

Nachweis von Nitromoschusduftstoffen und deren Metabolite in Wasser und Sediment der Saale

Christian Albrecht, Anita Tripler, Prof. Wilhelm Lorenz

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Chemie (Lebensmittelchemie und Umweltchemie)

Hintergrund:

Moschus ist ein seit Jahrhunderten begehrter Rohstoff. Es handelt sich dabei um ein Sekret aus einer Drüse des männlichen Moschustieres, das einen charakteristischen starken Duft verströmt. Die traditionelle ostasiatische Medizin sagt dieser Substanz ein breites Spektrum an Wirksamkeiten nach und verwendet sie bis heute in zahlreichen Präparaten. In der Parfümerie ist der Moschusduft als sogenannte Basisnote von großer Bedeutung für die Komposition diverser Parfüms. Um an den begehrten Stoff zu gelangen, müssen die Tiere getötet und die Drüse entfernt werden. Extensive Jagd brachte das inzwischen praktisch weltweit unter Artenschutz stehende Moschustier an den Rand des Aussterbens, denn der Handel mit Moschus ist äußerst lukrativ. Schätzungen zufolge kann ein Kilogramm Moschus mit bis zu 50000 US-\$ gehandelt werden, wodurch es sogar wertvoller als Gold wird [1].

Aufgrund der enorm hohen Rohstoffpreise, der zunehmenden Bedeutung des Artenschutzes und einer zufälligen Entdeckung des deutschen Chemikers Albert Baur, ist natürlicher Moschus in der Parfümerie heutzutage fast vollständig durch künstlichen Moschus ersetzt worden. Baur stieß während seiner Forschungen zu einem effektiven Sprengstoff auf eine Substanz, die einen moschusähnlichen Duft verbreitete [2]. Mehrere hochsubstituierte Nitrobenzolderivate wurden schließlich zur Klasse der Nitromoschusverbindungen (NMV) zusammengefasst. Es folgten drei weitere Klassen (polyzyklische, makrozyklische und alizyklische Moschusverbindungen), die sich zwar strukturell deutlich unterscheiden, aber alle einen moschusartigen Geruch aufweisen.

Vor allem der wesentlich niedrigere Preis führte zu einer raschen Verbreitung des künstlichen Moschus, was allerdings neue Probleme mit sich brachte. Synthetische Moschusverbindungen sind in der Regel lipophil und schwer abbaubar, was dazu führt, dass sie sich in lipophiler Umgebung, z. B. in Fettgewebe, anreichern können. Über Abwassersysteme und Kläranlagen, die diese Stoffe unvollständig entfernen, gelangen sie in die Umwelt. Seit dem ersten Nachweis Anfang der 1980er Jahre in Japan [3] wurden synthetische Moschusverbindungen bereits in zahlreichen Umweltkompartimenten praktisch weltweit gefunden (z. B. in Oberflächenwasser [4-6], Sediment [7] und Wasserorganismen [8,9]). Ihre hohe Lipophilie, schwere Abbaubarkeit

und weite Verbreitung machen sie zu Umweltchemikalien. Von besonderem Interesse sind dabei die NMV, da sie zusätzlich das Potenzial besitzen, sich unter anaeroben Bedingungen in ihre entsprechenden Amino-Äquivalente umzuwandeln. Die Monoaminometabolite der wichtigsten NMV, Moschus-Keton (MK) und Moschus-Xylol (MX) (Abb. 1), gelten als toxisch gefährlicher als deren Mutterverbindungen [10] und konnten ebenfalls in der Umwelt nachgewiesen werden. Für MX sind zwei isomere Monoaminometabolite möglich (2-Amino- und 4-Amino-Moschus-Xylol), von denen in der Umwelt fast ausschließlich das 4-Amino-Moschus-Xylol gefunden wird [4,11].

