halogenverbindungen	
ASAE	Belebtschlamm-Adsorptions-Gleichgewichtsgleichung (A ctivated S ludge A dsorption E quation)	
BSB ₅ :	B iochemischer S auerstoffbedarf innerhalb 5 Tagen	[mg/l]
°C:	Grad C elsius	[°C]
CSB:	C hemischer S auerstoffbedarf	[mg/l]
DEV:	D eutsche E inheitsverfahren	
DIN:	D eutsche I ndustrie N orm	
DOC: [mg/l]	Gelöster organisch gebundener Kohlenstoff (D issolved O rganic C arbon)	
DSC:	Differentiell abtastende Kalorimetrie (D ifferential S canning C alorimetry)	
DTA:	D ifferentiell t hermische A nalyse	
EDXA:	Energiedisperse Röntgenanalyse	
EPS:	E xtrapolymerer S ubstanzen	
g:	G ramm	[g]
GC:	G aschromatographie	

7 ABKÜRZUNGEN

GDCh:	G esellschaft D eutscher C hemiker	
hPa:	H ekto p ascal	
HCB:	H exachlor b enzol	
HPLC:	H igh P erformance L iquid C hromatography	
IR:	I nfrarot-Strahlung	
ISTD:	I nterner S tandard	
IUPAC:	Internationale Vereinigung für Reine und Angewandte Chemie	
K:	K elvin	[K]
KONTI:	k ontinuierlich betriebene Kläranlage	
l:	L iter	[l]
λ :	Lambda für Wellenlänge in Nanometer	[nm]
m:	M eter	[m]
M ⁺ :	B asision	[g/mol]
min:	M inute	[min]
ml:	M illiliter	[ml]
MS:	M assenspektrometrie	
msec:	M illisekunden	
MW:	Molmasse (m olecular w eight)	[g/mol]
m/z:	Masse/Ladung	

7 ABKÜRZUNGEN

NMR:	Kernresonanzspektroskopie (N uclear M agnetic R esonance-Spectroscopy)	
oTS:	Gesamtorganischer Feststoffgehalt (o rganic T otal S olids) [g/l]	
Ph-SPE:	Phenylfestphase	
Py:	Py rolyse	
Py-FI/MS:	Online Py rolyse- F lowinjection- M assenspektrometrie	
Py-GC:	Online Py rolyse- G aschromatographie	
Py-GC/MS:	Online Py rolyse- G aschromatographie mit gekoppelter M assen spektrometrie	
Py-MS:	Online Py rolyse- M assenspektrometrie	
REM:	R öntgenelektronen m ikroskopie	
sec:	S ekunde	[s]
SAK ₂₅₄ :	S pezifischer A bsorptions k oeffizient bei 254 nm	[1/cm]
SBR:	S chubweise b eschickter R eaktor (S equencing- B atch- R eactor)	
SPE:	Festphasenextraktion (S olid- P hase- E xtraction)	
SPME:	Festphasenmikroextraktion (S olid- P hase- M icro- E xtraction)	
TEM:	T ransmissions- E lektronen- M ikroskopie	
TGA:	T hermogravimetrische A nalyse	
TMAH:	T etramethylammonium h ydroxid	
TMSH:	T rimethylsulfonium h ydroxid	
TOC:	Gesamt organische gebundener Kohlenstoffgehalt (T otal O rganic C arbon)	[mg/l]

7 ABKÜRZUNGEN

TS:	Gesamtfeststoffgehalt	(Total Solids)	[g/l]
U:	U mdrehungen		[1/min]
µg:	M ikrogramm		[µg]
µl:	M ikroliter		[µl]
µm:	M ikrometer		[µm]
UV-Licht:	U ltraviolette s Licht		
UV/VIS:	U ltraviolette r und V isuelle r Wellenlängenbereich		
v/v:	V olumenverhältnis		

8 Literatur

ABBT-BRAUN, G., UND FRIMMEL, F.H. (1990):

Alkylierungsreaktionen als Schlüssel für die Charakterisierung isolierter aquatischer Huminstoffe.

