



Publikationen des Umweltbundesamtes

Technisches Vorgehen bei der Testung von Nanopartikeln

Forschungsprojekt im Auftrag des
Umweltbundesamtes
FuE-Vorhaben
Förderkennzeichen 206 61 203/03

Dr. Kerstin Hund-Rinke

Dr. Monika Herrchen

**Umwelt
Bundes
Amt** 
Für Mensch und Umwelt



Fraunhofer Institut
Molekularbiologie und
Angewandte Oekologie

Bericht

Technisches Vorgehen bei der Testung von Nanopartikeln

FKZ 206 61 203/03

Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie
und Angewandte Oekologie IME
D-57392 Schmallenberg
D-52074 Aachen

Institutsleitung:
Prof. Dr. R. Fischer
Prof. Dr. A. Schäffer

Projektdurchführung:
Dr. Kerstin Hund-Rinke
Dr. Monika Herrchen

Berichts-Kennblatt

Berichtsnummer 1. UBA-FB 206 61 203/03	2.	3.
4. Titel des Berichts Literaturstudie: Technisches Vorgehen bei der Testung von Nanopartikeln		
5. Autor(en), Name(n), Vorname(n) Hund-Rinke, Kerstin; Herrchen, Monika		8. Abschlußdatum Februar 2007 9. Veröffentlichungsdatum
6. Durchführende Institution (Name, Anschrift) Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie Auf dem Aberg 1 57392 Schmallenberg		10. UFOPLAN-Nr. --- 11. Seitenzahl 74
7. Fördernde Institution (Name, Anschrift) Umweltbundesamt, Wörlitzer Platz 1, 06844 Dessau		12. Literaturangaben 90 13. Tabellen und Diagramme ---
		14. Abbildungen 1
15. Zusätzliche Angaben		
16. Kurzfassung Noch ist sehr wenig über die Umweltauswirkungen bekannt, die Nanomaterialien haben können. Dies liegt unter anderem daran, dass keine entsprechende Untersuchungsmethodik vorliegt. Standardisierte Tests zur Erfassung der entsprechenden Eigenschaften wurden für die Testung von klassischen Chemikalien entwickelt. Damit können lösliche bzw. schwer lösliche Substanzen untersucht werden. Für die Testung von unlöslichen (Nano-) Partikeln sind diese Testsysteme nicht vorgesehen. Einige Nanomaterialien kommen ferner als Stoffklasse natürlich vor und werden als Nanomaterial anthropogen eingetragen. Bei Untersuchungen zum Verbleib muss daher analytisch zwischen beiden Fraktionen unterschieden werden. Die Untersuchung von derartigen Nanomaterialien stellt somit eine besondere Herausforderung dar. Damit der Untersuchungsaufwand für die Vielzahl an verschiedenen Nanomaterialien in einem vertretbaren Umfang bleibt, ist es wünschenswert, Gesetzmäßigkeiten zu erkennen, die es ermöglichen, dass von der Untersuchung ausgewählter Materialien auf andere Materialien geschlossen werden kann. Dies setzt voraus, dass relevante Informationen in allen Studien erfasst und veröffentlicht werden. Aufgabe dieser Studie war es daher, soweit wie möglich Leitlinien für die Testung und Berichtspflichten im Vorfeld aufzustellen. Dabei wurden zwei Zielrichtungen ausgewählt: 1. Ökotoxikologische Untersuchungen mit aquatischen Organismen (Untersuchungen in wässriger Lösung) 2. Untersuchungen zum Umweltverhalten Schwerpunkt wurde dabei auf die standardisierten Testverfahren gelegt, da diese im gesetzlichen Rahmen Eingang finden, akzeptiert sind und die Durchführung weit verbreitet ist.		
17. Schlagwörter Nanopartikel, Nanomaterialien, Testung, Verbleib, Boden, Sediment, Wasser, Wirkung, Ökotoxikologie		
18. Preis	19.	20.

Report Cover Sheet

Report No 1. UBA-FB 206 61 203/03	2.	3.
4. Report Title Literature search: technical procedure concerning testing of nanoparticles		
5. Author(s), Name(s), First Name(s) Hund-Rinke, Kerstin; Herrchen, Monika	8. Report Date February 2007 9. Publication Date --- 10. UFOPLAN-Ref.No. ---	
6. Performing Organisation (Name, Address) Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology Auf dem Aberg 1 57392 Schmallenberg, Germany	11. No of Pages 74	
7. Sponsoring Agency (Name, Address) Umweltbundesamt, Wörlitzer Platz 1, 06844 Dessau	12. No of References 90 13. No of Tables --- 14. No of Figures 1	
15. Supplementary Notes		
16. Abstract <p>The know-how on the environmental effects of nanoparticles is still very limited. Among other things this is due to missing test methods. Existing standardized methods originally have been developed for testing soluble and poorly soluble chemicals, and do not consider the aspect of testing unsoluble particles. Furthermore, the substance class of some nanomaterials is occurring naturally. In the form of nanomaterial, however, the chemical is of anthropogenic origin. In studies concerning the fate of such materials it has to be differentiated between naturally occurring materials those emitted by human activities. Therefore, the testing of such materials is a new challenge.</p> <p>A great number of nanomaterials exists which differ in size and composition. As it is impossible to test all different materials, it is desirable to identify rules allowing to transfer results elaborated for selected particles to particles with comparable properties. To recognize such rules relevant information should be reported in future publications.</p> <p>The aim of the literature search was to define future demands for testing and reporting with respect to studies on the fate and effect of nanomaterials.</p> <p>Two objectives were selected:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Ecotoxicological tests with aquatic organisms (testing in aqueous solutions) 2) Investigations of the environmental behaviour. <p>The main emphasis was put on standardized test systems, as i) these are required in respective legal frameworks (e.g. the notification of chemicals), ii) they are widely accepted and iii) the respective techniques are widespread.</p>		
17. Key words Nanoparticle, nanomaterials, test, fate, soil, sediment, water, effect, ecotoxicology		
18. Price	19.	20.

INHALTSVERZEICHNIS

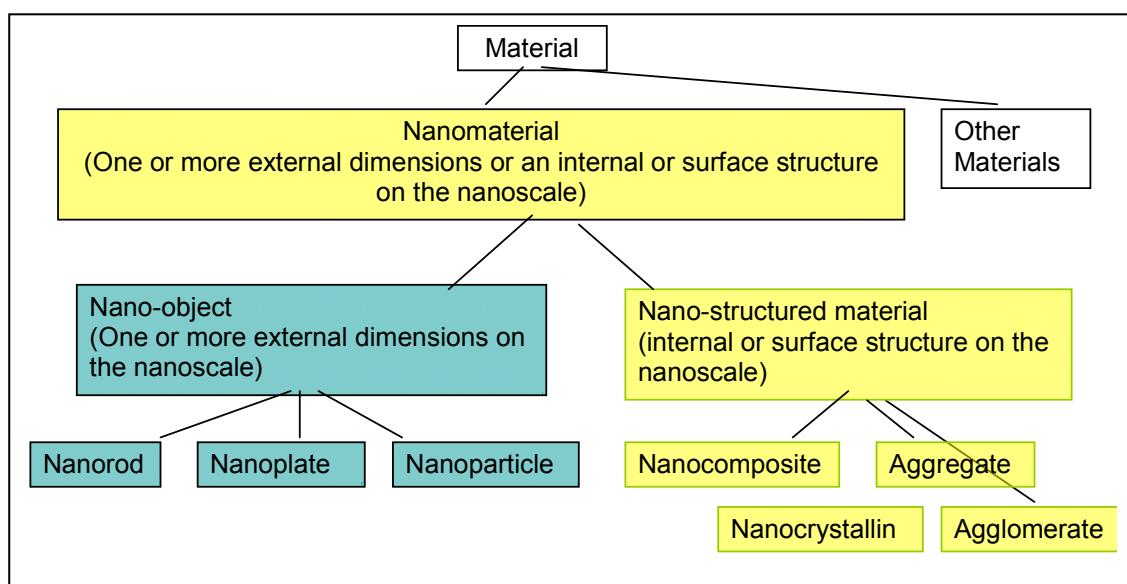
1	ZIELSETZUNG	1
2	VORGEHENSWEISE	2
3	AUSWERTUNG RELEVANTER LITERATURSTELLEN	5
3.1	Untersuchungen zum Umweltverhalten	5
3.1.1	Verhalten von Nanomaterialien in der Umwelt	7
3.1.2	Verhalten von an Nanopartikel sorbierte Chemikalien in der Umwelt	10
3.1.3	Verhalten von Nanopartikeln und/oder sorbierten Stoffen im Zusammenhang mit Sanierungsmaßnahmen und Umwelttechnologie	13
3.2	Ökotoxikologische Prüfverfahren	21
3.2.1	Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für anorganische Partikel	21
3.2.2	Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für organische Partikel	26
3.2.3	Suspensionsherstellung und Erfassung der Cytotoxizität	31
3.2.4	Spezifische Artikel zur Materialcharakterisierung	38
4	ZUSAMMENFASENDE AUSWERTUNG DER LITERATUR UND RESULTIERENDE EMPFEHLUNGEN	40
4.0	Suspensionsherstellung, Materialcharakterisierung und Konzentrationsbestimmungen	40
4.0.1	Suspensionsherstellung	44
4.0.2	Spektrum an Nanomaterialien	46
4.0.3	Charakterisierung der Nanomaterialien und Suspensionen	47
4.0.4	Konzentrationsbestimmung	49
4.1	Untersuchungen zum Umweltverhalten	50
4.2	Ökotoxikologische Testung	58
5	BERICHTSPFLICHTEN	62
5.1	Zielrichtung der Testung	62
5.2	Charakterisierung von Nanomaterialien	62
5.3	Suspensionsherstellung und -charakterisierung	63
5.4	Untersuchungen zum Umweltverhalten	63
5.5	Ökotoxikologische Testung	64
5.6	Spezielle Anforderungen an photokatalytisch aktive Materialien	64
5.7	Sonstige Information	64

6	EMPFEHLUNGEN	65
6.1	Entwicklung einer ökotoxikologischen Teststrategie	65
6.2	Festlegung und Empfehlung eines Referenzsets an Nanomaterialien	66
6.3	Erarbeitung von Standardprotokollen zur Suspensionsherstellung	66
6.4	Erarbeitung von Standardprotokollen für Untersuchungen zum Umweltverhalten	67
6.5	Erarbeitung von Standardprotokollen für die ökotoxikologische Testung	67
6.6	Erarbeitung und Erprobung einer Bewertungsstrategie	68
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	69
	LITERATUR	70

1 Zielsetzung

Die Nanotechnologie wird als die Technologie der Zukunft bezeichnet, da durch den Einsatz nanoskaliger Komponenten neue Funktionalitäten entstehen können, die wiederum zu neuen oder verbesserten Produkteigenschaften führen.

Im Gegensatz zu den herkömmlichen Bezeichnungen von Substanzen, die Aufschluss über die chemische Zusammensetzung geben, stellt die Bezeichnung „Nanomaterialien“ einen Größenbegriff dar, der von einer Vielzahl chemischer Verbindungen erzielt werden kann. Organische und anorganische Materialien unterschiedlichster Struktur fallen darunter. Aufgrund der Kombination von Größe und chemischer Zusammensetzung ist die Anzahl möglicher Materialien immens groß. Zur Strukturierung wurde von der OECD eine Klassifizierung erarbeitet, die Größe, Form und das Vorliegen als freies oder eingebundenes Objekt berücksichtigt. Die chemische Zusammensetzung bleibt unberücksichtigt (Abbildung 1).



Manufactured nanomaterials: Nanomaterials intentionally produced to have specific properties or specific composition.

Nanomaterial: material which is either a nano-object or is nanostructured

Nano-object: material confined in one, two or three dimensions at the nanoscale

Nanostructured: having an internal or surface structure on the nanoscale

Nanoscale: The size range between 1 nm and 100 nm

Note: Products containing nanomaterials (e.g. tires, electronic equipment, coated DVDs) are not nanomaterials.

Abbildung 1: OECD-Vorschlag einer Klassifizierung von Nanomaterialien

Noch ist sehr wenig über die Umweltauswirkungen bekannt, die Nanomaterialien haben können. Dies liegt unter anderem daran, dass keine entsprechende Untersuchungsmethodik vorliegt. Standardisierte Tests zur Erfassung der entsprechenden Eigenschaften wurden für die Testung von „klassischen“ Chemikalien entwickelt. Damit können lösliche bzw. schwer lösliche Substanzen untersucht werden. Zumindest ein Teil der Nanomaterialien, beispielsweise Metalloxide, liegen jedoch in partikulärer Form vor. Für die Testung von Suspensionen, sind die zur Verfügung stehenden Testsysteme jedoch nicht vorgesehen. Einige natürlich vorkommende Metalloxide, z.B. Eisenoxid, Titanidoxid, werden auch in Form von Nanopartikeln produziert und kommen in verschiedenen technischen Anwendungen zum Einsatz. Bei Untersuchungen zum Verbleib dieser pro-

duzierten Nanomaterialien muss daher eine Unterscheidung von den entsprechenden natürlich vorkommenden Stoffen möglich sein.

Die Untersuchung von Nanomaterialien stellt somit eine besondere Herausforderung dar, der sich zahlreiche Arbeitsgruppen stellen werden. Noch ist die Anzahl der entsprechenden Publikationen sehr überschaubar, doch ist davon auszugehen, dass die Zahl in den nächsten Jahren exponentiell ansteigen wird. Um einen effektiven finanziellen Ressourceneinsatz zu gewährleisten, sollte zum einen sicher gestellt werden, dass die einzelnen Arbeitsgruppen gegenseitig auf ihren Erfahrungen aufbauen können und grundlegende Entwicklungen, die bei der Beschäftigung mit einem neuen Thema geleistet werden müssen, nicht zu häufig parallel erfolgen. Des Weiteren muss sicher gestellt sein, dass die Ergebnisse der einzelnen Arbeiten nicht nur unabhängig von einander interpretiert werden können, sondern dass aus der Zusammenschau der Resultate, diese abgesichert bzw. neue Erkenntnisse gewonnen werden können.

Damit der Untersuchungsaufwand in einem vertretbaren Umfang bleibt, ist es wünschenswert, Gesetzmäßigkeiten zu erkennen, die es ermöglichen, dass von der Untersuchung ausgewählter Materialien auf andere Materialien geschlossen werden kann. Dies setzt voraus, dass relevante Informationen in allen Studien erfasst und veröffentlicht werden.

Aufgabe dieser Studie ist es daher, soweit wie möglich Leitlinien für die Testung und Berichtspflichten im Vorfeld aufzustellen.

Dabei wurden zwei Zielrichtungen ausgewählt:

1. Untersuchungen zum Umweltverhalten
2. Ökotoxikologische Untersuchungen mit aquatischen Organismen (Untersuchungen in wässriger Lösung)

Schwerpunkt wird dabei auf die standardisierten Testverfahren gelegt, da diese im gesetzlichen Rahmen Eingang finden, akzeptiert sind und die Durchführung weit verbreitet ist. Da jedoch grundlegende Fragestellungen beantwortet werden, können die erarbeiteten Informationen auch auf andere Studententypen übertragen werden.

2 Vorgehensweise

Es wurde eine Literaturrecherche durchgeführt, bei der in den online-Recherche-Services „STNeasy“, „Science@direct“, „scirus“, „springerlink“, „scopus“ und „google scholar“ gesucht wurde.

Für den **Teilbereich „Umweltverhalten“** wurde auf die folgenden Suchbegriffe hin gesucht:

- Nanomaterials / nanoparticles AND **fate**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **mobility**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **behaviour** AND **soil** (oder **sediment** oder **water**)
- Nanomaterials / nanoparticles AND **environment**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **environmental risk**

- Nanomaterials / nanoparticles AND **hazard**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **stability** AND **environment**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **transport** AND **environment**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **fate** AND **testing** (oder **test**)

Da indirekte Rückschlüsse zum Umweltverhalten aus solchen Literaturstellen, die sich mit der Boden-, Gewässer- und Grundwassersanierung befassen, als vielversprechend angesehen wurden, wurde ebenfalls recherchiert nach:

- Nanomaterials / nanoparticles AND **remediation** AND **environment**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **remediation** AND **soil** (oder **aquifer** oder **water**)

Aus allen Recherchen einschließlich der Akquisition von Zitaten, die in den zunächst gefundenen Literaturstellen angegeben waren, ergaben sich 57 Zitate, die zusammen mit den für den Teilbereich „ökotoxikologische Prüfungen“ ermittelten im Literaturverzeichnis aufgeführt sind.

Für den **Teilbereich „ökotoxikologische Prüfungen“** wurde auf die folgenden Suchbegriffe hin gesucht:

- Nanomaterials / nanoparticles AND **ecotox**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **tox**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **effect**
- Nanomaterials / nanoparticles AND **cell**

Relevante Zitate in den ermittelten Literaturstellen wurden ebenfalls in die Auswertung einbezogen. Da eine besondere Herausforderung bei der Testung von Nanomaterialien die Herstellung von Suspensionen ist, wurden neben Artikeln zur Untersuchung der Ökotoxizität auch Artikel in die Auswertung einbezogen, die cytotoxische Aspekte sowie Aspekte zur Herstellung und Stabilität von Nanomaterialien betreffen. Es wurde davon ausgegangen, dass in diesen Artikeln wertvolle Hinweise beispielsweise im Hinblick auf Untersuchungen zur Erfassung der Nebenwirkungen von Nanomaterialien ermittelt werden können, die auf andere Fragestellungen übertragen werden können.

Alle ermittelten und im Literaturverzeichnis aufgeführten Artikel wurden hinsichtlich ihrer tatsächlichen Relevanz für die vorliegende Fragestellung gescreent. Es wurden ausschließlich die Zitate in die weitere Bearbeitung einbezogen, die direkte oder indirekte Hinweise auf die Fragestellung gaben. Diese Artikel wurden nach Themengebieten sortiert. Dabei handelt es sich für den **Teilbereich „Umweltverhalten“** um:

1. Verhalten von Nanomaterialien in der Umwelt
2. Verhalten von an Nanomaterialien sorbierte Chemikalien in der Umwelt
3. Verhalten von Nanomaterialien und/oder sorbierten Stoffen im Zusammenhang mit Sanierungsmaßnahmen und Umwelttechnologie

Der **Teilbereich „ökotoxikologische Prüfungen“** konnte folgendermaßen strukturiert werden:

1. Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für anorganische Materialien
2. Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für organische Materialien
3. Suspensionsherstellung und Erfassung der Cytotoxizität
4. Spezifische Artikel zur Charakterisierung von Nanomaterialien

Generell wurden nur Artikel betrachtet, bei denen freie Nanomaterialien untersucht wurden. Beschichtungen beispielsweise auf Platten oder Glaskugeln wurden nicht berücksichtigt.

Am 26.November 2007 fand am Umweltbundesamt Dessau ein Fachgespräch zu dieser Fragestellung statt, dessen Ergebnisse ebenfalls in den vorliegenden Bericht eingeflossen sind.

3 Auswertung relevanter Literaturstellen

In diesem Kapitel werden die ermittelten und als relevant eingestuften Literaturstellen näher ausgewertet. Dabei werden alle Referenzen durchnummieriert, um Verweise zu erleichtern. Einige Referenzen werden unter verschiedenen Aspekten (Unterpunkten) betrachtet. Dessen ungeachtet, erhalten sie nur eine Nummer.

3.1 Untersuchungen zum Umweltverhalten

Standardisierte Testverfahren zu Fate-Untersuchungen in den Systemen Wasser, Sediment und Boden sind für Industriechemikalien und Pflanzenschutzmittel seit einer Vielzahl von Jahren entwickelt und erprobt, wobei die wichtigsten von ihnen folgendermaßen zusammengefasst werden können:

Endpunkt:	Testverfahren:	Testguideline:
Adsorption/Desorption	<ul style="list-style-type: none">– Screening Methode (HPLC)– Sorptions-/Desorptionsstudie	OECD TG 121 OECD TG 106, EU-Richtlinie 91/414 II A 2.6
Hydrolyse als Funktion des pH-Wertes	– Hydrolysestudie	OECD TG 111, EWG-Methode C.7, EU-Richtlinie 91/414 II A 2.9.1
Aerober Bioabbau im Boden	– Abbau in Inkubationssystem, verschiedene Böden	BBA Teil IV, 4-1 OECD TG 307, Draft, U.S.-EPA, Canada
Anaerober Bioabbau im Boden	– Abbau unter anaeroben Bedingungen	BBA Teil IV, 4-1 OECD TG 307, Draft, U.S.-EPA, Canada
Aquatischer Bioabbau	– Abbau im Wasser-/Sediment-System	BBA Teil IV, 5-1 OECD TG 308, U.S.-EPA, Canada, Dutch CTB 88/1048.JM/GR
Kläranlagenabbau, aerob	– Prüfung auf Abbaubarkeiten: „ready“, „inherent“, „non degradable“	OECD TG 301 A OECD TG 301 B OECD TG 301 C OECD TG 301 D OECD TG 301 E OECD TG 301 F OECD TG 302 A OECD TG 302 B OECD TG 302 C OECD TG 302 D, Draft OECD TG 303 A
Kläranlagenabbau, anaerob		OECD TG 311 D, Draft, ISO 11734
Mobilität in Böden	<ul style="list-style-type: none">– Versickerung im gealterten Boden– Versickerung im nicht gealterten Boden	BBA Teil IV, 4-2 BBA Teil IV, 4-2
	Freilandlysimeterstudie	BBA Teil IV, 4-3

Die Literaturerecherche ergab, dass für die Testung von Partikeln respektive Nano-Materialien diese Testsysteme bisher nicht vorgesehen oder adaptiert worden sind. Die deshalb durchgeführte Strategie der Auswertung der Literatur war es,

- solche Literaturzitate zu Nanomaterialien zu identifizieren, die Untersuchungen mit analogen oder vergleichbaren Zielsetzungen durchgeführt haben,
- die in diesen Literaturzitaten aufgeführten Methoden auf Anwendbarkeit auf Fette-Untersuchungen zu überprüfen, die vergleichbar mit den o. g. Standardverfahren sind,
- Testverfahren vorzuschlagen, die auf der einen Seite die Charakteristika der Nanomaterialien berücksichtigen und auf der anderen Seite möglichst vergleichbar mit bereits etablierten Verfahren sind.

Damit bei ggf. neu vorgeschlagenen Testverfahren für Nanomaterialien der Untersuchungsaufwand in einem vertretbaren Umfang bleibt, ist es wünschenswert, Gesetzmäßigkeiten zu erkennen, die es ermöglichen, von Untersuchungsergebnissen ausgewählter Nanomaterialien auf andere Nanomaterialien zu schließen. Dies wiederum setzt voraus, dass relevante Informationen in allen Studien erfasst und veröffentlicht werden.

Im Folgenden sind die ermittelten Literaturstellen näher dargestellt und den Themenbereichen

1. Verhalten von Nanomaterialien in der Umwelt
2. Verhalten von an Nanomaterialien sorbierte Chemikalien in der Umwelt
3. Verhalten von Nanomaterialien und/oder sorbierten Stoffen im Zusammenhang mit Sanierungsmaßnahmen und Umwelttechnologie

zugeordnet. Insgesamt konnten für die Fragestellung „Untersuchungen zum Umweltverhalten“ 13 der hierfür überprüften 57 Literaturzitate ausgewertet werden. Die Darstellung der wesentlichen Inhalte der Veröffentlichungen erfolgt auf die Weise, dass zunächst die Fragestellung kurz skizziert wird und dann auf die methodischen Aspekte "Herstellung der Lösung / Suspension", "Materialcharakterisierung", "Konzentrationsbestimmung" und "Testdesign, Methodik" detailliert eingegangen wird. Eine Ergebnisdarstellung erfolgt nicht, da dies nicht Gegenstand der hier bearbeiteten Studie war.

3.1.1 Verhalten von Nanomaterialien in der Umwelt

Referenz 01: Lecoanet, H.F.; Wiesner, M.R. (2004a): Velocity effects of fullerene and oxide nanoparticle deposition in porous media. Environ. Sci. Technol. 38 (16), 4377-4382

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Transport-Geschwindigkeiten von Fullerenen und Oxiden in wässrigen Suspensionen durch poröse Medien. Es wurden eine Reihe von physiko-chemischen Details beschrieben, Durchbruchkurven für zwei verschiedene Fließgeschwindigkeiten erstellt und die Ergebnisse interpretiert.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Fullerene C60:

Herstellung einer C60-Lösung in Benzol, die zum Wasser gegeben wird, so dass 95% des Materials als Cluster mit einer Größe von 250 – 350 nm vorliegen, nachdem das Benzol verdampft ist.

Alternativ Herstellung einer Lösung in Toluol +THF + Aceton, Zugabe zu Wasser, so dass eine wässrige Suspension von n-C60-Clustern erhalten wird mit einer Größe von 168 nm.

