

TEXTE

45/2016

# Zusammenstellung der Ergebnisse des Sponsorship Programms zu nanoskaligem Titandioxid der OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials



TEXTE 45/2016

# **Zusammenstellung der Ergebnisse des Sponsorship Programms zu nanoskaligem Titandioxid der OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials**

von

Dr. Kathrin Schwirn, Dr. Doris Völker  
Umweltbundesamt

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:**

Umweltbundesamt  
Wörlitzer Platz 1  
06844 Dessau-Roßlau

**Abschlussdatum:**

Dezember 2015

**Redaktion:**

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

Publikationen als pdf:

<http://www.umweltbundesamt.de/publikationen/zusammenstellung-der-ergebnisse-des-sponsorship>

ISSN 1862-4804

Dessau-Roßlau, Mai 2016



## **Vorbemerkung**

Dieser Bericht stellt die Ergebnisse des Sponsorship Programms zur Ökotoxikologie und zum Umweltverhalten von nanoskaligem Titandioxid der OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials (WPMN) zusammen. Die in diesem Bericht aufgeführten Daten sind dem Dossier der WPMN zu nanoskaligem Titandioxid entnommen. Dieses Dossier ist veröffentlicht unter: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/nanosafety/dossiers-and-endpoints-testing-programme-manufactured-nanomaterials.htm>

## Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis .....	4
1 Das OECD Sponsorship Programm: Motivation und Ziele, Aufbau und Vorgehensweise.....	5
2 Wissenschaftliche Ergebnisse des OECD Sponsorship Programms zu nanoskaligem Titandioxid bezüglich Umweltverhalten und Ökotoxikologie .....	7
2.1 Wissenschaftliche Erkenntnisse zum Umweltverhalten von TiO <sub>2</sub> Nanomaterialien .....	8
2.2 Wissenschaftliche Erkenntnisse zur Ökotoxikologie von TiO <sub>2</sub> Nanomaterialien.....	8
2.3 Zusammenfassung und Ausblick.....	10
3 Anpassungsbedarf der im OECD Sponsorship Programm zu nanoskaligem Titandioxid angewandten Methoden zur Erfassung der Ökotoxikologie und des Umweltverhaltens aus Sicht des Umweltbundesamtes .....	11
4 Auf Grundlage der Ergebnisse des OECD Sponsorship Programms identifizierter Forschungsbedarf zu Ökotoxikologie und Umweltverhalten .....	13

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht der im SSP zu nTiO <sub>2</sub> betrachteten, repräsentativen Materialien .....	6
Tabelle 2:	Übersicht zum Überarbeitungs- und Ergänzungsbedarf der im Sponsorship Programm angewandten Testrichtlinien der OECD für die Bereiche Umweltverhalten und Ökotoxikologie .....	13

## 1 Das OECD Sponsorship Programm: Motivation und Ziele, Aufbau und Vorgehensweise

Das Sponsorship Programm ist das zentrale Testprogramm der 2007 gegründeten OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials (WPMN). Diese wurde ins Leben gerufen, um einen zwischen den Mitgliedsstaaten koordinierten Ansatz zu Sicherheitsfragen für technisch hergestellte Nanomaterialien zu ermöglichen. An der WPMN nehmen 30 OECD-Mitgliedsstaaten sowie die EU-Kommission teil. Zusätzlich sind auch einige Nichtmitgliedsstaaten, sowie Organisationen aus Industrie, Normungs- und Umweltverbänden vertreten. Deutschland ist an den Aktivitäten im Rahmen der WPMN maßgeblich beteiligt. Der Vorsitz der deutschen Delegation liegt beim Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit (BMUB). Die Koordinierung des deutschen Beitrags zum OECD Sponsorship Programm lag beim Umweltbundesamt.

Die Idee des OECD Sponsorship Programms war es, Daten zu ausgewählten und präzise beschriebenen, technisch hergestellten Nanomaterialien zusammen zu tragen. Auf diese Weise sollten Informationen zu physikalisch-chemischen Eigenschaften, Verhalten und Effekten auf Mensch und Umwelt erhalten und diese in Relation zueinander gesetzt werden. Diese Informationen sollten ebenso Unterschiede zwischen den innewohnenden Eigenschaften von spezifisch ausgewählten Varianten der verschiedenen Nanomaterialien aufdecken. Diese Varianten unterscheiden sich hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung, Größe, Form oder Oberflächenbeschaffenheit voneinander. Ein weiterer Schwerpunkt des Programms war es, standardisierte Testrichtlinien der OECD, mit denen das Verhalten und Effekte auf Mensch und Umwelt von Chemikalien untersucht werden, auf ihre Anwendbarkeit auf Nanomaterialien zu prüfen.

In einem ersten Schritt wurden 14 chemische Stoffe gewählt, von denen verschiedene nanoskalige Varianten im Testprogramm vergleichend untersucht werden sollten<sup>1</sup>. Diese Liste wurde später auf eine Zahl von 11 angepasst. Diese sind:

- Fullerene (C<sub>60</sub>)
- einwandige Kohlenstoffnanoröhren (SWCNTs)
- mehrwandige Kohlenstoffnanoröhren (MWCNTs)
- nanoskaliges Silber (nAg)
- nanoskaliges Titandioxid (nTiO<sub>2</sub>)
- nanoskaliges Ceriumdioxid (nCeO<sub>2</sub>)
- nanoskaliges Zinkoxid NM (nZnO)
- nanoskaliges Siliziumdioxid NM (nSiO<sub>2</sub>)
- Dendrimere
- nanoskalige Schichtsilikate
- nanoskaliges Gold (nAu )

Kriterien, die zur Auswahl dieser chemischen Stoffe und ihrer jeweiligen nanoskaligen Varianten führten, umfassen ihre Marktrelevanz bzw. Marktreife, ihre Produktionsmengen, ihre qualitative und

---

<sup>1</sup> List of manufactured nanomaterials and list of endpoints for phase one of the sponsorship programme for the testing of manufactured nanomaterials [ENV/JM/MONO(2010)46]: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2010\)46&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2010)46&doclanguage=en)

quantitative Verfügbarkeit für das Testprogramm und den Umfang an bereits bestehenden Informationen.

