

TEXTE

108/2017

# Klärung methodischer Problemstellungen bei der Untersuchung von Nanomaterialien im Bereich Umwelt

Entwicklung einer Entscheidungshilfe zur Untersuchung  
des Umweltverhaltens von Nanomaterialien auf Basis  
der Löslichkeit und des Dispergierverhaltens in  
Abhängigkeit verschiedener Umweltparameter

**Kurzfassung**



TEXTE 108/2017

Umweltforschungsplan des  
Bundesministeriums für Umwelt,  
Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit

Forschungskennzahl 3713 65 406  
UBA-FB 002582/KURZ

## **Klärung methodischer Problemstellungen bei der Untersuchung von Nanomaterialien im Bereich Umwelt**

Entwicklung einer Entscheidungshilfe zur Untersuchung des  
Umweltverhaltens von Nanomaterialien auf Basis der Löslichkeit und des  
Dispergierverhaltens in Abhängigkeit verschiedener Umweltparameter

Kurzfassung

von

Dr. Philipp Kozin, Dr. Frank von der Kammer  
Universität Wien, Wien

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

# Impressum

**Herausgeber:**

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

 /umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt

**Durchführung der Studie:**

Department of Environmental Geosciences  
Universität Wien  
Althanstraße 14 UZAll  
1090 Wien

**Abschlussdatum:**

April 2017

**Redaktion:**

Fachgebiet IV 2.2 Arzneimittel, Wasch- und Reinigungsmittel  
Dr. Doris Völker

Publikationen als pdf:

<http://www.umweltbundesamt.de/publikationen>

ISSN 1862-4359

Dessau-Roßlau, Dezember 2017

Das diesem Bericht zu Grunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit unter der Forschungskennzahl 3713 65 406 finanziert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

## Zusammenfassung

Im Laufe des OECD - WPMN Expert Meeting on Environmental Fate & Eco-Toxicology of Nanomaterials in Berlin im Januar 2013 (OECD 2014) entwickelte sich ein gemeinsamer Standpunkt bei den Experten, dass ein Bedarf für mindestens drei neue, nanomaterialspezifische Prüfrichtlinien zur Frage des Agglomerationsverhaltens, der Auflösung und der Transformation von Nanomaterialien existiert. Es wurde beschlossen zwei Prüfrichtlinien (Test Guidelines, TG) zusammen mit einem gemeinsamen Leitfaden (Guidance Document, GD) für die Dispersionsstabilität und das Auflösungsverhalten von Nanomaterialien zu entwickeln. Ziel war es, zwei OECD TGs zu entwickeln, die die experimentellen Routinen liefern, um das Agglomerations- und Auflösungsverhalten von Nanomaterialien unter den für diese Prozesse relevanten Bedingungen in natürlichen Wässern zu bestimmen. Die Ergebnisse der Prüfungen sollen es ermöglichen das Umweltverhalten der Materialien abzuschätzen, Aussagen darüber liefern welches Verhalten in den nachgeschalteten ökotoxikologischen Tests zu erwarten ist und beschreiben welche nanospezifischen Eigenschaften bezüglich Agglomeration und Auflösung in den Tests zu berücksichtigen sind. Ziel dieses Projektes war es, eine Prüfrichtlinie zur Dispersionsstabilität bzw. dem Agglomerationsverhalten von Nanomaterialien unter umweltrelevanten hydrochemischen Bedingungen zu entwerfen sowie erste Anhaltspunkte für einen Leitfaden zu dieser Prüfrichtlinie und der Prüfrichtlinie zum Auflösungsverhalten zu identifizieren (letztere nicht Teil dieses Projekts). Dieser Bericht enthält die experimentellen Ergebnisse, die während der Entwicklung der Methode zur Dispersionsstabilität in simulierten Umweltmedien erhalten wurden. Da Nanomaterialien in Testsystemen auch Umwandlungsreaktionen durchlaufen können, ist ein Teil dieses Berichts diesen Prozessen gewidmet. In Form einer Literaturstudie wird der Stand des Wissens in 2015 über typische Umwandlungsreaktionen dargestellt. Es ist anzumerken, dass der Wissensstand zu dieser Fragestellung seit damals schnell voran geschritten ist.