Single wall carbon nanotubes (SWNT):

Dispersion in Wasser durch Nutzung von Na-Dodecylsulfonat als wässrigem, oberflächenaktivem Stoff. Durch die Tensid-Stabilisation können über 65% der Nanotubes, die ursprünglich zum Wasser gegeben wurden, gelöst werden; die Lösung ist über Monate stabil.

Anatase (TiNano40):

Keine Angaben

Silica Nanopartikel:

Keine Angaben

Materialcharakterisierung:

- Größe und Form (mittels Transmissions-Elektronenmikroskop)
- In Suspension: Dichte, elektrophoretische Mobilität, pH-Wert

Konzentrationsbestimmung:

- Influent und Effluent-Konzentrationen wurden mittels UV/VIS-Spektrophotometer bestimmt.
- vorher: Wellenlängen-Scan und Kalibrierung

Testdesign, Methodik:

Bei dem porösen Medium handelt es sich um Silikat-Partikel (< 300 µm), die in kleine Säulchen von 9,25 cm Höhe gefüllt wurden. Die Porosität des Säulenmaterials hat einen Wert von 0,43, was „feinem/mittleren Sand“ entspricht. Es wur-

den Leaching-Versuche durchgeführt: 10 Porenvolumina NaCl-Elektrolytlösung werden über die Säulen geschickt, anschließend werden die Nanopartikel-haltigen Suspensionen mittels Spritze (in der Spritze wurde gerührt, um die Suspension homogen zu halten) appliziert. Die Durchbruchkurven bei zwei verschiedenen Fließgeschwindigkeiten bestimmt. Messgröße war c/c_i , wobei c = Partikelkonzentration im Leachate und c_i = aufgetragene Partikelkonzentration.

Referenz 02: Lecoanet, H.F.; Bottero, J-Y.; Wiesner, M.R. (2004b): Laboratory assessment of the mobility of nanomaterials in porous media. Environ. Sci. Technol. 38 (1), 5164-5169

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Die Mobilität von acht verschiedenen Nanomaterialien in einem definierten porösen Material wurde untersucht. Es konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass Nanomaterialien generell kein einheitliches Umweltrisiko darstellen, sondern – im vorliegenden Fall – einen weiten Bereich von Transport-Verhalten abdecken. Es wurden getestet:

- Silika (2 Partikelgrößen)
- Anatase (TiNano40):
- Ferroxane
- Alumoxane
- Fullerol (hydroxyliertes Fullerene)
- C₆₀-Cluster (n-C₆₀)
- Single-wall carbon nanotubes

Herstellung der Lösung / Suspension:

Fullerol:

wasserlöslich

Fullerene:

Siehe Referenz 1

Single wall carbon nanotubes (SWNT):

Siehe Referenz 1

Silika:

Keine weiteren Angaben

Anatase (TiNano40):

Keine weiteren Angaben

Ferroxane:

Keine weiteren Angaben

Alumoxane:

Keine weiteren Angaben

Materialcharakterisierung:

- Partikelgröße (außer für Fullerol) wurde mit Photonen-Korrelations-Spektroskopie (PCS) bestimmt.
- Partikelgröße und -form (mittels Transmissions-Elektronenmikroskop)
- In Suspension: Dichte, elektrophoretische Mobilität, pH-Wert

Konzentrationsbestimmung:

Siehe Referenz 1 (Influent und Effluent-Konzentrationen wurden mittels UV/VIS-Spektralphotometer bestimmt; vorher: Wellenlängen-Scan und Kalibrierung)

Testdesign, Methodik:

Siehe Referenz 1

(Bei dem porösen Medium handelt es sich um Silikat-Partikel (< 300 µm), die in kleine Säulchen von 9,25 cm Höhe gefüllt wurden. Die Porosität des Säulenmaterials hat einen Wert von 0,43, was „feinem/mittleren Sand“ entspricht. Es wurden Leaching-Versuche durchgeführt: 10 Porenvolumina NaCl-Elektrolytlösung werden über die Säulen geschickt, anschließend werden die Nanopartikel-haltigen Suspensionen mittels Spritze (in der Spritze wurde gerührt, um die Suspension homogen zu halten) appliziert. pH-Wert und Ionenstärke wurden so gewählt, dass sie einem typischen Süßwasser-Aquifer entsprechen.)

Referenz 03: Brant, J.; Lecoanet, H.F.; Wiesner, M.R. (2005): Aggregation and deposition characteristics of fullerene nanoparticles in aqueous systems. Journal of Nanoparticle Research 7 (4-5), 545-553

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Die Neigung von n-C₆₀ zu aggregieren¹ und auszufallen spielt eine entscheidende Rolle bei der Bestimmung seiner Persistenz in aquatischen Systemen und damit auch bei der Einschätzung von Exposition und Risiko durch diese Colloide. Aggregations- und Depositionscharakteristika von n-C₆₀ bei verschiedenen Ionenstärken – und damit unter verschiedenen Bedingungen eines aquatischen Systems – wurden untersucht. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Stabilisierungsmechanismen elektrostatischen Ursprungs sind.

Gesamtergebnis ist, dass Fullerene-Nanopartikel große Aggregate bilden können, die aus den Suspensionen ausfallen können, an andere Partikel oder Medien sorbieren oder immobilisiert werden können, falls sie in die aquatische Umwelt gelangen.

¹ Die aktuelle Diskussion auf OECD-Ebene unterscheidet zwischen aggregieren (Bildung chemischer Bindungen) und agglomerieren (basierend auf van der Waals Kräften). In der vorliegenden Veröffentlichung wird von „aggregation“ gesprochen, wobei es sich jedoch vermutlich um ein Agglomerieren gemäß der aktuellen Definition handelt. Diese Differenzierung war zurzeit des Erscheinens der Veröffentlichung noch nicht üblich.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Wässrige Suspensionen wurden nach der Methode von Deguchi et al. (2001) (Referenz 21) hergestellt. C₆₀ wurde zunächst in Toluol molekular dispersiert und dann bei Raumtemperatur zu unterschiedlichen Volumina THF gegeben. Drei unterschiedliche C₆₀-Größenfraktionen wurden dadurch hergestellt, dass die Ausgangskonzentrationen von C₆₀ in THF unterschiedlich waren.

Materialcharakterisierung:

Größe und Struktur der n-C₆₀ Nanopartikel werden mittels „dynamic light scattering“ (DLS) und TEM bestimmt. Die DLS-Messungen werden unter Nutzung eines Photonen-Korrelations spektroskopischen Set-ups direkt nach Herstellung der Suspension sowie nach 2-monatiger Lagerung im Dunkeln durchgeführt. Die Aggregationsgröße und –struktur wurde mit Hilfe des TEMs bestimmt. Die dazu benötigten Proben wurden mittels Ultrazentrifugation vorbereitet.

Die elektrophoretische Mobilität wurde mittels „phase analysis light scattering“ gemessen.

Konzentrationsbestimmung:

Keine weiteren Angaben.

Testdesign, Methodik:

Transport- und Depositionsversuche wurden in einer Säule mit sphärischen Glaskügelchen (Durchmesser 355 µm) durchgeführt. Am Auslauf der Säule wurde ein Nylonnetz mit einer Maschenweite von 10 µm und einer Dicke von 45 µm platziert. Die Leachingversuche wurden mit Ionenstärken von 0.1 bis 0.001 M NaCl, pH = 7, durchgeführt.

3.1.2 Verhalten von an Nanopartikel sorbierte Chemikalien in der Umwelt

Referenz 04: Yang, K. et al. (2006): Adsorption of PAHs by Carbon Nanomaterials. Environ. Sci. Technol. 40 (6), 1855-1861

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Systematische Studie zur Sorption von PAHs an verschiedene Nanomaterialien (Fullerene, single-walled nanotubes, multiwalled nanotubes). Aufnahme von Adsorptionsisothermen. Beschreibung der Sorption mit Hilfe des Modells von Polanyi-Manes (PMM).

Herstellung der Lösung / Suspension:

Mischung von Nanomaterialien und Hintergrundlösung (Hintergrundlösung = 0,01 mol/l CaCl₂ in deionisiertem, destilliertem Wasser mit 200 mg/l NaN₃). Je nach Nanomaterial werden unterschiedlich konzentrierte Suspensionen herge-

stellt. Die ^{14}C -markierten PAHs werden zugegeben, indem die methanolischen PAH-Lösungen in die Suspension injiziert werden.

Materialcharakterisierung:

Charakterisierung und Kontrolle u. a. mittels TEM. Die Nanomaterialien (Fullerene, single-walled carbon nanotubes, multiwalled carbon nanotubes) wurden mittels innerem und äußerem Durchmesser, Kohlenstoffgehalt, Reinheit, Oberflächengröße, Mikro- und Mesoporenvolumen beschrieben.

Konzentrationsbestimmung:

Es wurden keine Konzentrationsbestimmungen der Nanopartikel durchgeführt.

Testdesign, Methodik:

Die Testvials wurden verschlossen und für 5 Tage geschüttelt; Vorversuche haben gezeigt, dass das Gleichgewicht nach weniger als 4 Tagen eingestellt ist. Nach Zentrifugation wurde der ^{14}C -Gehalt im Überstand bestimmt, um die Konzentration an nicht sorbiertem radioaktiven Material zu bestimmen. Für die thermodynamischen Versuche wurden nach dem 5-tägigen Schütteln alle Vials für 24 h vertikal auf einer glatten Oberfläche platziert, um die Trennung zwischen Wasser und Nanomaterialien zu gewährleisten. Es wurde nicht zentrifugiert, um Temperatureinflüsse auszuschließen.

Referenz 05: Cheng, X.; Amy, T.K.; Mason B.T. (2005): Uptake and Sequestration of Naphthalene and 1, 2-Dichlorobenzene by C₆₀. Journal of Nanoparticle Research 7 (4-5), 555-567

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Die Wechselwirkungen von Umweltkontaminanten und nano-C₆₀ wurden untersucht, um die Umweltauswirkungen von Kohlenstoff-basierten Nanomaterialien zu bewerten. Die Adsorption und Desorption von hydrophoben Chemikalien (Naphthalin, 1,2-Dichlorbenzol) an nano-C₆₀ wurde charakterisiert. Die experimentell beobachtete Adsorptions-/Desorptionshysterese wurde anhand eines 2-Kompartimentmodells beschrieben: zunächst findet eine Sorption an die äußere Oberfläche, die im Kontakt zum Wasser steht, statt, anschließend folgt die Adsorption an die innere Oberfläche innerhalb des Aggregates.

Damit sind die Sorptions- und Desorptionsprozesse ähnlich denen, die für andere Kohlenstoff-Formen beobachtet werden.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Stabile wässrige Lösungen wurden mit zwei Methoden hergestellt: mit der „Ultrraschall-Methode“ und der „THF-Methode“.

„Ultraschall-Methode:“

Herstellung einer Lösung von 560 mg C₆₀ in 1 l Toluol. Davon werden 100 ml auf 200 ml deionisiertem Wasser in einem Becher aufgetragen; 4 h Ultraschall. Währenddessen sorbiert ein hoher Anteil der C₆₀-Aggregate an die Becherwände. Die entstehende nano-C₆₀-Suspension wird abgekühlt und filtriert, man erhält die stabile Suspension.

„THF-Methode“:

Herstellung einer gesättigten C₆₀-Lösung in THF, Filtration, Zugabe von deionisiertem Wasser, heftiges Rühren, anschließend Verdampfen des Toluols am Rotationsverdampfer, erneute Zugabe von deionisiertem Wasser und nochmaliges Einengen am Roti. Wiederholung des letztgenannten Schrittes und Filtration über eine Glasfaser-Filtermembranen.

Materialcharakterisierung:

Partikelgröße wurde über Photonenkorrelationsspektroskopie gemessen.

Konzentrationsbestimmung:

Konzentrationen wurden mit Hilfe eines UV/VIS-Spektrometers bestimmt.

Testdesign, Methodik:

Die Adsorptions- und Desorptionsversuche nach Zugabe von ¹⁴C-Naphthalin und ¹⁴C-1,2-DCB wurden im Batch-Verfahren durchgeführt. C₆₀-Suspensionen werden in 8 ml-Glasbehälter gefüllt, anschließend werden jeweils die Chemikalien zugefügt, die Glasbehälter werden verschlossen, und Proben und Kontrollen werden im Dunkeln 3 d langsam gerührt. Anschließend werden die Lösungen filtriert und die Radioaktivitäten bestimmt. Zur Desorption wurden Proben filtriert, zu Filtermembranen und Filterrückstand wurde deionisiertes Wasser gegeben. Im Ultraschallbad wurde für 15 min desorbiert, die Filtermembranen wurden entfernt, es wurde weiteres deionisiertes Wasser zugegeben und für 3 – 7 Tage im Dunkeln gerührt. Die Suspensionen wurden dann erneut filtriert und ¹⁴C-Konzentrationen in den wässrigen Lösungen bestimmt. Die Desorptionsschritte wurden zweimal wiederholt. Neben der ¹⁴C-Bestimmung wurden auch die Konzentrationen an C₆₀ in den verschiedenen Phasen analysiert, um eine Massenbilanz aufstellen zu können.

3.1.3 Verhalten von Nanopartikeln und/oder sorbierten Stoffen im Zusammenhang mit Sanierungsmaßnahmen und Umwelttechnologie

Referenz 06: Tungittiplakorn, W.; Lion, L.W.; Cohen, C.; Kim, J-Y. (2004): Engineered polymeric nanoparticles for soil remediation. Environ. Sci. Technol. 38 (5), 1605-1610

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Die Synthese und Anwendung von amphiphilen Polyurethan-Nanopartikeln (APU-Nanopartikel) in der Bodensanierung wird diskutiert. Dazu werden u.a. mit APU-Nanopartikeln Sorptions- und Säulenversuche durchgeführt, um das Verhalten in Boden und Aquifer zu bestimmen. Es wurden K_m - und K_d -Werte abgeleitet.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Polymere Vorläufer-Ketten werden in destilliertem, deionisiertem Wasser ohne Neutralisation mit NaOH vermischt. Die Wechselwirkungen zwischen den amphiphilen Polymeren und Wasser führt zur Bildung von micell-ähnlichen kolloidalen Nanopartikeln. Nach Bildung der Partikel werden die polymeren Vorläufer-Ketten in den Partikeln durch Einsatz von Kaliumpersulfat als Initiator unter Stickstoff vernetzt.

Materialcharakterisierung:

Die Partikelgröße wird durch ein dynamisches Streulicht-System bestimmt.

Konzentrationsbestimmung:

Konzentrationen von Partikeln unterhalb einer bestimmten Partikelgröße werden bestimmt durch Filtration durch ein Filter entsprechender Porengröße, anschließende Trocknung der gefilterten Suspension bei 50°C für 24h und anschließende Messung des festen Suspensions-Rückstands.

Testdesign, Methodik:

Sorptions-Versuche:

Die Verteilungskoeffizienten von APU-Partikeln zwischen Wasser und sandigem Boden (K_d) werden durch Mischung einer Serie von APU-Emulsionen verschiedener Partikel-Konzentrationen mit 1 – 2 g Aquifersand in 20 ml Gläsern bestimmt. Die Gläser werden für 2 Tage geschüttelt. Der Überstand wird zentrifugiert, um Aquifersand und sorbierte Partikel von der überstehenden Suspension zu trennen. 5 ml Proben der Suspension werden bei 50°C für 24h getrocknet und anschließend gewogen, um die Partikelkonzentration zu bestimmen.

Säulen-Versuche:

Das Aquifer-Material wird in Glas-Chromatographiesäulen (2,5 Innendurchmesser, 10 cm Länge) gepackt und mit 5 mM CaSO₄ (Simulation eines Grundwasser-Elektrolyten) equilibriert. Nitrat wird als Tracer eingesetzt, um Porenwasser-

fließgeschwindigkeit und Dispersionskoeffizient zu bestimmen. Nach Fertigstellung der Säulencharakterisierung werden die APU-Emulsionen (15 g/l) als Suspensionen in 5 mM CaSO₄ und 0.02% NaN₃ für die Dauer von 0.5 Porenvolume aufgegeben. Es folgt eine Elution mit der Elektrolytlösung (5 mM CaSO₄ und 0.02% NaN₃). Das NaN₃ wurde zugegeben, um mikrobielles Wachstum in der Säule zu unterbinden. Die im Fraktionssammler gesammelten Aliquots (2-3 ml) werden bei 50°C getrocknet, um anschließend die Partikel-Konzentration zu bestimmen.

(Ein analoger Versuchsaufbau wird genutzt, um die Effizienz der APU-Partikel zur Elution von PAKs vom Aquifersand zu bestimmen; Anwendung in der Bodensanierung).

Referenz 07: Fortner, J. D. et al. (2005): Nanocrystal Formation and Microbial Response. Environ. Sci. Technol. 39 (11), 4307 - 4316

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

In diesem Artikel geht es nicht um Fragestellungen zum Umweltverhalten, sondern zur Bildung bzw. Stabilität in wässrigen und anderen Medien. Hilfreich in Hinblick auf Herstellung von Lösungen, Bestimmung der Stabilität, Bestimmung von Konzentrationen und Charakterisierung.

Herstellung der Lösung / Suspension:

C₆₀ wird zu THF gegeben, über 24 h gerührt, so dass sich eine gesättigte C₆₀-Lösung ergibt. Lösung wird filtriert und entspricht einer C₆₀-Lösung. Nano-C₆₀ wird hergestellt, indem verschiedene Mengen Wasser zur C₆₀-Lösung gegeben werden; wichtigen Einfluß hat der pH-Wert des Wassers, der sorgfältig auf pH=5 eingestellt wird. THF wird durch Rotation weitgehend entfernt. Rückstand wird mit Wasser verdünnt, erneut eingeengt und erneut mit Wasser verdünnt. Zur Ankonzentrierung der Suspension wird eine Protein-Ankonzentrierungszentrifuge (protein concentrating centrifugal cartridge?) eingesetzt.

Materialcharakterisierung:

Partikelstabilität und –größe werden mit „dynamic light scattering“ (ZetaPALS, Brookhaven Instruments Corporation, Holtsville, NY) gemessen.

Konzentrationsbestimmung:

Konzentrationen von C₆₀ in THF, Toluol und Hexan werden mit Hilfe des Absorptionsspektrums bestimmt.

Die Konzentrationen von Nano-C₆₀-Suspensionen in Wasser werden durch ein 2-stufiges Verfahren bestimmt. Die Nano-C₆₀-Suspension wird durch Zugabe von Mg-Perchlorat destabilisiert und anschließend mit Toluol extrahiert. Dazu

wird das 2-phänsige System 30 min geschüttelt. Anschließend wird die Mischung auf Trockeneis gegeben, so dass die Toluol-Phase, die das C₆₀ enthält, separiert werden kann. Die anschließende Konzentrationsbestimmung erfolgt über HPLC mit UV/VIS-Detektor. Die Verifizierung der Ergebnisse erfolgte durch Anwendung einer gravimetrischen Methode.

Referenz 08: Mattigod, S.V. et al. (2005): Functionalized TiO₂ Nanoparticles for Use in Situ Anion Immobilization, Environ. Sci. Technol. 39 (18), 7306-7310

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Es wurden funktionalisierte Nanomaterialien hergestellt. Dabei handelte es sich um Anatase-Partikel (TiO₂), das mit einer Organosilan-Monoschicht, die ihrerseits mit Ethylen diamin-Liganden (EDA-Liganden) versehen ist, beschichtet ist. Diese funktionalisierten Nanopartikel (FNP) werden mit wässriger Cu(II)-Lösung behandelt, so dass Ligand-Cu-Komplexe entstehen, die ihrerseits gut über Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie nachgewiesen werden können. Der Einsatz dieser FNP zur Immobilisierung von Anionen wurde durch Batch- und Säulenversuche überprüft und bestätigt.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Die Herstellung der funktionalisierten Nanopartikel wird ausführlich beschrieben. Eine gesonderte Darstellung der Herstellung von Suspensionen erfolgt nicht.

Materialcharakterisierung:

Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie (XPS):

Messungen der Liganden-Cu-Komplexe wurden mittels XPS durchgeführt, wobei ein „Physical Electronics Quantum 2000 scanning ESCA microprobe“ zum Einsatz kam.

IR-Spektren:

Spektren wurden auf einem Nicolet 860 Magna IR Instrument aufgenommen.

NMR:

Festphasen-¹³C-NMR-Spektren wurden bei 25.2458 MHz aufgenommen.

Konzentrationsbestimmung:

-

Testdesign, Methodik:

Matrix-Testung:

Es wurde ein bestimmtes Grundwasser genutzt (Hanford groundwater), das mit Tc-99 gespikt worden war. Es wurde im Batch-Verfahren gearbeitet, wobei die Kontaktzeit 12 h betrug (bei vergleichbaren Sorbentien wird das Gleichgewicht

in der Regel nach wenigen Minuten eingestellt). Das Lösung/Feststoff-Verhältnis wurde systematisch modifiziert. Nach der Kontaktzeit wurden die Suspensionen filtriert und die Filtrate auf Tc-99 hin quantifiziert.

Ergebnis: Effiziente Entfernung von Tc-99.

Injektionstests:

Eine Säule mit 1,27 cm Durchmesser und 100 cm Länge wurde mit „Accusand“ gefüllt. Die gepackte Säule hatte eine Porosität von 35% und ein Porenvolumen von etwa 44 ml. Die FNP-Suspension betrug etwa 60 wt% Sorbens in der wässrigen Suspension, wobei 2% Ammoniumcarboxylat als Dispersionsmittel addiert worden waren. Etwa 3 Porenvolumina an Suspension wurden injiziert. Der Injektionsdruck wurde gemessen und die Anatase-Verteilung wurde am Ende der Injektion dadurch bestimmt, dass die Säule in 10 cm Scheiben geschnitten wurde. Jedes Segment wurde feucht durch ein 44 µm Sieb gesiebt, die Sand und Anatase-Faktionen wurden gesammelt, getrocknet und gewogen.

Ergebnis: Das Cu(EDA)2-FNP verteilt sich recht gleichmäßig entlang der Säule. Es kann von daher als Barriere und zur Sorption von Schadstoffen genutzt werden.

Bemerkungen:

Herstellung funktionalisierter Nanopartikel ist nicht Gegenstand der UBA-Studie und wird deshalb nicht im Einzelnen dargestellt.

Referenz 09: Paknikar, K.M. et al. (2005): Degradation of lindane from aqueous solutions using iron sulfide nanoparticles stabilized by biopolymers. Science and Technology of Advanced Materials 6 (3-4), 370-374

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

FeS-Nanopartikel werden auf „nasschemischem Weg“ hergestellt und durch Sorption an die kolloidale Masse eines Pilzes stabilisiert. Die Nanopartikel sind in der Lage, etwa 94% von Lindan innerhalb von 8 h abzubauen und können von daher bei der Sanierung eingesetzt werden. In einer darauf folgenden mikrobiologischen Behandlung können restliches Lindan und Abbauprodukte vollständig abgebaut werden. Durch den letztgenannten Prozess wird FeS aggregiert und kann so durch Filtration leicht entfernt werden. Diese integrierte nanobiotechnologische Methode wird als vielversprechend zur Gewässersanierung eingeschätzt.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Ein Pilz wurde als Quelle für ein stabilisierendes Polymer eingesetzt. Das aus dem Pilz isolierte gelatinöse Material wurde mit Wasser vermischt und homogenisiert, so dass eine 1 l homogene Lösung erhalten wurde. Die Lösung wurde zentrifugiert, und das überstehende viskose Polymer wurde gefriergetrocknet.

Das wieder aufgelöste, zuvor gefriergetrocknete Polymer wurde zu einer Lösung von FeSO_4 gegeben und intensiv unter N_2 -Atmosphäre gerührt. Zu dieser Lösung wird Na_2S gegeben, so dass eine kolloidale Suspension von FeS entsteht.

Materialcharakterisierung:

Scanning electron microscopy (Philips XL 30 SEM gekoppelt mit einem „Energy Dispersive X-ray Analysis System“) und Fouriertransformations-IR-Analyse.

Konzentrationsbestimmung:

Keine Angabe

Bemerkungen:

In der Studie ging es im Wesentlichen um den Abbau von Lindan. Sie wurde in die vorliegende Zusammenstellung aufgenommen, um die Herstellung und Charakterisierung der Nanopartikel zu beschreiben. Für Aussagen zu Fate-Untersuchungen an Nanopartikeln ist dieses Zitat nicht geeignet.

