

TEXTE 69/2003

UMWELTFORSCHUNGSPLAN DES
BUNDESMINISTERIUMS FÜR UMWELT,
NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT

Forschungsbericht 299 71 237

Untersuchung des Stoffverhaltens von polyzyklischen Moschusverbindungen im Klärschlamm und Boden

Band I: Screening-Untersuchungen Klärschlamm

**Band II: Untersuchung des Verhaltens von polyzyklischen
Moschusverbindungen im Boden**

von

Dr. J. Müller

W. Böhmer

A. Bauer

Th. Bernhardt

B. Kurzawa

J. Nowak

Fraunhofer-Institut für Molekulare Biologie und Angewandte Oekologie, Schmallenberg

Kurzfassung/Summary

Zusammenfassung (Gesamtbericht)

Polyzyklische Moschusverbindungen (polycyclic musk fragrances, PMF) und Nitro-Moschusverbindungen zählen zu den wichtigsten Duftstoffen und werden in einer Vielzahl von Kosmetika sowie Reinigungs- und Pflegeprodukten verwendet. Da die Anwendung der früher dominierenden Nitro-Moschusverbindungen infolge ungünstiger toxikologischer Eigenschaften gesunken ist, kamen polyzyklische Moschusverbindungen vermehrt zum Einsatz.

Moschusverbindungen werden vorrangig über den Abwasserpfad in die Umwelt eingetragen. Da es sich um sehr lipophile Stoffe mit hoher Persistenz handelt, akkumulieren sie in Fettgeweben und reichern sich in der Nahrungskette an. Dies führte dazu, dass die Stoffgruppe als potentielle Umweltschadstoffe Aufmerksamkeit erlangt hat.

Infolge ihrer lipophilen Eigenschaften liegen die Stoffe vorwiegend an Partikel gebunden vor. Für die Bewertung der Moschusverbindungen erhielt daher Klärschlamm eine herausragende Bedeutung. Die hierzu notwendigen Expositionsdaten fehlen allerdings noch weitgehend. Die vorliegende Untersuchung zum Vorkommen von Moschusverbindungen in Klärschlämmen (Vorhabenteil A) sowie zu ihrem Verhalten in Böden (Vorhabenteil B) wurde vom Umweltbundesamt in Auftrag gegeben, um bestehende Datenlücken zu verringern.

Vorhabenteil A

In diesem Teil des Vorhabens wurde neben der Etablierung von analytischen Methoden eine Screening-Untersuchung zum Vorkommen von polyzyklischen Moschusverbindungen in Klärschlämmen durchgeführt.

Zunächst wurde zur Bestimmung der polyzyklischen Moschusduftstoffe (PMF) in Belebtschlamm und Abwasser ein Analysenverfahren entwickelt und validiert. Die PMF werden durch Flüssig/flüssig-Extraktion extrahiert, chromatographisch aufgereinigt und dann mittels Ion-Trap-GC/MS/MS bestimmt. Das Verfahren wurde für entwässerten und abgepressten Klärschlamm angepasst, die Extraktion der Analyten erfolgte hier durch Fest/flüssig-Extraktion mittels Aceton.

Zur Abschätzung der Belastungssituation wurden 21 verschiedene Kläranlagen beprobt. Es wurden sowohl ländliche als auch städtische Anlagen und solche mit einem gewerblichen Abwasseranteil in die Untersuchung einbezogen.

Die Klärschlammprobennahmen (Belebtschlamm) erfolgten zunächst im Sommer des Jahres 2000 (August bis Oktober) an 21 Kläranlagen und wurden, um Hinweise auf jahreszeitliche Schwankungen zu erhalten, im Januar 2001 an 20 Kläranlagen wiederholt. Zur Erfassung der Variabilität der PMF-Gehalte wurde jede Kläranlage an drei aufeinanderfolgenden Tagen beprobt. Im Sommer 2000 wurden an fünf Kläranlagen und im Winter 2001 an sechs Kläranlagen zusätzlich auch 24 h-Mischproben des Zulaufs zum Klärwerk und des Ablaufs vom Belebtschlamm-Becken entnommen.