Technische Nanomaterialien (ENMs) verhalten sich in der Umwelt anders als gelöste Substanzen, Partikel  $> 1 \mu\text{m}$  oder Feststoffe. Durch ihre geringe Größe wird das Verhalten der Partikel weitgehend durch ihre Oberflächenchemie bestimmt und außer bei Partikeln mit hoher Dichte überwiegt in wässrigen Medien die Diffusion der Partikel ihre Sedimentation und die Partikel bleiben über längere Zeit im Schwebezustand (in Abhängigkeit von der Dichte sogar bis hin zu mikroskaligen Partikeln). Dies führt zur Ausbildung von Dispersionen selbst ohne zusätzliche Maßnahmen zur Stabilisierung. Eine Dispersion ist ein makroskopisch homogenes, flüssiges Medium in dem mikroskopische Phasenübergänge fest/flüssig existieren. Dispersionskolloide, zu denen viele ENPs gehören, sind thermodynamisch jedoch instabil, neigen dazu zu agglomerieren und sich durch Sedimentation der Agglomerate abzuschneiden. Dispersionskolloide können durch interpartikuläre Kräfte, die das Agglomerieren der Partikel verhindern, in einem pseudostabilen Zustand verbleiben. Das besondere Verhalten der ENPs lässt es naheliegend erscheinen, dass die Risikobewertung auf Verfahren zurückgreifen muss, die diese Besonderheiten gegenüber gelösten Substanzen oder klassischen Feststoffen berücksichtigen.

Die Ergebnisse aus Untersuchungen zur Dispersionstabilität und auch Auflösung lassen Rückschlüsse zu, ob und wenn ja, wie die Nanomaterialien in weiterführenden Prüfungen nano-spezifisch betrachtet werden müssen. So würde ein leicht und schnell lösliches Partikel u.U. klassisch wie lösliche Substanzen getestet werden, während für un-/teillösliche Partikel eine spezifische Prüfstrategie abgeleitet werden könnte. Beispielsweise würde ein unlösliches, gut dispergierbares Partikel eher zur Exposition von pelagialen Organismen führen, während bei schnell agglomerierenden, schlecht dispergierbaren Materialien Sedimentorganismen verstärkt exponiert würden. Dies könnte bei nachfolgenden Tests und deren Bewertung berücksichtigt werden.

Die Ergebnisse der einzelnen, hier dargestellten Experimente dienen der Gestaltung der OECD Testrichtlinie zur Testung des Dispersionsverhaltens in unterschiedlichen aquatischen Medien. Die Grundidee der dazu entwickelten Prüfmethode ist, eine Dispersion des zu testenden Nanomaterials

unterschiedlichen aber typischen hydrochemischen Bedingungen in einem Oberflächengewässer aussetzen und die Stabilität der Dispersion über die Zeit zu beobachten. Dies soll über regelmäßige Probennahmen kurz unter der Oberfläche der Dispersion und Konzentrationsbestimmung der darin (noch) enthaltenden ENPs erfolgen. Bei einer stabilen Dispersion wird diese Konzentration konstant sein, andernfalls sie sich durch Agglomeration und Sedimentation der Partikel verringern.