Referenz 10: Elliot, D.W. (2001): Field Assessment of Nanoscale Biometallic Particles for Groundwater Treatment. Environ. Sci. Technol. 35, 4922-4926

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Zweimetallige Nanopartikel (Eisen-Palladium) werden in der Grundwassersanierung (Trichlorethen) eingesetzt. Nach Überprüfung im Labormaßstab wird die Methode erfolgreich im Feld eingesetzt.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Herstellung der Nanopartikel: Zunächst wird nano-skaliges Fe^0 hergestellt durch Reduktion von Fe^{3+} mit BH_4^- . Das Fe^0 wird mit Pd^{2+} zum Fe^{2+} oxidiert; es entstehen bimetallische Partikel (Fe^{2+} und Pd^0), die eine relativ homogene Größenverteilung im Bereich von 100 – 200 nm besitzen.

Materialcharakterisierung:

Größe wird mit einem hoch auflösenden Feld-Emissions-Scanning-Elektronenmikroskop (SEM) bestimmt.

Konzentrationsbestimmung:

Fe-Bestimmung und Bestimmung von Trichlorethen.

Testdesign, Methodik:

In diesem Zusammenhang sind die Screening-Versuche im Labor von Interesse: Für die Batch-Versuche werden Fe- bzw. Fe/Pd-Nanomaterialien mit

Grundwasser und Aquifermaterial aus dem Testgebiet, das mit Trichlorethen kontaminiert ist, versetzt und geschüttelt. Der Vergleichansatz enthält keine Nanomaterialien. Die TCE-Konzentrationen wurden in bestimmten Abständen nach Versuchsbeginn im Test und in der Kontrolle bestimmt.

Bemerkungen:

Es wird ausdrücklich erwähnt, dass sich im Feldversuch die Trichlorethen- und die Fe-Konzentration (es wird auf Eisen hin analysiert) so verändern, dass das Muster konsistent ist mit der Advektion, Dispersion, Retardation und den Reaktionen, wie sie von einer im Untergrund wandernden Nanopartikelfahne erwartet werden. Damit ist dieses Verhalten auch konsistent mit dem klassischen Konzept des Kolloidtransports und der Kolloidreaktionen in porösen Medien.

Referenz 11: Ponder, S.M. et al. (2000): Remediation of Cr(VI) and Pb(II) aqueous solutions using supported nanoscale zero-valent iron. Environ. Sci. Technol. 34, 2564-2569

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Fe(0)-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 10-30 nm werden durch Reduktion hergestellt; das Material ist an der Luft stabil, wenn es getrocknet ist und 22.6% (W/W) Fe(0) enthält. Dieses sog. „Ferragel“ trennt und immobilisiert in wässrigen Lösungen Cr(VI) zu Cr(III) und Pb(II) zu Pb(0), wobei Goethit entsteht. Die Kinetiken sind komplex und enthalten eine Adsorptionsphase. Nach Belegung der Sorptionsstellen läuft die Reaktion zwar weiter ab, jedoch wesentlich langsamer.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Herstellung in wässriger Lösung durch Zugabe von Borhydrid auf FeSO_4 .

Materialcharakterisierung:

- Eisengehalt: Herstellung einer sauren Lösung, dann AAS
- Röntgendiffraktometrische Bestimmung mit dem Pulver
- Röntgenphotoelektronische Spektroskopie

Konzentrationsbestimmung:

Siehe „Materialcharakterisierung“

Bemerkungen:

Die Literaturstelle wurde aufgeführt in Hinblick auf Herstellung anorganischer Nanomaterialien, deren Funktionsweise und Nachweismethoden, jedoch nicht in Hinblick auf Testdesign für Fate-Untersuchungen.

Referenz 12: Wang, C.B. et al. (1997): Synthesizing Nanoscale Iron Particles for Rapid and Complete Dechlorination of TCE and PCBs. Environ. Sci Technol. 31, 2154-2156

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Die Transformation von halogenierten organischen Stoffen durch Fe⁰- bzw. Fe/Pd-Nanomaterialien wird beschrieben. Siehe auch Referenz 11 (Ponder et al., 2000).

Herstellung der Lösung / Suspension:

Siehe Referenz 11 (Ponder et al., 2000). Hier jedoch bessere Erläuterung: Das mit Borhydrid reduzierte Eisen fällt in der wässrigen Lösung aus. Durch die Zufügung von Pd²⁺ wird das Präzipitat mit einer dünnen Schicht Pd belegt; man kann durchaus von gecoatetem Fe sprechen.

Materialcharakterisierung:

TEM

Röntgendiffraktometer

Konzentrationsbestimmung:

Siehe Referenz 11 (Ponder et al., 2000)

Bemerkungen:

Die Veröffentlichung enthält über das in Referenz 11 Beschriebene hinaus keine weiteren Informationen.

Referenz 13: Kim, J.Y. et al. (2000): Use of amphiphilic polymer particles for in situ extraction of sorbed phenanthrene from a contaminated aquifer material. Environ. Sci Technol. 34, 4133-4139

Fate-Untersuchung, Fragestellung:

Amphiphile Polyurethan-Nanomaterialien (APU-Nanomaterialien) wurden hinsichtlich ihres Sorptionsverhaltens an Aquifermaterial sowie hinsichtlich ihres Sorptionsvermögens für PAHs (zur Sanierung) getestet. Die chemisch vernetzte Natur der Nanomaterialien sowie deren ionische funktionelle Gruppen auf der Oberfläche der Partikel vermindern die Sorptionsfähigkeit an poröse Medien. APU-vernetzte Nanomaterialien entfernten etwa 98% des Phenanthren aus dem kontaminierten Boden, ohne dass es zu nennenswerten Verlusten an Nanomaterial kam.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Amphiphile Urethanacrylat Anionomer-Ketten (UAA-Vorläuferketten) sind die Vorläufer der APU-Nanomaterialien. Die UAA-Vorläuferketten werden zunächst in einem 4-stufigen Prozeß (anderweitig beschrieben) hergestellt. Zur Herstellung der Suspension von APU-Nanomaterialien werden die UAA-Ketten ohne externe Surfactants in Wasser gegeben. Die Verknüpfung der AUU-Tropfen in der Emulsion zur Bildung der APU-Partikel erfolgt mit Hilfe von Kaliumpersulfat. Die UAA-in-Wasser Emulsion entsteht durch eine Trennung der hydrophilen und hydrophoben Segmente der Ketten. In wässriger Phase liegen die Carboxylat-Anionen außen, während die „Rückgrate“ der Ketten das hydrophobe Innere der gebildeten Partikel bilden.

Materialcharakterisierung:

Keine Angabe

Konzentrationsbestimmung:

Die Konzentrationen von APU-Nanomaterialien in den Suspensionen – zum Beispiel die auf die Säulen aufgetragenen oder eluierten Suspensionen – werden gravimetrisch bestimmt.

Testdesign, Methodik:

Zur Bestimmung der Sorptions-Isotherme der APU-Nanopartikel werden zunächst Batch-Experimente durchgeführt. Sand wird mit APU-Emulsion gemischt, die Gläschchen werden verschlossen und 1 Tag lang rotiert.

Zur Bestimmung der Sorption von Phenanthren an APU-Nanopartikel im Batch-Verfahren wird eine PHE-Lösung zu APU-Emulsionen gegeben, die unterschiedlich konzentriert sind. Auch diese Ansätze werden 1 Tag lang rotiert.

Zur Durchführung von Säulenexperimenten werden verschiedene APU-Konzentrationen auf mit Sand gefüllte Säulen bei unterschiedlicher Fließgeschwindigkeit gegeben.

3.2 Ökotoxikologische Prüfverfahren

Schwerpunkt der Ausarbeitung zum Themenfeld „Ökotoxikologische Prüfverfahren“ sollten die Tests mit Daphnien (OECD 202; Testparameter: Immobilisation) und Algen (OECD 201; Testparameter: Wachstum) darstellen. Da die Literaturrecherche ergab, dass nur wenige diesbezügliche Arbeiten für Nanopartikel vorliegen, wurden auch weitere Tests mit aquatischen Organismen berücksichtigt. Dabei sollte gewährleistet werden, dass zumindest generelle Hinweise auf die Testung, die aus diesen Studien ermittelt werden können, in die Auswertung mit einfließen.

Im Folgenden sind die ermittelten 30 relevanten Literaturstellen zum Themenfeld „Ökotoxikologische Prüfverfahren“ näher dargestellt. Von den 30 Literaturstellen ist eine auch im Kapitel „Untersuchungen zum Umweltverhalten“ (Referenz 07) aufgeführt. Referenz 18 wird bei den Unterpunkten "Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für anorganische Partikel" und "Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für organische Partikel" aufgeführt, da beide Aspekte in dieser Veröffentlichung beinhaltet sind.

Die Darstellung der wesentlichen Inhalte der Veröffentlichungen erfolgt auf die Weise, dass zunächst die "Herstellung der Lösung / Suspension" kurz skizziert wird und dann auf die methodischen Aspekte "Konzentrationsbestimmung", "Materialcharakterisierung", und "ökotoxikologische Testung" detaillierter eingegangen wird. Auffälligkeiten werden zum Schluss aufgeführt. Eine detaillierte Ergebnisdarstellung erfolgt nicht, da dies nicht Gegenstand der hier bearbeiteten Studie war.

Es ist ersichtlich, dass der Grad der methodischen Beschreibung sehr unterschiedlich ist und das zum Teil essentielle Informationen fehlen, wenn anhand von Ergebnissen aus verschiedenen Studien generelle Informationen hinsichtlich Verbleib und Wirkung von Nanomaterialien und den Eigenschaften, die jeweils verantwortlich sind, gezogen werden sollen.

3.2.1 Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für anorganische Partikel

Referenz 14: Haley M.V., Johnson D.W., Hart G.S. (1986): The toxicity of brass dust to the microalgae Ankistrodesmus falcatus and Selenastrum capricornutum. J. Appl Toxicol 6, 281-285

Herstellung der Lösung / Suspension:

Rußpartikel in Algenteestmedium (Direkteinwaage; 1,0 mg/mL; Polycarbonatgefäß) gegeben; Ultraschallbehandlung (10 – 15 min) zur feinen Verteilung der Rußpartikel, die eine hohe elektrostatische Aufladung zeigten. 4 mL der Stammlösung wurden in 1000 mL verdünnt

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Chemische Zusammensetzung und Größe; die Angaben zur Größe stehen in Widerspruch zur Johnson (1986), so dass vermutlich bei beiden Zitaten Schreibfehler vorliegen; es kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob es sich um Nanopartikel gehandelt hat.

Ökotoxikologische Testung:

Test wurde in Glasgefäßen durchgeführt.

Wachstumshemmung; EC₅₀ = 0.056 mg/L (*Ankistrodesmus falcatus*)
EC₅₀ = 0.056 mg/L (*Selenastrum capricornutum*)

Bemerkung: Detektierte Toxizität ist auf gelöste Cu-Ionen zurückzuführen; Ruß dissoziert in Cu (68,5 %) und Zn (27,5 %); EC₅₀ von Cu liegt bei 0,047 mg/L; eine Beschreibung, ob die Partikel im Test sedimentierten, wurde nicht gegeben

Referenz 15: Huang Z., Maness P-C, Blake D.M., Worlfrum E.J., Smolinski S., Jacoby W.A. (2000): bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. J. Photochem Photobiol A: Chem 130, 163-170

Herstellung der Lösung / Suspension:

Stammlösung mit TiO₂ (10 mg/mL) in deion. Wasser; unmittelbar vor Testung hergestellt und im Dunkeln aufbewahrt;

Konzentrationsbestimmung:

Nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Beschreibung der eingesetzten Partikel (P25 von Degussa; Durchmesser: 20 nm Primärpartikelgröße, Oberfläche: 50 m²/g, keine Beschreibung der angewendeten Methoden); keine Angabe zur Agglomeratbildung in der Suspension

Ökotoxikologische Testung:

Gewaschene *E. coli*-Zellen wurden in deion. Wasser resuspendiert (10⁷ CFU/mL); 1 mL TiO₂-Stammlösung + 8 mL deion. Wasser + 1 mL Zellsuspension (TiO₂-Konzentration: 1 mg/mL); auf Magnetrührer; Bestrahlung mit zwei 40 W-UV-Lampen (Maximum bei 365 nm); Lichtintensität auf Oberfläche war ca. 8 W/m²; Probenentnahme in Intervallen von 15 min für 1 h

Zellzahl (bestimmt als koloniebildende Einheiten, CFU) und Galactosidaseaktivität

Bemerkung: gleiche Vorgehensweise bei Untersuchung von Zelllysaten und bei reiner

E.coli β-Glucosidase

keine Information wie osmotischer Druck ausgeglichen wurde (Verwendung von deion. Wasser!)

Referenz 16: Hund-Rinke K., Simon M. (2006): Ecotoxic effects of photocatalytic active nanoparticles (TiO_2) on algae and daphnids. *ESPR - Environ Sci Pollut Res* 13, 225-232

Herstellung der Lösung / Suspension:

TiO_2 für jede Testkonzentration in Algentestmedium bzw. in Daphnienwasser suspendiert, Ultraschallbehandlung (Dauer keine Angabe)

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Beschreibung der eingesetzten Partikel (Partikeldurchmesser: 25 nm für P25 von Degussa und 100 nm, Kristallstruktur: Anatase, Rutil; keine Methodenbeschreibung); keine Angabe zur Agglomeratbildung in der Suspension

Ökotoxikologische Testung:

Ökotoxikologische Tests mit Algen (*Desmodesmus subspicatus*) und Daphnien (*Daphnia magna*) nach Richtlinie (DIN 38412-Teil 33 bzw. OECD 202); Der Algentest wurde in Mikrotiterplatten (200 μ L) durchgeführt; es wurde der Nachweis erbracht, dass die Partikel nicht zu Beschattungseffekten führten; die Platten wurden periodisch geschüttelt; eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung wurde erhalten

Der Daphnientest wurde in Petrischalen durchgeführt (\varnothing 5,5 cm; 20 mL Lösung), um einen Kontakt zwischen Daphnien und Partikeln zu erzwingen; Schütteln der Ansätze war nicht möglich, da Daphnien dadurch geschädigt wurden.

Algen: Wachstumshemmung (EC_{50} : 44 mg/L bei Primärpartikelgröße 25 nm; kein Effekt bis 50 mg/L bei Primärpartikelgröße 100 nm)

Daphnien: Immobilisation

Bemerkung: Untersuchungen mit und ohne UV-Behandlung der TiO_2 -Suspensionen; keine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung bei Daphnientest

Referenz 17: Johnson D.W., Haley M.V., Hart G.S. (1986): Acute toxicity of brass particles to *Daphnia magna*. *Appl Toxicol* 6, 224-228.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Untersuchungen mit gecoateten und ungecoateten Rußpartikeln (Coating mit Teflon) sowie einem Siliziumprodukt und TiO_2 ; es wurde eine Stammlösung (1 mg/mL) hergestellt und mit Ultraschall homogenisiert; diese Lösung wurde 24 h sedimentieren gelassen. Der Überstand wurde entnommen und für die Untersuchung weiter verdünnt. Eine Charakterisierung des Überstandes erfolgte nicht. Partikel mussten enthalten sein, da sie im Darm der Tiere mikroskopisch nachgewiesen wurden.

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte bezogen auf die ursprüngliche Einwaage; das Sedimentieren wurde nicht berücksichtigt

Materialcharakterisierung:

Chemische Zusammensetzung und Größe; die Angaben zur Größe stehen in Widerspruch zur Haley (1986), so dass vermutlich bei beiden Zitaten Schreibfehler vorliegen; es kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob es sich um Nanopartikel gehandelt hat.

Ökotoxikologische Testung:

Tiere wurden mikroskopisch untersucht und die Partikelaufnahme in den Darm gezeigt

EC₅₀ für Immobilisation lag bei 22,6 µg/L

Bemerkung: die Toxizität für die Rußpartikel ist nach Aussage der Autoren vermutlich auf die Aufnahme der Partikel und Dissoziation im Darm zurückzuführen; die im Darm freigesetzten Cu-Ionen bewirken Effekt

Referenz 18: Lovern, S.B., Klaper R. (2006): Daphnia magna mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C60) nanoparticles. Environ. Toxicol. Chem. 25, 1132-1137.

Herstellung der Lösung / Suspension:

THF/TiO₂ bzw. Wasser/TiO₂

THF/Fullerene bzw. Wasser/Fullerene

Wasser/Fullerene bzw. Wasser/TiO₂: Wasser und 30 min Ultraschall

THF/Fullerene bzw. THF/TiO₂: Methode in Anlehnung an Referenz 21 (Deguchi et al., 2001)

Deguchi (2001): frisch hergestelltes THF wurde entgast (30 min); C60 bzw. C70 wurde mit THF gemischt und über Nacht unter Argonatmosphäre gerührt; Filtration über PTFE Membranfilter (0,45 nm Porenweite); Lösung wurde 1:1 mit Wasser gemischt und THF mittels N₂ ausgetrieben
Lovern: Filtration anstelle von PTFE Membranfilter mit Nylaflo Filter (0,22 µm); Austreiben von THF durch Rotavapour

Konzentrationsbestimmung:

Fullerene: Elektronenmikroskopie

TiO₂: UV Spektroskopie (325-350 nm) (Vorgehensweise nicht näher beschrieben)

Materialcharakterisierung:

Größenbestimmung über Elektronenmikroskopie; keine Hinweise zum Zeitpunkt der Charakterisierung im Vergleich zum Test

Ökotoxikologische Testung:

Akuter Daphnientest nach US-EPA-Standardprotokoll (Standard operating procedure for 48-hour acute toxicity test using *Daphnia magna* and *Daphnia*

pulex) in Bechergläsern (50 mL Volumen von Testlösung); keine besonderen Modifikationen für die Testung von Nanopartikeln

Bemerkung: Die Ultraschallbehandlung bzw. die Verwendung von THF führt zu unterschiedlichen Partikelgrößen
TiO₂ mit Ultraschallbehandlung zeigt keine Effekte im Gegensatz zur THF-Behandlung, die Konzentrations-Wirkungs-Beziehung zeigt (Konzentrationen von TiO₂ bei Ultraschallbehandlung: 50 – 500 ppm; Konzentration bei THF: 0,2 – 10 ppm)
Fullerene: bei beiden Behandlungen Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen, Effekte bei THF höher (Konzentration von Fullerenen bei Ultraschallbehandlung: 0,2 – 9 ppm, Konzentration bei THF: 40 – 880 ppb; vergleichbare Ergebnisse bei Zhu et al., 2006).
Generelle Anmerkung: mit THF hergestellte Fulleren-Lösung kann THF in Fulleren Agglomeraten enthalten, die zu einer Erhöhung der Toxizität führen kann (Referenz 42: Brant et al., 2005).

Referenz 19: Maness P-C, Smolinski S, Blake D.M., Huang Z., Wolfrum E.J., Jacoby W.A. (1999): Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. Appl. Environm. Microbiol 65, 4094-4098.

Herstellung der Lösung / Suspension:

TiO₂ in deion. Wasser (100 mg/mL/Stammlösung); im Test 0,1 – 1 mg/mL; im Test wurde kontinuierlich gerührt, Bestrahlung mit zwei 40 W-Schwarzlichtröhren mit einem spektralen Maximum bei 356 nm; Lichtintensität auf der Oberfläche der Inkubationslösung ca. 8 W/m²; Zeitdauer der Bestrahlung bis 30 min; keine Angabe über Ansatzgröße und Gefäßmaterialien

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Beschreibung der eingesetzten Partikel (P25 von Degussa; Oberfläche 50 m²/g; 75 % Anatase, 25 % Rutil; keine Angaben über die verwendeten Methoden); keine Angabe zu dem Vorliegen in der Suspension

Ökotoxikologische Testung:

E. coli K12 in Nährmedium, TiO₂ zugesetzt

Messparameter: Lipidperoxidation, Zellzahlbestimmung auf Nähragarplatten; Erfassung der Atmungsleistung über O₂-Elektrode, Bestimmung der mikrobiellen Dehydrogenaseaktivität; Vergleich der Ansätze mit und ohne Bestrahlung sowie mit und ohne TiO₂;

Bemerkung: keine Hinweise auf besondere Behandlung infolge der Untersuchung von Nanopartikeln; antibakterielle Wirkung ist abhängig von Zellkonzentration und TiO₂-Konzentration

Referenz 20: Sondi, I., Saloped-Sondi B. (2004): Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science 275, 177-182.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Silbernanopartikel wurden mit eigener Methode hergestellt. Das erhaltene Pulver wurde in *E.coli*-Wachstumsmedium (flüssiges LB-Medium) mittels Ultraschall dispergiert. Jede Konzentration wurde einzeln eingesetzt.

Konzentrationsbestimmung:

nominale Konzentration

Materialcharakterisierung:

Größe und Morphologie der hergestellten Nanopartikel wurde über Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) bestimmt, die spezifische Oberfläche über "single-point"-Stickstoff Adsorption" ($158 \text{ m}^2/\text{g}$)

Ökotoxikologische Testung:

Medium mit Silbernanopartikeln wurde mit 10^7 *E.coli*-Zellen angeimpft (10 – 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) und die optische Dichte in 30 min-Intervallen photometrisch bei 650 nm bestimmt. Silber führte zu Wachstumsverzögerung; vollständige Wachstumshemmung wurde nicht erzielt

Nähragarplatten, die TiO_2 (10 – 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) enthielten, wurden mit *E.coli* beimpft; detektierte Hemmwirkung hängt von eingesetzter Bakterienanzahl ab

Bemerkung: eine Charakterisierung der Partikel in der Suspension erfolgte nicht; Oberfläche und Morphologie der Bakterien wurde über Elektronenmikroskopie und Röntgen-Mikroanalyse erfasst; Silbernanopartikel akkumulierten zum einen in der Zellwand, zum anderen gelangten sie in die Zellen

3.2.2 Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für organische Partikel

Referenz 21: Deguchi, S.; Rossitza, G. A.; Tsujii, K. Stable dispersions of fullerenes, C₆₀ and C₇₀ in water. Preparation and characterization. Langmuir 2001, 17, 6013–6017.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Gesättigte Lösung von C₆₀ bzw. C₇₀ in THF: Röhren von C₆₀ bzw. C₇₀ in THF über Nacht unter Argon-Athmosphäre; Filtration über PTEE Membranfilter (Porengröße 0,45 μm); Herstellung einer 1 : 1-Mischung mit Wasser und Austreiben des THF über Stickstoff

Konzentrationsbestimmung:

Spektrophotometrische Bestimmung (C60: 330 nm; C70: 331 nm)

Materialcharakterisierung:

Größe der Fullerene-Agglomerate wurde über DLS (dynamic light scattering) und Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) bestimmt.

Ökotoxikologische Testung:

Keine Testung durchgeführt

Bemerkung: Stabilität der Suspensionen wurde über Adsorptionsspektroskopie dargestellt;

Suspensionen erwiesen sich über den Untersuchungszeitraum von einem Monat als stabil; Zusatz von Salz (1% NaCl) reduziert die Stabilität deutlich C60-cluster sind negativ geladen

Fullerene können aus Wasser nicht in Toluol überführt werden; liegen die Fullerene als Komplex mit γ -Cyclodextrin oder in einer wässrigen Salzlösung (1 % NaCl) vor, ist eine Extraktion in Toluol möglich; Ankonzentrierung von Fullerenen in Wasser ist möglich (in Publikation wurde eine Ankonzentrierung um den Faktor 4 problemlos erzielt)

Referenz 07: Fortner, J. D.; Lyon, D. Y.; Sayes, C. M.; Boyd, A. M.; Falkner, J. C.; Hotze, E. M.; Alemany, L. B.; Tao, Y. J.; Guo, W.; Ausman, K. D.; Colvin, V. L.; Hughes, J. B. C60 in water: Nanocrystal formation and microbial response. Environ. Sci. Technol. 2005, 39, 4307-4316.
Angewendet von Lyon et al., 2006 (Referenz 22)

Herstellung der Lösung / Suspension:

THF/nC60: s. Beschreibung bei Lyon et al., 2006 (Referenz 22)

Konzentrationsbestimmung:

Konzentrationsbestimmung mittels Absorptionsspektrum; keine Hinweise zum Zeitpunkt der Bestimmung im Vergleich zum Test

Materialcharakterisierung:

Partikelgröße und –form über DLS und TEM; keine Hinweise zum Zeitpunkt der Charakterisierung im Vergleich zum Test

Ökotoxikologische Testung:

Wachstum von Mikroorganismen (*B. subtilis*, *E. coli*) in Nährmedien, photometrische Detektion des Wachstums sowie Atmungsmessung (CO₂-Freisetzung); im Gegensatz zu den anaeroben Bedingungen wurde bei den Untersuchungen unter aeroben Inkubationsbedingungen die Ansätze geschüttelt. Keine Beschreibung der Ansatzgröße und der Materialien der verwendeten Inkubationsgefäß

Bemerkung: keine Hinweise auf Grenzen der Bestimmungen.

Referenz 18: Lovern, S.B., Klaper R. (2006): Daphnia magna mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C60) nanoparticles. Environ. Toxicol. Chem. 25, 1132-1137.