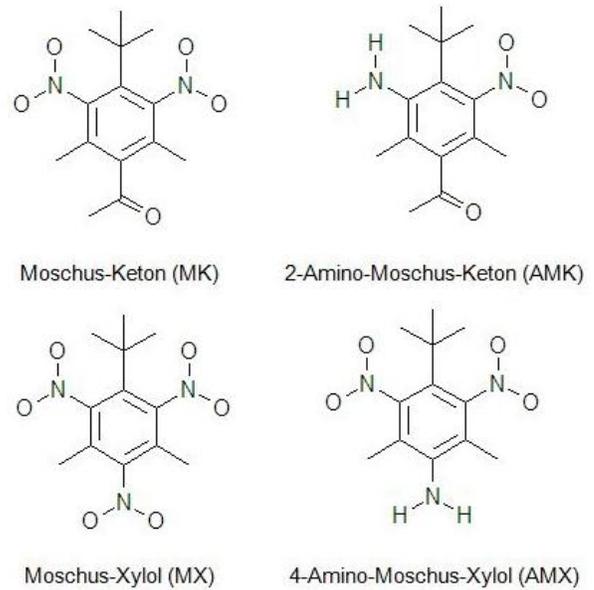


Abbildung 1: Strukturformeln von Moschus-Keton, Moschus-Xylol und deren Monoaminometaboliten

Ziel war es, einen Überblick über das Vorkommen von MK, MX und deren Monoaminometabolite 2-Amino-Moschus-Keton (AMK) und 4-Amino-Moschus-Xylol (AMX) in Oberflächenwasser und Sediment der Saale im Stadtgebiet von Halle zu erhalten.

Untersuchungsgebiet und Probenahme:

An insgesamt sechs Punkten der Saale im Stadtgebiet von Halle wurden Wasser- und Sedimentproben (An Stelle 2 konnten keine Sedimentproben genommen werden) gesammelt (Abb. 2) Diese Orte befinden sich am Auslass der Kläranlage Halle-Nord (Stellen 1-3), in der Stadtmitte von Halle (Stelle 4) und am Zulauf der Weißen Elster in die Saale (Stellen 5 und 6).

Die Wasserproben wurden in etwa 2 m Entfernung vom Ufer direkt unterhalb der Wasseroberfläche in Braunglasflaschen gefüllt (ca. 4 Liter pro Stelle) und suspendierte Partikel vor der Aufarbeitung

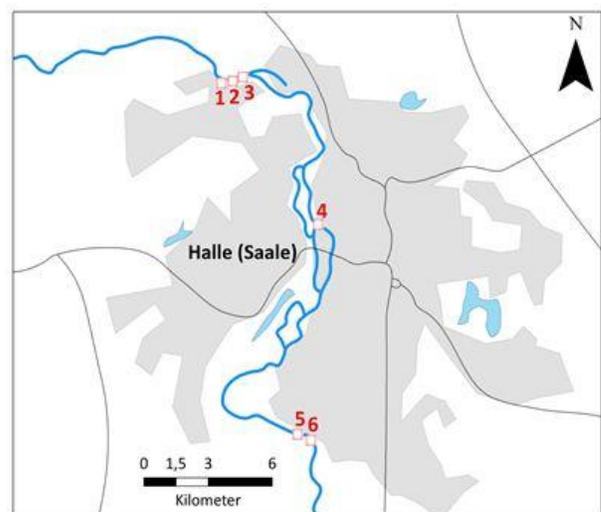


Abbildung 2: Lage der Probenahmeorte entlang der Saale

abfiltriert (Membranfilter, regenerierte Cellulose mit 0,45 µm Porenweite, Fa. Macherey-Nagel). Sedimentproben wurden mit einem selbst konstruierten „Sedimentschöpfer“ mit verlängerbarem Stiel (Abb. 3) genommen und ebenfalls in Braunglasflaschen gefüllt. Die Proben wurden im Labor getrocknet, gesiebt und die Fraktion mit einer Korngröße kleiner als 100 µm für die weitere Aufarbeitung verwendet.



Abbildung 3: Sedimentschöpfer für die Probenahme von Flusssedimenten

Aufarbeitung und Herstellung der Standards:

Die Analyten wurden mittels Festphasenextraktion (SPE) bzw. Ultraschallextraktion aus den Wasser- und Sedimentproben isoliert, aufkonzentriert und mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) bestimmt. Alle Proben wurden als Dreifachbestimmung durchgeführt.