Partikel kleiner als etwa 1 µm Durchmesser bilden thermodynamisch instabile Dispersionen in wässrigen Medien. Solche lyophoben Dispersionskolloide (im Unterschied zu lyophilen Mizellen oder Molekülkolloiden), zu denen die meisten der derzeit betrachteten Nanopartikel gehören, können durch interpartikuläre Abstoßungskräfte in Dispersion gehalten werden. Die dafür notwendige Energiebarriere wird hauptsächlich durch elektrostatische und sterische Wechselwirkungen erzeugt. Andere Wechselwirkungen spielen ebenfalls eine Rolle (siehe Grasso, et al. 2002), sollen hier aber nicht betrachtet werden. Diese Wechselwirkungen werden kontrolliert durch die Materialeigenschaften, die Oberflächenchemie und die Zusammensetzung des die Partikel umgebenden Mediums (Wasserchemie). Je nach Partikeleigenschaften und der umgebenden Wasserchemie können sich demnach relativ stabile Dispersionen ausbilden oder die Partikel agglomerieren und sedimentieren. Die Zusammensetzung von natürlichen Wässern ist sehr komplex und räumlich/zeitlich variabel. Um das Verhalten der Partikel in natürlichen Wässern oder Testmedien zu bestimmen, kann man eine Dispersion der Partikel in einem bestimmten natürlichen Wasser oder Medium herstellen und das Verhalten der Partikel beobachten. Die hieraus erhaltenen Informationen mögen sehr realistisch für das untersuchte Wasser-/Partikelsystem sein, sind aber nicht übertragbar auf andere Wässer/Medien und die das Verhalten der Partikel bestimmenden Eigenschaften des Wassers/Mediums können nur schlecht oder gar nicht in Erfahrung gebracht werden. Im Rahmen von vorausgehenden Untersuchungen (Liu, et al. 2013, Ottoufelling, et al. 2011, von der Kammer, et al. 2010) konnten einige wenige Parameter als Haupteinflussfaktoren isoliert werden. Hierzu wurden die in nicht-marinen Oberflächengewässern normalerweise anzutreffenden Konzentrationsbereiche unterschiedlicher Kationen und Anionen berücksichtigt und mit dem Ausmaß ihres Einflusses auf die Agglomeration kombiniert. Die resultierenden primären Einflussfaktoren sind danach der pH-Wert, die Calciumionenkonzentration und die Konzentration natürlicher organischer Substanz. In einigen Wässern und bei bestimmten Partikeln können auch Magnesium- und Sulfationen einen Beitrag zur Agglomeration zeigen, um solche Wässer ebenfalls abzubilden kann mit  $MgSO_4$  als Elektrolyt gearbeitet werden; zusätzlich zu dem hier verwendeten  $Ca(NO_3)_2$  und im häufig anzutreffenden Molverhältnis von 1:4 für Mg zu Ca. Die gewählten Salze ergeben sich aus der Betrachtung ihres Vorkommens in Gewässern und ihres Einflusses auf die Dispersionsstabilität hauptsächlich elektrostatisch stabilisierter ENMs: die einwertigen Kationen (Na, K) haben nur geringen Einfluss auf die Agglomerationsneigung stabiler Dispersionen, während die in ähnlich hohen Konzentrationen vorkommenden zweiwertigen Kationen (Ca, Mg) aufgrund ihres weit größeren Einflusses auf die Stabilität (Schultze-Hardy-Regel) den Prozess dominieren. Dreiwertige Kationen (Al, Fe) haben noch einen weit stärkeren Effekt, kommen aber nur in vernachlässigbaren Konzentrationen vor. Die für die Tests ausgewählten Konzentrations- und pH-Wertbereiche decken etwa 95% der Werte ab, die in Europäischen Oberflächengewässern gefunden werden (Salminen 2007) und daher einen weiten Bereich realer Konzentrationen. Während es praktisch unmöglich ist, die vollständige Bandbreite natürlicher Wässer im Labor zu testen, ermöglicht die für die OECD TG vorgeschlagene Prozedur eine systematische und vergleichsweise einfache Abschätzung auf Basis der wichtigen Parameter.

In natürlichen Gewässern wird die Konzentration ENMs um Größenordnungen unter denen natürlicher Partikel liegen. Daher ist die Agglomeration der ENMs mit natürlichen Partikeln (Heteroagglomeration) von größerer Bedeutung für den Transport und Verbleib, als die Homoaggregation zwischen den ENPs selbst. Dies gilt jedoch nicht unbedingt für die standardisierten OECD Prüfsysteme, in denen die ENMs die einzigen partikulären Feststoffe darstellen können. Es würde sich auch die Frage stellen, was ein standardisiertes Material sein könnte, das den Gegenpart in einem Test zur Heteroagglomeration dar-

stellen könnte (Schwebstoffflocken, Klärschlamm, Sedimentpartikel?). Natürliche Partikel wie Gewässerschwebstoff sind sehr komplex und zeitlich und räumlich sehr variabel in ihrer Zusammensetzung und Gestalt. Darüber hinaus sind experimentelle und analytische Ansätze zur Messung der Heteroagglomeration noch nicht weit entwickelt. Erste Ansätze zu einer Bestimmung von Heteroagglomerationsprozessen in einem experimentellen Ansatz, der dem hier vorgestellten ähnelt, gibt es seit kurzem (Barton, et al. 2014) und das in diesem Projekt von Anfang an verfolgte Konzept eines sinnvoll vereinfachten Testverfahrens wurde kürzlich allgemein für die Testung von ENPs beschrieben (Hendren, et al. 2015). Das hier beschriebene Verfahren stellt eine gut begründete Vereinfachung von weit umfangreicheren Tests dar (Ottofuelling, et al. 2011) und verzichtet absichtlich auf die Einbeziehung von Heteroagglomerationsprozessen wegen der derzeit noch vorherrschenden Probleme bei der Definition eines dafür geeigneten Testsystems. Die Parameter, die für den hier entwickelten Test relevant sind und auf ihre Auswirkungen auf das Ergebnis untersucht wurden, sind:

**Ionenstärke** – kontrolliert die Ausdehnung der elektrochemischen Doppelschicht an der Oberfläche der Partikel (Debye-Länge  $\kappa^{-1}$ ) und damit das Ausmaß und die Reichweite der elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Partikeln. Die Ionenstärke berücksichtigt die Konzentration und die Valenz aller beteiligten Ionen einer Lösung. Die Valenz der zur Partikeloberflächenladung entgegen geladenen Ionen beeinflusst aber die Stabilität von elektrostatisch stabilisierten Dispersionen (z.B. die Kritische Koagulationskonzentration) deutlich stärker (Schulze-Hardy Regel) als dies durch den Anstieg der Ionenstärke bei Erhöhung der Valenz wiedergegeben wird. Im Test wird die Konzentration von  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (ergänzt alternativ um  $\text{MgSO}_4$ ) zwischen 0 und 10 mM variiert.

**pH-Wert** – für Partikel mit variablen Oberflächenladungen (z.B. Metalloxide, amphotere organische Überzüge, Überzüge mit Carboxyl- oder Aminogruppen) spielt der pH-Wert eine große Rolle für die Ladung der Oberfläche und damit für die Stabilität einer wässrigen Dispersion dieser Partikel. Der pH-Wert kontrolliert dabei sowohl die Ladungsdichte auf der Oberfläche (durch Protonierung/ Deprotonierung) als auch die Polarität der Oberflächenladung bei amphoter reagierenden Oberflächen. Am Ladungsnullpunkt (point of zero charge PZC) fehlen die Abstoßenden Elektrostatischen Kräfte und die Dispersion ist instabil. Der PZC ist eine Materialeigenschaft und ist gleich dem isoelektrischen Punkt (isoelectric point IEP) wenn keine spezifische Adsorption von Bestandteilen des Mediums an der Oberfläche vorliegt. Im Test wurde der pH Wert zwischen 5 und 8.5 variiert.

**Konzentration natürlicher organischer Substanz (dissolved organic matter DOM)** – in vielen Fällen erhöht die Anwesenheit von DOM im Wasser/Medium die Stabilität einer Dispersion. Dies liegt hauptsächlich an drei Faktoren: zum einen adsorbiert die DOM an die Oberflächen vieler ENPs und erhöht dort die negative Ladung durch die im neutralen pH-Bereich de-protonierten Carboxylgruppen der DOM. Diese Erhöhung der negativen Ladung verbessert die Abstoßung zwischen den Partikeln. Die DOM Moleküle verhindern auch durch sterische Effekte eine Annäherung von Partikeln und drittens komplexiert DOM viele mehrwertige Kationen wie Calcium sehr effektiv und reduziert damit die Aktivität des Kations und damit seinen Beitrag zur De-stabilisierung der Dispersion. Im Falle einer positiven Oberflächenladung würde die Zugabe von DOM die Ladung zunächst vom Betrag her reduzieren (bis zum IEP) und damit die Dispersion de-stabilisieren, eine weitere Zugabe würde dann eine negative Oberflächenladung etablieren und wieder zu Stabilität der Dispersion führen. Im Test wurden DOM Konzentrationen zwischen 0 und 30 ppm (als DOC, dissolved organic carbon) eingesetzt.

**Partikelkonzentration** – das Prinzip des Tests basiert auf der Agglomeration der Partikel und dem nachfolgenden Sedimentieren. Damit unterschiedliche Materialien miteinander verglichen werden können muss der Agglomerationsvorgang für ähnlich instabile Dispersionen auch ähnlich schnell verlaufen. Da die Partikel-Anzahlkonzentration ein entscheidender Faktor für die Geschwindigkeit des Prozesses ist, muss diese für unterschiedliche Materialien am Anfang möglichst gleich sein. Es wurde untersucht, wie genau diese Anfangskonzentration einzustellen ist.