Vom Wasser 74, 307-324.

ABBT-BRAUN, G., UND FRIMMEL, F.H. (1991):

Spektroskopische Strukturaufklärung aquatischer Huminstoffe.

Vom Wasser 77, 291-302.

ABBT-BRAUN, G., FRIMMEL, F.H., SCHULTEN, H.-R. (1990):

Strukturelle Charakterisierung isolierter aquatischer Huminstoffe - Anwendbarkeit, Grenzen und Vergleich ausgewählter Methoden.

Vom Wasser 74, 325-338.

ADAMIETZ, E (1997):

Einfluß der Prozeßführung bei biologischer Behandlung von Papierfabrikabwasser auf die Zusammensetzung oorganischer Stoffe im Ablauf und der Biomasse.

Dissertation, TU-München 1997.

ALSBERG, B.K., GOODACRE, R., ROWLAND, J.J., KELL, D.B. (1997):

Classification of pyrolysis mass spectra by fuzzy multivariate rule induction-comparison with regression, K-nearest neighbour, neural and decision-tree methods.

Anal. Chim. Acta 348, 389-407.

AMIN, S., UND JAYSON, G.G. (1996):

Humic substance uptake by hydrotalcites and PILCs.

Wat. Res. Vol. 30, 2 (1996) 299-306.

ANTALJR, M.J. (1985):

Lignin and other natural energy resources.

In: Advances in solar energy Vol. 2, p. 175-225. Ed: Boer, K.W. and Duffy, J.A., ASES Publications, New York 1985.

AUHORN, W. (1984):

Das Störstoff-Problem bei Verringerung der spezifischen Abwassermenge.

Wbl. f. Papierfabr. 112, 37-48.

BAILEY, I. W. (1954):

Contributions to plant anatomy.

Waltham, Mass.: Chronica Botanica Comp., New York 1954.

BENTO, F.M., PEREIRA, H., CUNHA, M.A., MOUTINHO, A. M. C., VAN DEN BERG, K.J., BOON, J.J. (1998):

Das Störstoff-Problem bei Verringerung der spezifischen Abwassermenge.

Phytochem. Anal., 2, 75-87.

BJÖRKMANN, A. (1954):

Isolation of lignin from finely divided wood with neutral solvents.

Nature 174, 1057-1058.

BMBF 02-WA9572/8 (1998):

Weitergehende biologische Reinigung von Industriabwässern mit dem Ziel der Minimierung des Rest-CSB.

Abschlussbericht, TU-München 1998.

BOON, J.J., WINDIG, W., WETZEL, R.G., GODSHALK, G.L. (1983):

Mass spectra from Pyrolysis of aquatic, humic and wooden substances.

Aqu. Bot., 307-315.

BOON, J.J. (1992):

Analytical pyrolysis mass spectrometry: new vistas opened by temperature-resolved in-source PyMS.

Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes 118/119, 755-787.

BÖTTGER, J., SCHULTZ, M., KRAUSE, TH. (1978):

Analyse wasserlöslicher Holzschliff und Zellstoffbestandteile,

Das Papier 32, V39-V45.

BOWERS, A.R., GADDIPATI, P., ECKENFELDER JR., W.W., MONSEN, R.M. (1989):

Treatment of toxic or refractory wastewaters with hydrogen peroxide.

Wat. Sci. Tech. 21, 477-486.

BRITT, P.F., BUCHANAN, A.C., THOMAS, K.B., LEE, S. (1995):

Pyrolysis mechanisms of lignin: surface-immobilized model compound investigation of acid-catalyzed and free-radical reaction pathways.

J. Anal. Appl. Pyrol. 33, 1-19.

CASTELLAN, A., ZHU, J.H., COLOMBO, N., NOURMAMODE, A. (1991):

An Approach to Understanding the Mechanism of Protection of Bleached High-Yield Pulps against Photoyellowin by Reducing Agents Using the Lignin Model Dimer: 3,4-Dimethoxy-alpha-(2'-methoxyphenoxy)-acetophenone.