Die Teilnehmer des Sponsorship Programms einigten sich untereinander, welche Verantwortung sie für die Informationserhebung zu den einzelnen Nanomaterialien übernehmen wollen. Danach waren sogenannte „Lead-sponsoren“ federführend für die Sammlung von Informationen aller Varianten eines chemischen Stoffes zuständig. „Co-Sponsoren“ unterstützten diesen Prozess, in dem sie in Teilverantwortung agierten und z. B. für die Datenerhebung eines Teilbereiches oder einer bestimmten Variante zuständig waren. „Contributoren“ trugen zur Datensammlung bei, indem sie verfügbare Informationen aus bestehenden nationalen Forschungsprojekten in das Programm einspeisten.

Deutschland war in diesem Prozess zusammen mit Frankreich „Lead-sponsor“ für nTiO<sub>2</sub>, als „Co-Sponsor“ teilverantwortlich für nAg und trug in der Rolle des „Contributor“ zu der Datenerhebung zu nCeO<sub>2</sub>, nZnO, MWCNT, SWCNT und nAu bei. Neben Deutschland und Frankreich als „Lead-sponsoren“ unterstützten Österreich, Kanada, Südkorea, Spanien, die USA, die Europäische Kommission und BIAC<sup>2</sup> die Datenerhebung zu nTiO<sub>2</sub>. Beiträge als „Contributor“ leisteten Dänemark, Japan und Großbritannien. Über 30 Forschungsinstitute aus diesen Ländern trugen mit ihren Ergebnissen zur Vervollständigung des Datensatzes bei.

Die Beteiligten des Programms einigten sich auf 59 sogenannte Endpunkte<sup>1,3</sup>, die für die Varianten der ausgewählten Nanomaterialien erhoben werden sollten. Diese Endpunkte umfassten Informationen zur 1) Identität des Nanomaterials, 2) physikalisch-chemische Charakterisierung, 3) Umweltverhalten, 4) Ökotoxikologie, 5) Toxikologie, 6) sicherheitstechnische Kenndaten. Diese Informationen sollten durch Experimente erhoben oder aus bestehenden Projekten und Veröffentlichungen recherchiert werden. Um eine über die Nanomaterialien hinweg konsistente und damit vergleichbare Bearbeitung durch die verschiedenen Sponsoren zu erreichen, wurde ein Leitfaden entwickelt, der die Prinzipien und Vorgehensweise im Sponsorship Programm erläutert<sup>4</sup>.

Zur Unterstützung des Testprogramms veröffentlichte die WPMN einen Leitfaden zur Testvorbereitung und -durchführung<sup>5</sup>.

Für das Testprogramm zu nTiO<sub>2</sub> wurden folgende Materialien ausgewählt:

Tabelle 1: Übersicht der im SSP zu nTiO<sub>2</sub> betrachteten, repräsentativen Materialien

TiO <sub>2</sub> NM Akronym	Handelsname (Hersteller)	Eigenschaften (Primärpartikelgröße in Nanometer [nm], Kristallstruktur, ggf. Oberflächenmodifikation)
NM 105*	Aeroxide P25 (Evonik)	21nm, anatas/rutil
NM 101	Hombikat UV 100 (Sachtleben)	10nm, anatas
NM 102	PC 105 (Cristal Global)	20nm, anatas

<sup>2</sup> Business and Industry Advisory Committee to the OECD: Vertretung der Industrie innerhalb der OECD

<sup>3</sup> Unter einem Endpunkt versteht man in der Chemikalienbewertung den in einer Studie zentral zu ermittelnden Parameter, z.B. die akute dermale Toxizität oder die Abbaubarkeit in der Umwelt.

<sup>4</sup> Guidance Manual for the Testing of Manufactured Nanomaterials: OECD's Sponsorship Programme [ENV/JM/MONO(2009)20/REV]: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2009\)20/rev&docLanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2009)20/rev&docLanguage=en)

<sup>5</sup> Guidance on Sample Preparation and Dosimetry for the Safety Testing of Manufactured Nanomaterials [ENV/JM/MONO(2012)40]: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2012\)40&docLanguage=En](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2012)40&docLanguage=En)

TiO <sub>2</sub> NM Akronym	Handelsname (Hersteller)	Eigenschaften (Primärpartikelgröße in Nanometer [nm], Kristallstruktur, ggf. Oberflächenmodifikation)
NM 103	UV Titan M262 (Sachtleben)	20nm, rutil, Oberflächenbehandlung: Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> und Dimethicone, hydrophob
NM 104	UV Titan M212 (Sachtleben)	20nm, rutil, Oberflächenbehandlung: Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> und Glycerin, hydrophil
NM 100 <sup>6</sup>	Tiona AT-1 (Cristal Global)	220nm, anatas

\* NM 105 ist das sogenannte „Hauptmaterial“, also jenes, das es im Rahmen des Sponsorship Programm zu nTiO<sub>2</sub> primär zu untersuchen galt.

<sup>6</sup>NM 100 als nicht nanoskaliges TiO<sub>2</sub> wurde für Vergleichszwecke gewählt.