Siehe Referenz 18: Beschreibung unter Kapitel "Suspensionsherstellung und ökotoxikologische Testung für anorganische Partikel"

Referenz 22: Lyon, D.Y., Adams L.K., Falkner J.C., Alvarez P.J.J. (2006): Antibacterial activity of fullerene water suspensions: effects of preparation method and particle size. Environ.Sci.Technol. 40, 4360-4366.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Son/n60: s. Andrievsky et al., (1995)

1 g /L C60 in Toluol; 50 mL in 500 mL MilliQ; Ultraschall 15 min bis Toluol verdampft; braune Suspension wurde filtriert (0,45 µm Osmonics Nylonmembranfilter und 0,22 m Nylonmembranfilter um Aggregate > 200 nm zu entfernen.

Überschüssiges Wasser wurde über Rotavapour einbedampft bis 2 - 15 mg/L C60. Lösung wurde sterilfiltriert (0,22 µm Cellulose Filter oder 0,22 µm NCE Vakuummembranfilter: Partikel wurden in eine größere und eine kleinere Fraktion aufgeteilt; durch Zentrifugation bei 25.000 g für 1 h

Wasser/nC60: s. Cheng et al., 2004

1 g C60 in 1 L MilliQ unter Erwärmen gerührt für 2-6 Wochen; braune Suspension wurde filtriert (0,45 µm Osmonics Nylonmembranfilter und 0,22 m Nylonmembranfilter um Aggregate > 200 nm zu entfernen. Überschüssiges Wasser wurde über Rotavapour einbedampft bis 2 - 15 mg/L C60. Lösung wurde steril filtriert (0,22 µm Cellulose Filter oder 0,22 µm NCE Vakuummembranfilter: Partikel wurden in eine größere und eine kleinere Fraktion aufgeteilt; durch Zentrifugation bei 25.000 g für 1 h

THF/nC60: s. Fortner et al., 2005 (Referenz 07)

100 mg 99,5 % reines C60 wurde in 4 L THF (Tetrahydrofuran) gelöst; mit Stickstoff überschichtet um Oxidation von THF zu verhindern, dann über Nacht bei RT gerührt und filtriert (0,22 µm Osmonics Nylonmembranfilter) um ungelöste Partikel zu entfernen

500 mL wurde unter heftigem Rühren mit 500 mL Reinstwasser versetzt (1 L/min); THF wurde über Rotavapor verdampft; 1 L von THF/C60/Wasser-Mischung ergibt ca. 400 mL THF/nC60. Lösung wurde sterilfiltriert (0,22 µm Cellulose Filter oder 0,22 µm NCE Vakuummembranfilter: Partikel wurden in eine größere und eine kleinere Fraktion durch Zentrifugation (25.000 g für 1 h) aufgeteilt

PVP/C60: s. Yamakoshi et al. (1994).

100 mL einer 0,31%igen PVP (Polyvinylpyrrolidon)-Lösung (in Chloroform) wurde mit 25 mL einer 1g/L Lösung von C60 in Toluol versetzt; Lösung wurde gerührt und erhitzt (45 °C) über Nacht bis Lösungsmittel verdampft; Überstand wurde in 500 mL MilliQ suspendiert; gelbe Suspension wurde filtriert (0,45 µm Osmonics Nylonmembranfilter und 0,22 m Nylonmembranfilter um Aggregate > 200 nm zu entfernen. Überschüssiges Wasser wurde über Rotavapour eindampft bis 2 - 15 mg/L C60. Lösung wurde sterilfiltriert (0,22 µm Cellulose Filter oder 0,22 µm NCE Vakuummembranfilter: Partikel wurden in eine größere und eine kleinere Fraktion aufgeteilt; durch Zentrifugation bei 25.000 g für 1 h

Konzentrationsbestimmung:

Konzentrationsbestimmung über Extraktion mit Toluol (s. auch Referenz 07 Fortner et al., 2005): Erfassung über 2-stufigen Destabilisierungs-Extraktions-Prozess. 1 Volumenanteil der Nanopartikel/Wasser-Mischung wurde mit 2/5 Volumenanteilen 0,1 M Mg(ClO₄)₂-Lösung versetzt und mit 1 Volumenanteil Toluol extrahiert. Molekulares C60 ist löslich in Toluol mit 2,8 mg/mL. Bestimmung der C60-Konzentration in Toluol mittels HPLC.

Wasser/nC60 und PVP/C60 zeigten schlechte Extrahierbarkeit, Konzentration wurde daher direkt (ohne Extraktion) über die Erfassung der Absorption bei 336 nm bestimmt und mit Standardkurve (C60 in Toluol) verglichen.

keine Hinweise zum Zeitpunkt der Charakterisierung im Vergleich zum Test

Materialcharakterisierung:

Größenbestimmung der Agglomerate über DLS (dynamic light scattering); keine Hinweise zum Zeitpunkt der Charakterisierung im Vergleich zum Test

Biologische Testung:

Wachstum von Mikroorganismen (*B. subtilis*) in Nährmedien; Bestimmung von minimaler Hemmkonzentration (MIC); Nachweis des Wachstums über photometrische Bestimmung; kein Hinweis auf Zeitdauer, Gefäßgröße und Gefäßmaterialien

Bemerkung: Ausfallen von C60-Agglomeraten bei hohen Phosphatkonzentrationen; daher Medien mit niedriger Phosphatkonzentration verwendet (0,7 g K₂HPO₄, 0,2 g KH₂PO₄)

Toxizität bei kleineren Agglomeraten höher als bei größeren, wobei der Toxizitätsanstieg unproportional höher war als der Anstieg in der Oberfläche.

Form der Agglomerate und Zustand (Größe, Gestalt, kristallin oder nicht-kristallin) hängt von der gewählten Methodik ab.

Antibakterielle Wirkung abhängig von dem gewählten Verfahren ab. Mit steigender Toxizität ergibt sich folgende Reihung: PVP < Wasser < Ultraschall < THF. Höchste und niedrigste Toxizität unterscheiden sich um ca. Faktor 10.

Referenz 23: Oberdörster E., et al (2006): Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: effects of fullerene (C60) on aquatic organisms. Carbon 44, 1112-1120.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Wasser/Fullerene

500 mg Fullerene unter Sonnenlicht in 1 L steriles Reinstwasser für mindestens 2 Monate gerührt; Konzentration bis 35 ppm erzielt

Konzentrationsbestimmung:

Oxidation der Fullerene durch Bleiche oder Magnesiumpersulfat und Extraktion in Toluol; Messen bei 332 nm gegen Standardkurve; keine Hinweise zum Zeitpunkt der Bestimmung im Vergleich zum Test

Materialcharakterisierung:

Beschreibung der eingesetzten Partikel; keine Angabe zu dem Vorliegen in der Suspension

Ökotoxikologische Testung:

Daphnientest nach US-EPA-Standardprotokoll (10-Day Chronic-*Daphnia magna* or *Daphnia pulex*; SOP # 2028; 1994) in Bechergläsern (40 mL Lösung in 50 mL Bechergläsern)

Untersuchungen wurden auch mit *Hyalella azteca*, Copepoden und *Pimephales promelas* durchgeführt. Durchführungen zeigten keine besonderen Modifikationen hinsichtlich der Testung von Nanopartikeln.

Bemerkung: Umweltrelevante Herstellung von Fullerensuspension; Ultraschall erhöht Toxizität, daher geringere Umweltrelevanz

Salze für die ökotoxikologischen Tests wurden danach zugesetzt; teilweise fielen Fullerene wieder aus (wenn Meerwasser nachgestellt wurde); maximale Konzentration 22,5 ppm

Referenz 24: Oberdörster, E. (2004): Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in brain of juvenile largemouth bass. Environ Health Perspect 112, 1058-1062.

Methodik analog zu Referenz 21 (Deguchi, 2001)

Referenz 25: Oberdörster, E. (2005): Informal information on the toxicity of engineered nanomaterials. Available from: <www.Nanotox.Info>

Herstellung der Lösung / Suspension:

Basis ist Methodik von Referenz 21 (Deguchi, 2001)

C60 wird in THF gelöst (100 mg/L); Lösung wird mit N2 überschichtet und über Nacht gerührt; Filtration durch 0,22 µm Nylonfilter, Zugabe von Reinstwasser bis 1 : 1 Mischung (THF/Wasser); Verdampfen von THF (1 L-Mischung wird auf 450 mL eingedampft, auf 550 mL aufgefüllt mit Reinstwasser, eingedampft erneut auf 450 mL; auf 550 mL wieder aufgefüllt und auf 500 mL eingedampft)

Konzentrationsbestimmung:

Lösung wird oxidiert durch 0,1 Magnesiumperchlorate oder mit 2:1-Mischung von Bleiche (50 mg/L) und nC60; Behandlung mit Vortex, Zugabe von Toluol, Behandlung mit Vortex, Zentrifugation (14.000 g) und Bestimmung der Adsorption bei 336 nm.

Materialcharakterisierung:

keine Angabe

Ökotoxikologische Testung:

Daphnientest nach US-EPA-Standardprotokoll (10-Day Chronic-*Daphnia magna* or *Daphnia pulex*; SOP # 2028; 1994)

Bemerkung: keine Auffälligkeiten zu erwähnen

Referenz 26: Zhu, S., Oberdörster E., Haasch M.L. (2006): Toxicity of an engineered nanoparticle (fullerene, C60) in two aquatic species daphnia and fated minnow. Marine Environmental Research. Doi: 10.1016/j.marenvres.2006.04.059.

Methodik analog zu Referenz 25 (Oberdörster, 2005)

3.2.3 Suspensionsherstellung und Erfassung der Cytotoxizität

Referenz 27: Beck-Speier I., Dayal N., Karg E., Maier K.L., Roth Ch., Ziesenis A., Heyder J. (2001): Agglomerates of ultrafine particles of elemental carbon and TiO₂ induce generation of lipid mediators in alveolar macrophages. Environ. Health Persp. 109, 613-618.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Suspension von elementarem Kohlenstoff bzw. TiO₂ in PBS (Phosphat-gepufferte Saline, pH 7.0, mit Ca²⁺/Mg²⁺ und 0,1 % Glucose; keine näheren Angaben) wurde wiederholt mit Vortex behandelt (5 * für je 3 sec) und Ultraschall (1 min); Vorgehensweise führte zu Agglomeraten

Konzentrationsbestimmung:

keine Angabe

Materialcharakterisierung:

Erfassung des Durchmessers (keine spezifische Angabe zur Bestimmung), spezifische Oberfläche (mittels Adsorption von N₂)

Testung: Inkubation von Zellen in PBS mit und ohne Partikeln; keine weiteren Angaben, die für die hier vorliegende Fragestellung als relevant angesehen wurden.

Bemerkung: keine Auffälligkeiten zu erwähnen

Referenz 28: Beck-Speier I., Dayal N., Karg E., Maier K.L., Schumann G., Schulz H., Semmler M., Takenaka S., Stettmaier K., Bors W., Ghio A., Samet J.M., Heyder J. (2005): Oxidative stress and lipid mediators induced in alveolar macrophages by ultrafine particles, Free Radic. Biol. Med. 38, 1080–1092.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Ultrafeine Partikel (elementarer Kohlenstoff, Printex 90, Printex G, Dieselruß) wurden in destilliertem Wasser suspendiert, mit Vortex und Ultraschall behandelt

Konzentrationsbestimmung:

keine Angabe

Materialcharakterisierung:

Von allen Partikeln ist Durchmesser und Oberfläche angegeben; mit Ausnahme des elementaren Kohlenstoffs (Oberfläche) und des Dieselrusses (Durchmesser) sind die angewendeten Methoden nicht explizit benannt.

Elementarer Kohlenstoff: Bestimmung der Oberfläche mittels Adsorption von N_2 liquid

Dieselruß: Partikeldurchmesser über Elektronenmikroskopie

Testung: Inkubation von Partikeln mit alveolaren Makrophagen wie bei Referenz 27 (Beck-Speier et al., 2001) beschrieben

Bemerkung: Testung von Agglomeraten; dabei wird davon ausgegangen, dass die Summe der Oberfläche der Einzelpartikel der Oberfläche der Agglomerate entspricht

Referenz 29: Brunner TJ, Wick P, Manser P, Spohn P, Grass RN, Limbach LK, Bruinink A, Stark WJ. (2006): In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. Environ Sci Technol. 40, 4374-81.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Nanopartikuläres Asbest und Silizium; suspendiert in Reinstwasser mittels Ultraschall; Suspensionen (ca. 1 mg Partikel/mL) wurden mit Zellkulturmedium vor Testung verdünnt

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Spezifische Oberfläche, mittlerer Partikeldurchmesser; Partikelgrößenverteilung, Gehalt an Agglomeraten > 200 nm; Anzahl an Partikeln pro Agglomerat (verwendete Methoden nicht angegeben)

Testung: Bestimmung der Cytotoxizität an verschiedenen Human- und Nagerzellen; keine weiteren Angaben, die für die hier vorliegende Fragestellung als relevant angesehen wurden.

Bemerkung: keine weitere Charakterisierung der Partikel bzw. Agglomerate im Test

Referenz 30: Jia G, Wang H, Yan L, Wang X, Pei R, Yan T, Zhao Y, Guo X. (2005): Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. Environ Sci Technol. 39,1378-83.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Single wall nanotubes (SWNTs; Ø 1,4 nm), multiple wall nanotubes (MWNTs; Ø10 – 20 nm), Fullerene: frische Suspension in Zellkulturmedium hergestellt, in "Dounce Homogenizer" homogenisiert, mit Vortex behandelt; unmittelbar nach Herstellung eingesetzt

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Keine Angabe

Ökotoxikologische Testung:

Bestimmung der Cytotoxizität an alveolaren Macrophagen (MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] Test)

Bemerkung: keine Auffälligkeiten zu erwähnen

Referenz 31: Kubota Y, Shuin t., Kawasaki C., Hosaka M., Kitamura H., Cai R., Sakai H., Hashimoto K., Fujishima A. (1994): Photokilling of T-24 human bladder cancer cells with titanium dioxide. Br.J. Cancer 70, 1107-1111.

Herstellung der Lösung / Suspension:

TiO₂ mit Ultraschall in Wasser dispergiert; autoclaviert und anschließend zentrifugiert (1.600 g) zur Abtrennung von Agglomeraten

Konzentrationsbestimmung:

über Verbrennungsanalyse

Materialcharakterisierung:

Keine Angabe

Testung: T-24 menschliche Blasenzellen wurden auf Zellplatten angezüchtet, das Medium gegen F-12-Lösung, ergänzt um 10 % Rinderserum und TiO₂-Suspension, ausgetauscht und die Zellen für 24 h im Dunkeln inkubiert; danach wurde das Medium entfernt, die Zellen gewaschen und erneut TiO₂-

freies Medium zugegeben; Bestrahlung mit 500 W Lampen (300 – 400 nm); Wachstum für 10 Tage und Zellzahl ermittelt

Bemerkung: Wirkung von adsorbierten TiO₂-Partikeln wurde erfasst; wurde anstelle der F-12-Lösung mit Rinderserum PBS (phosphatgepufferte Salzlösung) als Medium verwendet, verstärkte sich die Wirkung der Bestrahlung; es wird davon aus-gegangen, dass entweder UV durch F-12-Medium absorbiert wird oder die reaktiven O₂-Spezies durch einige Medienkomponenten (z.B. Mannitol, Tryptophan) abgefangen werden

Referenz 32: Möller W, Hofer T, Ziesenis A, Karg E, Heyder J.. (2002): Ultrafine particles cause cytoskeletal dysfunctions in macrophages. Toxicol Appl Pharmacol. 182, 197-207.

Herstellung der Lösung / Suspension:

TiO₂ (220 nm), Printex G und Printex90 (kommerziell erhältliche Farbstoffpigmente), elementarer Kohlenstoff (Nanopartikel im Labor hergestellt), Dieselruß (Standardreferenzmaterial) wurden in Wasser suspendiert und mit Ultraschall behandelt; dann weiter in Zellmedium verdünnt; um die Wirkung von an Ruß adsorbierten organischen Bestandteilen zu erfassen, wurde DMSO zugesetzt; DMSO-Konzentration im Test < 0,1 %.

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Bestimmung der spezifischen Oberfläche durch N₂liquid-Adsorption, Bestim-mung der Partikeldurchmesser (Methode zur Erfassung der Partikelgröße ist nicht angegeben)

Testung: Alveolare Macrophagen, keine weiteren Angaben mit Relevanz für die vorlie-gende Fragestellung

Bemerkung: keine Angaben über den Zustand der Partikel im Test;
Extraktion von an Ruß adsorbierten organischen Substanzen führt zur Ver-größerung der Oberfläche (über Zitat belegt)

Referenz 33: Möller W., Brown D.M., Kreyling W.G., Stone V. (2005): Ultrafine particles cause cytoskeletal dysfunctions in macrophages: role of intracellular calcium. Particle and Fibre Toxicology 2, Doi:10.1186/1743-8977-2-7.

Herstellung der Lösung / Suspension:

elementarer Kohlenstoff (EC90; im Labor hergestellt) Printex 90, Dieselruß (Standardreferenzmaterial) wurden in Glasrörchen in deion. Wasser mittels Ultraschall suspendiert; in Medium ohne Serum weiter verdünnt;

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Mikroskopische Betrachtung der Verdünnungen zeigte Agglomerate

Testung: Inkubation der Partikel mit Macrophagen (100 und 320 µg/mL/106 Zellen) für 4 h in Serum -freiem Medium

Bemerkung: Keine weitere Charakterisierung der Agglomerate

Referenz 34: Sakai H., Ito E., cai R-X, Yoshioka R., Kubota Y., Hashimoto K., Fujishima A. (1994): Intracellular Ca²⁺ concentration change of T24 cell under irradiation in the presence of TiO₂ ultrafine particles. Biochmica et Biophysica Acta 1201, 259-265.

Herstellung der Lösung / Suspension:

TiO₂ (P25) wurden in doppelt destilliertem Wasser mittels Ultraschall suspendiert und autoklaviert; bei Sterilisation agglomериerten einige Aggregate und konnten über Ultraschall nicht wieder dispergiert werden; wurden über Zentrifugation (1600 g; 15 min) entfernt; kleine Agglomerate (0,03 – 1 µm) wurden für die Testung verwendet

Konzentrationsbestimmung:

Konzentrationswerte sind im Test angegeben; es liegt jedoch keine Angabe vor, wie diese Werte ermittelt wurden, bzw. worauf sie sich beziehen, da die Suspension nach Partikeleinwaage und deren Suspendierung zur Abtrennung größerer Agglomerate abzentrifugiert wurde.

Materialcharakterisierung:

keine Angabe

Testung: Zugabe von Zellkulturmedium (F12-Medium, Rinderserum, und Natrium Bicarbonat); Testung von T24-Zellen (Humanzellen)

Bemerkung: keine Charakterisierung der Partikel im Test

Referenz 35: Sayes CM, Wahi R, Kurian PA, Liu Y, West JL, Ausman KD, Warheit DB, Colvin VL. (2006): Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. Toxicol Sci. 92, 174-185.

Herstellung der Lösung / Suspension:

nano TiO₂-Rutil und nano TiO₂-Anatase/Rutil wurden aus Ti(IV)chlorid im Labor selbst hergestellt (Partikelgröße 3 – 5 nm)

Suspension des Pulver unmittelbar vor der Testung in Reinstwasser (30 mg/mL) und mit Ultraschall behandelt (50 W, 60 Hz; 30 min); diese Mischung

Konzentrationsbestimmung:

nominale Konzentration

Materialcharakterisierung:

Erfassung des Durchmessers, der Oberfläche und der Kristallisationsform (Anatase, Rutil) über XRD (x-ray diffraction), TEM (Transmissionselektronenmikroskopie) und N₂liquid

Testung: TiO₂-Suspension wurde zu Zellkulturen zugegeben (eine nähere Beschreibung liegt nicht vor); eine Entmischung während der Testlaufzeit (50 h) wurde nicht beobachtet; Untersuchungen der Mischungen in Zellkultur ergab eine weitere Agglomeration; dabei verhielten sich alle Proben gleich

Bemerkung: Agglomerate von Rutil und Anatase Nanopartikeln wiesen unterschiedliche Gestalt auf

Referenz 36: Sayes CM, Gobin AM, Ausman KD, Mendez J, West JL, Colvin VL. (2005): Nano-C60 cytotoxicity is due to lipid peroxidation. Biomaterials 26, 7587-7595.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Fullerene C60; Vorgehensweise entspricht Referenz 25 (Oberdörster, 2005)

Konzentrationsbestimmung:

Konzentrationen sind im Test erwähnt; ob die Konzentration nach der Aufarbeitung in der Stammlösung bestimmt wurde oder ob sich die Angaben auf nominale Einwaagewerte beziehen, geht nicht hervor

Materialcharakterisierung:

Keine Angabe

Testung: Zugabe zu Humanfibroblasten und Zellkulturmedium

Bemerkung: keine Informationen zum Vorliegen der Fullerene im Test

Referenz 37: Sayes, C.M., Fortner J.D., Guo W., Lyon d., Boyd A.M., Ausman K.D., Tao Y.J., Sitharaman B., Wilson L.J., Hughes J. B., West J.L., Colvin V.L. (2004): The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. Nano Letters 4, 1881-1887.

Herstellung der Lösung / Suspension:

(I) Fullerene (C60; C60(OH)₂₄) wurden in Toluol mittels Ultraschall gelöst (1,25 µm), NaOH-Lösung (13,8 mM) und Tetrabutylammoniumhydoxid (1 mL) zugegeben; nach 48 h wurde eine wassergelöste Fraktion isoliert. Die Na⁺-

Fullerenol-Probe wurde über Kristallisation gereinigt.
(II) Fullerene wurden nach Andrievsky et al., (1999; 2002) bzw. Referenz 21 (Deguchi et al., 2001) gelöst.

Konzentrationsbestimmung:

keine weitere Angabe

Materialcharakterisierung:

Die hergestellte Na^+ -Fullerenol-Probe (Methodik I) wurde über Absorptions-spektroskopie und TEM charakterisiert. Erfasst wurden die Spektrum sowie die Größe der Partikel.

Testung: Humane Dermalfibroblasten und Leberzellen wurden in Medium bis zu einem Bedeckungsgrad von 70 % herangezogen, bevor die Fulleren-Lösungen zugegeben wurden; weitere Angaben zum Testansatz (z.B. Gefäße) liegen nicht vor. Es wird eine Monolayerkultur angenommen.

Bemerkung: keine Charakterisierung der Partikel im Test; geringfügige Veränderungen der Oberfläche führt zu starken Veränderungen in der Cytotoxizität (> 7 Größenordnungen); je stärker die Hydrophilie wird, desto höher ist die Toxizität; es werden Superoxidanionen als Ursache für die Toxizität postuliert

Referenz 38: Soto KF, Carrasco A, Powell TG, Garza KM, Murr LE (2005): Comparative in vitro cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmission electron microscopy. Journal of Nanoparticles Research, 7, 145-169.

Herstellung der Lösung / Suspension:

Ag, (20 nm; 25 nm) As_2O_3 , Fe_2O_3 , ZrO_2 , TiO_2 , (Anatase), TiO_2 (Rutil), $\text{Mg}_3\text{Si}_2\text{O}_5$ (Asbest), Carbon black Pulver: Suspendierung der Partikel in DMSO ("Stammlösung": 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$); Behandlung mit Ultraschall (Vortex)

Konzentrationsbestimmung:

nominale Werte

Materialcharakterisierung:

Charakterisierung der Ausgangspartikel mittels Transmissionselektronenmikroskopie (Morphologie und Größe der Agglomerate, Größe der Partikel; Kristallstruktur)

Testung: Alveolare Macrophagen von der Maus wurden in 96-well-Platten inkubiert (50.000 Zellen/well); 80 % Bedeckungsgrad vor Zugabe von verschiedenen Konzentrationen der Nanopartikel (Startkonzentration: 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$); DMSO-Konzentration im Test betrug 0.0344 mM – 35.25 nM ($2,7 \cdot 10^{-4}$ – $2,8 \cdot 10^{-7}$ %); keine negative Wirkung durch DMSO aufgrund entsprechender Kontrollen beobachtet

Bemerkung: keine Auffälligkeiten zu erwähnen

3.2.4 Spezifische Artikel zur Materialcharakterisierung

Referenz 39: Rothen-Rutishauser BM, Schurch S, Haenni B, Kapp N, Gehr P. (2006): Interaction of fine particles and nanoparticles with red blood cells visualized with advanced microscopic techniques. Environ Sci Technol. 40, 4353-4359.