J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 58, 263-273.

CATHALA, B., SAAKE, B., FAIX, O., MONTIES, B. (1998):

Evaluation of the reproducibility of the synthesis of dehydrogenation polymer models of lignin.

Polym. Degrad. Stab. 59, 65-69.

CHALLINOR, J.M. (1995):

Characterisation of wood by pyrolysis derivatisation-gas chromatography/mass spectrometry.

J. Anal. Appl. Pyrol. 35, 93-107.

CHALLINOR, J.M. (1996):

Characterisation of wood extractives by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of quaternary ammonium hydroxide extracts.

J. Anal. Appl. Pyrol. 37, 1-13.

CHALLINOR, J.M. (1998):

Thermally assisted Hydrolysis and derivatisation techniques for the characterisation of organic materials.

Dissertation, Curtin University of Technology, Australien, S.133-172.

CHEN, C.-L., UND ROBERT, D. (1988):

Orientation of Lignin by Enzymatic Control.

In: Methods in Enzymology, p. 137-174. Ed: Wood, W.A., Kellogg, S.T., Academic Press Inc., New York 1988.

CHERNOBEREZHSKII, Y.M., UND DYAGILEVA, A.B. (1994):

Coagulation Treatment of Wastewaters from Paper and Pulp Plants.

Russ. J. Appl. Chem. 67, 355-359.

CHRISTIADI-MANGKUSEPUTRO, A., MATSCHÉ, N., STUMWÖHR, K. (1995):

Anwendungsmöglichkeiten von UV-Messungen zur Erfassung von Abwasserinhaltsstoffen.

erschienen in: Alte und neue Summenparameter - Einsatz in der Wasser- und Abwassertechnik, Wiener Mitteilungen Wasser-Abwasser-Gewässer Band 127, I1-I24, TU-Wien, Wien 1995.

CROMBIE-QUILTY, M.B., UND McLOUGHLIN, A.J. (1983):

The adsorption of bovine serum albumin by activated sludge.

Wat.Res. 17, 39-45.

DEMEL, I., UND SCHMID, F. (1995):

Biologische Reinigung von Papierfabriksabwässern - aktueller Stand.

in: Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung Bd. 5, 47-64, TU-Berlin, 1995.

DEMMLERLING, W. (1936):

Anwendung der Absorptionsspektralanalyse für die Untersuchung und Überwachung von Verunreinigtem Oberflächenwasser.

Vom Wasser 11, 220-237.

DOBBS, R.A., SHAN, Y., WANG, L., GIVIND, R. (1995):

Sorption on waste water solids: elimination of biological activity.

Wat. Env. Res. 67, 327-329.

DOMBURG, G., SERGEEVA, V.N., ZHEIBE, G.A. (1970):

Kinetic studies on pyrolysis of lignin.

J. Thermal Anal. 2, 419.

ELDER, T. (2000):

Correlation of experimental and ab initio ¹³C-NMR chemical shifts for monomeric lignin model compounds.

J. Mol. Structure: THEOCHEM 505, 257-267.

ERIKSSON, K.-E. (1990):

Chapter 4: Biodegradation of Lignin.

In: Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components.

Ed: Eriksson, K.-E. L., Blanchette, R.A., Ander, P., Springer Verlag, Berlin 1990.

FACHGRUPPE WASSERCHEMIE DER GDCH (1980):

Deutsche Einheitsverfahren (DEV) zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung.

VCH Weinheim, DEV H41 Dez. 1980, DEV H51 Mai 1987, DEV L25 April 1993.

FAIX, O., MEIER, D., FORTMANN, J. (1988):

Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry of two trimeric lignin model compounds with alkyl-aryl ether structure.

J. Anal. Appl. Pyrolysis 14, 135-148.

FREUDENBERG, K., UND KNOF, L. (1957):

Die Lignane des Fichtenholzes.

Chem. Ber. 90, 2857-2869.

FREUDENBERG, K. (1968):

The Constitution and Biosynthesis of Lignin.