Weiterhin wurden im Winter 2001 an 9 Kläranlagen Proben eines entwässerten bzw. abgepressten Klärschlammes entnommen.

Die Gehalte an polyzyklischen Moschusverbindungen in den Belebtschlämmen streuen über einen 'größeren' Bereich. Für Galaxolide® wurden Werte zwischen 3,8 und 102 µg/kg und für Tonalide® zwischen 1,4 und 29,4 µg/kg gemessen, die Variationskoeffizienten betrugen 85 bzw. 64 %. Die Variabilität der Verteilung sinkt jedoch deutlich, wenn die Gehalte auf die ebenso streuenden Trockenmassen m_T des Klärschlammes bezogen werden. Die Werte liegen dann zwischen 2,9 und 10,4 mg/kg m_T für Galaxolide® und zwischen 1,1 und 4,2 mg/kg m_T für Tonalide®. Die Variationskoeffizienten reduzieren sich auf 30 % für Galaxolide® und auf 37 % für Tonalide®.

Die minimalen und maximalen PMF-Gehalte sowie deren Streuungen entwickeln sich vom Sommer 2000 zum Winter 2001 uneinheitlich. Der mittlere Gehalt aller untersuchten polyzyklischen Moschusduftstoffe steigt dagegen vom Sommer zum Winter an. Die Mittelwerte liegen aber immer im Bereich der einfachen Standardabweichung der zu vergleichenden Beprobungsphase (Sommer 2000, Galaxolide®: $6,3 \pm 1,9$ mg/kg m_T , Tonalide®: $2,4 \pm 0,9$ mg/kg m_T ; Winter 2001, Galaxolide®: $8,3 \pm 3,5$ mg/kg m_T , Tonalide®: $2,6 \pm 1,0$ mg/kg m_T). Die ermittelten Unterschiede zwischen Sommer und Winterbeprobung dürften daher nur zufälliger Natur sein.

Die polyzyklischen Moschusduftstoffe treten im Klärschlamm in deutlichen Konzentrationsabstufungen auf. Setzt man den mittleren Galaxolide®-Gehalt gleich 100 %, so finden sich die weiteren PMF im Sommer 2000 in folgenden Abstufungen: Tonalide® = 38 %; Traseolide® = 3,7 %; Phantolide® = 2,6 % und Celestolide® = 1,3 %. Für die Winterbeprobung wurden ähnliche Abstufungen gemessen. Auch dies deutet darauf hin, dass es sich bei den Unterschieden der beiden Beprobungsphasen nur um zufällige Abweichungen handelt.

Die mittleren PMF-Gehalte im Zulauf zur Kläranlage vom Sommer 2000 liegen leicht oberhalb der entsprechenden Gehalte vom Winter 2001, für den Ablauf zeigt sich dagegen ein inverses Bild (Werte für Galaxolide®: Zulauf Sommer 1,8 µg/kg, Zulauf Winter 1,4 µg/kg; Ablauf Sommer 0,14 µg/kg, Ablauf Winter 0,36 µg/kg). Die Differenzen der Gehalte von Zu- und Ablauf und auch die Eliminierungsraten sinken von der Sommer- zur Winterbeprobung. Diese geringfügig geringere 'Disappearance' ist möglicherweise auf geänderte Bedingungen, z.B. auf die Temperatur und den Abwasseranfall zurückzuführen. Der durchschnittliche Eliminierungsgrad der PMF in den beprobten Kläranlagen betrug im Sommer 2000 ca. 77 % und im Winter ca. 67 %.