Für diese Materialien sollten möglichst viele Endpunkte belegt werden, wobei für NM 105 als sogenanntes „Hauptmaterial“ möglichst ein vollständiger Datensatz zu den oben genannten Punkten entstehen sollte. Zur Datenerhebung wurden sowohl wissenschaftliche Veröffentlichungen herangezogen, als auch experimentelle Studien durchgeführt.

Die experimentellen Arbeiten am OECD Sponsorship Programm starteten 2009 und wurden Ende 2013 beendet. Im Sommer 2014 beschloss die OECD WPMN die Ergebnisse in sogenannten IUCLID<sup>6</sup> Dossiers zu veröffentlichen. Diese Dossiers enthalten neben den erfassten Informationen auch Informationen zu den dazu genutzten Methoden und Protokollen. Die Dossiers sind eine Zusammenstellung der ermittelten Daten und enthalten keinerlei Auswertung hinsichtlich ihrer Relevanz und Qualität für die Nutzbarkeit zur Regulierung. Auch eine Bewertung des Gesundheits- oder Umweltrisikos der untersuchten Nanomaterialien war nicht Ziel des Programms und wurde daher nicht durchgeführt. Die veröffentlichten Dossiers sind auf den Internetseiten der OECD zur Sicherheit von Nanomaterialien zu finden (<http://www.oecd.org/chemicalsafety/nanosafety/dossiers-and-endpoints-testing-programme-manufactured-nanomaterials.htm>).

## 2 Wissenschaftliche Ergebnisse des OECD Sponsorship Programms zu nanoskaligem Titandioxid bezüglich Umweltverhalten und Ökotoxikologie

Im Rahmen des Testprogramms zu nTiO<sub>2</sub> war Deutschland für die Erhebung von Daten zur Ökotoxikologie und zum Umweltverhalten verantwortlich. Die Mehrheit der in Deutschland erhobenen Daten stammt aus Projekten, die durch den Umweltforschungsplan des BMUB finanziert und durch das Umweltbundesamt betreut wurden. Mit den kommenden Arbeiten innerhalb der OECD WPMN sollen die Daten dann hinsichtlich ihrer Qualität und Belastbarkeit für eine Bewertung der Gefährdung geprüft und der Anpassungsbedarf der Methoden ausgewertet werden. Im folgenden Text werden daher nur die wesentlichen zentralen wissenschaftlichen Erkenntnisse des Sponsorship Programm zur Ökotoxikologie und zum Umweltverhalten von nTiO<sub>2</sub> durch das Umweltbundesamt im Auftrag des BMUB zusammengefasst. Um den Ergebnissen der OECD nicht vorzugreifen, findet eine Bewertung der Daten an dieser Stelle nicht statt.

Die Mehrzahl der im OECD Sponsorship Programm zu nTiO<sub>2</sub> erhobenen Daten liegen zu NM 105 als sogenanntes „Hauptmaterial“ vor. Für die anderen Varianten stehen nur teilweise Daten zur Verfügung.

<sup>6</sup> IUCLID = International Uniform Chemical Information Database, genauere Informationen hierzu finden sich auf den Seiten der OECD unter: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/electronictoolsfordatasubmissionevaluationandexchangeintheoecdcooperativechemicalsassessmentprogramme.htm>

## 2.1 Wissenschaftliche Erkenntnisse zum Umweltverhalten von TiO<sub>2</sub> Nanomaterialien

Im Sponsorship Programm wurden Informationen zur Mobilität und Verteilungsverhalten von nTiO<sub>2</sub> in der Umwelt erhoben. Da Metalloxide, zu denen auch nTiO<sub>2</sub> gehören, keinem biologischen oder fotokatalytischen Abbau unterliegen, wurden diese nicht untersucht. Wohl aber wurden Aspekte wie Agglomeration, Sedimentation und Umwandlungen betrachtet, bei denen davon ausgegangen wird, dass sie Auswirkungen auf das weitere Verhalten und die Bioverfügbarkeit der Nanomaterialien in der Umwelt haben.

Die im Testprogramm untersuchten nTiO<sub>2</sub> neigen dazu, in wässriger Lösung zu agglomerieren und zu sedimentieren. Dieses Verhalten ist zum einen abhängig von den Eigenschaften des jeweiligen nTiO<sub>2</sub> (z. B. Größe und Oberflächeneigenschaften), zum anderen von den Eigenschaften des umgebenden wässrigen Mediums (Salzgehalt, pH-Wert, gelöste organische Bestandteile).

In Untersuchungen, die die Zurückhaltung von nTiO<sub>2</sub> (NM 105, NM 101) in der Kläranlage simulieren, wurde gezeigt, dass nTiO<sub>2</sub> zu einem großen Anteil (>90%) im Klärschlamm zurückgehalten werden und sich nur ein geringer Anteil im Kläranlagenausfluss wiederfindet.

In einer Literaturstudie zur Mobilität von nTiO<sub>2</sub> im Wasser wurde beschrieben, dass der Transport der nTiO<sub>2</sub>-Varianten NM 101 und NM 105 im Wasser durch vorhandene Bestandteile (wie z. B. Filme bestehend aus Mikroorganismen), an die Nanomaterialien binden können, beeinflusst wird.

In Säulenexperimenten mit verschiedenen Bodentypen wurde eine geringe Mobilität der untersuchten nTiO<sub>2</sub> (NM 105, NM 102 und NM 103) in Böden festgestellt. Ein Großteil der eingebrachten nTiO<sub>2</sub> wurde in den obersten Bodenschichten wiedergefunden und nur einzelne Agglomerate ließen sich in den tieferen Bodensegmenten nachweisen.