In: *The Constitution and Biosynthesis of Lignin*, p.45-129. Ed: Freudenberg, K. and Neish, A.C., Springer Verlag, Berlin.

FUKUSHIMA, K., YONEZAWA, M., RENGAKUJI, S., NAKAMURA, Y., ONO, S., YOSHIMURA, T., MORITA, H., SHIMASAKI, C. (1998):

Pyrolysis of triphenyl (diphenoxyphosphinyl)-phosphorimidate.

Pyroly-
J.

Anal. Appl. Pyrolysis 45, 41-58.

GARTISER, ST., BRINKER, L., ERBE, T., KRÜMMERER, K., WILLMUND, R. (1996):

Belastung von Krankenhausabwasser mit gefährlichen Stoffen im Sinne § 7a WHG.

Acta hydrochim. hydrobiol. 2, 90-97.

GLASSER, W.G. (1980):

Chemistry and Chemical Technology.

In: *Pulp and Paper*. Vol. 3, p. 39-112, 3rd edition. Ed: Casey, J.P.; Wiley-Interscience, New York 1980.

GLASSER, W.G. AND KELLY, S.S. (1987):

Lignin.

In: *Encyclopedia of polymer science and engineering* Vol. 8, p. 795-852. Ed: Kroschwitz, J.I.; John Wiley, New York 1987.

GOODACRE R., NEAL, M.J., KELL, D.B. (1994):

Rapid and quantitative analysis of the pyrolysis mass spectra of complex binary and tertiary mixtures using multivariate calibration and artificial neural networks.

Anal Chem. 66, 1070-1085.

GROSS, G.G. (1985):

Biosynthesis and structure of lignin.

In: *The structure, biosynthesis, and degradation of wood*, pp.141-184. Ed: Loewus, F.A. and Runeckles, V.A., Plenum, New York 1985.

GUGGENBERGER, G., UND ZECH, W. (1999):

Soil organic matter composition under primary forest, pasture, and secondary forest succession, Región Huetar Norte, Costa Rica.
Forest Ecol. Management 124, 93-104.

GUELIL, A., THOMAS, F., BLOCK, J.-C., BERSILLON, J.-L., GINESTET, P. (2001):

Transfer of organic matter between wastewater and activated sludge flocs.
Wat.Res. 35 (1), 143-150.

HALL, E.R., UND LIVER, S.F. (1996):

Interactions of resin acids with aerobic and anaerobic biomass - II.Partitioning on biosolids.
Wat. Res. 30, 672-678.

HARADA, H., UND CÔTÉ, JR W.A. (1985):

TEM for investigations on wood. In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility. Ed: Jung, H.G., Buxton, J.R., Hatfield, R.D., Ralph, J.; ASA-CSSA-SSSA, Wisconsin 1985.

HARDELL, H., UND NILVEBRANT, N. (1999):

A rapid method to discriminate between free and esterified fatty acids by pyrolytic methylation using tetramethylammonium acetate or hydroxide.
J. Anal. Appl. Pyrolysis 52, 91-113.

HARTGERS, W.A., DAMSTÉ, J.S.S., DE LEEUW, J.W. (1995):

Curie-Point Pyrolysis of Sodium Salts of Functionalized Fatty Acids.
J. Anal. Appl. Pyrolysis 34, 191-217.

HATCHER, P.G., UND CLIFFORD, D.J. (1994):

Flash Pyrolysis and In Situ Methylation of Humic Acids from Soil.
Org. Geochem. 21, 1081-1092.

HATFIELD, G.R., MACIES, G.E., ERBATUR, O., ERBATUR, G. (1987):

Qualitative and Quantitative Analysis of Solid Lignin Samples by Carbon-13-Nuclear Magnetic Resonance.
Anal. Chem. 59, 172-179.

HEINZ, N., PÖPEL, H.J., HÄRTEL, L. (1992):

Die Bedeutung der Hydrolyse in der Abwasserreinigung.
gwf 133, 512-519.