In einigen Kläranlagen wurden Klärschlämme (Überschussschlämme aus den Nachklärbecken) einem anaeroben Zersetzungsprozess (Faulung) unterworfen und anschließend entwässert. Im Winter 2001 wurden von neun Kläranlagen Proben dieses entwässerten Klärschlammes entnommen.

Die ermittelten Gehalte lagen für Galaxolide® zwischen 6,0 und 23 mg/kg m_T und für Tonalide® zwischen 1,9 und 6,9 mg/kg m_T .

Vergleicht man die PMF-Gehalte des entwässerten Klärschlammes mit denen des Belebtschlammes, so findet man - bezogen auf die Trockenmasse m_T - im Belebtschlamm für alle PMF niedrigere Gehalte, sie liegen z.B. für Galaxolide® und Tonalide® bei 65 %.

Zieht man den Abbau an organischer Trockenmasse während der anaeroben Zersetzung (je nach Aufenthaltszeit und Schlammart zwischen 25 und 60 %) mit in die Betrachtung ein, so ergeben sich zum Belebtschlamm sehr gut vergleichbare Werte.

Hieraus folgt, dass während der Schlammfäulung die PMF nicht anaerob abgebaut werden. Dies wird weiterhin durch die wiederum sehr gut vergleichbaren Abstufungen der PMF-Verhältnisse belegt.

Vorhabenteil B

Im zweiten Vorhabenteil wurde das Verhalten polyzyklischer Moschusverbindungen (PMF) im Boden anhand folgender Teilprojekte untersucht:

- B1 Abschätzung von Adsorptionskoeffizienten (K_{OC}) mit der HPLC-Screening Methode
- B2 Adsorptions- / Desorptionsuntersuchungen nach OECD-Richtlinie 106
- B3 Aerober Abbau im Boden
- B4 Leachingverhalten in Kleinlysimetern
- B5 Aufnahme in Kopfsalat und Möhren (Labor- und Freilandversuche)

Zur PMF-Bestimmung wurden die im Teil A entwickelten Analyseverfahren den anfallenden Matrices der vorstehenden Teilprojekte angepasst und für jede Matrix validiert.

B1 und B2 Sorptionsuntersuchungen

Zunächst wurden die Adsorptionskoeffizienten (K_{OC} bzw. $\log K_{OC}$) der PMF mit Hilfe der HPLC-Screening-Methode nach der Draft OECD-Richtlinie 121 abgeschätzt. Geeignete Referenzsubstanzen und die Prüfsubstanzen wurden unter Standard-HPLC-Bedingungen an einer Cyanosäule chromatographiert und die Retentionszeiten bestimmt. Aus der Totzeit des HPLC-Systems und den ermittelten Retentionszeiten wurden die entsprechenden Kapazitätsfaktoren (k' bzw. $\log k'$) berechnet. Die $\log k'$ -Werte der Referenzsubstanzen und deren Adsorptionskoeffizienten ($\log K_{OC}$) wurden benutzt, um eine Kalibrierfunktion ($\log k'$ gegen $\log K_{OC}$) zu berechnen. Die Adsorptionskoeffizienten ($\log K_{OC}$) der Prüfsubstanzen wurden aus den ermittelten $\log k'$ -Werten mit Hilfe der Kalibriergeraden berechnet.

Die Abschätzung der Adsorptionskoeffizienten ($\log K_{OC}$) erbrachte relativ hohe Werte, sie betrugen für Galaxolide® 3,35 und für Tonalide® 3,41 (die weiteren untersuchten PMF lagen ebenso in diesem Bereich). Dies bedeutet eine starke Sorption der Substanzen an Böden.

Anschließend wurden die Sorptionseigenschaften von Galaxolide® und Tonalide® nach OECD-Richtlinie 106 an drei repräsentativen Böden bestimmt. Die Böden unterschieden sich in ihren Eigenschaften: Boden Borstel sandig, Boden Latrop tonig und Boden Friesland humos.

Bestimmt wurden die Adsorptionskinetik, die Adsorptionsisothermen nach Freundlich und das Desorptionsverhalten.