Partikelgröße und -dichte – eine instabile Dispersion wird durch Agglomeration der ENPs und Sedimentation der gebildeten Agglomerate im Test erkannt. Die Sedimentationsrate wird hierbei durch die Größe der Aggregate und ihre Dichte bestimmt (zu einem Teil auch durch die Form und Durchströmbarkeit der Agglomerate, dies soll aber hier unberücksichtigt bleiben, da beide Eigenschaften schwer zu bestimmen sind). Gerade Agglomerate aus Materialien mit einer nur leicht höheren Dichte als die des Mediums können während der Dauer des Tests in Schwebelage bleiben und so eine stabile Dispersion vortäuschen. Daher wird das Testgefäß am Ende des Tests zentrifugiert und über die Berechnung einer Zentrifugationszeit (Berechnungshilfe als Anhang zur Prüfrichtlinie), die eine einheitliche Partikelgröße (1 µm) und die Dichte des Materials berücksichtigt, wird wieder Vergleichbarkeit hergestellt.

Rolle des atmosphärischen CO<sub>2</sub> – wie zuvor bereits angeführt können Substanzen, die auf die Oberfläche der Partikel sorbieren, die Ladung der Oberfläche beeinflussen. Damit gilt dann IEP ≠ PZC. Da der IEP wichtig für die Dispersionsstabilität ist, wurde der Einfluss von CO<sub>2</sub> auf die Dispersionsstabilität untersucht. Es war davon auszugehen, dass aus CO<sub>2</sub> gebildetes und sorbierendes CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> den IEP zu niedrigen pH-Werten verschiebt. Auch wenn dieser Effekt in der Literatur häufig beschrieben ist, konnte keine Veränderung der Dispersionsstabilität der getesteten Materialien mit und ohne Luftabschluss gefunden werden.

Das Ergebnis des hier entwickelten Tests beschreibt die Dispergierbarkeit/Dispersionsstabilität sowie das Agglomerationsverhalten unter standardisierten Bedingungen.

Dispergierbarkeit – beschreibt wie gut ein partikuläres Material in einem Medium zu einer Dispersion verarbeitet werden kann. Viele Produkte unseres täglichen Bedarfs sind (meist recht stabile) Dispersionen oder Emulsionen. Das zeigt, dass viele partikuläre Materialien unter Zuhilfenahme von Hilfsstoffen und Energiezufuhr dispergierbar sind. Die Frage hier ist jedoch wie sich ENMs unter Bedingungen, wie sie in natürlichen Oberflächengewässern existieren, dispergieren lassen. Die Dispergierbarkeit ist also immer systembezogen und kann nur für eine bestimmte Prozedur angegeben werden. In der hier definierten Methode (in Anlehnung an existierende Protokolle) wird zunächst eine höher konzentrierte Vorratsdispersion produziert (definiert sind Massenkonzentration ENM, Ultraschallsonde und eingetragene Ultraschallenergie) aus der verdünnte Dispersionen unterschiedlichen hydrochemischen Bedingungen ausgesetzt werden (definiert sind Anzahlkonzentration, pH-Wert, Ionenstärke, DOM Konzentration und Versuchsdauer). Dispergierbarkeit kann dann definiert werden in > x% noch dispergiert nach y Stunden Beobachtungszeit. Es sind somit zwei Messungen nötig. Einfach zu beschreiben sind Proben, die bereits beim Herstellen der Vorratsdispersion innerhalb von wenigen Minuten sedimentieren und einen klaren Überstand hinterlassen. Problematisch erweisen sich hier heterogene Nanomaterialien, bei denen ein Anteil stabil dispergierbar ist, ein Anteil jedoch nicht. Im Prinzip müssten die beiden Anteile gesondert betrachtet werden.

Dispersionsstabilität – gibt an wie langzeitstabil die Dispersion unter unterschiedlichen Bedingungen ist. Wobei der Zeitraum der Beobachtung eine Rolle spielt und die Stabilität auch von der Anzahlkonzentration der ENPs in der Dispersion abhängt. Es müssen daher mindestens Beobachtungsdauer und Anzahlkonzentration definiert sein. Bei gleicher Anzahlkonzentration zu Beginn des Tests und gleicher Beobachtungsdauer werden sich unterschiedliche Materialien gleicher Dispersionsstabilität sehr ähnlich verhalten. Voraussetzung zum Vergleich unterschiedlicher Materialien ist, dass unterschiedliche Dichten berücksichtigt werden (Zentrifugationsschritt).