Je 1 Liter filtrierte Wasserprobe wurde bei einer Flussrate von 17 - 20 ml/min über 1 g einer unpolaren octadecylmodifizierten Kieselgelphase (C₁₈ec, Fa. Macherey-Nagel) geleitet. Die so beladenen Kartuschen wurden anschließend luftgetrocknet und die Analyten mit 8 ml eines Gemisches aus n-Hexan und Ethylacetat 7:3 (v:v) eluiert. Deuteriertes Moschus-Xylol (MX-D₁₅, Fa. Dr. Ehrenstorfer) wurde als interner Standard hinzugefügt und das Eluat auf 100 µl eingeeengt (Abb. 4a).

Von den getrockneten und gesiebten Sedimentproben wurden jeweils 10 g eingewogen und mit 40 ml n-Hexan/Ethylacetat 7:3 (v:v) 10 min im Ultraschallbad extrahiert. Die feste Phase des Gemisches wurde abfiltriert und das Filtrat bis fast zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wurde mit ca. 1 ml 2-Propanol aufgenommen und 100 mg aktiviertes Kupfer zur Schwefelabtrennung hinzugefügt, da ein hoher Schwefelgehalt in der Probe, der z. B. von abgestorbener Biomasse herrührt, die Analytik an mehreren Stellen stört. Anschließend wurde noch ein Cleanup mit graphitiertem Ruß (GCB, Fa. Supelco) und Kieselgel 60 (Fa. Merck) durchgeführt, um mögliche coextrahierte Störsubstanzen wie Huminstoffe zu entfernen. Zu dem aufgereinigten Extrakt wurde schließlich der interne Standard MX-D₁₅ zugegeben und dieser auf 1 ml eingeeengt (Abb. 4b).

Die Analyttrennung der Messproben erfolgte mit einem HP 6890/5972 MSD GC-MS-System der Fa. Agilent, an einer unpolaren SLB-5ms (30 m x 250 µm Innendurchmesser x 0,25 µm Filmdicke, Fa. Supelco) Kapillarsäule.

Für die quantitative Bestimmung wurde eine Kalibrierung anhand von Standardsubstanzen durchgeführt. Für die Analyten AMK und AMX war dies ohne Weiteres nicht möglich, da diese Substanzen nicht als Referenzstandards erhältlich sind. Aus diesem Grund mussten sie zunächst synthetisiert werden. In Anlehnung an eine Synthesestrategie basierend auf der Verwendung von elementarem Eisen und Salzsäure [12], gelang es AMK und AMX mit einer Reinheit von rund 97 % aus ihren jeweiligen Muttersubstanzen MK und MX herzustellen.