Die Versuche zur Adsorptionskinetik zeigten, dass sich die Sorptionsgleichgewichte schon nach kurzer Zeit (ca. 2 Stunden) eingestellt hatten.

Die Freundlich Adsorptionsisothermen zeigten mit Koeffizienten $> 0,97$ gute Korrelationen für alle Substanzen und Böden. Die ermittelten Adsorptionskoeffizienten (K_F) von Galaxolide[®] liegen im Bereich von 95 bis 380 cm³/g und für Tonalide[®] im Bereich von 150 bis 660 cm³/g. Die Normalisierung auf den Gehalt an organischem Kohlenstoff der Böden ergab K_{OC} Werte im Bereich von 4200 bis 7900 cm³/g für Galaxolide[®] und 4800 bis 13600 cm³/g für Tonalide[®].

Diese Werte zeigen, dass die Substanzen sehr stark an die Böden gebunden werden.

Die Desorptionsversuche zeigten, dass die Adsorption nicht reversibel ist: In beiden Desorptionsschritten wurden jeweils nur maximal etwa 30 –35 % der sorbierten Substanzmengen desorbiert.

B3 Aerober Abbau im Boden

Experimente zur Untersuchung des aeroben Abbaus wurden gemäß BBA-Richtlinie 4-1 mit den Böden Borstel, Latrop und Friesland und den Prüfsubstanzen Galaxolide[®] und Tonalide[®] durchgeführt.

Die Aufbringung der Prüfsubstanzen auf die Böden erfolgte über entwässerten, aufdotierten Klärschlamm, um praxisnahe Bedingungen zu simulieren. Die anfängliche Konzentration im Boden-/ Klärschlamm-Gemisch betrug jeweils ca. 10 mg/kg Trockenmasse. Die Inkubation erfolgte über 37 Wochen in der Dunkelheit unter kontrollierten Temperatur- und Feuchtebedingungen.

Die Abnahmekinetik beider untersuchten PMF verlief äußerst langsam, die Eliminierungs-Raten betrugen am Versuchsende für Galaxolide[®] ca. 50 % und für Tonalide[®] ca. 20 bis 30%. Die berechneten DT_{50} -Werte können nur als grobe Anhaltspunkte dienen, sie liegen im Bereich von ca. 1 bis 2 Jahren für Galaxolide[®] und 2 bis 24 Jahren für Tonalide[®].

In die Abbau-Tests mit den Böden Borstel und Latrop wurde nach 24 Wochen zur erneuten Aktivierung feldfrischer Boden zugegeben. Durch die Aktivierung mit feldfrischem Boden konnte keine Änderung des Abnahme-Verhaltens erreicht werden.

Um zwischen biologischem Abbau und einer möglichen chemischen 'Festlegung' der PMF an der Boden-/Klärschlamm-Matrix zu unterscheiden, wurden weitere Zusatzversuche zum Vergleich von 'aktiven' und autoklavierten Versuchsansätzen durchgeführt. Hierbei zeigte sich weder für den aktiven noch für den sterilen Ansatz eine Substanzabnahme, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die untersuchten PMF nicht chemisch festgelegt werden.

B4 Leachingverhalten in Kleinlysimetern

Die Experimente zur Ermittlung des Leachingverhaltens von PMF in Böden wurden in Anlehnung an eine neue OECD-Richtlinie 'Leaching in Soil Columns' (in Vorbereitung) mit den Böden Borstel, Latrop und Friesland und den Prüfsubstanzen Galaxolide[®] und Tonalide[®] im gesättigten Fluß bei Raumtemperatur durchgeführt.

Die Prüfsubstanzen wurden durch dotierten Klärschlamm auf die Bodenoberfläche appliziert.