Materialcharakterisierung:

Nachweis von Nanopartikeln nach Aufnahme in rote Blutkörperchen; Technik variierte in Abhängigkeit der Nanopartikel

TiO₂: "energy filtering" Transmissionselektronenmikroskopie (EFTEM)
Fluoreszenzmarkierte Polystyrolpartikel: laser scanning Mikroskopie (LSM)
Nanopartikel mit hoher Dichte (z.B. Gold): konventionelle Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Bemerkung: Die Methoden dienten der Lokalisierung der Nanopartikeln in den biologischen Proben und wurden spezifisch für die jeweiligen Partikel gewählt.

Referenz 40: Lin H., Huant C.P., Li W., Ni C., Ismat Shah S., Tseng Y-H. (2006): Size dependency of nanocrystalline TiO₂ on its optical property and photocatalytic reactivity exemplified by 2-chlorophenol. Appl Catalysis B: Envriornmetal 68, 1-11.

Materialcharakterisierung:

TiO₂ (100 % Anatase; Herstellung im Labor: 17 – 29 nm, kommerziell erworben: 3,8 – 5,7 nm;)

Charakterisierung erfolgte über Transmissionselektronenmikroskopie (TEM), X-ray diffraction (XRD), scanning Elektronenmikroskopie (SEM), BET spezifische Oberflächenbestimmung, dynamic light scattering (DLS), diffuse reflectance spectra, Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie (XPS),

Bemerkung: Die verwendeten Methoden dienten der Erfassung der Partikelgröße und – form (TEM, bestätigt durch BET, SEM, XRD), der kristallinen Struktur (XRD), der spezifischen Oberfläche (BET), Agglomeratgröße (DLS), Erfassung des Absorptionskoeffizienten (diffuse reflectance spectra), relative Zusammensetzung der Nanopartikel und des Valenzzustandes (XPS). Mit diesen Verfahren konnte gezeigt werden, dass die Größe der einzige Unterschied bei den verschiedenen Partikeln darstellte. Kristallstruktur, Reinheit und Morphologie waren vergleichbar.

Abnahme der Partikelgröße von 23 auf 17 nm führt zur Reduktion der Bandlückenenergie; von 17 nm zu 2,8 nm ist wieder eine Zunahme zu verzeichnen; dennoch ist die photokatalytische Umsatzrate für 2-Chlorphenol umso größer, je kleiner die Partikel sind, was durch die unterschiedlichen spezifischen Oberflächen bedingt ist. Die photokatalytische Effektivität eines Partikels wird somit durch zwei gegenläufige Prozesse bestimmt. Je kleiner der Durchmes-

ser, desto geringer ist die in einer Lichtquelle vorhandene Energie, die zur Anregung benutzt werden kann (falls keine Lichtquelle mit enger Begrenzung der Wellenlänge verwendet wird). Aufgrund der höheren Oberfläche ist die Effektivität jedoch wieder höher.

In wässriger Lösung kann die primäre Partikelgröße nicht gehalten werden, da unmittelbar Agglomeration einsetzt; Agglomeration kann nur verhindert werden, indem ständig Energie zur Dispergierung zugeführt wird. Für die photokatalytische Umsatzrate spielt die sekundäre Partikelgröße jedoch eine vernachlässigbare Rolle.

Referenz 41: Andrievski G.V., Klochkov V.K., Bordyuh A., Dovbeshko G.I. (2002): Comparative analysis of two aqueous-colloidal solutions of C₆₀ fullerene with help of FTIR reflectance and UV-Vis spectroscopy. Chemical Physics Letters 364, 8-17

Materialcharakterisierung:

Ausgangspunkt waren zwei Fullerensproben, die von Universitäten hergestellt waren (99,5 – 99,8 % Reinheit). Herstellung von Suspensionen und Charakterisierung mittels FTIR (Fourier-Transformations-IR-Spektroskopie), UV-Vis Spektroskopie, TEM.

Bemerkung: Die Methoden geben Informationen über die Zusammensetzung der Suspensionen (Einzelmoleküle bzw. Agglomerate), die Form der vorliegenden Cluster sowie die Art der Bindungskräfte, die zur Stabilität der Cluster beitragen.

Referenz 42: Brant J., Lecoanet H., Hotze M., Wiesner M. (2005): Comparison of electrokinetic properties of colloidal fullerenes (n-C₆₀) formed using two procedures. Environ. Sci. Technol. 39, 6343-6351.

Materialcharakterisierung:

Es wurden verschiedene Fullerensuspensionen hergestellt, die über "electrophoretic mobility" Bestimmungen sowie über potentiometrische und coduktometrische Titration charakterisiert wurden.

Bemerkung: Die Methoden geben Informationen über die Oberflächenladung (electrophoretic mobility) und Oberflächenfunktionalität (potentiometrische und coduktometrische Titration) der n-C₆₀-Moleküle.

4 Zusammenfassende Auswertung der Literatur und resultierende Empfehlungen

Anmerkung:

Die folgenden Kapitel unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Präsentation. Sie sind entweder stärker tabellarisch oder textlich dargestellt. Es wurde jeweils die Form gewählt, mit der sich die zu treffenden Aussagen in Abhängigkeit des Themenfeldes am deutlichsten darstellen ließ.

4.0 Suspensionsherstellung, Materialcharakterisierung und Konzentrationsbestimmungen

Neben der Literaturoauswertung mit unmittelbarem Bezug zur Methodik der Bestimmung des Umweltverhaltens und der ökotoxikologischen Wirkungen wurde eine gesonderte Auswertung im Hinblick auf die Suspensionsherstellung, Materialcharakterisierung sowie Konzentrationsbestimmung durchgeführt. Diese Aspekte bilden eine wichtige Grundlage bei der Formulierung von Empfehlungen zum Testdesign und zur Berichtspflicht.

Es wird zunächst eine tabellarische Übersicht über die verschiedenen in der Literatur aufgeführten Methoden differenziert nach organischen und anorganischen Nanomaterialien aufgeführt, daran schließen sich Detaildiskussionen an.

Tabelle 4.1: Übersicht über Suspensionsherstellungen, Materialcharakterisierung und Konzentrationsbestimmungen

organische / anorganische Nanomaterialien	Herstellung der Nanomaterialien bzw. Suspensionsherstellung	Charakterisierung der Nanomaterialien	Konzentrationsbestimmung
organische	<ul style="list-style-type: none"> - Benzol als Lösungsvermittler - Toluol und THF als Lösungsvermittler - THF als Lösungsvermittler, anschließend Zugabe von Wasser und Einstellung des pH-Wertes, dann Entfernung THF und Ankonzentrierung (protein concentrating centrifugal cartridge) - Tensidstabilisation mit Hilfe von Na-Dodecylsulfat - direkte Einwaage bei wasserlöslichen Nanomaterialien (z.B. Fullerol) - Mischung von Nanomaterial und wässrige CaCl_2-Lösung - Ultraschall-Methode - Polymere Vorläufer-Ketten mit wässriger NaOH vermischen, Entstehung von micellähnlichen Nanopartikeln, dann Vernetzung mittels Katalysator - Polymere Vorläuferketten liegen vor, werden mit Persulfat in wässrige Lösung gegeben, so dass amphiphile Polyurethan-Nanomaterialien entstehen mit polarem Anteil außen und hydrophobem Anteil innen 	<ul style="list-style-type: none"> - Größe und Form mittels TEM - Größe mittels Photonen-Korrelations-Spektroskopie (PCS) - Dichte - pH-Wert - Beschreibung mittels Reinheit, Oberflächengröße, Mikro- und Mesoporenvolumen, innerer und äußerer Durchmesser (keine detaillierten Angaben der Methodik) - Stabilität und Größe durch dynamische Lichtstreuung - Elektrophoretische Mobilität mittels „phase analysis light scattering“ 	<ul style="list-style-type: none"> - UV/VIS - Filtration, Trocknung der gefilterten Suspension und gravimetrische Bestimmung

organische / anorganische Nanomaterialien	Herstellung der Nanomaterialien bzw. Suspensionsherstellung	Charakterisierung der Nanomaterialien	Konzentrationsbestimmung
anorganische	<ul style="list-style-type: none"> - Herstellung einer Suspension durch Direkteinwaage und Lösung in Wasser bzw. analog zu organischen Nanopartikeln durch einen Zwischenschritt über THF und Überführung in Wasser - Herstellung der <u>funktionalisierten Nanopartikel</u>: Anatas mit EDA-Liganden, werden mit Cu(II)-Lösung behandelt - Nutzung eines Pilzes als stabilisierendes Polymer; Aufgabe von FeSO₄, dann Reduktion, so dass kolloidale Suspension von <u>FeS</u> entsteht - <u>Bimetallische Nanopartikel</u>: Herstellung von Nano-Fe(0) durch Reduktion von Fe(3+) mit Borhydrid, dann Oxidation der äußeren Schicht durch Pd(2+) unter gleichzeitiger Reduktion zum Pd(0), dadurch Entstehung von zwei-metalligen Nanopartikeln - <u>Nano-Eisen</u>: Herstellung von Nano-Fe(0) in wässriger Lösung durch Zugabe von Borhydrid auf FeSO₄. Die Reduktion wird in Gegenwart von Hilfsmaterialien durchgeführt, die die Partikelaggregation verhindern sollen. Dabei handelt es sich beispielsweise um Polymerharze, Silikagel oder Sand. Die Ausbeute ist hoch, die Monodispersität dagegen gering. - <u>Herstellung von Fe(CO)₅</u> mittels Ultraschall. Die entstehenden Nanopartikel werden zur Vermeidung einer Oxidation gecoatet - <u>Nano-TiO₂</u>: Metalloxid-Nanopartikel (zum Beispiel TiO₂) werden durch den sog. „Sol-Gel“ 	<ul style="list-style-type: none"> - Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie (XPS) - IR-Spektren - Festphasen-¹³C-NMR - Elektronenmikroskopie und Fouriertransformations-IR-Analyse - Hochauflösendes Feld-Emissions-Scanning-Elektronenmikroskop (SEM) - TEM - Eisengehalt: Herstellung einer sauren Lösung, dann AAS - Röntgendiffraktometrische Bestimmung 	<ul style="list-style-type: none"> - Fe-Bestimmung - UV/VIS

organische / anorgani-sche Nanomaterialien	Herstellung der Nanomaterialien bzw. Suspensionsherstellung	Charakterisierung der Nanomaterialien	Konzentrationsbestimmung
	<p>Prozess“ hergestellt. Aus Ti(IV)alkoxiden entsteht durch saure Hydrolyse das TiO₂. Es gibt vornehmlich drei verschiedene kristalline Strukturen (Rutil, Anatas und Brookit). Kleine sphärische Partikel mit einem Durchmesser von 14 nm oder kleiner sind in der Regel aus Anatas</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Zusammenfassung: Oberflächenmodifizie-rung von Nano-TiO₂:</u> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Doping von TiO₂ mit Übergangs-metallen ▪ Aufbringung von Edelmetallen auf die Oberfläche ▪ Molekulare Funktionalisierung durch Anheftung von katalytisch wirkenden Molekülen, z.B. Carboxylgruppen 		

4.0.1 Suspensionsherstellung

Bei den Literaturstellen, die sich mit Fragen des **Umweltverhaltens** sowie der Sanierung befassen, werden meistens Verfahren zur Suspensionsherstellung erwähnt, die die Erzielung einer Suspension mit maximal möglicher Menge an suspendiertem Material anstreben. Es lassen sich verschiedene Typen der Suspensionsherstellung unterscheiden:

- Das organische, in Wasser unlösliche Nanomaterial liegt in fester Form vor und wird in eine wässrige Lösung eingerührt. Dabei kommen zum Teil Stabilisatoren zum Einsatz.
- Das organische, in Wasser unlösliche Nanomaterial liegt in fester Form vor und wird in einem organischen Lösungsvermittler (zum Beispiel: THF, Toluol, Benzol) gelöst. Durch Zugabe von Wasser und Entfernung des organischen Lösungsvermittlers entsteht die wässrige Suspension.
- Das organische Nanomaterial wird aus vorliegenden Vorläuferketten durch Vernetzungsreaktionen *in situ* in wässriger Lösung hergestellt.
- Die anorganischen Nanomaterialien werden häufig *in situ* in der wässrigen Lösung – zum Beispiel durch Reduktion – hergestellt. Dabei kommen häufig Hilfsmaterialien zum Einsatz, die die Partikel-Aggregation verhindern sollen. Des Weiteren werden Reduktionsmittel und/oder Katalysatoren eingesetzt. Durch anschließende Oberflächenmodifizierungen werden funktionalisierte Nanomaterialien hergestellt bzw. Nanomaterialien durch Coating stabilisiert.

Katalysatoren, überschüssige Hilfsmittel, Reduktionsmittel etc. sollten nach Möglichkeit weitestgehend aus den Suspensionen entfernt werden, da sie das Umweltverhalten beeinflussen können. Aussagen dazu liegen jedoch nicht in allen Literaturstellen vor. Das trifft besonders auf die Zitate zu, in denen es weniger um Studien zum Umweltverhalten als vielmehr zur Sanierung/Umwelttechnologie ging.

Darüber hinaus sind die Variablen identisch zu den bei den ökotoxikologischen Prüfungen angegebenen (Lösungsmittel, Durchmischung, Zeitdauer).

Bei den Untersuchungen zur **Ökotoxizität** sind primär zwei Vorgehensweisen zu beobachten. Generell ist dabei darauf zu achten, dass die Verträglichkeit der Suspensionen / Lösungen für die Organismen berücksichtigt werden muß. So müssen beispielsweise pH-Wert, Lösungsmittelmenge und Lösungsmittelart sowie Salzgehalte für Organismen in tolerablen Bereichen liegen.

- Das organische, in Wasser unlösliche Nanomaterial liegt in fester Form vor und wird in einem organischen Lösungsvermittler (zum Beispiel: THF, Toluol, Benzol) gelöst. Durch Zugabe von Wasser und Entfernung des organischen Lösungsvermittlers entsteht eine stabile wässrige Suspension.
- Die anorganischen Nanomaterialien (Metalloxide) werden direkt eingewogen und mechanisch durch Röhren oder Ultraschall in Suspension gebracht.

In einer Publikation, bei der sowohl organische als auch anorganische Nanomaterialien untersucht wurden, wurden, möglicherweise aus Gründen der Vergleichbarkeit, beide Materialien über Lösungsmittel in Suspension gebracht und das Lösungsmittel anschließend ent-

fernt. Wurde THF als Lösungsmittel verwendet, ergab sich eine vergleichsweise hohe Toxizität. Von einigen Autoren (z.B. Oberdörster, 2005; Brant, 2005) wird als Begründung hierfür angeführt, dass THF in Agglomeraten verbleiben kann, was zu einer Erhöhung der Toxizität führt. In diesem Fall würde die Toxizität von Fullerenen überschätzt. Lyon et al. (2006) schließt dies als Ursache für die Toxizität bei ihren Untersuchungen jedoch aus.

Bei ökotoxikologischen Untersuchungen können zwei Fragestellungen unterschieden werden, die zwei Verfahrensvarianten bedingen:

- I. Erfassung der intrinsischen Substanzeigenschaften
- II. Erfassung der Wirkung unter Berücksichtigung von Umweltrelevanz

Aussagen zu den intrinsischen Substanzeigenschaften im Hinblick auf die Ökotoxizität bedeuten, dass EC_x oder LC_x bzw. NOEC-Werte zu berechnen sind. Dies erfordert eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung. Voraussetzung hierfür ist eine ausreichend hohe Löslichkeit bzw. eine Feinverteilung in der Suspension (geringe Agglomeratgröße). Damit ergeben sich in Abhängigkeit der Nanomaterialien folgende Empfehlungen:

- Verwendung eines organischen Lösungsmittel und Überführung in Wasser: geeignet beispielsweise für die Herstellung von Lösungen von Fullerenen und carbon nanotubes)
- Feinverteilung in Wasser mittels Ultraschall: geeignet beispielsweise für Metalloxide Ob Ultraschall in der Probe (Vortex) oder Ultraschall im Wasserbad zu bevorzugen ist, kann zum derzeitigen Zeitpunkt noch nicht gesagt werden.

Stehen Aussagen zur Wirkung unter realen Umweltbedingungen im Vordergrund, dürfen nur Verfahren zum Einsatz kommen, die einen Bezug zur Umwelt haben. Ultraschallbehandlung oder die Verwendung von organischen Lösungsmitteln sind in diesem Fall ungeeignet. Die Einbeziehung von natürlichen Lösungsvermittlern wie beispielsweise Huminsäuren, ist dagegen in Abhängigkeit der Fragestellung tolerierbar.

Damit ergibt sich folgende Vorgehensweise:

- Unabhängig von den Nanomaterialien wird Wasser für die Suspensions- bzw. Lösungsherstellung verwendet, wobei die Verteilung nur durch Rühren erzielt wird.

Die Zeitdauer des Röhrens beeinflusst die Löslichkeit bzw. Feinverteilung. Bei den ausgewerteten Studien betrug die Zeitspanne Minuten bis Wochen. Hiermit kann somit zwischen worst-case (langes Röhren, gute Verfügbarkeit) und best-case (kurzes Röhren, weniger gute Verfügbarkeit) differenziert werden.

Fazit:

Suspensionsherstellung für Untersuchungen zum Verbleib in der Umwelt:

Ziel ist die Erstellung einer Suspension mit maximal möglicher Menge an suspendiertem Material, was auf verschiedene Weise erfolgen kann:

- Das organische, in Wasser unlösliche Nanomaterial liegt in fester Form vor und wird – z.T. unter Nutzung von Stabilisatoren – in eine wässrige Lösung eingerührt.
- Das organische, in Wasser unlösliche Nanomaterial liegt in fester Form vor, wird in einem organischen Lösungsvermittler (zum Beispiel: THF, Toluol, Benzol) gelöst, dann wird der Lösung Wasser zugegeben und der organische Lösungsvermittler entfernt.
- Das organische Nanomaterial wird aus vorliegenden Vorläuferketten durch Vernetzungsreaktionen *in situ* in wässriger Lösung hergestellt.
- Die anorganischen Nanomaterialien werden *in situ* in der wässrigen Lösung – zum Beispiel durch Reduktion – hergestellt.

Katalysatoren, überschüssige Hilfsmittel, Reduktionsmittel etc. sollten nach Möglichkeit weitestgehend aus den Suspensionen entfernt werden, da sie das Umweltverhalten beeinflussen können.

Suspensionsherstellung für Untersuchungen zur ökotoxikologischen Wirkung

- Differenzierung zwischen
 - Untersuchungen zur Erfassung der intrinsischen Substanzeigenschaften und
 - Untersuchungen zur Erfassung der Wirkung unter Berücksichtigung der Umweltrelevanz
- Nachweis intrinsischer Substanzeigenschaften:
maximaler Kontakt zwischen Nanomaterial und Organismus; daher hohe Löslichkeit bzw. hohe Feinverteilung in Suspensionen; die Verwendung von Lösungsvermittlern und Ultraschall ist gestattet.
- Erfassung der Wirkung unter Berücksichtigung der Umweltrelevanz:
die verwendeten Verfahren müssen die Vorgänge in der Umwelt widerspiegeln; daher organische Lösungsmittel ungeeignet, natürliche Lösungsvermittler (z.B. Huminsäuren) in Abhängigkeit der Fragestellung jedoch denkbar. Vermischung nur über Rühren, wobei zur Zeitdauer noch keine Empfehlung gegeben werden kann (kurzes Rühren führt zu geringerer Verteilung bzw. Verfügbarkeit, daher "best case"; langes Rühren spiegelt "worst-case" wieder)

4.0.2 Spektrum an Nanomaterialien

Sowohl bei den **Fate-Untersuchungen** als auch bei den **ökotoxikologischen Prüfungen** wird ein breites Spektrum an Nanomaterialien eingesetzt. So werden beispielsweise Nanomaterialien mit unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung als auch von unterschiedlicher Größe bei den einzelnen Publikationen verwendet. Darüber hinaus werden zum einen kommerziell erhältliche Partikel wie beispielsweise das häufig verwendete Titandioxid P25 von Degussa eingesetzt. Zum anderen werden Partikel für die Untersuchung in dem jeweiligen Labor hergestellt. Da die Methoden zur Herstellung wiederum variieren können, ist der Synergismus bei Resultaten eher gering.

Von Stone et al. (2006) wird daher angeregt, eine Auswahl von gut charakterisierten Partikeln vorzugeben, die in Größe, Form, Zusammensetzung, Beständigkeit und Reaktivität variieren, wobei bei der Auswahl jedoch auch Umweltrelevanz zu berücksichtigen ist. Es sollte sich um Partikel handeln, die in Zukunft in größerem Umfang in die Umwelt gelangen könnten. Dieses Spektrum an Partikeln könnten von den Labors für deren Untersuchungen verwendet werden und damit ein Datenset geschaffen werden, das Vergleiche und Schlussfolgerungen zulassen würde.

Innerhalb einer Arbeitsgruppe der OECD wird eine solche Partikelempfehlung erarbeitet (Working Party on Manufactured Nanomaterials; Project: Safety Testing of a Representative Set of Manufactured Nanomaterials). Die Zeitdauer bis zum Erreichen des Ziels kann derzeit nicht abgeschätzt werden.

Fazit:

Um einen hohen Synergismus bei den Versuchsergebnissen zu erzielen, ist eine Harmonisierung der Testmaterialien wünschenswert. Derzeit wird von einer Arbeitsgruppe der OECD eine solche Liste erstellt, wobei der Termin des Erscheinens nicht abgeschätzt werden kann. Es stellt sich daher die Frage, ob für Deutschland eine entsprechende Empfehlung gesondert erarbeitet wird und zu einem früheren Zeitpunkt zur Verfügung steht. Dies sollte in Kooperation mit der Industrie erfolgen, die entsprechend charakterisierte Materialien zur Verfügung stellt. Bei der Empfehlung sollten mindestens folgende Aspekte berücksichtigt werden:

- anorganische und organische Nanomaterialien
- Verschiedene Größen von einem Material → prinzipielle Aussagen zum Einfluss der Oberfläche
- Verschiedene Materialien mit gleicher Größe → prinzipielle Aussagen zum Einfluss der Materialeigenschaften
- Ein Material mit verschiedenen Varianten (z.B. Oberflächenmodifikation, Kristallstruktur, Form) → prinzipielle Aussagen zum Einfluss von Oberflächen- / Materialmodifikationen

Weitere Eigenschaften, die Verhalten und Wirkung beeinflussen könnten, sollten mit den Herstellern derartiger Materialien diskutiert werden.

4.0.3 Charakterisierung der Nanomaterialien und Suspensionen

Parameter, mit denen die Suspensionen bzw. die Nanomaterialien bzw. Agglomerate in den Suspensionen beschrieben werden, sind sowohl bei den Untersuchungen zum Umweltverhalten als auch bei den ökotoxikologischen Prüfungen beispielsweise:

- Oberfläche (Größe, Ladung)
- Durchmesser
- Morphologie der Agglomerate
- Stabilität
- Dichte
- elektrophoretische Mobilität.

Dabei werden in den Publikationen nicht alle Parameter bei allen Untersuchungen berichtet. Des Weiteren werden für den gleichen Parameter bei den einzelnen Gruppen teilweise un-

terschiedliche Bestimmungsmethoden angewendet, wobei davon auszugehen ist, dass unterschiedliche Verfahren auch zu unterschiedlichen Resultaten führen. In einigen Studien wurde keine Charakterisierung durchgeführt, was möglicherweise zum einen daran liegt, dass für die Charakterisierung Geräte verwendet werden (z.B. Elektronenmikroskop), die nicht zur Standardausstattung eines ökotoxikologischen oder chemischen Labors zählen. Zum anderen wird bei kommerziell erhältlichen Nanomaterialien (z.B. P25 von Degussa) eine Charakterisierung ohne Nennung der verwendeten Methoden angegeben. Es wird davon ausgegangen, dass es sich in diesem Fall um die Firmenangaben handelt. Eine chemische Charakterisierung (z.B. Erfassung der Oberflächenladung) wird in der Regel nicht durchgeführt. Bei Sayes et al. (2004) wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die chemische Reaktivität die Cytotoxizität beeinflusst und dass eine geringfügige Modifikation der Probe bereits eine starke Veränderung der Cytotoxizität (> 7 Größenordnungen) hervorrief.

Bislang in keiner Publikation berichtet, aber möglicherweise relevant könnte das Verhältnis von spezifischer Oberfläche zu Gewicht sein. So werden bei den Untersuchungen in der Regel spezifische Konzentrationen eingestellt. Die Reaktivität und Toxizität der Nanomaterialien könnte jedoch unter Umständen besser durch andere Parameter beschrieben werden. Für TiO₂ wurde beispielsweise gezeigt, dass die spezifische Oberfläche entscheidend ist (Lin et al. 2006).