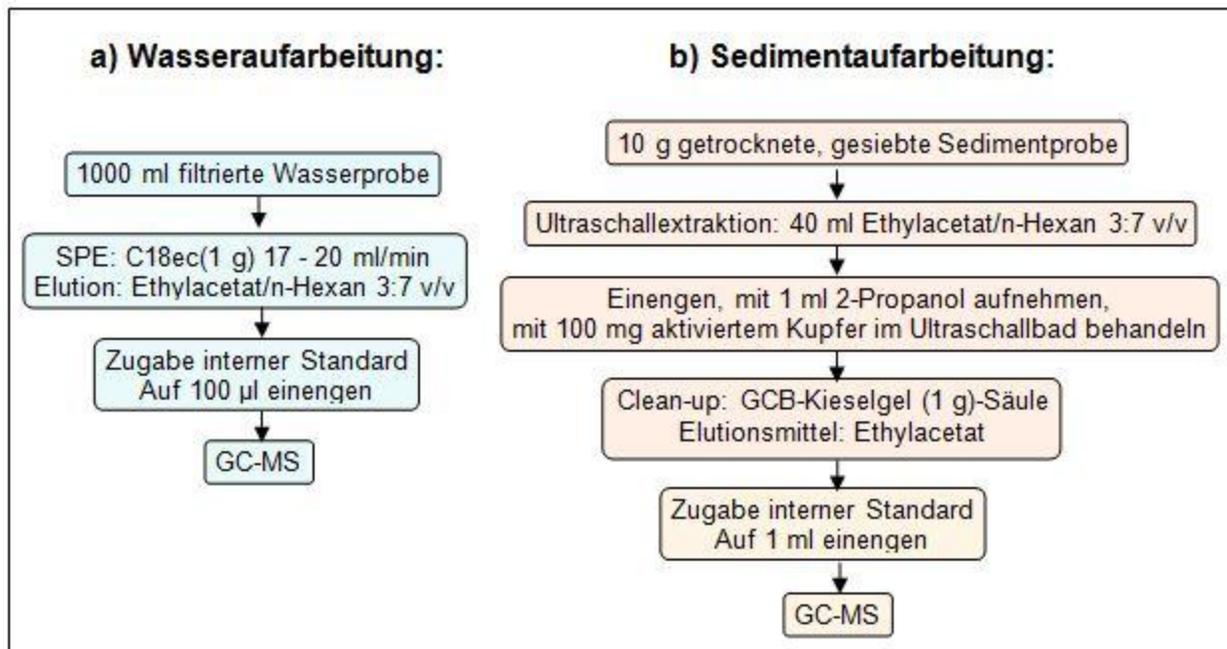


Abbildung 4: Aufarbeitungsschemata für a) Wasserproben und b) Sedimentproben

Ergebnisse:

In allen Wasserproben konnten MK und AMK nachgewiesen werden (Abb. 5). Die Konzentrationen beliefen sich dabei weitestgehend unterhalb der Bestimmungsgrenze (LOQ, 6,7 ng/l für MK und 8,7 ng/l für AMK). Die Analyten MX und AMX konnten in keiner Probe detektiert werden (Nachweisgrenzen: 1 ng/l für MX bzw. 4,5 ng/l für AMX).

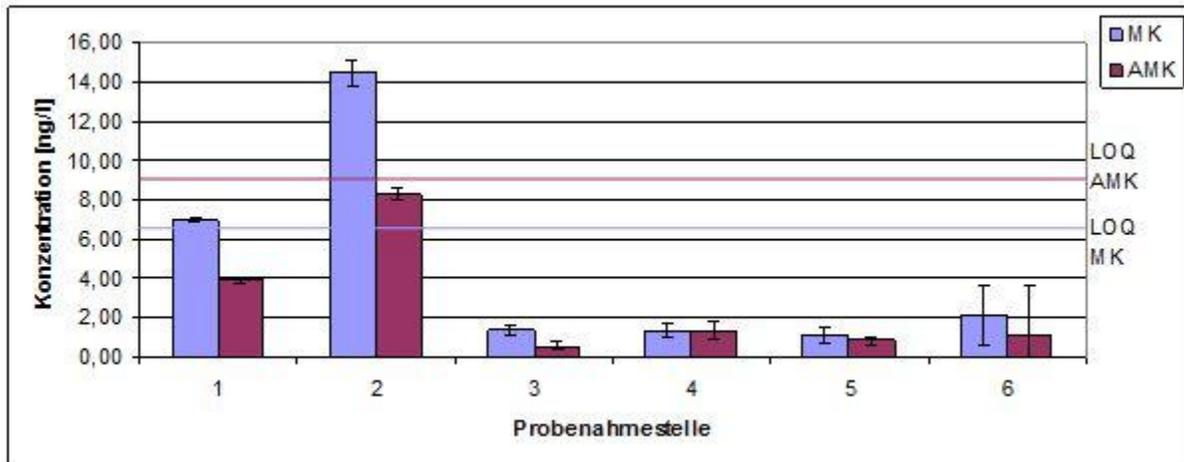


Abbildung 5: Übersicht über die Funde in den Wasserproben (Mittelwerte aus drei Messungen mit Standardabweichungen)

Die größte gefundene Analytkonzentration (14,5 ng/l) stammte von MK an der Stelle 2. Hier befindet sich der Ablauf der Kläranlage Halle-Nord, an der das geklärte Abwasser in die Saale geleitet wird. Einige Meter flussabwärts (Stelle 1) hat sich die Konzentration an MK bereits fast halbiert, sodass die Kläranlage als Haupteintragsquelle für die Analyten im Untersuchungsgebiet anzusehen ist. An Stelle 2 konnte auch AMK nachgewiesen werden, was darauf hinweist, dass auch der Monoaminometabolit durch den Kläranlagenablauf in die Umwelt gelangt. In den restlichen Proben konnten MK und AMK ebenfalls nachgewiesen werden, wenn auch in deutlich geringeren Konzentrationen.