Nach künstlicher Beregnung der Bodensäulen wurde das Sickerwasser fraktioniert aufgefangen. Es wurde ein Regenfall von 200 mm in 48 Stunden simuliert. Nach dem Leaching-Vorgang wurde der Boden aus den Säulen entfernt und in 6 Schichten separiert. Die Bodenschichten und die Sickerwässer wurden anschließend auf die Prüfsubstanzen analysiert.

Die Gehalte an Galaxolide® und Tonalide® in den Sickerwässern lagen im Bereich der Bestimmungsgrenze des Verfahrens (0,025 µg/L). Diese sehr geringe Ausschwemmung der Prüfsubstanzen aus den Testsäulen erfolgte nur über 'preferential flow'. Die höchsten PMF-Gehalte in den Eluatzen wurden für Galaxolide® und den Boden Latrop gemessen. Verglichen mit der in die Säule eingebrachten Menge an Galaxolide® zeigte sich, dass in 48 Stunden nur 0,001 % aus der Säule gespült wurden.

Die Untersuchung der Bodenschichten ergab, dass die Prüfsubstanzen nur in der obersten, in einer Stärke von nur 2 cm separierten Bodenfraktion nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden konnten (Eintrag über feinkörnige Partikel aus dem darüberliegenden Klärschlamm). Außer der nur geringfügigen Verlagerung durch Sorption an Bodenkolloide (preferential flow) erfolgte kein Transport mit der Flüssigkeitsphase.

B5 Aufnahme in Kopfsalat und Möhren (Labor- und Freilandversuche)

Potentiell können Pflanzen, die auf Klärschlamm-behandelten Flächen wachsen, mit PMF belastet sein. Die durchgeführten Untersuchungen sollten eine erste Einschätzung der Relevanz der Pflanzenaufnahme ermöglichen.

Es wurden wieder die Prüfsubstanzen Galaxolide® und Tonalide® und die drei Böden Borstel, Latrop und Friesland eingesetzt.

Als Versuchspflanzen dienten Karotten und Kopfsalat. Die Versuche wurden im Gewächshaus unter kontrollierten Witterungsbedingungen (Karotten und Kopfsalat) und zusätzlich mit dem Boden Borstel (sandiger Boden) im Freiland unter realen Witterungsbedingungen (nur Salat) durchgeführt.

Die Aufbringung der Substanzen auf die Böden erfolgte mit Klärschlamm der auf 300 mg/kg Trockenmasse dotiert worden war. Die Gehalte in den Boden-/Klärschlamm-Gemischen betrugen während der Tests ca. 30 mg/kg m_T.

Die untersuchten PMF wurden in nennenswerter Menge nur in die Karottenwurzel aufgenommen. Das Verhältnis der Galaxolidekonzentration in der Pflanze zur Konzentration im Boden betrug für die Karottenwurzel 0,095 (Boden Friesland) bzw. 0,48 (Boden Latrop). Für das Karottenlaub sowie für Salat betrug es nur etwa 0,003.

Danach spielt die Aufnahme der Moschusverbindungen in Pflanzen nur dann eine Rolle, wenn die Pflanzen wie die Karottenwurzel Depots mit z.B. ätherischen Ölen besitzt, die in direktem Kontakt mit den Moschusverbindungen stehen und sich daher ein direktes Verteilungsgleichgewicht einstellen kann. Die Gehalte im Karottenlaub und im Salat zeigen, dass die Aufnahme über die Wurzel mit anschließendem innerpflanzlichen Transport keine Rolle spielt.

Summary (entire report)

Polycyclic musk compounds and nitro-musk compounds are among the most important fragrances and are used in many cosmetic, cleaning and care products. Since the use of the previously predominant nitro-musk compounds has declined in view of their unfavourable toxicological characteristics, polycyclic musk compounds have been used increasingly.

Musk compounds enter the environment mainly via sewage. As they are very lipophilic substances with a high persistence, they accumulate in fat tissue and are enriched in the food chain. This has led to increasing attention being given to the substance group as potential environmental pollutants..