HELM, R. (2001):

WorldWideWebPublication (<http://www.chem.vt.edu/chem-dept/helm/3434WOOD/notes1/ultra1.html>);

Department of Wood Science and Forest Products, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA 24061-0323, USA.

HELMREICH, B., UND WILDERER, P.A. (1997):

Methoden zur Beurteilung organischer Reststoffe in Kläranlagenabläufen.

erschienen in: *Wasserkalender 1997*, Seite 143-166; ed. Wagner, R., Erich Schmidt Verlag, Berlin 1997.

HERNANDEZ, M., RODRIGUEZ, J., PEREZ, A., BALL, C., ARIAS, T. (2000):

¹³C NMR cross polarization and magic angle spinning (CPMAS) and gas chromatography/mass spectrometry analysis of the products from a soda pulp mill effluent decolourised by two Streptomyces strains.

Appl. Microbiol. Biotech. Volume 47, 3, 272-278.

HÖLL, W. (1994):

Zur Physiologie verholzter Achsen.

Naturwissenschaften 81, 250-259.

HOLZER, G., UND ORÓ, J. (1977):

Pyrolysis of Organic Compounds in the Presence of Ammonia. The Viking Mars Lander Site Alteration Experiment.

Org. Geochem. 1, 37-52.

HUANG, C., UND YANG, Y.-L. (1995):

Adsorption Characteristics of Cu(II) on Humus-Kaolin Complexes.

Wat. Res. Vol. 29, Bd.11, 2455-2460.

HUBER, S. (1996):

Einfluß des Belebtschlammalters auf das Vorkommen von refraktären organischen Stoffen bei der biologischen Reinigung von synthetischem Abwasser. Diplomarbeit, TU München 1996.

HULTZSCH, K. (1950):

Chemie der Phenolharze.

Springer Verlag, Berlin (1950), S. 193.

IRWIN, W.J. (1979):

Analytical pyrolysis - an overview.

J. Anal. Appl. Pyrolysis 1, 3-25.

- JORAND, F., PALMGREN R., BLOCK, J.-C., NIELSEN, P.H., URBAIN, V., MANEM, J. (1995):**
Biosorption of waste water organics by activated sludge.
In: Récents Progrès en Génie des Procédés, "Les procédés d'épuration des effluents et déchets des industries biologiques et alimentaires". Editor: Bordrant, J., Conte, J., Jacquinot, B.; Technique et Documentatiom - La-voisier, Vol. 44, 61-67, Paris 1995.
- KAMUTZKI, W. (1983):**
Extraktionsstoffe des Holzes.
Das Papier 37, 428-436.
- KIFANI-SAHBAN, F., KIFANI, A., BELKBIR, L., ZOULALIAN, A., ARAUZO, J., CARDERO, T. (1997):**
A physical approach in the understanding of the phenomena accompanying the thermal treatment of lignin.
Thermoch. Acta 298, 199-204.
- KLEEN, M., UND GELLERSTEDT, G. (1997):**
Influence of Inorganic Species on the Formation of Polysaccharide and Lignin Degradation Products in the Analytical Pyrolysis of Pulps.
J. Anal. Appl. Pyrolysis 35, 15-41.
- KLEIN, M.T., UND VIRK, P.S. (1983):**
Model pathways in lignin thermolysis - 1. Phenylethyl phenyl ether.
Ind. Eng. Fundam. 22, 35 - 45.
- KORDSACHIA, O., PATT, R., SIXTA, H. (1999):**
Cellulosegewinnung aus verschiedenen Rohstoffen.
Papier 53, 96-108.
- KOSIKOVA, B., REVAJOVA, A., DEMIANOVA, V. (1995):**
The Effect of Adding Lignin on Modification of Surface Properties of Polypropylene.
Eur. Polym. J. Vol. 31, 10, 953-956.
- KOSSA, W.C, MACGEE, J., RAMACHANDRAN, J.S., WEBBER, A.J. (1979):**
Pyrolytic methylation / gas chromatography. A short review.
J. Chrom. Sci. 17, 177.
- KRAUSE, TH., HEGENBART, K., SCHEMPP, W. (1986):**
Wasserlösliche Substanzen aus Holzschliff - Art, Menge und Wirkung.
Allg. Papier-Rdsch. 110, 112-116.