Die Auswertung der Sedimentproben ergab ein ähnliches Bild. Wieder konnte MK in allen Proben nachgewiesen werden, AMK wurde in 4 von 5 Proben detektiert (Abb. 6). Die Gehalte für beide Stoffe lagen dabei allerdings in allen Proben unterhalb der jeweiligen Bestimmungsgrenze (LOQ, 1,9 ng/g für MK bzw. 1,3 ng/g für AMK). MX und AMX konnten wiederum in keiner Probe nachgewiesen werden (Nachweisgrenzen: 0,5 ng/g für MX, bzw. 0,6 ng/g für AMX).

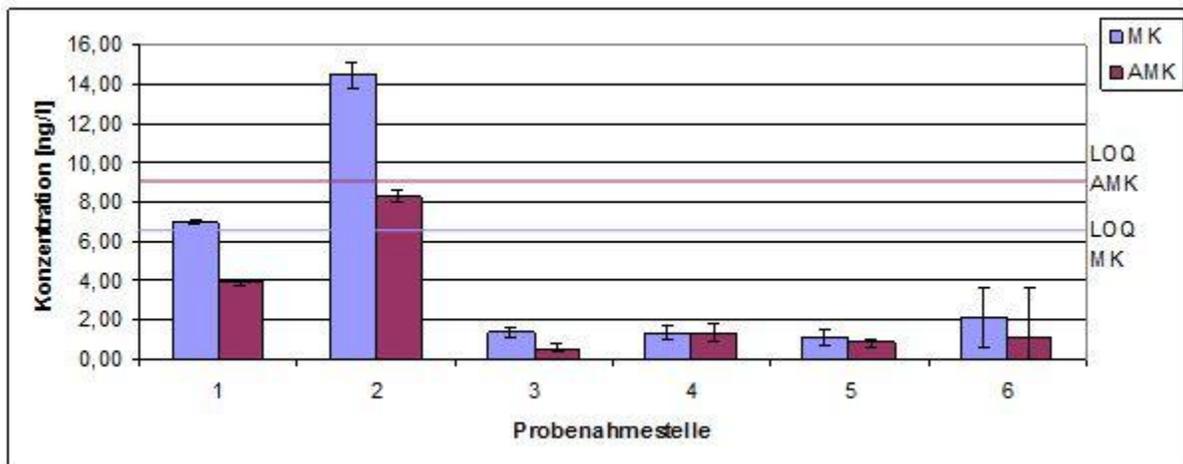


Abbildung 6: Übersicht über die Analytgehalte in den Sedimentproben (Mittelwerte aus drei Messungen mit Standardabweichungen)

Obwohl NMV aufgrund ihres gesundheitsgefährdenden Potenzials inzwischen weitestgehend durch polyzyklische Moschusverbindungen ersetzt wurden, sind sie noch immer in verschiedenen Körperpflegeprodukten (Parfüms, Deodorants etc.) enthalten [13,14]. Nach der Anwendung gelangen sie im „down-the-drain“-Prinzip in das Abwassersystem und von dort, wie eingangs erwähnt, in die Umwelt. Dass weder MX noch AMX im Untersuchungsgebiet detektiert wurden, zeigt, dass MX, zumindest im Untersuchungsgebiet, inzwischen sehr wenig verbreitet ist und auch keine Altlasten vorhanden sind. In Deutschland gibt es seit 1993 eine freiwillige Erklärung des Industrieverbandes für Körperpflege- und Waschmittel, MK nicht mehr zu verwenden, dennoch wurde der Stoff in Wasser und Sediment der Saale gefunden. Eine mögliche Ursache könnte der Gebrauch von Haushaltsprodukten sein, die nicht in Deutschland hergestellt wurden und daher MK enthalten können. Da die größte Konzentration im Ablauf der Kläranlage bestimmt wurde, kann das Vorkommen von MK nicht auf mögliche „Altlasten“ zurückzuführen sein. Das gleichzeitige Auftreten von AMK im Ablauf spricht dafür, dass es während der Abwasseraufarbeitung aus MK gebildet wird. Nähere Untersuchungen, vor allem bezüglich des AMK-Vorkommens während der einzelnen Klärschritte, könnten hier Aufschluss bringen.