Due to their lipophilic characteristics the substances occur primarily in combination with particles. For this reason sewage sludge plays an extremely important part in evaluating musk compounds. However, the exposure data required for evaluation are virtually non-existent. This screening of the presence of musk compounds in sewage sludges (part A of the project) and their behaviour in the soil (part B of the project) were commissioned by the German Federal Environmental Agency in order to reduce existing data gaps.

Project part A

In addition to the establishment of analytical methods, this part of the project also involved a screening of the presence of polycyclic musk compounds in sewage sludges.

Firstly, a method of analysis for determining the presence of polycyclic musk fragrances (PMF) in activated sludge and raw sewage was developed and validated. The PMFs were extracted from the samples by means of liquid-liquid extraction, chromatographically cleaned and then measured using ion-trap GC/MS/MS. The method was adapted for dehydrated pressed sludge. In this case, the analytes were extracted by means of solid-liquid extraction with acetone.

In order to assess the existing pollution 21 sewage-treatment plants were selected for sampling. The selection included municipal and rural plants as well as plants treating a high proportion of industrial waste water.

The first sampling of the sewage sludge (activated sludge) took place in the summer of the year 2000 (August - October) at 21 plants. Sampling was repeated at 20 of these plants in January 2001 to obtain information on seasonal fluctuations. To determine the variability of the PMF contents, each plant was sampled on three successive days. In summer 2000, 24-hour mixed samples were also taken from the infeed and the outlet of the activated-sludge tank of five treatment-plants and in winter 2001 from six treatment plants.

In addition, samples of a dehydrated pressed sludge were taken from nine treatment plants in winter 2001.

The contents of polycyclic musk compounds in the activated sludges vary over a "wider" range. For Galaxolide® the figures measured were between 3.8 and 102 µg/kg, and for Tonalide® between 1.4 and 29.4 µg/kg. The variation coefficients were 85 and 64 %. However, the variability of the distribution drops substantially when the contents are related to the also varying dry masses m_T of the sewage sludge. Here, the values are between 2.9 and 10.4 mg/kg m_T for Galaxolide® and between 1.1 and 4.2 mg/kg m_T for Tonalide®. The variation coefficients decrease to 30 % for Galaxolide® and 37 % for Tonalide®.

The maximum and minimum PMF contents and their variations develop unequally from summer 2000 to winter 2001. By contrast, the average content of all polycyclic musk fragrances increases from summer to winter. The average values are however always in the region of the simple standard deviation of the comparative sampling phase (summer 2000, Galaxolide®: 6.3 ± 1.9 mg/kg m_T , Tonalide®: 2.4 ± 0.9 mg/kg m_T ; Winter 2001, Galaxolide®: 8.3 ± 3.5 mg/kg m_T , Tonalide®: 2.6 ± 1.0 mg/kg m_T). The differences measured between summer and winter sampling are therefore probably of an accidental nature.

The polycyclic musk fragrances occur in sewage sludge in distinctly graduated concentrations. If the average Galaxolide® content is taken as being equivalent to 100 %, in the summer of 2000, the other PMFs occur in the following proportions: Tonalide® = 38 %; Traseolide® = 3.7 %; Phantolide® = 2.6 % und Celestolide® = 1.3 %. Similar graduations were measured for the winter samples. This too indicates that the differences between the two sampling phases are purely accidental deviations.

The average PMF contents at the infeed of the treatment plant in summer 2000 are slightly above the corresponding contents for winter 2001. For the outlet however, the inverse situation occurs (figures for Galaxolide®: infeed summer 1.8 µg/kg, infeed winter 1.4 µg/kg; outlet summer 0.14 µg/kg, outlet winter 0.36 µg/kg). The difference in content between infeed and outlet as well as the elimination rates decrease from the summer to the winter sampling. This slightly lower disappearance is possibly due to changes in conditions, e.g. temperature and the quantity of sewage produced. The average elimination rate of the PMFs in the sampled treatment plants was approximately 77 % in summer 2000 and approximately 67 % in winter.