KRIEBITZSCH, K. (1998):

Ursachenanalyse und Bekämpfung von Schwebeschlamm am Beispiel der Behandlung von Papierfabrikabwasser in SBR-Anlagen.
Dissertation, TU-München 1998.

KUNZ, P. (1995):

Kläranlage als Online-Meßgerät.
Umwelt Magazin 12, 36-37.

LAPIERRE, C., POLLET, B., ROLANDO, C. (1991):

New Insights into the Molecular Architecture of Hardwood Lignins by Chemical Degradative Methods.
Res. Chem. Intermed. 21, 397-412.

LECLERC, D.F., UND OLSON, J.A. (1992):

A percolation-theory model of lignin degradation.
Macromol. 25, 1667.

LEWIS, N.G., NEWMAN, J., JUST, G., RIPMEISTER, J. (1987):

Determination of Bonding Patterns of ¹³C Specifically Enriched Dehydrogenatively Polymerized Lignin in Solution and Solid State.
Macromol. 20, 1752-1756.

LEWIS, N.G. UND YAMAMOTO, E. (1990):

Plant Cell Wall Polymers.
Annual Reviews Plant Physiology and Plant Molecular Biology 41, 455-496.

LEWIS, N.G. (1998):

Preface.
Phytochemistry 47, 1-4.

LINK, J., GILBERT E., EBERLE, S.H. (1989):

Untersuchungen über die Art und Menge der Reststoffe in den Abläufen biologischer Kläranlagen.
Vom Wasser 72, 349-370.

MARTIN, F., DEL RIO, J.C., GONZÁLEZ-BILA, F.J., VERDEJO, T. (1995):

Thermally assisted Hydrolysis and Alkylation of Lignins in the Presence of Tetra-alkylammoniumhydroxides.
J. Anal. Appl. Pyrolysis 35, 1-13.

MATCHE, N., UND RUIDER, E. (1982):

UV-Absorption, ein aussagekräftiger Parameter zur Erfassung der Restverschmutzung von biologisch gereinigtem Wasser.

Wasser-Abwasser-Gewässer Band 49.

MCCARTHY, M., HEDGES, J., BENNER, R. (1997):

Major biochemical composition of dissolved high molecular weight organic matter in seawater.

Oceanogr. Lit. Rev. 44, 563-563.

MD-PAPIER GMBH, (1990):

Vom Holz zum Papier.

Eigenverlag MD-Papier GmbH, o.O. 1990.

MEUZELAAR, H.L.C., HAVERKAMP, J., HILEMAN, F.D. (1982):

Pyrolysis Mass Spectrometry of Recent and Fossil Biomaterials.

Compendium and Atlas, Elsevier, Amsterdam 1982.

MÖBIUS, C.H., UND WELCKER, U. (1981):

Probleme bei der Verringerung der spezifischen Abwassermenge.

Wbl. f. Papierfabr. 109, 11/12, 411-415.

MRKVA, M. (1971):

Anwendung der Ultraviolett-Spektrophotometrie zur Bestimmung der organischen Verunreinigung in Abwässern.

WWT 21/8, 280-284 und WWT 21/9, 320-323.

MÜLLER, K.D., SCHMID, E.N., KROPPESTEDT, R.M. (1998):

Improved Identification of Mycobacteria by Using the Microbial Identification System in Combination with Additional Trimethylsulfonium Hydroxide Pyrolysis.

J. Clin. Microbiol. 36, 2477-2480.

N.N. (1974):

Handbook of Chemistry and Physics, 54 th ed., CRC Press, Palm Beach (1974).

N.N. (1992):

Allgemeine Rahmen-Verwaltungsvorschrift über die Mindestanforderung an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Rahmen-Abw-VwV).

Anhang 19, Teil B, vom 4. März 1992 - GMBI, 10, 180-181.