Informationen zur Anreicherung in Organismen konnten im Rahmen des Sponsorship Programms nicht erhoben werden. Aus der Literatur bestehen Hinweise, dass nTiO<sub>2</sub> (NM105) über die Nahrungskette von einem Organismus auf den anderen weitergegeben werden können. Darüber hinaus wurde beschrieben, dass nTiO<sub>2</sub> die Anreicherung von anderen Schadstoffen beeinflussen kann.

## 2.2 Wissenschaftliche Erkenntnisse zur Ökotoxikologie von TiO<sub>2</sub> Nanomaterialien

nTiO<sub>2</sub> ist hinsichtlich seiner toxischen und ökotoxischen Wirkung inzwischen eines der am häufigsten untersuchten Nanomaterialien. In den letzten 10 Jahren sind eine Vielzahl von wissenschaftlichen Arbeiten veröffentlicht worden, die einen Eindruck über das ökotoxische Potential dieses Nanomaterials geben. Mit diesen Studien wurde vor allem die akute Wirkung auf aquatische Organismen untersucht. Aber auch Studien zu ökotoxischen Wirkung auf Bodenorganismen oder Untersuchungen zur Langzeitwirkung nehmen zu. Das Sponsorship Programm zu nTiO<sub>2</sub> der OECD WPMN hat zu dieser Entwicklung beigetragen.

### Ökotoxische Wirkungen auf aquatische Organismen

Für Fische liegen hauptsächlich Studien zur Kurzzeitbelastung vor. In den vorliegenden Studien konnte keine Sterblichkeit bei erwachsenen Fischen festgestellt werden (getestet wurden hohe Konzentrationen von > 10 mg/L und > 100 mg/L). Allerdings werden bereits bei geringeren Konzentrationen Veränderungen in Geweben, Organen und Schädigungen der Kiemen beschrieben. Kurzzeitbelastungen von Fischembryonen und -larven mit nTiO<sub>2</sub> (NM 101, NM 102, NM 103, NM 104, NM 105) als auch mit der nicht-nanoskaligen Variante (NM 100) führten zu keiner Sterblichkeit bei den untersuchten Konzentrationen. Studien, die die Belastung unter zusätzlicher UV-Bestrahlung, die das natürliche

Sonnenlicht simuliert, betrachteten, zeigten eine deutliche Erhöhung der Sterblichkeitsrate (untersucht für NM 105). Daten zur Langzeitbelastung bei Fischen, die nach standardisierten Testverfahren erhoben wurden, liegen im Rahmen des Sponsorship Programms zu nTiO<sub>2</sub> nicht vor.

Zur Bestimmung der ökotoxischen Wirkung auf wasserlebende wirbellose Tiere wurden Tests mit Kurz- und Langzeitbelastung an Süßwasserkleinkrebsen mit verschiedenen nTiO<sub>2</sub>-Varianten vorgenommen. In den Studien wurde zumeist keine Sterblichkeit bei Kurzzeitbelastung bis zu den höchsten getesteten Konzentrationen nachgewiesen werden. Einige Studien zeigen allerdings toxische Wirkungen bei erhöhten Konzentrationen (>50 mg/L). Eine deutliche Erhöhung der Sterblichkeit wurde bei Verlängerung der Belastungsdauer und unter Einfluss von Simulation des natürlichen Sonnenlichts (NM 105, NM 101, NM 102, NM 100) festgestellt. Die Ergebnisse zur chronischen Belastung von Süßwasserkleinkrebsen mit nTiO<sub>2</sub> sind widersprüchlich: Ein Teil der Studien beschreibt keinen Einfluss auf Fortpflanzung und Nachkommenschaft. Andere Studien beschreiben dagegen einen Einfluss von NM 105 und NM 101. Eine Studie, die eine Belastung mit nTiO<sub>2</sub> über mehrere Generationen betrachtete, beschreibt außerdem, dass NM 105 zu einem abnehmenden Fortpflanzungserfolg der Süßwasserkrebse und letztendlich zum Zusammenbruch der Gemeinschaft führte.

Untersuchungen zur Belastung von Süßwasseralgen mit NM 105 oder NM 101 zeigen eine Einschränkung des Wachstums. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass sich nTiO<sub>2</sub> (NM 105) an die Algen anlagern kann. Außerdem wurde gezeigt, dass die Agglomeration von nTiO<sub>2</sub> mit einer Sedimentation der Algen einhergehen kann.

In einer Literaturstudie wird beschrieben, dass sowohl NM 101 als auch NM 105 Schäden an Zellmembranen aquatisch lebender mikrobieller Gemeinschaften auslösen können. Diese Beeinträchtigungen waren für ungebundene Mikroorganismen größer als für solche, die innerhalb der Gemeinschaft eines sogenannten Biofilms leben.

Der Einfluss von nTiO<sub>2</sub> auf die bakterielle Umsetzung von Kohlenstoffverbindungen und Ammoniak, wie sie sich in Kläranlagen zunutze gemacht wird, wurde vergleichend für NM 100, NM 101 und NM 102 untersucht. Für alle drei TiO<sub>2</sub> wurde kein Effekt auf die Mikroorganismen des Klärschlamm festgestellt.

### **Ökotoxische Wirkungen auf terrestrische und sedimentbewohnende Organismen**

Im Sponsorship Programm wurden Daten zur Wirkung von nTiO<sub>2</sub> auf verschiedene im Boden bzw. Sediment lebende Pflanzen, wirbellose Tiere und Mikroorganismen zusammengetragen.

So zeigte NM105 keine schädigende Wirkung auf kohlenstoffumsetzende Mikroorganismen, wohl aber einen leicht stimulierenden Einfluss auf den stickstoffumsetzenden Anteil der Mikroorganismen. In einer Literaturstudie wurde der langfristige Einfluss von NM 105 auf bakterielle Lebensgemeinschaften beschrieben. Danach führte eine hohe Konzentration von NM 105 (> 500 mg/kg Boden) über 60 Tagen zu einer Reduktion der Atmungsleistung der in natürlichen Böden vorkommenden Gemeinschaft.