In Suspension liegen in der Regel keine freien Nanomaterialien sondern Agglomerate vor, wobei beobachtet wurde, dass die Agglomerate unterschiedliche Morphologie aufweisen können. Welche Eigenschaften die Agglomeratmorphologie bewirken, ist bislang nicht systematisch untersucht. Die Suspensionen selbst müssen darüber hinaus nicht stabil sein. So belegen die Untersuchungen von Deguchi (2003), dass das Medium die Stabilität der Suspensionen beeinflussen kann. Dies bedeutet, dass nicht auszuschließen ist, dass längere Transportwege zu einer Veränderung der Proben führen. Da Testung und analytische Charakterisierung jeweils Spezialkenntnisse erfordern, ist davon auszugehen, dass verschiedene Arbeitsgruppen an der Untersuchung beteiligt sind. Aufgrund der potentiellen Instabilität von Suspensionen sollten die Arbeitsgruppen räumlich nahe beieinander liegen. Eine Alternative könnte jedoch auch darstellen, dass die verschiedenen Bestimmungen (z.B. ökotoxikologische Testung und Probencharakterisierung) nicht an derselben Probe durchgeführt werden, sondern dass die Arbeitsgruppen, die die einzelnen Methoden anwenden, eine identische Probenaufbereitung vornehmen. Dies setzt jedoch ein hohes Maß an Abstimmung und Dokumentation voraus, um zu gewährleisten, dass die Ergebnisse wirklich zusammengeführt werden dürfen, was jedoch zu leisten ist, da diese Arbeitsweise bereits erfolgreich angewendet wird (mündliche Mitteilung).

Fazit:

Bislang ist noch wenig bekannt über die Zusammenhänge von Materialeigenschaften sowie Verhalten und Wirkung in der Umwelt. So ist beispielsweise nicht bekannt, ob die Informationen zum Durchmesser von Materialien und Agglomeraten und die damit näherungsweise zu berechnende Oberfläche ausreichend sind oder ob die Oberfläche spezifisch zu bestimmen ist. Je interdisziplinärer die Zusammenarbeit bei der Bearbeitung der Fragestellungen ist, desto schneller werden Zusammenhänge erkannt werden können. Um die Forschungskosten im Rahmen zu halten, sollte jedoch differenziert bei den Anforderungen vorgegangen werden. Steht ein gut charakterisiertes Materialset zur Verfügung, wird erwartet, dass die Bestimmung der Agglomeratgröße als weitere primäre Einflussgröße für Verhalten und Wir-

kung in der Umwelt essentiell ist. Durch wiederholte Messungen können auch Aussagen zur Stabilität der Suspensionen getroffen werden, was speziell für die Interpretation der Ergebnisse aus ökotoxikologischen Untersuchungen erforderlich ist.

Bei der Verwendung kommerziell erhältlicher Materialien, die nicht zu einem empfohlenen Referenzmaterialset zählen, sollten Ergebnisse nur von solchen Studien akzeptiert werden, bei denen möglichst umfassende Herstellerangaben vorliegen. Da bislang noch nicht bekannt ist, welche Informationen notwendig sind, die Kosten für Studien überschaubar sein müssen und die notwendigen Parameter von den Fragestellungen (z.B. Sorption, Verlagerung, Wirkung) abhängen werden, wird im Rahmen dieses Projektes keine verbindliche Liste mit Bestimmungsgrößen aufgestellt.

Auf Basis des jetzigen Kenntnisstandes erscheinen folgende Parameter als Mindestanforderung jedoch sinnvoll:

- Durchmesser Nanomaterialien, Agglomerate: Untersuchungen zum Verhalten und zur Wirkung
- Oberflächenladung: Untersuchungen zum Verhalten (z.B. Sorption, Verlagerung) und zur Wirkung

4.0.4 Konzentrationsbestimmung

Angaben zur Konzentration werden bei den Literaturzitaten zur Untersuchung des Umweltverhaltens und zur ökotoxikologischen Prüfung zum Teil unterschiedlich gehandhabt. Bei den Studien, die gezielte Untersuchungen zum Umweltverhalten durchführten, also zum Beispiel Lecoanet et al. (2004a und 2004b), werden die Konzentrationen mittels UV/VIS oder gravimetrisch bestimmt. Auch bei einigen Fragestellungen zur Effizienz der Sanierungstechnologie erfolgt eine Konzentrationsbestimmung, hier jedoch – neben Konzentrationsbestimmungen der Nanomaterialien – insbesondere Konzentrationsbestimmungen der Kontaminanten. Einige andere Literaturzitate geben keine Konzentrationen an, da dies für die vorliegende Fragestellung nicht wesentlich war.

Anders stellt sich dies bei den ökotoxikologischen Prüfungen dar, wo Konzentrations-/Wirkungsbeziehungen aufgestellt werden. Hierbei werden die Konzentrationsbestimmungen im Test sehr unterschiedlich gehandhabt. Bei den meisten Arbeiten zu anorganischen Nanomaterialien werden die ermittelten Effekte auf nominale Konzentrationswerte bezogen. Zum jetzigen Zeitpunkt des Wissens kann noch nicht gesagt werden, ob dies zumindest tolerierbar ist, wenn jede untersuchte Konzentration getrennt eingewogen bzw. angesetzt wird. In dem Moment, wo weitere Verdünnung, Ankonzentrierung, Überführung oder gar Filtration erfolgt, wird ein derartiges Vorgehen als kritisch beurteilt. Noch ist nicht bekannt, wie homogen die Suspensionen sind, so dass durch derartige Manipulationen deutliche Konzentrationsveränderungen die Folge sein können. Lyon et al. (2006) weisen des Weiteren darauf hin, dass C60-Agglomerate in Medien mit hoher Phosphatkonzentration ausfielen. Deguchi et al. (2001) beobachteten, dass die von ihnen verwendeten Suspensionen von C60-Molekülen in Wasser stabil waren, in Gegenwart von 1 % NaCl die Stabilität aber deutlich abnimmt. Systematische Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses der Medien, die bei der biologischen Testung verwendet werden, auf das Verhalten und die Konzentration der Nanomaterialien im Testansatz fehlen weitestgehend. Da gleichzeitig nie während des Tests

die Suspensionen weiter untersucht werden, ist bei dem jetzigen Zeitpunkt schwierig, Wirkung und reale Konzentration in Einklang zu bringen.

Huang et al. (2000) erwähnt explizit, dass die TiO₂-Stammlösung vor der Testung im Dunkeln aufbewahrt wurde. In anderen Publikationen finden sich derartige Hinweise nicht. Speziell bei TiO₂ könnte dies aufgrund der Aktivierung der TiO₂-Nanopartikel durch UV-Licht und der photokatalytischen Wirkung eine signifikante Rolle auf das Ergebnis ausüben.

Im Gegensatz zu den anorganischen Nanomaterialien wurde für organische Nanomaterialien, die im Hinblick auf ihre Ökotoxizität untersucht wurden, in der Regel eine Konzentrationsbestimmung der Stammlösungen durchgeführt. Häufig wird hierzu ein photometrisches Verfahren angewendet. Bei Untersuchungen zur Cytotoxizität fehlen dagegen in den meisten Fällen entsprechende Angaben.

Fazit:

Konzentrationsbestimmung bei Untersuchungen zum Verbleib in der Umwelt:

Bei Untersuchungen zum Umweltverhalten sind Konzentrationsangaben notwendig, um den Verbleib bzw. möglichen Abbau der Nanomaterialien verfolgen zu können. Dazu bieten sich – wie in den meisten Untersuchungen bisher auch schon praktiziert - Konzentrationsbestimmungen mittels UV/VIS oder auf gravimetrische Weise an.

Konzentrationsbestimmung bei Untersuchungen zur ökotoxikologischen Wirkung

Generell gilt, dass Konzentrationsbestimmungen wünschenswert sind. In Abhängigkeit der Nanomaterialien und der Aufarbeitung kann die Notwendigkeit jedoch unterschiedlich ausfallen:

- Suspensionen mit Direkteinwaage für jede Konzentration und keine weitere Aufarbeitung: Nominalwerte sind akzeptabel, da Verluste nicht zu erwarten sind.
- Suspensionen mit Direkteinwaage und weiteren Aufarbeitungsschritte: werden Aufarbeitungsschritte angewendet, die signifikante Verluste nach sich ziehen können (z.B. Filtration, Zentrifugation, Überführung in andere Lösungsmittel), haben Konzentrationsbestimmungen zu erfolgen
- Lösungen ohne weitere Aufarbeitung: Nominalwerte sind akzeptabel, da Verluste nicht zu erwarten sind.
- Lösungen mit weiteren Aufarbeitungsschritten: werden Aufarbeitungsschritte angewendet, die signifikante Verluste nach sich ziehen können (z.B. Filtration), haben Konzentrationsbestimmungen zu erfolgen

4.1 Untersuchungen zum Umweltverhalten

Bezug nehmend auf die etablierten Studien zum Umweltverhalten von Chemikalien können Parallelen und Unterschiede identifiziert sowie Anpassungsnotwendigkeiten zur Testung des Umweltverhaltens von Nanomaterialien abgeleitet werden.

Ein wesentlicher Unterschied bei der Betrachtung von Nanomaterialien und deren Suspensionen besteht darin, dass die Nanomaterialien – wie Chemikalien auch – über ihre chemische Struktur und Identität definiert werden können, darüber hinaus jedoch auch durch ihre physikalische Struktur, Größe und Oberflächenbeschaffenheit und der sich daraus ableitenden

Funktion charakterisiert werden. Von daher müssen bei der Beschreibung oder Testung des Umweltverhaltens die folgenden Variablen berücksichtigt werden:

- **chemische Charakteristik**
- Material- und Suspensionscharakteristik (physikalische Struktur, Größe, Oberflächenbeschaffenheit) und damit die „technische“ **Funktion bzw. Funktionsfähigkeit**
- **Umweltvariable** bzw. Testvariable.

Das hat zur Folge, dass einige der aus der Chemikalentestung bekannten Endpunkte definiert bzw. in ihrer Definition modifiziert werden müssen, wie beispielsweise die Begriffe „Abbaubarkeit“ oder „Hydrolyse“. Dies ist bei der folgenden Auswertung zu berücksichtigen. So wird sicherlich die grundlegende kristalline Struktur des Anatas (TiO_2) im Boden nicht modifiziert (es findet kein klassischer Bioabbau statt), aber möglicherweise ändert sich die Struktur der Agglomerate im Boden, so dass sich die Funktionsfähigkeit verändert. Hier könnte dann dennoch von einer „Abbaubarkeit“ gesprochen werden.

Im Folgenden werden zunächst die ausgewerteten Literaturstellen den aus der Chemikalentestung bekannten Prüfverfahren (siehe Kapitel 3.1) gegenübergestellt.

Tabelle 4.2: Gegenüberstellung der ausgewerteten Literaturstellen und der Prüfverfahren aus der Chemikalentestung zur Charakterisierung des Umweltverhaltens

Chemikalentestung		Studien mit Nanopartikeln
Endpunkt:	Testverfahren:	veröffentlichte Ansätze und (indirekte) Informationen:
Adsorption/Desorption	<ul style="list-style-type: none"> – Screening Methode (HPLC) – Sorptions-/Desorptionsstudie 	<ul style="list-style-type: none"> – Schüttelversuche (1 - 2 Tage) mit Mischung einer Serie von APU-Emulsionen verschiedener Konzentration mit 1 – 2 g Aquifersand. Bestimmung des Kd-Wertes (Tungittiplakorn et al., 2004; Kim et al., 2000). – Schüttelversuche (5 Tage) zur Bestimmung der Sorption von PAHs an verschiedene Nanomaterialien (Yang et al, 2006). – Schüttelversuche zur Bestimmung der Sorption von Trichlorethen an zweimetallige Nanopartikel (Fe/Pd). – Adsorptions-/Desorptionsversuche im Batch-Verfahren von Naphthalin und 1,2-DCB an C60. Rühren im Dunklen 3 Tage. Desorption durch Zugabe von deionisiertem Wasser und Behandlung von Filtermembran und Filterrückstand im Ultraschallbad, anschließendes Rühren für 3 – 7 Tage, Desorption wird zweimal wiederholt (Cheng et al., 2005). – Testung der Immobilisierung von Anionen durch funktionalisierte NM im Batch-verfahren. Kontaktzeit 12 Stunden (Matigod et al., 2005).
Hydrolyse als Funktion des pH-Wertes	– Hydrolysestudie	– Stabilitätsprüfungen in wässrigem Medium, Zugabe von Tensidstabilisatoren (Nadodecylsulfonat) bei single-wall nanotubes.

Chemikalentestung		Studien mit Nanopartikeln
Endpunkt:	Testverfahren:	veröffentlichte Ansätze und (indirekte) Informationen:
		<ul style="list-style-type: none"> – Untersuchungen zur Partikelstabilität von C60 in wässriger Lösung, Einfluß des pH-Wertes auf die Bildung der NM respektive auf die Stabilität (Fortner et al., 2005)
Aerober Bioabbau im Boden	<ul style="list-style-type: none"> – Abbau in Inkubationssystem, verschiedene Böden 	<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien gefunden
Anaerober Bioabbau im Boden	<ul style="list-style-type: none"> – Abbau unter anaeroben Bedingungen 	<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien gefunden
Aquatischer Bioabbau	<ul style="list-style-type: none"> – Abbau im Wasser-/Sediment-System 	<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien gefunden
Kläranlagenabbau, aerob	<ul style="list-style-type: none"> – Prüfung auf Abbaubarkeiten: „ready“, „inherent“, „non degradable“ 	<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien gefunden
Kläranlagenabbau, anaerob		<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien gefunden
Mobilität in Böden	<ul style="list-style-type: none"> – Versickerung im gealterten Boden – Versickerung im nicht gealterten Boden – Freilandlysimeterstudie 	<ul style="list-style-type: none"> – Leaching-Versuche mit organischen (Fulleren C60, single wall nanotubes) und anorganischen (Anatas, Silica-NM, Ferroxane, Alumoxane) Nanomaterialien in Säulchen (ca. 10 cm) mit Silikatpartikeln. Porosität entspricht „feinem / mittleren Sand“. Partikelkonzentrationen auf der Säule und im Leachate bestimmt. NaCl-Elektrolytlösungen als Eluens, pH-Wert und Ionenstärke entsprechen Süßwasser-Aquifer (Lecoanet et al., 2004a; Lecoanet et al., 2004b) – Transport und Depositionsversuche in Säulchen (ca. 10 cm), die mit sphärischen Glaskugelchen gefüllt sind. Leachingversuche mit verschiedenen Ionenstärken (Brant et al., 2005). – Leaching-Versuche mit amphiphilen Polyurethan-Nanopartikeln in Säulchen (ca. 10 cm) mit Aquifersand, 5 mM CaSO₄ als Eluens entspricht Simulation von Grundwasserelektrolyt. Partikelkonzentrationen auf der Säule und im Leachate bestimmt. Analoger Versuchsaufbau zur Testung der Effizienz der APU-Partikel zur Elution von PAKs aus dem Aquifersand. (Tungittiplakorn et al., 2004; Kim et al., 2000) – Testung der Immobilisierung von Anio-

Chemikalentestung		Studien mit Nanopartikeln
Endpunkt:	Testverfahren:	veröffentlichte Ansätze und (indirekte) Informationen:
		<p>nen durch funktionalisierte NM im Säulenversuch. Säulenmaterial war Sand, Säulenlänge 100 cm, Säule wurde equilibriert, die Suspension injiziert, dann Anionen aufgegeben und Leachate gemessen. Verteilung der NM in der Säule am Ende des Versuchs durch Schneiden der Säule und gravimetrische Bestimmung überprüft (gleichmäßige Verteilung) (Mattigod et al., 2005).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Feldversuche zur Überprüfung der Anwendbarkeit von zweimetalligen Nanopartikeln (Fe/Pd) zur Sanierung des Untergrundes (Kontamination = Trichlorehren). Überprüfung der in Untergrund wandernden Nanopartikelfahne durch Fe-Analyse (Elliot et al., 2001).

Die Gegenüberstellung belegt deutlich, dass für die Fragestellung zur **Sorption** und zum **Verlagerungsverhalten** im Boden, vornehmlich im Aquifer, eine Reihe von Studien durchgeführt worden sind. Dabei ist zu unterscheiden zwischen Studien zur Sorption von chemischen Kontaminaten an die Nanomaterialien, die ihrerseits zur Sanierung eingesetzt werden, und zur Sorption der Nanomaterialien an poröses Material oder das Aquifer (Sand). Die Untersuchungen zum Verlagerungsverhalten der Nanomaterialien im Aquifer werden mit den Zielen durchgeführt, entweder die Funktion als Sorbens im Rahmen einer Untergrundsanierung zu überprüfen oder grundlegende Erkenntnisse über die Mechanismen der Diffusion, Advektion, Agglomeratbildung und Transport von Nanomaterialien (im Vergleich zu Kolloiden) zu gewinnen.

Erwartungsgemäß wurden bislang keine Studien zur **Abbaubarkeit** durchgeführt, weder in der Kläranlage noch im Wasser-/Sedimentsystem oder im Boden.

Auch Untersuchungen zur **Hydrolyse** im Sinne der Chemikalentestung wurden nicht durchgeführt. Jedoch können Studien zur Charakterisierung der **Stabilität** der Suspensionen, und damit der **Funktionsfähigkeit** der Nanomaterialien als Analoga angesehen werden. Hier ist auf das eingangs Erwähnte zu verweisen, dass bei der Testung des Umweltverhaltens von Nanomaterialien die chemische Charakteristik, die Umweltvariablen und die Funktionsfähigkeit der Materialien betrachtet werden müssen.

Parameter, die bei den betreffenden Studien angegeben sind, lauten:

- Eigenschaften des Eluens (pH-Wert, Ionenstärke, Puffer)
- Design des Batch-Versuchs (schütteln/rühren/stehen, Dauer, Temperatur, Lichtverhältnisse)
- Design der Leachingversuche (Säulengröße, Säulenmaterial, Fließgeschwindigkeit)
- Methoden zur Bestimmung von Konzentration, Größe und Struktur der Nanomaterialien.

Systematische Untersuchungen unter Variation von Umweltvariablen oder unter Nutzung von Umweltmaterialien (Wasser, Sediment, Böden) wurden bislang nicht durchgeführt.

Auf den folgenden Seiten werden Vorschläge zur Anpassung der aktuellen Chemikalien-Testung an die Untersuchungen von Nanomaterialien gemacht. Dazu wird die bereits oben vorgestellte tabellarische Struktur aufgegriffen und um die Spalte „Anpassungsnotwendigkeit“ ergänzt.

Tabelle 4.3: Vorschläge zur Anpassung der Testverfahren aus der Chemiklientestung zur Charakterisierung des Umweltverhaltens an die Testung von Nanopartikeln

Chemiklientestung		Studien mit Nanopartikeln	
Endpunkt:	Testverfahren:	veröffentlichte Ansätze und (indirekte) Informationen:	Anpassungsnotwendigkeit:
Adsorption/Desorption	<ul style="list-style-type: none"> – Screening Methode (HPLC) – Sorptions-/Desorptionsstudie 	<ul style="list-style-type: none"> – Schüttelversuche (2 Tage) mit Mischung einer Serie von APU-Emulsionen verschiedener Konzentration mit 1 – 2 g Aquifer-sand. Bestimmung des Kd-Wertes. – Schüttelversuche (5 Tage) zur Bestimmung der Sorption von PAHs an verschiedene Nanomaterialien. – Schüttelversuche zur Bestimmung der Sorption von Trichlorethen an zweimetallige Nanopartikel (Fe/Pd). – Adsorptions-/Desorptionsversuche im Batch-Verfahren von Naphthalin und 1,2-DCB an C60. Rühren im Dunklen 3 Tage. Desorption durch Zugabe von deionisiertem Wasser und Behandlung von Filter-membran und Filterrückstand im Ultra-schallbad, anschließendes Rühren für 3 – 7 Tage, Desorption wird zweimal wiederholt. – Testung der Immobilisierung von Anionen durch funktionalisierte NM im Batch-verfahren. Kontaktzeit 12 Stunden. 	<ul style="list-style-type: none"> – Zur Bestimmung der Sorptionsfähigkeit und damit der Mobilität der Nanopartikel im Boden sollten die Studien – wie in der Chemikalienbewertung auch – mit realem Boden durchgeführt werden. – Voraussetzung dafür ist eine zuverlässige und selektive Analytik der NM aus der Matrix Boden/Bodenlösung heraus – Als optional für die physikalische oder chemische Analytik kann der Nachweis der Wirksamkeit nach Kontakt mit der Bodenlösung bzw. die Bestimmung der Agglomeratbildung angesehen werden. – Eine Änderung der chemischen Struktur wird insbesondere bei den anorganischen NM nicht erwartet.
Hydrolyse als Funktion des pH-Wertes	<ul style="list-style-type: none"> – Hydrolysestudie 	<ul style="list-style-type: none"> – Stabilitätsprüfungen in wässrigem Medium, Zugabe von Tensidstabilisatoren (Nadodecylsulfonat) bei single-wall nanotubes. – Untersuchungen zur Partikelstabilität von C60 in wässriger Lösung, Einfluß des pH-Wertes auf die Bildung der NM respektive auf die Stabilität 	<ul style="list-style-type: none"> – Da (insbesondere bei den anorganischen NM) eine Änderung der chemischen Struktur nicht zu erwarten ist, ist der Begriff „Stabilität“ neu zu definieren. – Hierbei ist auf Agglomeratbildung, Wirkung und Reversibilität bei erneutem Wechsel des Mediums Bezug zu nehmen.
Aerober Bioabbau im Boden	<ul style="list-style-type: none"> – Abbau in Inkubationssystem, verschiedene Böden 	<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien 	<ul style="list-style-type: none"> – Definition des Begriffes „Abbaubarkeit“ bzw. „Stabilität“ für NM

Chemiklientestung		Studien mit Nanopartikeln	
Endpunkt:	Testverfahren:	veröffentlichte Ansätze und (indirekte) Informationen:	Anpassungsnotwendigkeit:
			<ul style="list-style-type: none"> – Entwicklung einer selektiven Analytik aus der Matrix Boden, die den Begriffen „Abbaubarkeit“ und „Stabilität“ Rechnung trägt – Anpassungsnotwendigkeit in der Applikationstechnik (definiert und reproduzierbar; als Suspension oder Feststoff)
Anaerober Bioabbau im Boden	<ul style="list-style-type: none"> – Abbau unter anaeroben Bedingungen 	<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien 	<ul style="list-style-type: none"> – siehe aerober Bioabbau
Aquatischer Bioabbau	<ul style="list-style-type: none"> – Abbau im Wasser-/Sediment-System 	<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien 	<ul style="list-style-type: none"> – siehe aerober Bioabbau – zusätzlicher Fokus auf der Applikationstechnik
Kläranlagenabbau, aerob	<ul style="list-style-type: none"> – Prüfung auf Abbaubarkeiten: „ready“, „inherent“, „non degradable“ 	<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien 	<ul style="list-style-type: none"> – siehe aerober Bioabbau – zusätzlicher Fokus auf der Applikationstechnik
Kläranlagenabbau, anaerob		<ul style="list-style-type: none"> – Keine vergleichbaren Studien 	<ul style="list-style-type: none"> – siehe aerober Bioabbau – zusätzlicher Fokus auf der Applikationstechnik
Mobilität in Böden	<ul style="list-style-type: none"> – Versickerung im gealterten Boden – Versickerung im nicht gealterten Boden – Freilandlysimeterstudie 	<ul style="list-style-type: none"> – Leaching-Versuche mit organischen (Fulleren C60, single wall nanotubes) und anorganischen (Anatas, Silica-NM, Ferroxane, Alumoxane) Nanomaterialien in Säulchen (ca. 10 cm) mit Silikatpartikeln. Porosität entspricht „feinem/mittleren Sand“. Partikelkonzentrationen auf der Säule und im Leachate bestimmt. NaCl-Elektrolytlösungen als Eluens, pH-Wert und Ionenstärke entsprechen Süßwasser- 	<ul style="list-style-type: none"> – Durchführung mit realen Böden – Anpassung der Applikationstechnik (Suspension oder Feststoff) – Selektive Analytik aus dem Leachate von realen Böden – Charakterisierung der aus der Säule ausgetragenen NM, eine gravimetrische Bestimmung ist ungeeignet

Chemikalentestung		Studien mit Nanopartikeln	
Endpunkt:	Testverfahren:	veröffentlichte Ansätze und (indirekte) Informationen:	Anpassungsnotwendigkeit:
		<p>Aquifer</p> <ul style="list-style-type: none"> - Transport und Depositionsversuche in Säulchen (ca. 10 cm), die mit sphärischen Glaskügelchen gefüllt sind. Leachingversuche mit verschiedenen Ionenstärken. - Leaching-Versuche mit amphiphilen Polyurethan-Nanopartikeln in Säulchen (ca. 10 cm) mit Aquifersand, 5 mM CaSO₄ als Eluens entspricht Simulation von Grundwasserelektrolyt. Partikelkonzentrationen auf der Säule und im Leachate bestimmt. Analoger Versuchsaufbau zur Testung der Effizienz der APU-Partikel zur Elution von PAKs aus dem Aquifersand. - Testung der Immobilisierung von Anionen durch funktionalisierte NM im Säulenversuch. Säulenmaterial war Sand, Säulenlänge 100 cm, Säule wurde equilibriert, die Suspension injiziert, dann Anionen aufgegeben und Leachate gemessen. Verteilung der NM in der Säule am Ende des Versuchs durch Schneiden der Säule und gravimetrische Bestimmung überprüft (gleichmäßige Verteilung). - Feldversuche zur Überprüfung der Anwendbarkeit von zweimetalligen Nanopartikeln (Fe/Pd) zur Sanierung des Untergrundes (Kontamination = Trichlorethen). Überprüfung der in Untergrund wanderten Nanopartikelfahne durch Fe-Analyse. 	