NIELSEN, P.H. (1996):

Adsorption of ammonium to activated sludge.

Wat.Res. 30, 762-764.

NOLLER, C.R. (1960):

Lehrbuch der Organischen Chemie.

Springer Verlag, Göttingen (1960), S.536.

NOWACK, G., UND UEBERBACH, O. (1995):

Die kontinuierliche SAK Messung: Aussagekraft, Statistik, Anwendung.

Korrespondenz Abwasser 42, 2020-2030.

PASTOROVA, I., VAN DER BERG, K.J., BOON, J.J., VERHOEVEN, J.W. (1997):

Analysis of oxidised diterpenoid acids using thermally assisted methylation with TMAH.

J. Anal. Pyrolysis 43, 41-57.

PATT, R., UND KORDSACHIA, O. (1990):

Paper and Pulp.

Pap. Sci. Tech. 18A, 557-571.

PUJOL, R, UND CANLER, J.P. (1992):

Determination of Biosorption an dynamics of bacterial populations in activated sludge.

Wat. Res. Vol. 26, 209-212.

RITTERBUSCH, J., LORENZ, W., BAHADIR. (1994):

Determination of Polyhalogenated Dibenzo-p-Dioxins and Dibenzofurans in Analytical Laboratory Waste and Their Decomposition By UV-Photolysis.

Chemosphere Vol .29, 1829-1838.

RODRIGUEZ, A., PERESTELO, F., CARNICERO, A., REGALADO, V., PEREZ, R., DE LA FUENTE, G., FALCON, M.A. (1996):

Degradation of natural lignins and lignocellulosic substrates by soil-inhabiting fungi imperfecti.

Fems Microbiol. Ecol. 21, 32-46.

RODRIGUES, J., FAIX, O., PEREIRA, H. (1999):

Improvement of the acetylbromide method for lignin determination within large scale screening programmes.

Holz als Roh- und Werkstoff Vol. 57, 341-345.

RÖSLER, B., UND GOHLKE, R. (1997):

Curie-Punkt-Pyrolyse für komplexe Verbindungen.

LaborPraxis 9, 88-90.

RYAN, N.J. (1987):

Study of the fate plant polymers in peats by Curie-point pyrolysis.

Int. J. Coal Geol. 8, 85-98.

SAIZ-JIMENEZ, C. (1994):

Production of Alkylbenzenes and Alkyl-naphthalenes upon Pyrolysis of Unsaturated Fatty Acids.

Naturwissenschaften 81, 451-453.

SAIZ-JIMENEZ, C., ORTEGA-CALVO, J.J., HERMOSIN, B. (1994):

Conventional Pyrolysis: A Biased Technique for Providing Structural Information on Humic Substances?

Naturwissenschaften 81, 28-29.

SANIO, K. (1874):

Anatomie der gemeinen Kiefer (Pinus silvestris L.).

Jahrb. f. Wiss. Bot. 1873/1874, Bd. 9, Vol. 50, 126.

SCHECK, C.K., UND FRIMMEL, F.H. (1995):

Degradation of Phenol and Salicylic Acid by Ultraviolet Radiation/Hydrogen Peroxide/Oxygen.

Wat. Res. Vol. 29, 10, 2346-2352.

SCHIEGL, C. (1994):

Versuch der Quantifizierung des refraktären Anteils von biologisch gereinigtem Papierfabrikabwasser im SBR.

Diplomarbeit, TU-München 1994.

SCHIEGL, C., HELMREICH, B., WILDERER, P.A. (1997A):

Methode zur Quantifizierung von Lignin aus Papierfabrikabwässern mittels Pyrolyse GC/MS.

Vom Wasser, Band 88, 137-147.

SCHIEGL, C., KRIEBITZSCH, K., HELMREICH, B., WILDERER, P.A. (1997B):

Entfernung von Lignin aus Papierfabrikabwässern in Sequencing-Batch-Reaktoren (SBR) durch Schlamm-Adsorption.

Vom Wasser, Band 89, 153-161.