Zur Prüfung der Toxizität von nTiO<sub>2</sub> auf die Keimung und das erste Wachstum von höheren Pflanzen wurden Effekte durch die Belastung mit NM 105 in verschiedenen Pflanzen, unter anderem Saathafer, Senf und Mungbohne, über 14 Tage untersucht. Es konnten keine schädigenden Veränderungen bis zu hohen Testkonzentrationen (100 bzw. 1000 mg/kg) beobachtet werden.

Untersuchungen zur Kurzzeit- als auch zur Langzeitbelastung des Kompostwurms mit nTiO<sub>2</sub> zeigten für die verschiedenen untersuchten nTiO<sub>2</sub> Varianten (NM 105, NM 101, NM 102) als auch für die nicht-nanoskalige Variante (NM 100) keinen schädigenden Einfluss auf Überleben und Fortpflanzung. Im

Widerspruch dazu steht eine Literaturstudie, die beim Kompostwurm einen Rückgang der Kokonproduktion und der Anzahl der Jungtiere nach Belastung mit einer ähnlich hohen Konzentration (1000 mg/kg Boden) für NM 105 beschreibt.

Das Überleben und die Fortpflanzung der Raubmilbe wurden durch Belastung mit NM 105 nicht eingeschränkt.

Die potentiell ökotoxische Wirkung von nTiO<sub>2</sub> wurde auch an Fadenwürmer untersucht. Nach längerfristiger Belastung mit NM 105 zeigten sich in diesem Testorganismus Auswirkungen auf die Fortpflanzung und das Wachstum der Nachkommen (ab Konzentrationen von 10 mg/L). Die nicht-nanoskalige Referenz NM 100 zeigte diese Beeinträchtigung nicht. Zusätzliche UV-Bestrahlung, die das natürliche Sonnenlicht simuliert, verdoppelte die toxische Wirkung auf Fortpflanzung und Wachstum durch NM 105. Zusätzlich wurde die Aufnahme und Anreicherung im Darmtrakt untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass NM 105, aber auch die nicht-nanoskalige Referenz NM 100 in den Darmtrakt aufgenommen wird, sich im Darm zu größeren Agglomeraten zusammenschließt und die weitere Aufnahme von Nahrung verhindert.

Ein für das Sediment relevanter ökotoxikologischer Testorganismus ist der Glanzwurm. Die Untersuchung der chronischen Wirkung von NM 105 nach 28-tägiger Exposition ergab keine Effekte auf die Fortpflanzung oder Biomasse der Würmer. Auch wurde keine Anreicherung im Organismus nachgewiesen.

## 2.3 Zusammenfassung und Ausblick

Die Daten des Testprogramms der verschiedenen nTiO<sub>2</sub>-Varianten zeigen, dass Eigenschaften der Nanomaterialien wie Partikelgröße, Kristallstruktur, Oberflächeneigenschaften und Fotoaktivität das Verhalten und die ökotoxische Wirkung in sehr komplexer Weise beeinflussen. Für eine verlässliche Interpretation der Daten zu Umweltverhalten und -wirkung ist die eindeutige Beschreibung der untersuchten Nanomaterialien anhand ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften daher wichtig. Das Verhalten und die ökotoxische Wirkung hängen darüber hinaus auch von den umgebenen Umweltbedingungen bzw. von der jeweiligen Sensitivität der Testorganismen ab. Ökotoxische Wirkungen der im Rahmen des Sponsorship Programms untersuchten nTiO<sub>2</sub> konnten in verschiedenen Tests mit etablierten Testorganismen nachgewiesen werden, zumeist allerdings erst bei Konzentrationen, die in der Umwelt derzeit nicht zu erwarten sind<sup>7</sup>. UV-Bestrahlung im Wellenlängenbereich des natürlichen Sonnenlichts verstärkt die schädigende Wirkung von fotoaktivem nTiO<sub>2</sub> deutlich und ist vor allem für die Betrachtung einer schädigenden Wirkung auf aquatische Organismen relevant. Obwohl im Rahmen des Sponsorship Programms eine Vielzahl an Daten zusammengetragen wurde, bestehen nach wie vor Wissenslücken. Dazu gehören Informationen zur langfristigen Wirkung auf Fische und Daten zur Anreicherung in Umweltorganismen.

Im nächsten Schritt gilt es nun die im OECD Sponsorship Programm erhobenen Daten hinsichtlich ihrer Qualität und Belastbarkeit für die Gefährdungsbeurteilung zu bewerten und den Anpassungsbedarf der verwendeten Methoden zu identifizieren. Auch gilt es dabei mögliche Unterschiede im Umweltverhalten und der Umweltwirkung der verschiedenen nTiO<sub>2</sub> Varianten zu betrachten. Dies wird Teil der kommenden Aufgaben der OECD WPMN sein.

---

<sup>7</sup> Die Wahl der in den hier beschriebenen Untersuchungen eingesetzten Konzentrationsreihen beruht zumeist auf Empfehlungen in den Testrichtlinien, die auch hohe Konzentrationsbereiche abdecken, um eine toxische Wirkung zu prüfen. Die Obergrenze diese Konzentrationen werden gemäß der derzeitigen, wenn auch vorläufigen Abschätzung, von Nanomaterialien in der Umwelt deutlich unterschritten.