Die Prüfmethode benötigt eine präzise Partikelmassenkonzentrationsbestimmung im Überstand der Testgefäße. Daher wurden geeignete und häufig verwendete Verfahren (Trübungsmessung, UV/VIS-Absorptionsspektrometrie, ICP-OES und ICP-MS) auf ihre Anwendbarkeit untersucht. Die Dispersionsstabilität spielt in der technischen Chemie eine große Rolle, z.B. in der Lack- und Farbenindustrie. Hierfür existieren speziell entwickelte Messgeräte von denen der Formulacion Turbiscan LAB auf die Anwendbarkeit für das zu entwickelnde Testverfahren untersucht wurde.

Im Prinzip kann die Testung der Dispersionsstabilität als erweiterter Test der Dispergierbarkeit an mehreren Zeitpunkten angesehen werden.

**Untersuchungszeitraum und Anzahlkonzentration**– Der Untersuchungszeitraum wurde auf 6 Stunden festgelegt. Dieser Zeitraum ergibt sich aus den Beobachtungen, dass bei einer festgelegten Anzahlkonzentration zum Beginn des Tests die Sedimentation einer destabilisierten Dispersion nach 6 Stunden in jedem Fall abgeschlossen ist, bei Partikeln mit geringer Dichtedifferenz zum Medium wird diese durch die Zentrifugation erzielt. Die beiden Randbedingungen Anzahlkonzentration und Dauer sind daher direkt miteinander gekoppelt. Bei höherer Anzahlkonzentration wäre die benötigte Dauer geringer und umgekehrt. Hierbei ist die benötigte Genauigkeit der Anzahlkonzentration in einer Untersuchung der Empfindlichkeit der Ergebnisse von dieser Konzentration untersucht worden. Es genügt die Anzahlkonzentration im Bereich plus/minus einer halben Größenordnung zu bestimmen. Hierfür genügen meist Herstellerangaben zur mittleren Partikelgröße und Dichte um mit Hilfe einer sphärischen Geometrie die Anzahlkonzentration zu berechnen. Alternativ kann eine DLS Messung der Vorratsdispersion herangezogen werden. Aufgrund der niedrigen benötigten Genauigkeit (oder hohen Robustheit) erübrigen sich Diskussionen über die Präzision von DLS Messungen oder Herstellerangaben, die Genauigkeit der Materialdichte oder Einfluss von Partikelgeometrien. Wenn jedoch erhebliche Abweichungen von den Annahmen bekannt sind, müssen diese berücksichtigt werden. Ein Beispiel wären stäbchenförmige Partikel und Materialien mit einer sehr breiten Partikelgrößenverteilung.

Im Prinzip ist die Untersuchung der Dispersionstabilität in diesem Test eine Dispergierbarkeits-Untersuchung mit höherer Zeitauflösung. Sie zeigt zusätzlich das zeitliche Verhalten der Dispersion in Bezug auf ihre Sedimentation und Phasentrennung im natürlichen Schwerfeld, während der Zentrifugationsschritt nach 6 Stunden (Dispergierbarkeit) eine Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlichen Materialien ermöglicht. Die höhere Zeitauflösung ermöglicht den Prozess der Trennung besser einzuschätzen (Abb. 1).