In some treatment plants, sewage sludges (excess sludge from the sedimentation tank) are subjected to an anaerobic decomposition process (decay) and then dehydrated. In the winter of 2001, samples of this dehydrated sludge were taken from nine treatment plants.

For Galaxolide® the contents measured were between 6.0 and 24 mg/kg m_T and for Tonalide® between 1.9 and 6.9 mg/kg m_T .

If the PMF contents of the dehydrated sewage sludge are compared with those of the activated sludge lower contents (in relation to the dry mass m_T) of all PMFs in the activated sludge are found. For Galaxolide® and Tonalide® for example, they are 65 %.

If the degradation of dry organic mass during anaerobic decomposition (between 25 % and 60 % depending on holding time and sludge type) is included in the evaluation the figures obtained are comparable to those for activated sludge.

This means that the PMFs are not degraded anaerobically during the decay of the sludge. This is proved by the graduations of the PMF content, which again have a close correspondence.

Project part B

In the second part of the project, the behaviour of polycyclic musk fragrances (PMF) in the soil was examined in the following sub-projects:

- B1 Estimation of adsorption coefficients (K_{OC}) using the HPLC screening method
- B2 Adsorption and desorption tests according to OECD Guideline 106
- B3 Aerobic degradation in the soil
- B4 Leaching behaviour in small lysimeters
- B5 Soil-plant transfer (laboratory and field experiments with lettuce and carrots)

For PMF measurement, the analytical methods developed in part A were adapted to the matrices of the above sub-projects and validated for each matrix.

B1 and B2 Sorption tests

First of all the adsorption coefficients (K_{OC} and $\log K_{OC}$) of the PMFs were estimated using the HPLC screening method according to draft OECD Guideline 121. Suitable test and reference substances were chromatographed under standard HPLC conditions on a cyano column and the retention times were determined. The corresponding capacity factors (k' and $\log k'$) were calculated from the dead volume of the HPLC system and the retention times determined. The $\log k'$ values of the reference substances and their coefficients of adsorption ($\log K_{OC}$) were used to calculate a calibration function ($\log k'$ against $\log K_{OC}$). The coefficients of adsorption ($\log K_{OC}$) of the test substances were calculated from the $\log k'$ values using calibration lines.

The estimation of the adsorption coefficients ($\log K_{OC}$) produced relatively high values. For Galaxolide® they were 3.35 and for Tonalide® 3.41. The other PMFs examined were also in this range. This indicates strong sorption of the substances to soils.

Following this, the sorption characteristics of Galaxolide® and Tonalide® were determined on three representative soils in accordance with OECD Guideline 106. The soils differed in their characteristics: Borstel soil, sandy; Latrop soil, clayey; Friesland soil, humic.

The factors determined were adsorption kinetics, adsorption isotherms (according to Freundlich) and the desorption behaviour.

The experiments regarding adsorption kinetics showed that the sorption equilibria were reached after a short period (approx. 2 hours).

At coefficients of > 0.97 , the Freundlich adsorption isotherms showed good correlations for all substances and soils. The adsorption coefficients (K_F) of Galaxolide[®] were in the range of 95 to 380 cm³/g and of Tonalide[®] in the range of 150 to 660 cm³/g. The normalization to the organic carbon content in the soils yielded K_{OC} values of between 4200 and 7900 cm³/g for Galaxolide[®] and 4800 and 13600 cm³/g for Tonalide[®].

These values show that the substances are bound very strongly to the soils.

The desorption tests showed that the adsorption is not reversible. At both desorption steps, a maximum of only 30–35 % of the sorbed quantities of the substances was desorbed.

B3 Aerobic degradation in the soil

Experiments to investigate aerobic degradation of Galaxolide[®] and Tonalide[®] in the Borstel, Latrop und Friesland soils were carried out in accordance with the BBA Guideline 4-1.