### 3 Anpassungsbedarf der im OECD Sponsorship Programm zu nanoskaligem Titandioxid angewandten Methoden zur Erfassung der Ökotoxikologie und des Umweltverhaltens aus Sicht des Umweltbundesamtes

Basierend auf den ersten Erkenntnissen des OECD Sponsorship Programms initiierte die WPMN eine Reihe sogenannter Horizontal Workshops, die sich übergreifend (daher „horizontal“) mit verschiedenen Aspekten der Sicherheitsbetrachtung von Nanomaterialien beschäftigten. In diesem Rahmen diskutierten Anfang 2013 in Berlin namenhafte Experten aus mehr als 20 Ländern bzw. Organisationen die Anwendbarkeit ausgewählter bestehender OECD Testmethoden zur Erfassung des Umweltverhaltens und der Ökotoxikologie auf Nanomaterialien. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die meisten dieser Testrichtlinien prinzipiell auch auf Nanomaterialien anwendbar sind. In vielen Fällen sind aber Anpassungen in Form von spezifisch auf Nanomaterialien ausgerichteten Leitfäden notwendig. Außerdem müssen zur Beschreibung spezieller nanospezifischer Aspekte neue Testrichtlinien entwickelt werden<sup>8</sup>.

Generell gilt es festzuhalten, dass eine angemessene Charakterisierung des Nanomaterials in den jeweiligen Testsystemen und eine umfangreiche Analytik vor, während und nach den Tests essentiell für die zuverlässige Interpretation der Ergebnisse sind. Daher müssen im Rahmen der Gefährdungsbewertung von Nanomaterialien feste Vorgaben gemacht werden, welche analytischen Daten im Rahmen eines Tests zu erheben sind.

Anpassungsbedarf in Form eines spezifischen Leitfadens besteht für alle Testrichtlinien, die sich mit der Erfassung der ökotoxikologischen Wirkung auf aquatische Organismen beschäftigen. Diese weisen gewisse Freiheiten in der Testdurchführung auf, die für konventionelle Chemikalien durchaus gerechtfertigt sind, bei der Anwendung für Nanomaterialien aber dazu führen, dass die Ergebnisse nur schwer vergleichbar und daher wenig belastbar sind. Im Nachgang des Workshops hat sich hierzu eine Arbeitsgruppe gebildet, die derzeit einen entsprechenden Vorschlag ausarbeitet. Der zu entwickelnde Leitfaden soll Vorgaben zu Aspekten wie eine restriktive Wahl der Testmedien, Protokolle zur Herstellung von Testsuspensionen oder die Überprüfung der Stabilität der zu untersuchenden Nanomaterialien in den relevanten Testmedien über die Testdauer enthalten. Speziell für nTiO<sub>2</sub> ist bei der Untersuchung der ökotoxikologischen Wirkung zu berücksichtigen, dass diese, in Abhängigkeit von ihrer Oberflächenbeschichtung und Kristallstruktur, unterschiedlich fotokatalytisch aktiv sein können. Daher gilt es ökotoxikologische Tests mit aquatischen Organismen auch unter simuliertem Sonnenlichts durchzuführen, um so eine ggf. auftretende Steigerung der Toxizität unter Beleuchtung aufzudecken.

Das Wissen über das Agglomerations- und Löslichkeitsverhalten von Nanomaterialien in der Umwelt ist eine wesentliche Voraussetzung für die weitere Durchführung von spezifischen Untersuchungen zum Umweltverhalten und Schicksal von Nanomaterialien in der Umwelt sowie für die Interpretation der Ergebnisse dieser Untersuchungen. Mittels beider Endpunkte kann zum Beispiel beschrieben werden, in welcher Form Nanomaterialien in den verschiedenen Umweltkompartimenten zur Verfügung stehen und wie eine geeignete Teststrategie aussieht. Denn Agglomerations- und Löslichkeitsverhalten von Nanomaterialien unterliegen den umgebenden Umweltparametern und beide Aspekte verändern

---

<sup>8</sup> Expert Meeting Report: Ecotoxicology and Environmental fate of Manufactured Nanomaterials [ENV/JM/MONO(2014)1]:

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2014\)1&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2014)1&doclanguage=en)

wiederum das Verhalten und die Bioverfügbarkeit der Nanomaterialien. Für die nanospezifische Erhebung der Information zum Agglomerations- und Löslichkeitsverhalten erarbeiten derzeit Arbeitsgruppen zwei neue Testrichtlinien. Darüber hinaus wird ein Leitfaden erarbeitet, der beschreibt, wie diese beiden Testrichtlinien gemeinsam angewendet werden können, um eine Entscheidungshilfe für die geeignete Durchführung weiterführender Tests zum Umweltverhalten zu liefern. Der Leitfaden soll aber auch helfen, Ergebnisse aus Tests zum Umweltverhalten oder zur Ökotoxikologie zu interpretieren.

Die bestehenden Methoden zur Untersuchung der Bioakkumulation von Chemikalien in aquatischen Organismen über die Wasserphase, wie sie vor allem mit Fischen durchgeführt werden<sup>9</sup>, sind für die Untersuchung von Nanomaterialien nicht sinnvoll anwendbar. Dies ist vor allem dadurch bedingt, dass die Voraussetzungen zur Berechnung sich aufkonzentrierender Konzentrationen in den Organismen (Biokonzentrationsfaktor) bei Anwendung auf Nanomaterialien nicht gegeben sind. Prozesse wie passive Diffusion von der Wasserphase in den Organismus und eine Gleichgewichtsverteilung zwischen Wasserphase und Organismus gelten für lösliche Chemikalien, nicht aber für partikuläre Materialien. Daher beschäftigt sich derzeit eine Arbeitsgruppe mit der Erarbeitung eines Leitfadens, der beschreibt, welche nanospezifischen Aspekte zu berücksichtigen sind, wenn man sich bei der Untersuchung der Bioakkumulation in Fischen auf die Aufnahme über das Futter beschränkt. Des Weiteren wurde auf dem oben genannten Expertentreffen festgehalten, dass aufgrund der partikulären Struktur und Neigung der Nanomaterialien zu Agglomeration und Sedimentation die Untersuchung der Bioakkumulation und toxischen Wirkung auf filtrierende Organismen, insbesondere Sedimentbewohnern von hoher Bedeutung ist.