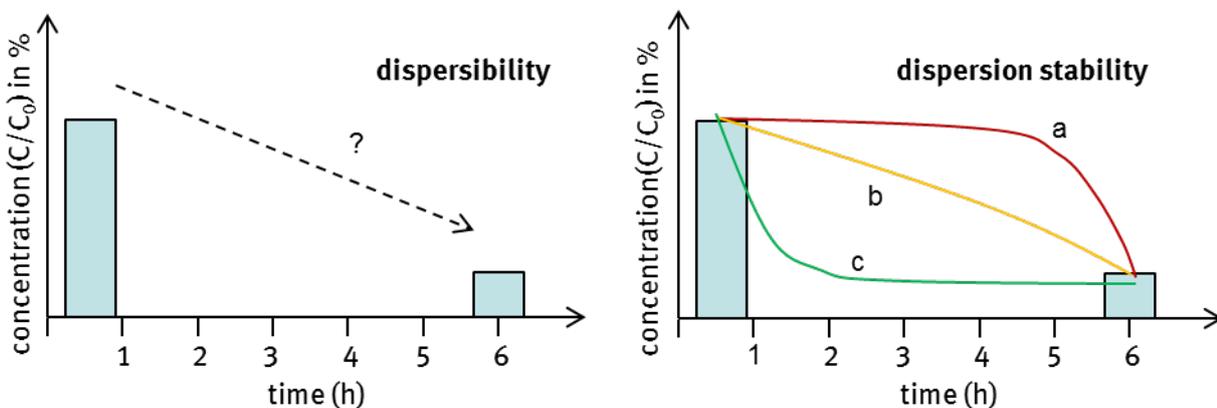


Abbildung 1: Mögliche Ergebnisse aus dem Dispergierbarkeits- und Dispersionstabilitätstest, das 2-Punkt und 7-Punkt Messverfahren.

Der in Abb. 1 dargestellte Fall (a) würde durch Partikel entstehen, die zwar agglomerieren, aber durch ihre geringe Dichte in Schwebelag bleiben, Fall (b) zeigt eine kontinuierliche Abscheidung während eines (relativ zu c) langsamen Agglomerationsprozesses. Fall (c) weist darauf hin, dass die Dispersion aus zwei Fraktionen besteht, einer stabilen, die auch über 6 h nicht agglomeriert und einer, die sehr schnell sedimentiert. Als alternative Analytikmethode wurde ein Batch-Verfahren mit einem UV/VIS Spektrophotometer erprobt, das eine noch höhere zeitliche Auflösung ermöglicht und für Partikeltypen, die im UV/VIS Spektrophotometer in Trübung oder in echter Absorption gemessen werden können, geeignet ist. Es ergeben sich Nachteile bezüglich Zeitaufwand und Empfindlichkeit, auf die in der TG eingegangen wird.

Mit Hilfe der Prüfmethode können ENM entsprechend ihres Verhaltens in verschiedene Klassen von Dispersionsstabilitäten eingeordnet werden. So wird ein ENM zunächst in Anwesenheit von DOM unter allen drei pH-Werten und Ca-Konzentrationen auf seine Dispergierbarkeit getestet (2-Punkt-Verfahren). Wenn es unter allen dieser Bedingungen zu mehr als 90% nach 6h im Überstand gefunden wird gilt es als gut dispergierbar und stabil. Wenn es zu weniger als 10% im Überstand gefunden wird, gilt es als nicht dispergierbar und instabil. Es muss dann nicht weiter hinsichtlich Dispersionsstabilität getestet werden. ENM mit Ergebnissen zwischen 10 und 90% werden dem detaillierteren Dispersionsstabilitätsverfahren unterzogen (7-Punkt-Verfahren) und unter Einfluss von DOM und ohne DOM untersucht.

Es muss darauf hingewiesen werden, dass die zum Zeitpunkt 0 h in den Testgefäßen gemessene Konzentration als 100% definiert ist und alle während des Tests auftretenden Verluste im Überstand auf diesen Wert bezogen werden. Durch Verluste an Oberflächen oder vorzeitige Sedimentation zwischen dem Ansetzen der Testdispersion und dem Start des Tests kann dieser Startwert sich vom erwarteten Wert, der sich aus Einwaage und Verdünnungsfaktoren ergibt, abweichen. Dieser Unterschied soll erfasst und im Testbericht festgehalten werden. Hohe Verluste in dieser Startphase können darauf hindeuten, dass das verwendete Gefäßmaterial für das zu testende Nanomaterial ungeeignet ist und Alternativen gefunden werden müssen.

Im Rahmen des Vorhabens wurden drei ENM ausgewählt, um die Anwendbarkeit des Testverfahrens zu überprüfen. Zum einen Silber-NPs (NM300K), die bekannt sind unter vielen Bedingungen eine stabile Dispersion auszubilden (positive Kontrolle), Kohlenstoffnanoröhren (NM400), die unter den meisten Bedingungen keine stabile Dispersion ausbilden (negative Kontrolle) und ein ENM, welche bekanntermaßen ein Dispersionsverhalten zeigt, das sehr stark von den Umgebungsbedingungen abhängt, Titandioxid (NM105).