4.2 Ökotoxikologische Testung

Hinweise auf eine gezielte **Adaptation** der Methodik bei der Untersuchung von suspendierten Nanomaterialien im Vergleich zur Untersuchung von gelösten Substanzen, fehlen in den meisten Publikationen. Lyon et al. (2006) erwähnen, dass Medien mit reduzierter Phosphatkonzentration eingesetzt wurden, um ein Ausfallen der C60-Agglomerate zu verhindern. Hund-Rinke & Simon (2006) beschreiben, dass der Algenwachstumstest in Mikrotiterplatten unter Schütteln durchgeführt wurde, um Organismen und suspendierte Nanomaterialien in direkten Kontakt zu bringen und ein unterschiedliches Sedimentieren zu minimieren. Des Weiteren sollte hierdurch einem reduzierten Lichteinfall durch die milchigen TiO_2 -Testsuspensionen, der zu einem reduzierten Algenwachstum führen kann, vorgebeugt werden. Die fehlende Konzentrations-Wirkungs-Beziehung beim Daphnientest wird auf ein Sedimentieren der Nanomaterialien im Gegensatz zu den Daphnien zurückgeführt. Dadurch wird der Kontakt zwischen Organismen und Nanomaterialien und die Ausprägung eines toxischen Effektes eher zufällig. Ein kontinuierliches Durchmischen durch Rühren oder Schütteln ist bei den empfindlichen Daphnien nicht möglich. Bei der Untersuchung von suspendierten Nanomaterialien ist auch eine Reduktion des Lichteinfalls mit potentiellen negativen Auswirkungen auf die Organismen oder den Bestimmungsparameter zu berücksichtigen. Für den Algatest wurde dies von Hund-Rinke & Simon (2006) systematisch untersucht und im Testdesign berücksichtigt. Schwierigkeiten könnten sich auch bei allen photometrischen oder fluorimetrischen Verfahren ergeben. Als Beispiele seien die Erfassung der Lumineszenz im Leuchtbakterientest oder die Erfassung des Bakterienwachstums über Messung der Lichtabsorption angeführt.

Ob bestimmte **Gefäßmaterialien** einen Einfluss auf die Ergebnisse haben, wurde bislang nicht berücksichtigt. Da die Oberflächen von Nanomaterialien gezielt modifiziert werden können, um bestimmte Substanzeigenschaften zu erlangen, ist ein Einfluss von Gefäßmaterialien nicht auszuschließen. Ob dieser sich jedoch in einer Beeinflussung der Ergebnisse äußert, hängt vermutlich von dem Verhältnis von Suspensionsmenge und Gefäßoberfläche ab und damit vom Testdesign ab, das wiederum organismen- und damit testspezifisch ist.

Ein essentieller Bestandteil von ökotoxikologischen Tests ist die Untersuchung von **Referenzsubstanzen**. Sie dienen dazu, die Sensitivität der Organismen zu überprüfen. Im Hinblick auf die Untersuchungen von Nanomaterialien wird keine Notwendigkeit gesehen, von den erprobten Substanzen, bei denen es sich um wasserlösliche Chemikalien handelt, abzuweichen. Die Kontrolle der Organismen kann weiterhin damit erfolgen. Soll die Testdurchführung hinsichtlich der Testung von suspendierten Nanomaterialien überprüft werden, beispielsweise um die Homogenität der Suspension während der Testung zu belegen, müssten neue, partikuläre Chemikalien in die Prüfung einbezogen werden. Auf dem gegenwärtigen Stand des Wissens kann die Notwendigkeit noch nicht beurteilt und daher auch keine Empfehlung gegeben werden.

Prinzipiell denkbar ist, dass neben den Nanomaterialien **Begleitkontaminanten** im Testansatz vorliegen und diese einen Beitrag zur Toxizität leisten. Dieser Aspekt wird bislang bei den Untersuchungen weitestgehend vernachlässigt. Hinweise bestehen, dass zumindest bei Fullerenen bei Verwendung von organischen Lösungsmitteln Reste hiervon in Agglomeraten der Nanomaterialien verbleiben können und diese eine Toxizität bedingen. Prinzipiell denk-

bar ist auch, dass von der Herstellung der Nanomaterialien noch Produktionsrückstände in den Produkten vorhanden sind und diese für die Toxizität mit verantwortlich sind. Hund-Rinke & Simon (2006) schlossen dies aus, indem die Nanomaterialien vor dem Test einer gezielten Reinigung unterworfen wurden, bei welcher wasserlösliche Anteile eliminiert werden sollten. Der Vergleich der Toxizität von gereinigten und ungereinigten Produkten lässt einen Rückschluss hinsichtlich des Vorliegens von toxischen Verunreinigungen zu.

Bei der ökotoxikologischen Testung herkömmlicher Substanzen werden die Substanzen in Lösung gebracht. Sind sie nicht ausreichend wasserlöslich, können bei einigen Vorschriften organische Lösungsvermittler eingesetzt werden. Für die Testung von Ölen werden WAFs (water accommodated fractions) herangezogen (ASTM 1997, Concawe 1992, Müller & Wenzel, 2002). Dies bedeutet, dass die Öle für 24 h gerührt werden, die ungelöste Fraktion abgetrennt und nur die gelöste Fraktion im Test eingesetzt wird. Hierdurch soll vermieden werden, dass Organismen durch die wasserunlösliche Fraktion physikalisch beeinträchtigt werden und dies als Effekt gewertet wird. Die Testung von Nanomaterialien kann nun mit zwei Zielrichtungen durchgeführt werden. So muss entschieden werden, ob primär Aussagen zu den **intrinsischen Eigenschaften** der Materialien getroffen werden sollen oder ob die **Umweltrelevanz** der Untersuchungen (Abbildung des Verhaltes der Nanomaterialien in der Umwelt) im Vordergrund zu stehen hat. Bei der Erfassung der intrinsischen Eigenschaften ist kontinuierlicher Kontakt zwischen Organismen und suspendierten Nanomaterialien und damit bestmögliche Verfügbarkeit herzustellen. Steht die Umweltrelevanz im Vordergrund, ist ein Sedimentieren der Materialien und damit eine potentielle Trennung von Testorganismen und Nanomaterialien statthaft. So ist davon auszugehen, dass bei einem Eintrag der Nanomaterialien in Gewässer auch dort eine Sedimentation stattfindet, falls deren Eigenschaften dies zulassen. Des Weiteren ist bei der Suspensionsherstellung im Hinblick auf die Auswirkungen in der Umwelt nicht unbedingt die maximale Verfügbarkeit in den Vordergrund zu setzen. Stattdessen ist der Schwerpunkt auf die Simulation realistischer Gegebenheiten zu legen. Oberdörster (2006) differenzierte daher zwischen Suspensionen, die unter Anwendung von organischem Lösungsmittel und Ultraschall hergestellt wurden und von Suspensionen, die nur gerührt wurden.

Auch die Wahl der **Organismen** und **Endpunkte** wird durch die Zielrichtung bestimmt. So kann zum einen im Vordergrund stehen, Untersuchungen für die gesetzgeberische Maßnahmen durchzuführen. Dies bedeutet, dass eine hohe Übereinstimmung mit der gängigen Praxis zu realisieren und nach etablierten Richtlinien zu arbeiten ist, die beispielsweise für die Chemikalien- bzw. Pflanzenschutzmittelprüfung etabliert sind. In diesem Fall werden die in den Richtlinien aufgeführten Organismen und Endpunkte verwendet. Abweichungen im Rahmen der Testung von Nanomaterialien sollten so gering wie möglich sein und nur in spezifischen Anpassungen an die besonderen Herausforderungen bei der Testung dieser Substanzen bestehen. Dadurch wird es möglich, detektierte Effekte mit denen klassischer Chemikalien zu vergleichen. Sollen dagegen generelle Informationen über die Wirkung, Aufnahmemechanismen, Akkumulationsorte bzw. Sensitivität der Organismen hinsichtlich der Nanomaterialien gewonnen werden, können weitere Organismen und Endpunkte verwendet werden, die für die gewünschten Aussagen besonders geeignet erscheinen. Entsprechende konkrete Empfehlungen können aufgrund des geringen Wissensstandes und der fehlenden systematischen Untersuchungen zum jetzigen Zeitpunkt nicht gegeben werden.

Die Wahl der Testorganismen kann auch durch die Entscheidung beeinflusst werden, ob Informationen zu den intrinsischen Stoffeigenschaften gewünscht werden oder ob die Abbil-

dung des Verhaltes der Nanomaterialien in der Umwelt im Vordergrund steht. Wie bereits ausgeführt, ist bei der Erfassung der intrinsischen Substanzeigenschaften ein kontinuierlicher Kontakt von Organismen und Nanomaterialien zu gewährleisten. Ist dies technisch für einzelne Organismen nicht zu erreichen, werden diese Organismen als ungeeignet angesehen. Zum jetzigen Zeitpunkt kann über die Eignung einzelner Organismen noch nichts ausgesagt werden, da keine entsprechenden, systematischen Untersuchungen unter Berücksichtigung aller technischen Möglichkeiten durchgeführt wurden. Es wird davon ausgegangen, dass weitere Möglichkeiten für das Herstellen einer stabilen Suspension bestehen, die über Schütteln und Röhren hinausgehen und die möglicherweise Daphnien und andere empfindliche Testorganismen nicht beeinträchtigen.

Da in der Umwelt von einem Sedimentieren der Agglomerate auszugehen ist, ist zu diskutieren, ob generell nicht Untersuchungen zu Sedimentorganismen gefordert werden sollten. Der bislang als Testorganismus für Sedimente eingesetzte Organismus *Chironomus riparius* lebt in den obersten Zentimetern im Sediment. Ein Kontakt zu den Nanomaterialien sollte jedoch nur stattfinden zu können, wenn die Nanomaterialien nach Sedimentation auf das Sediment in das Sediment verlagert werden können, beispielsweise über Leaching. Alternativ können Sedimentorganismen verwendet werden, die noch oberflächennäher leben, so dass eine direkte Exposition erfolgen kann. Dies könnten beispielsweise *Tubifex tubifex*, *Lumbriculus variegatus* oder *Potamopyrgus antipodarum* sein. Erfahrung hinsichtlich der Testung von klassischen Chemikalien liegt für diese Organismen bereits vor. Wichtig in Hinblick auf das Testdesign und die Interpretation der anschließend erhaltenen Ergebnisse ist die enge Verknüpfung mit den Verbleibsuntersuchungen im Sediment. Auch hier sind ja – gegenüber der Chemikalentestung – neue Nachweisverfahren und Bewertungsansätze zu entwickeln und anzuwenden, die dann die Interpretation der ökotoxikologischen Aussagen untermauern.

Fazit:

Folgende Schlussfolgerungen hinsichtlich der ökotoxikologischen Testung von Nanomaterialien können gezogen werden:

- Aufgrund des geringen Kenntnisstandes und fehlender systematischer Untersuchungen zur Wirkung von Nanomaterialien sind detaillierte **Testprotokolle** noch nicht aufzustellen.
- Prinzipiell erscheinen die **Standardtestverfahren** auf die Testung von Nanomaterialien adaptierbar, was jedoch noch zu erfolgen hat.
- In Abhängigkeit der Entscheidung, ob eine Erfassung der intrinsischen Substanzeigenschaften oder die Testung unter umweltrelevanten Bedingungen zu erfolgen hat, ist das Testdesign zu wählen.
- Sollen Aussagen zur **Wirkung unter umweltrelevanten Bedingungen** getroffen werden, kann Ausfallen und Sedimentieren der Nanomaterialien akzeptiert werden. Eine gesonderte Adaptation der Testverfahren erscheint unter diesen Voraussetzungen nicht notwendig.
- Sind Informationen zu den **intrinsischen Substanzeigenschaften** zu treffen, sollte maximaler Kontakt zwischen Testorganismus und Nanomaterial über den gesamten Versuchszeitraum vorliegen.

- Nanomaterialien, die in **Lösung** zu bringen sind und in den Testmedien nicht ausfallen, können auch für die Erfassung der intrinsischen Substanzeigenschaften nach herkömmlicher Vorgehensweise getestet werden. Bei Ausfallen aus den Testmedien, ggf. aufgrund von ungeeigneten Salzkonzentrationen, sind diese zu modifizieren.
- Bei Nanomaterialien, die als **Agglomerate** getestet werden müssen, sind die Testansätze zu modifizieren. Nur für den Algentest wurde ein erster Testansatz vorgestellt. Andere Testansätze sind noch zu erproben.
- Bei der Testung von technischen Nanomaterialien ist zu berücksichtigen, dass **Begleitkontaminanten** vorliegen können, die zu einer Toxizität führen. In diesem Fall ist zwischen einer Testung des technischen Produktes und der Testung der reinen Nanomaterialien nach spezifischer Reinigung zu differenzieren.
- Zu einem potentiellen Einfluss von **Gefäßmaterialien** auf die Ergebnisse, beispielsweise durch Sorption der Nanomaterialien an die Gefäßwände und damit einer Reduktion der Verfügbarkeit, können nach jetzigem Kenntnisstand keine Aussagen getroffen werden. Dies ist bei allen Untersuchungen kritisch zu hinterfragen.
- Die Qualität der Ergebnisse ökotoxikologischer Tests wird durch die Berücksichtigung von **Referenzsubstanzen** sichergestellt. Die herkömmlichen Substanzen können weiter verwendet werden, um die Qualität der Organismen und die ordnungsgemäße Testdurchführung zu belegen.
Sollen speziell die Bedingungen bei der Testung von Agglomeraten belegt werden (z.B. die Gewährleistung von Homogenität und Stabilität der Suspension während der Testung durch entsprechende Maßnahmen) sind Nanomaterialien als Referenzmaterialien einzusetzen. Empfehlungen von Substanzen und Angaben von Validitätskriterien sind noch zu erarbeiten.
- Aufgrund der geringen Anzahl an zur Verfügung stehenden Studien kann noch keine definitive Aussage darüber getroffen werden, ob die **Organismen und Endpunkte**, die bislang für die Beurteilung von Chemikalien verwendet werden, uneingeschränkt auch für die Testung von Nanomaterialien geeignet sind. Nach jetzigem Kenntnisstand spricht nichts dagegen, bei der Prüfung in Anlehnung an die derzeitige Beurteilungspraxis zu arbeiten. Bei der Beantwortung spezifischer Fragen (z.B. Aufklärung von Wirkmechanismen) sind ggf. weitere Organismen bzw. Endpunkte heranzuziehen.

5 Berichtspflichten

Aufgrund des noch sehr geringen Kenntnisstandes zu Verhalten und Wirkung von Nanomaterialien sind verbindliche Listen mit zu berichtenden Informationen noch nicht aufzustellen. Daher sollte so umfassend wie möglich berichtet werden, um ggf. im Nachhinein Zusammenhänge, die zum Zeitpunkt der Testung noch nicht bewusst waren, noch rekonstruieren zu können. Im Folgenden werden jedoch einige Hinweise gegeben, die nach jetzigem Kenntnisstand von Relevanz sein könnten.

5.1 Zielrichtung der Testung

Der gesamte weitere Versuchsaufbau wird durch die Zielrichtung bestimmt, die zu Beginn klar definiert werden sollte. Diese können beispielsweise sein:

- Simulation der Wirkungen unter Berücksichtigung der Umweltrelevanz
- Erfassung intrinsischer Nanomaterialeigenschaften
- Erprobung der Standardverfahren hinsichtlich ihrer Eignung bzw. Adaptation der Verfahren
- Eignung von Testorganismen
- Erarbeitung der Materialeigenschaften, die für Verhalten bzw. Wirkung von Nanomaterialien verantwortlich sind

5.2 Charakterisierung von Nanomaterialien

Noch ist nicht bekannt, welche Nanomaterialeigenschaften für das Verhalten und die beobachteten Wirkungen verantwortlich sind.

Auf Basis des jetzigen Kenntnisstandes erscheinen folgende Parameter als Mindestanforderung sinnvoll:

- Größe der Primärpartikel und Agglomerate
- Chemische Zusammensetzung

Zusätzliche Informationen sind wünschenswert, können jedoch vermutlich aufgrund der zur Verfügung stehenden Ausstattung nicht immer bestimmt werden:

- Spezifische Oberfläche
- Zeta-Potential
- Reinheit
- TEM-Bild

Soll die Toxizität bzw. Reaktivität von Nanomaterialien vergleichend gegenüber gestellt werden, muss dies über den relevanten Faktor erfolgen. Soweit dieser für die verschiedenen Nanomaterialien noch nicht geklärt ist, sollten denkbare relevante Parameter erfasst und berichtet werden, um ggf. zu einem späteren Zeitpunkt eine entsprechende Darstellung zu ermöglichen.

5.3 Suspensionsherstellung und -charakterisierung

Die Art der Suspensionsherstellung beeinflusst die Ergebnisse signifikant. Beispielsweise die Größe der Agglomerate wird durch sie bedingt. Die Berichterstattung muss daher äußerst präzise und umfassend sein.

- Verwendeter Lösungsvermittler
- Verwendete Suspensionskonzentration
- Röhren: Zeitdauer, Stärke, Art des Rührers bzw. Form des verwendeten Magnetrührstäbchens
- Ultraschall: Zeitdauer, Stärke, in der Probe bzw. im Wasserbad
- Filtration: Art des Filters, Porengröße, Art der Filtration
- Bei Überführung der Nanomaterialien von einer organischen Stammlösung in eine wässrige Stammlösung: Verfahren zur Entfernung des organischen Lösungsmittel

Zur Charakterisierung der Suspensionen zählt:

- Konzentration
- Form der Agglomerate
- Größe der Agglomerate
- Spezifische Oberfläche der Agglomerate
- Stabilität der Suspensionen
- Falls relevant bzw. technisch realisierbar: Oberflächenladung der Agglomerate

5.4 Untersuchungen zum Umweltverhalten

Die unter 5.1 – 5.3 angegebenen Informationen werden bei Testung zum Umweltverhalten in entsprechendem Umfang benötigt. Darüber hinaus sind folgende Parameter essentiell, da sie die Testergebnisse beeinflussen:

- Applikationstechnik (definiert und reproduzierbar; als Suspension oder Feststoff)
- Charakterisierung der Testmedien (Boden, wässriges System, Wasser/Sediment-System)
- Wirksamkeit der Nanomaterialien nach Kontakt mit dem Testmedium, d.h. mit dem Umweltmedium
- Stabilität der Nanomaterialien (auch: Neudefinition von „Wirksamkeit und deren Reversibilität“ bei Wechsel des Testmediums beachten)

5.5 Ökotoxikologische Testung

Hauptparameter, der die Ergebnisse bei der ökotoxikologischen Testung beeinflussen wird, ist die Entscheidung, ob ein kontinuierlicher Kontakt von suspendierten Nanomaterialien und Organismen über die gesamte Testlaufzeit zu herrschen hat, oder ob eine Trennung von beiden infolge von Sedimentation akzeptiert wird. Dies ist besonders bei mobilen Organismen, wie beispielsweise den Daphnien, der Fall. Organismen mit Eigenmobilität sind in der Lage, sich in der Lösung zu halten, wohingegen die Nanomaterialien in Abhängigkeit der Größe bzw. ihrer Neigung zur Agglomeratbildung absinken können. In diesem Zusammenhang ist auch zu berücksichtigen, dass die Stabilität von Suspensionen durch die Zusammensetzung beeinflusst wird.

Um die beobachteten Effekte somit korrekt interpretieren zu können, sollten daher folgende Informationen erhoben werden:

- Genaue Angabe der Zusammensetzung der Testmedien
- Charakterisierung der Agglomerate im Testmedium (Parameter s. "Charakterisierung der Suspensionen")
- Stabilität der Suspensionen im Test (fand eine Entmischung statt?)
- Wurden Verfahren angewendet, um einen kontinuierlichen Kontakt von Organismen und suspendierten Nanomaterialien angewendet; falls ja, genaue Beschreibung
- Kann eine Beeinträchtigung der Endpunktbestimmung durch die suspendierten Nanomaterialien stattgefunden haben (z.B. Beschattung im Algenteest)

5.6 Spezielle Anforderungen an photokatalytisch aktive Materialien

Bei photokatalytisch aktiven Materialien sind generell die Lichtverhältnisse bei der Suspensionsherstellung, Suspensionslagerung (falls relevant) und Testung zu berichten. Dabei sollte neben der Lichtintensität auch berücksichtigt werden, ob die für die photokatalytischen Eigenschaften essentiellen Wellenlängen vorlagen.

5.7 Sonstige Information

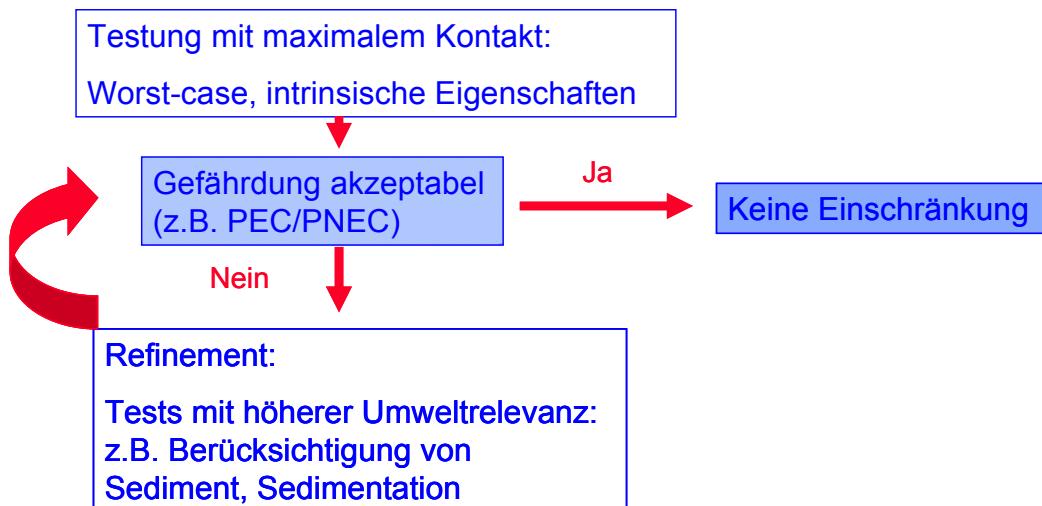
Noch ist nichts über den Einfluss der verwendeten Gefäßmaterialien bekannt. Bei der Ergebnisdarstellung sollte daher auch erwähnt werden, ob davon ausgegangen werden kann, dass beispielsweise aufgrund des Verhältnisses von Testvolumen zu Oberfläche dieser Einfluss vernachlässigbar ist. Im Einzelfall ist es denkbar, dass derartige Aussagen schwierig zu treffen sind. Dies betrifft besonders den Fall, dass ein Einfluss nicht auszuschließen ist und die mögliche Richtung des Einflusses (z.B. Toxizitätserniedrigung) dargestellt werden soll. Sollten derartige Aussagen noch nicht schlüssig zu treffen sein, helfen bei dem jetzigen Kenntnisstand auch kleinste Hinweise weiter, die bei der Zusammenschau verschiedenster Ergebnisse möglicherweise berücksichtigt und interpretiert werden können.

6 Empfehlungen

Für die weitere Bearbeitung der Beurteilung von Verhalten und Wirkung von Nanomaterialien in der Umwelt wird die Bearbeitung der im Folgenden aufgeführten Themenfelder gesehen.

6.1 Entwicklung einer ökotoxikologischen Teststrategie

Speziell bei der Untersuchung der Wirkung von Nanomaterialien in instabiler Suspension stellt sich die Frage, ob Informationen zur Toxizität bei maximalem Kontakt zwischen Testorganismen und Nanomaterialien erwünscht werden oder ob primär Aussagen zur Wirkung unter umweltrelevanten Bedingungen erforderlich sind. Die Wahl des Untersuchungsansatzes kann das Ausmaß der Effekte signifikant beeinflussen. In Anlehnung Vorgehensweise bei der Risikobeurteilung für Substanzen, die in anderen Gesetzesbereichen geregelt sind, bietet sich ein stufenweises Vorgehen an, das in folgender Grafik verdeutlicht ist.