Die bestehende Testrichtlinie zur Bestimmung von Absorptions- und Desorptionsprozessen von Chemikalien im Boden<sup>10</sup> ist auf Nanomaterialien nicht anwendbar. Mit dieser Methode ist es nicht möglich eine Unterscheidung zwischen agglomerierten und an Boden adsorbierten Nanomaterialien zu treffen. Es gilt hier eine neue Testmethode für Nanomaterialien zu entwickeln. Für ein besseres Verständnis des Verhaltens von Nanomaterialien im Boden ist für die Testrichtlinie zur Beschreibung des Sickerungsverhaltens in Böden<sup>11</sup> ein nanospezifischer Leitfaden in Arbeit.

Nanomaterialien unterliegen im Laufe der Zeit und in Abhängigkeit der Eigenschaften der sie umgebenden Umwelt physikalisch-chemischen Veränderungen. Für eine angemessene Bewertung des Umweltverhaltens von Nanomaterialien spielt diese sogenannte Alterung eine wesentliche Rolle. Eine standardisierte Arbeitsanweisung, die die Untersuchung der chemischen Veränderung von Nanomaterialien in der Umwelt unter Berücksichtigung der wesentlichen Prozesse beschreibt, sollte daher entwickelt und in die Bewertung von Umweltverhalten und -wirkung einbezogen werden. Aspekte, die diese Arbeitsanweisung beinhalten sollte, umfassen neben der chemischen Änderung durch Oxidation oder Reduktion auch den Verlust von Oberflächenbeschichtungen.

---

<sup>9</sup> OECD 2012: OECD Test No. 305: Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure. OECD Guidelines for the testing of chemicals, section 3. <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9712191e.pdf?expires=1448378106&id=id&accname=guest&checksum=24606CA0A256005C2D99E6440BC3A516>. OECD Publishing, Paris.

<sup>10</sup> OECD 2000: OECD Test No. 106: Adsorption – Desorption Using a Batch Equilibrium Method. OECD Guidelines for the testing of chemicals, section 1. <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9710601e.pdf?expires=1448378244&id=id&accname=guest&checksum=B0CB0F3F208F980CEBEE90B885A67FF2>. OECD Publishing, Paris.

<sup>11</sup> OECD 2004: OECD Test No. 312: Leaching in Soil Columns. OECD Guidelines for the testing of chemicals, section 3. <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9731201e.pdf?expires=1448378491&id=id&accname=guest&checksum=940EAFE6658403ECE5D38267ADE45230>. OECD Publishing, Paris.

Tabelle 2: Übersicht zum Überarbeitungs- und Ergänzungsbedarf der im Sponsorship Programm angewandten Testrichtlinien der OECD für die Bereiche Umweltverhalten und Ökotoxikologie

	Anpassungsbedarf zur Bestimmung des Umweltverhalten	Anpassungsbedarf zur Bestimmung der Ökotoxikologie	Übergeordneter Anpassungsbedarf
<b>Testrichtlinien und Leitfäden zur Aquatik</b>	<p>Testrichtlinien und Leitfäden zur Beschreibung des Agglomerations- und Löslichkeitsverhalten von NM* in verschiedenen aquatischen Medien</p> <p>Nanospezifischer Leitfäden zur Bioakkumulation in Fischen nach Aufnahme über das Futter</p>	Leitfaden zum Umgang mit NM in den bestehenden Richtlinien zur Erfassung der Wirkung in aquatischen Organismen	<p>Anleitung zur physikalisch-chemischen Charakterisierung der NM</p> <p>Anleitung zur Untersuchung der chemischen Veränderung von NM in der Umwelt über die Zeit</p>
<b>Testrichtlinien und Leitfäden zum Boden und Sediment</b>	<p>neue Testrichtlinie zur Beschreibung der Desorption und Adsorption von NM im Boden</p> <p>nanospezifischer Leitfäden zur Beschreibung des Versickern im Boden</p>	<p>Anleitungen zum Einbringen von NM in den Testboden/-sediment</p> <p>Anleitung zur Analyse von NM im Boden</p>	

\* NM = Nanomaterial

## 4 Auf Grundlage der Ergebnisse des OECD Sponsorship Programms identifizierter Forschungsbedarf zu Ökotoxikologie und Umweltverhalten

Folgende weiterführende Forschungsfragen sollten auf Grundlage der Erkenntnisse des OECD Sponsorship Programms aus Sicht des Umweltbundesamtes verfolgt werden:

- Untersuchungen zur Alterung von Nanomaterialien bei variierenden Umweltbedingungen in den verschiedenen Umweltkompartimenten (Wasser, Boden, Luft, Sediment, aber auch speziellere Kompartimente wie Klärschlamm) über die Zeit und deren Einfluss auf die akute und langfristige Wirkung auf Umweltorganismen
- Untersuchung der Anreicherung von Nanomaterialien in Umweltorganismen
- Untersuchungen zur langfristigen Wirkung von Nanomaterialien in Fischen
- Entwicklung von Kriterien zur Gruppenbildung von Nanomaterialien für eine begründete Übertragung von Daten zum Umweltverhalten und zur Ökotoxikologie zwischen Formen von Nanomaterialien oder zwischen Nanomaterialien und der makroskopischen Form

Ein wesentlicher Forschungsbedarf jenseits der eigentlichen Ziele des OECD Sponsorship Programm ist die Entwicklung von validen Modellen zur Abschätzung der Umweltexposition von Nanomaterialien. Hierzu gilt es Wissen zu Produktionsmengen, Einsatzbereichen, Freisetzungsmöglichkeiten und –

mengen und das spezifische Verhalten der Nanomaterialien in den Umweltkompartimenten in Relation zueinander zu setzen. Eine verlässliche Abschätzung der Umweltkonzentrationen von Nanomaterialien ist wesentlich, um die Relevanz der gefundenen Effektkonzentrationen abschätzen zu können.