Die ausgewählten hydrochemischen Bedingungen im Test ergeben sich aus einer Datenbankanalyse für europäische Oberflächengewässer (Salminen, et al. 2005) und aktueller Literatur zu Stabilitätsbereichen von ENM in aquatischen Medien (Hammes, et al. 2013, von der Kammer, et al. 2010, Zhu, et al. 2014). Als natürliche organische Substanz (DOM) wird Suwannee River NOM vorgeschlagen, in einer Konzentration von 10 mg/L, wobei nicht nur die Massenkonzentration der DOM und der Partikel eine Rolle spielt, sondern die verfügbare Oberfläche der Partikel in der Dispersion berücksichtigt werden soll. Der pH-Werte-Bereich wurde zunächst mit 5 – 7 – 8,5 festgelegt, im Zuge der Abstimmungen mit der OECD jedoch auf 4 bis 9 geändert, um eine Angleichung an existierende TGs zu gewährleisten. Der Bereich der Kalziumkonzentration wurde mit 0 – 1 – 10 mmol/L als  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  festgelegt, mit der Option dies um  $\text{MgSO}_4$  zu ergänzen (im Molverhältnis 4:1 Ca:Mg).

Die auf Basis der hier dargestellten Ergebnisse erstellte Testrichtlinie wurde im Oktober 2017 durch das Council der OECD verabschiedet und kann auf den Internetseiten der OECD unter [http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-318-dispersion-stability-of-nanomaterials-in-simulated-environmental-media\\_9789264284142-en](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-318-dispersion-stability-of-nanomaterials-in-simulated-environmental-media_9789264284142-en) abgerufen werden.

## Referenzen

Barton, L. E.; Therezien, M.; Auffan, M.; Bottero, J. Y.; Wiesner, M. R., Theory and Methodology for Determining Nanoparticle Affinity for Heteroaggregation in Environmental Matrices Using Batch Measurements. *Environmental Engineering Science* **2014**, *31*, (7), 421-427.

Grasso, D.; Subramaniam, K.; Butkus, M.; Strevett, K.; Bergendahl, J., A review of non-DLVO interactions in environmental colloidal systems. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* **2002**, *1*, (1), 17-38.

- Hammes, J.; Gallego-Urrea, J. A.; Hassellöv, M., Geographically distributed classification of surface water chemical parameters influencing fate and behavior of nanoparticles and colloid facilitated contaminant transport. *Water Research* **2013**, *47*, (14), 5350-5361.
- Hendren, C. O.; Lowry, G. V.; Unrine, J. M.; Wiesner, M. R., A functional assay-based strategy for nanomaterial risk forecasting. *Science of the Total Environment* **2015**, *536*, 1029-1037.
- Liu, J. F.; Legros, S.; Von der Kammer, F.; Hofmann, T., Natural Organic Matter Concentration and Hydrochemistry Influence Aggregation Kinetics of Functionalized Engineered Nanoparticles. *Environmental Science & Technology* **2013**, *47*, (9), 4113-4120.
- OECD, ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL FATE OF MANUFACTURED NANOMATERIALS: TEST GUIDELINES. *Expert Meeting Report. Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. No. 40*, **2014**.
- Ottofuelling, S.; Von Der Kammer, F.; Hofmann, T., Commercial Titanium Dioxide Nanoparticles in Both Natural and Synthetic Water: Comprehensive Multidimensional Testing and Prediction of Aggregation Behavior. *Environmental Science & Technology* **2011**, *45*, (23), 10045-10052.
- Salminen, R.; Plant, J. A.; Reeder, S., *Geochemical atlas of Europe. Part 1, Background information, methodology and maps* **2005**.
- von der Kammer, F.; Ottofuelling, S.; Hofmann, T., Assessment of the physico-chemical behavior of titanium dioxide nanoparticles in aquatic environments using multi-dimensional parameter testing. *Environmental Pollution* **2010**, *158*, (12), 3472-3481.
- Zhu, M.; Wang, H.; Keller, A. A.; Wang, T.; Li, F., The effect of humic acid on the aggregation of titanium dioxide nanoparticles under different pH and ionic strengths. *Science of the Total Environment* **2014**, *487*, 375-380.