Fazit:

Es wurden Wasser- und Sedimentproben von sechs Probenahmestellen entlang der Saale im Stadtgebiet von Halle auf das Vorkommen der Nitromoschusverbindungen (Moschus-Keton, Moschus-Xylol und deren Monoaminometabolite) untersucht. Mit der dafür entwickelten Aufarbeitungsmethode ist es möglich die Analyten im Spuren- und Ultraspurenbereich zu bestimmen. Die Untersuchungen zeigten, dass sowohl im Wasser, als auch im Sediment der

Saale Moschus-Keton und Amino-Moschus-Keton vorhanden sind. Die größten Konzentrationen konnten in der Nähe der Kläranlage Halle-Nord bestimmt werden, was zeigt, dass an dieser Stelle die Verbindungen in die Umwelt gelangen. Allgemein sind die gefundenen Konzentrationen bzw. Gehalte aber sehr gering (< 8,7 ng/l im Wasser bzw. < 1,9 ng/g im Sediment), sodass von einer akuten Gefährdung von Mensch und Umwelt nicht auszugehen ist.

Literatur:

- [1] **Homes, V.** "On the scent: conserving musk deer-the uses of musk and Europe's role in its trade",; Traffic Europe, **1999**.
- [2] **Baur, A.** "Studien über den künstlichen Moschus." *Bericht der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1891, **24** (2832-2843).
- [3] **Yamagishi, T., Miyazaki, T., Horii, S. und Kaneko, S.** "Identification of musk xylene and musk ketone in freshwater fish collected from the Tama River, Tokyo." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1981, **26** (656-662).
- [4] **Rimkus, G. G., Gatermann, R. und Hühnerfuss, H.** "Musk xylene and musk ketone amino metabolites in the aquatic environment." *Toxicology Letters*, 1999, **111** (5-15).
- [5] **Lee, I. S., Lee, S. H. und Oh, J. E.** "Occurrence and fate of synthetic musk compounds in water environment." *Water Research*, 2010, **44** (214-222).
- [6] **Peck, A. M. und Hornbuckle, K. C.** "Synthetic musk fragrances in urban and rural air of Iowa and the Great Lakes." *Atmospheric Environment*, 2006, **40** (6101-6111).
- [7] **Heberer, T.** "Occurrence, Fate, and Assessment of Polycyclic Musk Residues in the Aquatic Environment of Urban Areas – A Review." *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 2002, **30** (227-243).
- [8] **Duedahl-Olesen, I., Cederberg, T., Hogsbro Pedersen, K. und Hojgard, A.** "Synthetic musk fragrances in trout from Danish fish farms and human milk." *Chemosphere*, 2005, **61**.
- [9] **Kannan, K., Reiner, J. L., Yun, S. H., Perrotta, E. E., Tao, L., Johnson-Restrepo, B. und Rodan, B. D.** "Polycyclic musk compounds in higher trophic level aquatic organisms and humans from the United States." *Chemosphere*, 2005, **61** (693-700).
- [10] **Giddings, J. M., Salvito, D. und Putt, A. E.** "Acute Toxicity of 4-Amino Musk Xylene to *Daphnia Magna* in laboratory water and natural water." *Water Research*, 2000, **34** (3686-3689).
- [11] **Herren, D., Berset; J. D., und J. D.,.** "Nitro musks, nitro musk amino metabolites and polycyclic musks in sewage sludges Quantitative determination by HRGC-ion-trap-MS/MS and mass spectral characterization of the amino metabolites." *Chemosphere*, 2000, **40** (565-574).
- [12] **Minegishi, K. I., Nambura, S., Fukuoka, M., Tanaka, A. und Nishimaki-Mogami, T.** "Distribution, metabolism, and excretion of musk xylene in rats." *Archives of Toxicology*, 1991, **65** (273-282).
- [13] **Zhang, X., Yao, Y., Zeng Xiangying; Qian, Qian, G., Guo, Y. und Wu, M.** "Synthetic musks in the aquatic environment and personal care products in Shanghai, China." *Chemosphere*, 2008, **72** (1553-1558).
- [14] **Roosens, L., Covaci, A. und Neels, H.** "Concentrations of synthetic musk compounds in personal care and sanitation products and human exposure profiles through dermal application." *Chemosphere*, 2007, **69** (1540-1547).