## Danksagung

Die deutsche Delegation zur OECD WPMN dankt allen beteiligten nationalen und internationalen Forschungseinrichtungen, die mit ihren Daten das Sponsorship Programm zu nTiO<sub>2</sub> unterstützten:

Dänemark:

- Technische Universität von Dänemark (DTU), Institut für Umweltingenieurwesen

Deutschland:

- Institut für Energie und Umwelttechnik e.V. (IUTA), Luftreinhaltung und Nanotechnologie
- Fraunhofer Institut für Toxikologie & Experimentelle Medizin (ITEM)
- Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie (IME)
- RWTH Aachen, Institut für Umweltforschung
- Goethe Universität Frankfurt (Main), Institut für Ökologie, Evolution und Diversität
- Technische Universität Dresden, Institut für Verfahrenstechnik und Umwelttechnik
- Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg, Gefahrenstoffe und Umwelttoxikologie
- Bundesanstalt für Materialforschung und Prüfung (BAM)

Frankreich (EU FP7 Forschungsprojekt „NanoGenotox“):

- French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety, Unit of Toxicology of Contaminants, Department of Information, Communication and Dialogue with Society, Unit of European and International Affairs (ANSES)
- Bundesinstitut für Risikobewertung, Institut für Verbrauchersicherheit (BfR, Germany)
- French Atomic Energy Commission, Materials Sciences Division, Life Sciences Division (CEA)
- Veterinary and Agrochemical Research Centre, Unit of Electron Microscopy (CODA-CERVA, Belgium)
- Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection (IHCP)
- Nanotechnology (EC/JRC-IHCP)
- Finnish Institute of Occupational Health, New Technologies and Risks laboratory (FIOH, Finland)
- Roumen Tsanev Institute of Molecular Biology Bulgarian Academy of Sciences, Medical and Biological Research Laboratory, Institute of Mineralogy and Crystallography Bulgarian Academy of Sciences, Central Laboratory of Mineralogy (Bulgaria)
- Medical and Biological Research Laboratory, Aerosol Metrology Laboratory and the Inorganic Analysis and Aerosol Characterization Laboratory, Carcinogenesis and Developmental Toxicology Laboratory, Pollutants and Health Department (INRS)
- National Health Institute Doutor Ricardo Jorge, Genetic Toxicology R&D Unit (INSA, Portugal)
- Scientific Institute of Public Health, laboratory of toxicology (IPH, Belgium)
- Institut Pasteur of Lille, Genetic Toxicology Laboratory (IPL)
- Istituto Superior di Sanita, Food and Veterinary Toxicology Unit (ISS, Italy)
- Laboratoire National de metrologie et d'Essais, Laboratoire National de metrologie et d'Essais (LNE)
- The Nofer Institute of Occupational Medicine (Poland), Laboratory of Molecular Toxicology (NIOM, Poland)
- National Research Centre for the Working Environment (Denmark) Nanotoxicology and Occupational Hygiene Group (NRCWE, Denmark)

- National Institute for Public Health and Environment, The Laboratory for Health Protection Research (RIVM, The Netherlands)
- Universitat Autònoma de Barcelona (Spain), Group of Mutagenesis, (UAB, Spain)

Japan:

- National Metrology Institute of Japan, Advanced Institute of Industrial Science and Technology (AIST)

Kanada:

- McGill University, Department of Chemical Engineering
- National Research Council, Biotechnology Research Institute, Applied Ecotoxicology Group
- Trent University, Department of Environmental & Resource Studies
- Environment Canada, Environmental Health Science and Research Bureau
- Health Canada, Healthy Environments & Consumer Safety Branch
- Wilfrid Laurier University, Institute for Water Science
- University of Victoria, Department of Biochemistry and Microbiology
- HydroQual Laboratories
- University of Alberta, Biological Sciences

Korea:

- Dongduk Women's University, College of Pharmacy
- Hanyang University, Laboratory of Nanoscale Characterisation & Environmental Chemistry
- Korea Research Institute of Standards and Science, Korea Research Institute of Standards and Science Division of Industrial Metrology
- Seoul National University, School of Chemical & Biological Engineering
- Kyung Hee University, Department of Applied Chemistry
- Korea University, School of Life Science & Biotechnology

Österreich:

- Universität Wien, Department Geowissenschaften
- Universität Graz, Institut für Pharmazeutische Wissenschaften

Spanien:

- INIA, Departamento de Medio Ambiente

USA:

- National Institute for Standards and Technology (NIST), Nanoparticle Measurements & Standards
- Environmental Protection Agency (EPA), National Health and Environmental Effects Research
- Environmental Protection Agency (EPA), Ecology Division
- Food and Drug Administration (FDA), National Center for Toxicological Research

Die deutsche Delegation zur OECD WPMN bedankt sich ebenso beim französischen Partner ANSES, dem Verband der TiO<sub>2</sub>-Hersteller (Titanium Dioxide Manufacturers Association, TDMA) für die Bereitstellung von nTiO<sub>2</sub> Proben, als auch bei der Gemeinsamen Forschungsstelle der EU (Joint Research Centre, JRC) für die Vorbereitung und Verteilung von Proben.