To simulate realistic conditions the test substances were applied to the soils using treated dehydrated sewage sludge. The initial concentration in the soil-sludge mixture was approximately 10 mg/kg dry mass in each case. Incubation took place over 37 weeks in the dark under controlled conditions of temperature and humidity.

The degradation kinetics of both the PMFs examined were extremely slow. At the end of the experiment the elimination rate for Galaxolide[®] was approximately 50 % and for Tonalide[®] approx. 20 to 30 %. The DT_{50} -values calculated should only be regarded as approximate values. For Galaxolide[®] these are in the region of 1 to 2 years and for Tonalide[®] between 2 and 24 years.

In the degradation tests with Borstel and Latrop soils, fresh soil from the field was added after 24 weeks for re-activation. However, the addition of fresh soil produced no change in the decay pattern.

In order to distinguish between biological degradation and a possible chemical immobilization of the PMF on the soil-sludge matrix, further experiments were carried out to compare active and autoclaved tests. No decrease of the substance was observed either in the active or the sterile approaches/tests. It may therefore be assumed that the PMFs examined were not immobilized.

B4 Leaching behaviour in small lysimeters

The investigations to determine the leaching behaviour of PMF in soils were based on the new OECD Guideline "Leaching in Soil Columns" (in preparation), and were carried out with the test substances Galaxolide[®] and Tonalide[®] on the Borstel, Latrop and Friesland soils in a saturated flow at room temperature.

The test substances were applied to the soil surfaces using spiked sewage sludge.

Following overhead irrigation of the soil columns, the leaching water was collected fractionally. A rainfall of 200 mm in 48 hours was simulated. After the leaching process the soil was removed from the columns and divided into 6 layers. These soil layers were then analysed for the presence of the test substances.

The contents of Galaxolide® and Tonalide® in the leaching water were around the detection limit of the test method (0.025 µg/L). This very slight washing out of the test substances from the soil columns took place exclusively through preferential flow. The highest PMF contents in the eluates were tested for Galaxolide® and the Latrop soil. With reference to the quantity of Galaxolide® introduced into the column, only 0.001% was washed out in 48 hours.

Examination of the soil layers showed, that the test substances could be detected and quantified only in the upper soil fraction at a thickness of only 2 cm (entry via fine particles of the sewage sludge above). Apart from the very slight migration by sorption to soil colloids (preferential flow) there was no further transport via the liquid phase/soil pore water?.

B5 Soil-plant transfer (laboratory and field experiments with lettuce and carrots)

Plants growing in soil treated with sewage sludge may possibly be contaminated with PMFs. The tests carried out were aimed at providing an estimate of the importance of absorption by plants.

Once again, the substances Galaxolide® and Tonalide® and the three soil types Borstel, Latrop and Friesland, were used for the tests.

Lettuce and carrots were used as test plants. The tests were conducted in a greenhouse under controlled climatic conditions (both carrots and lettuce), and also with Borstel soil (sandy) in the open air under realistic climatic conditions for lettuce only.

The substances were applied to the soils with sewage sludge treated with 300 mg/kg dry mass. During the tests, the contents in the soil-sludge mixtures were approximately 30 mg/kg m_T.

The PMFs under examination were absorbed in considerable quantities by the carrot roots only. In the carrot root, the ratio of the Galaxolide® concentration in the plant to the concentration in the soil was 0.095 (Friesland soil) and 0.48 (Latrop soil). In the carrot leaves and in the lettuce, the ratio was only 0.003.

Thereafter, the absorption of the musk compounds by plants was significant only when the plants (as with the carrot root) possess repositories with (for example) essential oils which are in direct contact with the musk compounds, allowing the creation of a direct partition equilibrium. The contents in the carrot leaves and in the lettuce show that the absorption via the roots and transport within the plant are of no significance.