- SCHMIDT, J.A., BERINSTAIN, A.B., DE REGE, F., HEITNER, C. (1991):**
Photodegradation of the Lignin Model a-Guajacoxyacetoveratrone, Unusual Effects of Solvent, Oxygen and Singlet State Participation.
Can. J. Chem. 69, 104-107.
- SCHMITT, G. (1990):**
Wasserlösliche Holzbestandteile, Analyse und Auswirkungen bei der Papierherstellung.
Dissertation, TH Darmstadt 1990.
- SCHRÖDER, H.F. (1992):**
Refraktäre Stoffe in kommunalen Abwässern - den Problemstoffen auf der Spur.
Korr. Abw. 3, 387-394.
- SCHULTEN, H.R., UND LATTIMER, R.P. (1984):**
Patterns of Lignin and Humic Substances.
Mass Spec. Rev. 3, 231-315.
- SCHULTEN, H.-R. (1999):**
Analytical pyrolysis and computational chemistry of aquatic humic substances and dissolved organic matter.
J. Anal. Appl. Pyrolysis 49, 385-415.
- SHEVCHENKO, S.M., UND BAILEY, G.W. (1996):**
The mystery of the lignin-carbohydrate complex: a computational approach. J. Mol. Struct.: THEOCHEM 364, 197-208.
- SHEVCHENKO, S.M., BAILEY, G.W., AKIM, L.G. (1999):**
The conformational dynamics of humic polyanions in model organic and organo-mineral aggregates.
J Mol. Struct.: THEOCHEM 460, 179-190.
- SIXTA, H., UND BORGARDS, A. (1999):**
New technology for the production of high-purity dissolving pulps.
Papier 53, Vol. 4, 220-235.
- SONTHEIMER, H., FUCHS, F., KÜHN, W. (1978):**
Beurteilung der organischen Belastung von Fließgewässern.
Vom Wasser 53, 1-10.

SPÄTH, R. (1998):

Rolle der extrazellulären polymeren Substanzen in Biofilm und belebtem Schlamm bei der Sorption von Schadstoffen.
Dissertation, TU-München 1998.

STOUT, S.A., UND BOON, J.J. (1994):

Structural characterization of the organic polymers comprising a lignite's matrix and megafossils.
Org. Geochem. 21, 953-970.

UCAR, G., UND FENGEL, D. (1995):

Variation in composition of extractives from wood of pinus nigra varieties.
Phytochem. 38, 877-880.

VAN ARENDONK, J.J.C.M. , NIEMANN, G.J. ,BOON, J.J. (1997):

The effect of enzymatic removal of proteins from plant leaf material as studied by pyrolysis-mass spectrometry: detection of additional protein marker fragment ions.
J. Anal. Appl. Pyrolysis 42, 33-51.

VAN DER HAGE, E.R.E., UND BOON,J.J. (1996):

On-line Curie-point pyrolysis-high-performance liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of lignin polymers.
J. Chrom. A736 , 61-75.

VAN LOON, W.M.G., UND BOON, M.J.J. (1993):

Quantitative Determination of Macromolecular Chlorolignosulfonic Acids in Water by Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Single Ion Monitoring.
Anal. Chem. 65, 1728-1735.

VARHEGYI, G., ANTAL, M.J. JR., JAKAB, E., SZABO, P. (1997):

Kinetic modeling of biomass pyrolysis.
J. Anal. Appl. Pyrol. 42, 73-87.

WONG, K.K.Y. , UND DE JONG, E. (1996):

Size-exclusion chromatography of lignin- and carbohydrate-containing samples using alkaline eluents.
J. Chrom. A737, 193-203.

YAN, G., UND ALLEN, D.G. (1994):

Biosorption of high molecular weight organochlorines in pulp mill effluent.
Wat.Res. 28, 1933-1941.

YOUN, H.-D., HAH, Y.C., KANG, S.-O. (1995):

Role of laccase in lignin degradation by White-rot Fungi.

FEMS Microbiol. Lett. 132, 183-188.