Zunächst wird unter worst-case-Bedingungen getestet, was bedeutet, dass die Untersuchungen mit maximalem Kontakt zwischen Testorganismen und suspendierten Nanomaterialien durchgeführt werden. Ergibt die PEC/PNEC-Berechnung Hinweise auf eine nicht akzeptable Beeinträchtigung, erfolgt in einem zweiten Schritt ein Refinement, wobei eine höhere Umweltrelevanz bei den Testansätzen gewählt wird. Im Fall der Nanomaterialien bedeutet dies, dass beispielsweise die Verteilung in der Suspension nicht durch Ultraschall sondern durch Rühren erfolgt. Des Weiteren kann Sedimentation der Materialien oder Sediment in den Tests und damit Erhöhung der Sorption und Reduktion der Verfügbarkeit gestattet wird.

Als nächster Schritt ist durch das UBA zu entscheiden:

- Diskussion der prinzipiellen Vorgehensweise

Von der Entscheidung ist abhängig, welche Suspensionen m Folgenden erarbeitet werden. Wird dem Vorschlag zugestimmt, bedeutet dies, dass stabile Suspensionen mit maximaler Löslichkeit zu erarbeiten sind und auch eine Adaptation der ökotoxikologischen Tests an einen maximalen Kontakt von Testorganismus und Nanomaterialien zu erfolgen hat. Des Weiteren hat die Erarbeitung eines Testdesigns mit hoher Umweltrelevanz zu erfolgen. Dies

bedeutet, dass bereits zu einem frühen Stadium beispielsweise Tests mit Sedimentorganismen zu berücksichtigen sind.

6.2 Festlegung und Empfehlung eines Referenzsets an Nanomaterialien

Bislang gibt es keine Vorgaben für den Verwendung von Testmaterialien. Dies führt zu einer breiten Palette von Ergebnissen, die unter Umständen Synergismus ausschließen. Eine Harmonisierung wäre wünschenswert. Derzeit ist ein entsprechendes Testmaterialset im Rahmen der OECD-Arbeitsgruppe "Working Party on Manufactured Nanomaterials" (Project: Safety Testing of a Representative Set of Manufactured Nanomaterials) in Diskussion, wobei die Zeitdauer bis zum Erreichen des Ziels derzeit nicht abgeschätzt werden kann.

Um nicht zuviel Zeit zu verlieren, wird empfohlen, gemeinsam mit Herstellern von Nanomaterialien ein entsprechendes Testset zumindest für Deutschland zu empfehlen und entsprechend charakterisierte Materialien zur Verfügung zu stellen.

Als weitere Schritte ergeben sich somit:

- Grundlegende Entscheidung durch das UBA, ob ein Materialset empfohlen werden soll.
- Im Fall einer positiven Entscheidung: Bildung einer Arbeitsgruppe mit Industrievetretern, die ein Set empfohlener Nanomaterialien zur Verfügung stellen. Bei der Auswahl sollten zumindest folgende Kriterien berücksichtigt werden:
 - ⇒ anorganische und organische Nanomaterialien
 - ⇒ Verschiedene Größen eines Materials
prinzipielle Aussagen zum Einfluss der Oberfläche
 - ⇒ Verschiedene Materialien mit gleicher Größe
prinzipielle Aussagen zum Einfluss der Materialeigenschaften
 - ⇒ Ein Material mit verschiedenen Varianten (z.B. Oberflächenmodifikation, Kristallstruktur, Form)
prinzipielle Aussagen zum Einfluss von Modifikationen

Dabei muss neben der wirtschaftlichen Bedeutung der Materialien auch die Abdeckung unterschiedlicher Eigenschaften berücksichtigt werden. Im Idealfall ergänzen sich beide Anforderungen.

6.3 Erarbeitung von Standardprotokollen zur Suspensionsherstellung

Für die Erarbeitung von Testsuspensionen werden verschiedene Verfahren angewandt, wobei keine systematischen Untersuchungen vorliegen. Für eine Vereinheitlichung der Vorgehensweise sind folgende Schritte im Rahmen eines Forschungsprojektes zu bearbeiten. Dabei sollte die Bearbeitung bevorzugt auf Basis der ausgewählten Referenzmaterialien erfolgen.

- Erprobung verschiedener Verfahren an verschiedenen organischen und anorganischen Nanomaterialien
- Charakterisierung der Suspensionen (Konzentrationsbestimmung, Größenverteilung)

- Aufzeigen von Abhängigkeiten zwischen Verfahren und Suspensionseigenschaften
- Erfassung der Stabilität der Suspensionen
- Formulierung von Empfehlung hinsichtlich Methodik und Einsatzbereich (z.B.: worst-case, realistic case) sowie Begründung für die angewandten Verfahren. Eine Differenzierung zwischen aquatischen und terrestrischen Tests erscheint nach jetzigem Kenntnisstand nicht notwendig zu sein.

6.4 Erarbeitung von Standardprotokollen für Untersuchungen zum Umweltverhalten

Die aktuelle Testung des Umweltverhaltens von Chemikalien umfasst eine Charakterisierung der Substanz sowie des Testmediums, was jeweils protokolliert wird. Demgegenüber müssen bei Testung des Umweltverhaltens von Nanomaterialien zusätzlich berücksichtigt werden:

- Erweiterung (gegenüber Chemikalien) der Charakterisierung von Nanomaterialien durch Einbeziehung von: chemische Charakteristik **und** Material- und Suspensionscharakteristik (physikalische Struktur, Größe, Oberflächenbeschaffenheit) und damit die „technische“ Funktion bzw. Funktionsfähigkeit
- Als Folge daraus: Modifizierung einiger aus der Chemiklientestung bekannter Endpunkte wie zum Beispiel die Begriffe „Abbaubarkeit“ oder „Hydrolyse“ (Beispiel: die grundlegende kristalline Struktur des Anatas (TiO_2) wird im Boden sicherlich nicht modifiziert (es kann kein Abbau stattfinden), aber möglicherweise ändert sich die Struktur der Agglomerate im Boden, so dass sich die Funktionsfähigkeit verändert).

6.5 Erarbeitung von Standardprotokollen für die ökotoxikologische Testung

Da die Richtlinien auf die Testung von gelösten Substanzen ausgelegt sind, erfolgt derzeit bei der Testung von Suspensionen eine willkürliche Testdurchführung. Neben der Anlehnung an internationale und nationale Standardrichtlinien werden auch freie Untersuchungen durchgeführt. Dies kann dazu führen, dass Ergebnisse nicht vergleichbar sind und keine Synergien erzielt werden.

Im Rahmen eines Forschungsprojektes sind daher zunächst für alle Verfahren, die für die Chemikalienbeurteilung eingesetzt werden, Modifikationen für die Testung von Nanomaterialien zu entwickeln. In einem ersten Schritt sollten die Basistests bearbeitet werden. Bei der Erarbeitung der Modifikationen sind die empfohlenen Referenzmaterialien zu berücksichtigen.

- Für die aquatischen Testsysteme (Algenwachstumstest OECD 201, Akuter Daphnientest OECD 202, Akuter Fischtest OECD 203, Fischeitest OECD 210) bedeutet dies primär die Erarbeitung einer organismenspezifischen Methodik, um suspendierte Nanomaterialien im Test homogen in Suspension zu halten. Des Weiteren sind die Suspensionen zu charakterisieren.
- Für die Testsysteme Boden bzw. Sediment ist die Methodik der Applikation von Nanomaterialien zu erarbeiten. Dies kann in Form von Suspensionen oder als Pulver erfolgen. Dabei ist zu erproben, ob die Applikationsform einen Einfluss auf die detek-

tierte Wirkung hat. Ein Problem hierbei ist, dass die Empfindlichkeit der Standardtestorganismen noch unbekannt ist.

6.6 Erarbeitung und Erprobung einer Bewertungsstrategie

Für die verschiedensten gesetzlich geregelten Bereiche wurden Bewertungsstrategien entwickelt. Für Nanomaterialien liegt bislang keine Strategie vor. Da weitestgehend Harmonisierung zwischen den einzelnen Gesetzesbereichen erzielt werden sollte, sollte sich auch die Bewertung der Nanomaterialien an vorliegende Strategien anlehnen. Zum jetzigen Zeitpunkt wird davon ausgegangen, dass die Bewertung nach Chemikalienrecht praktikabel sein sollte. Sobald ausreichend Daten aus Untersuchungen zum Verhalten und zur Wirkung sowie erwartete Umweltkonzentrationen vorliegen, sollte im Rahmen eines Forschungsprojektes die Bewertungsstrategie nach TGD (Technical Guidance Document on Risk Assessment of Chemical Substances) bzw. dem entsprechenden Nachfolge-Dokument unter REACH erprobt werden.

Im Gegensatz zu den vorstehend genannten Punkten (6.1 - 6.5), die in einem ersten Schritt angegangen werden sollten, ist die Erprobung einer Bewertung im Anschluss daran zu erarbeiten.

Nanomaterialien werden zunehmend als Bestandteil von Arzneimitteln, Bioziden und Pflanzenschutzmitteln verwendet. Bis eine Strategie zu deren Testung vorliegt, sollten bei der Beurteilung vorliegender Ergebnisse folgende Aspekte beachtet werden:

- Art der Suspensionsherstellung: Ist davon auszugehen, dass die Suspensionscharakteristik von der Art der Herstellung abhängt und damit die Ergebnisse beeinflusst?
- Applikation: Entspricht die Applikationsform der realen Vorgehensweise?
- Nanomaterial: Handelt es sich um den Wirkstoff oder das Trägermaterial?
- Testziel: Sollten die intrinsischen Stoffeigenschaften bestimmt oder das Verhalten in der Umwelt abgebildet werden?
- Analytik: Wurde im Fall der Verwendung von Nanomaterialien als Träger dessen Verhalten ebenfalls untersucht?

7 Abkürzungsverzeichnis

AAS:	Atomadsorptionsspektroskopie
APU-Nanopartikel:	Amphiliphile Polyurethan Nanopartikel
C60:	Fulleren, sphärisches Molekül bestehend aus 60 Kohlenstoff- atomen
CFU:	Colony forming units; koloniebildende Einheiten
DLS:	Dynamic light scattering
DMSO:	Dimethylsulfoxid
EDA-Liganden:	Ethylendiamin-Liganden
EFTEM:	Energy filtering Transmissionselektronenmikroskopie
FNP:	Funktionalisierte Nanopartikel
FTIR:	Fourier-Transformations-IR-Spektroskopie
LSM:	Laser scanning Mikroskopie
NM	Nanomaterial
MWNT:	Multiple walled carbon nanotubes
N ₂ liquid:	Flüssiger Stickstoff
Nylafo Filter:	Nylon Membrane Disc Filter
PAK:	Polyaromatische Kohlenwasserstoffe
PCS:	Photonen-Korrelations-Spektroskopie
PEC:	predicted environmental concentration
PNEC:	predicted no effect concentration
PTFE:	Polytetrafluorethylen
PVP:	Polyvinylpyrrolidon
SEM:	Scanning Elektronenmikroskopie
SWNT:	Single walled carbon nanotubes
Tc-99:	Technetium 99
TEM:	Transmissionselektronenmikroskopie
THF:	Tetrahydrofuran
UAA:	Urethanacrylat Anionomer
WAF:	Water accommodated fractions
XPS:	Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie
XRD:	X-ray diffraction

Literatur

- Abraham, M. et al. (2000): Correlation and prediction of the solubility of Buckminsterfullerene in organic solvents; estimation of some physicochemical properties. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 281-286
- Andrievski G.V., Klochkov V.K., Bordyuh A., Dovbeshko G.I. (2002): Comparative analysis of two aqueous-colloidal solutions of C60 fullerene with help of FTIR reflectance and UV-Vis spectroscopy. *Chemical Physics Letters* 364, 8-17
- Andrievsky G.V., Kosevich M.V., Vovk O.M., Shelkovsky V.S., Vashchenko L.A. (1995): On the production of an aqueous colloidal solution of fullerends. *Chem. Commun.* 1281-1282.
- Andrievsky, G.V., Klochkov, V.K., Karyakina, E.L., McHedlov-Petrossyan, N.O. (1999): Studies of aqueous colloidal solutions of fullerene C60 by electron microscopy. *Chemical Physics Letters* 300, 392-396.
- ASTM Standard D 6081 – 97 (1997): Aquatic Toxicity Testing of Lubricants: Sample Preparation and Results Interpretation. January 10, 1997.
- Beck-Speier I., Dayal N., Karg E., Maier K.L., Roth Ch., Ziesenis A., Heyder J. (2001): Agglomerates of ultrafine Particles of Elmental carbon and TiO₂ induce gereration of lipid mediators in alveolar macrophages. *Environ. Health Persp.* 109, 613-618.
- Beck-Speier I., Dayal N., Karg E., Maier K.L., Schumann G., Schulz H., Semmler M., Takenaka S., Stettmaier K., Bors W., Ghio A., Samet J.M., Heyder J. (2005): Oxidative stress and lipid mediators induced in alveolar macrophages by ultrafine particles, *Free Radic. Biol. Med.* 38, 1080–1092.
- Biswas, P.; Wu, C.Y. (2005): Critical Review: Nanoparticles and the environment. *Journal of the air & waste management association* 55 (6), 708-746.
- Borm, P.J.A. et al. (2006): The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology* 3 (11), online available
- Brant J., Lecoanet, H., Hotze, M., Wiesner, M. (2005) Comparison of electrokinetic properties of colloidal fullerenes (n-C60) formed using two procedures. *Environ Sci Technol.* 39, 6343-6351.
- Brant, J.; Lecoanet, H.F.; Wiesner, M.R. (2005): Aggregation and deposition characteristics of fullerene nanoparticles in aqueous systems. *Journal of Nanoparticle Research* 7 (4-5), 545-553
- Brunner TJ, Wick P, Manser P, Spohn P, Grass RN, Limbach LK, Bruinink A, Stark WJ. (2006): In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environ Sci Technol.* 40, 4374-81.
- Burleson, D.J. et al. (2004): On the characterization of environmental nanoparticles. *J. Environ. Sci. Health, Part A; Toxic/Hazard. Substances Environ. Eng.* A39 (10), 2707-2753
- Cheng, X.; Amy, T.K.; Mason B.T. (2005): Uptake and Sequestration of Naphthalene and 1, 2-Dichlorobenzene by C60. *Journal of Nanoparticle Research* 7 (4-5), 555-567
- Cheng, X.; Kan, A.T.; Tomson, M.B. (2005): Nano-C60 fullerene particles and naphthalene adsorption-desorption and transport in soil. Preprints of extended abstracts presented at the ACS National Meeting, American Chemical Society, Division of Environmental Chemistry 45 (2), 714-718.
- Cheng, X.; Kann, A.T.; Tomson, M.B. (2005): Study of C60 transport in porous media and the effect of sorbed C60 on naphthalene transport. *Environ. Sci. Technol.* 39 (11), 4307-4316.
- Colvin, V.L. (2003): The potential impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnol.* 21, 1166-1170
- Colvin, V.L. (2006): Eco-Nano: The impact of engineered nanomaterials on the environment. *Abstracts of Papers, 232nd ACS National Meeting, San Francisco, CA, United States,*

Sept 10-14, 2006, SOCED-003 Publisher: American Chemical Society, Washington D.C.

- Colvin, V.L. et al. (2004): Environmental Chemistry and effects of engineered nanostructures. Abstracts of Papers, 227nd ACS National Meeting, Anaheim, CA, United States, March 28-April 1, 2004, IEC-018 Publisher: American Chemical Society, Washington D.C.
- CONCAWE (1992): Ecotoxicological testing of petroleum products: Test methodology. Report No. 92/56. CONCAWE (1992), Madouplein 1, B-1210 Brussels.
- De Jesus M.A. et al. (2004) : Factors affecting the sorption of model environmental pollutions onto silver polydimethylsiloxane nanocomposite Raman substrates. *Appl. Spectrosc.* 58, 1157-1164
- Deguchi, S.; Rossitza, G. A.; Tsujii, K. Stable dispersions of fullerenes, C60 and C70 in water. Preparation and characterization. *Langmuir* 2001, 17, 6013-6017.
- Diallo, M.S.; Savage, N. (2005): Nanoparticles and water quality. *Journal of Nanoparticle Research* 7 (4-5), 325-330.
- Elliot, D.W. (2001): Field Assessment of Nanoscale Biometallic Particles for Groundwater Treatment. *Environ. Sci. Technol.* 35, 4922-4926
- Fitts, J.P. et al. (2006) : Biotransformation of engineered nanoparticles in the environment. Presentation at the 2006 Philadelphia Annual Meeting (22-25 October), Session No. 36, The Geological Society of America
- Fortner, J. D.; Lyon, D. Y.; Sayes, C. M.; Boyd, A. M.; Falkner, J. C.; Hotze, E. M.; Alemany, L. B.; Tao, Y. J.; Guo, W.; Ausman, K. D.; Colvin, V. L.; Hughes, J. B. C60 in water: Nanocrystal formation and microbial response. *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 4307-4316.
- Haley M.V., Johnson D.W., Hart G.S. (1986): The toxicity of brass dust to the microalgae *Ankistrodesmus falcatus* and *Selesnastrum capricorntum*. *J. Appl Toxicol* 6, 281-285.
- He, F. and D. Zhao (2005): Application of novel stabilizers for enhanced mobility and reactivity of iron-based nanoparticles for in-situ destruction of chlorinated hydrocarbons in soils. Preprints of extended abstracts presented at the ACS National Meeting, American Chemical Society, Division of Environmental Chemistry, 45 (2), 678-682
- Hristovski, K. et al. (2005): Nanomaterials in water environments: potential applications, treatments, fate and potential biological consequences. Preprints of extended abstracts presented at the ACS National Meeting, American Chemical Society, Division of Environmental Chemistry, 559-565.
- Huang Z., Maness P-C, Blake D.M., Worlfrum E.J., Smolinski S., Jacoby W.A. (2000): bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *J. Photochem Photobiol A: Chem* 130, 163-170,
- Hund-Rinke K., Simon M. (2006): Ecotoxic effects of photocatalytic active nanoparticles (TiO₂) on algae and daphnids. *ESPR - Environ Sci Pollut Res* 13, 225-232
- Jia G, Wang H, Yan L, Wang X, Pei R, Yan T, Zhao Y, Guo X. (2005): Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environ Sci Technol.* 39, 1378-83.
- Johnson D.W., Haley M.V., Hart G.S. (1986): Acute toxicity of brass particles to *Daphnia magna*. *Appl Toxicol* 6, 224-228.
- Joo, S.H. et al. (2004): Oxidative degradation of the carbothionate herbicide, molinate, using nanoscale zero-valent iron. *Environ. Sci. Technol.* 38, 2242-2247
- Kallay, N. et al. (2002): Stability of Nanodispersions: a Model for Kinetics of Aggregation of Nanoparticles. *J. colloid Interface Sci.* 253, 70-76
- Kim, J.Y. et al. (2000): Use of amphiphilic polymer particles for in situ extraction of sorbed phen from a contaminated aquifer material. *Environ. Sci Technol.* 34, 4133-4139

- Klupinski, T.P. et al. (2004): Abiotic degradation of pentachloronitrobenzene by Fe(II): Reactions on goethite and iron oxide nanoparticles. Environ. Sci. Technol. 38 (16), 4353-4360.
- Krug, H. (2005): Auswirkungen nanotechnologischer Entwicklungen auf die Umwelt. Z. Umweltchem Ökotox (online first): 1-8
- Kubota Y., Shuin t., Kawasaki C., Hosaka M., Kitamura H., Cai R., Sakai H., Hashimoto K., Fujishima A. (1994): Photokilling of T-24 human bladder cancer cells with titanium dioxide. Br.J. Cancer 70, 1107-1111.
- Kwon, S. et al. (2003): The effect of surface chemical functional groups on the adsorption and desorption of a polar molecule, acetone, from a model carbonaceous surface, graphite. Surface Sci. 522, 17-26
- Lecoanet, H.F.; Bottero, J-Y.; Wiesner, M.R. (2004a): Laboratory assessment of the mobility of nanomaterials in porous media. Environ. Sci. Technol. 38 (1), 5164-5169.
- Lecoanet, H.F.; Wiesner, M.R. (2004b): Velocity effects of fullerene and oxide nanoparticle deposition in porous media. Environ. Sci. Technol. 38 (16), 4377-4382.
- Lin H., Huant C.P., Li W., Ni C., Ismat Shah S., tseng Y-H. (2006): Size dependency of nanocrystalline TiO₂ on its optical property and photocatalytic reactivity exemplified by 2-chlorophenol. Appl Catalysis B: Envirionmetal 68, 1-11.
- Liu, G.H. et al. (2004): Application of Multiwalled Carbon Nanotubes as a Solid-Phase Extraction Sorbent for Chlorobenzenes. Anal. Lett. 37, 3085-3104
- Long, R.Q. et al. (2001): Carbon Nanotubes as Superior Sorbent for Dioxin Removal. J. Am. Chem. Soc. 123, 2058-2059
- Lovern, S.B., Klaper R. (2006): Daphnia magna mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C₆₀) nanoparticles. Environ. Toxicol. Chem. 25, 1132-1137.
- Lyon, D.Y., Adams L.K., Falkner J.C., Alvarez P.J.J. (2006): Antibacterial activity of fullerene water suspensions: effects of preparation method and particle size. Environ.Sci.Technol. 40, 4360-4366.
- Mallouk, T.E. et al. (2006) : Transport of polymer-modified iron nano- and microparticles in saturated model soils. Abstracts of Papers, 232nd ACS National Meeting, San Francisco, CA, United States, Sept 10-14, 2006, GEOC-012 Publisher: American Chemical Society, Washington D.C.
- Maness P-C, Smolinski S, Blake D.M., Huang Z., Wolfrum E.J., Jacoby W.A. (1999): Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. Appl. Environm. Microbiol 65, 4094-4098.
- Mattigod, S.V. et al. (2005): Functionalized TiO₂ Nanoparticles for Use in Situ Anion Immobilization, Environ. Sci. Technol. 39 (18), 7306-7310.
- Maynard, A.D. and E.D. Kümpel (2006): Fate Aspects of Nanoparticles. J. Nanoparticle Research 7 (6), 587
- Meyer, D. E. et al. (2004): Degradation of chlorinated organics by membrane-immobilized nanosized metals. Environ. Prog. 23, 232-242
- Moller W, Hofer T, Ziesenis A, Karg E, Heyder J.. (2002): Ultrafine particles cause cytoskeletal dysfunctions in macrophages. Toxicol Appl Pharmacol. 182, 197-207.
- Möller W., Brown d.M., Kreyling W.G., Stone V. (2005): Ultrafine particles cause cytoskeletal dysfunctions in macrophages: role of intracellular calcium. Particle and Fibre Toxicology 2, Doi:10.1186/1743-8977-2-7.
- Moore, N.M. et al. (1998): A model for cellular uptake and intracellular behaviour of particulate-bound micropollutants. Mar. Environ. Res. 46, 509-514
- Müller, J., Wenzel, A. (2002): Ecotoxicological testing of gas oils (daphnia magna test). Part I and II. Deutsche Wissenschaftliche Gesellschaft für Erdöl, Erdgas und Kohle e.V., Hamburg, Febr. 2002, ISBN 3-931850-92-7.

- Nagaveni, K. et al. (2004): Photocatalytic degradation of organic compounds over combustion-synthesized nano-TiO₂. Environ. Sci Technol. 38, 1600-1604
- Nghiem, L.D. et al. (2004): Removal of natural hormones by nanofiltration membranes: measurement, modelling, and mechanisms. Environ. Sci Technol. 38, 1888-1896
- O'Melia, C.R. (1980): Aquasols: The Behaviour of Small Particles in Aquatic Systems. Environ. Sci. Technol. 14 (9), 1052-1060
- Obare, S.O. et al. (2004): Nanostructured Materials for Environmental Remediation of Organic Contaminants in Water. J. Environ. Sci. Health, Part A; Toxic/Hazard. Substances Environ. Eng. 39, 2549-2582
- Oberdörster E., et al (2006): Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: effects of fullerene (C₆₀) on aquatic organisms. Carbon 44, 1112-1120.
- Oberdörster, E. (2004): Manufactured nanomaterials (fullerenes, C₆₀) induce oxidative stress in brain of juvenile largemouth bass. Environ Health Perspect 112, 1058-1062.
- Oberdörster, E. (2005): Informal information on the toxicity of engineered nanomaterials. Available from: <www.Nanotox.Info>
- Oliveira, L.C.A. et al. (2004): Zeolites: a new adsorbent for removal of metallic contaminants from water. Water Res. 38, 3699-3704
- Paknikar, K.M. et al. (2005): Degradation of lindane from aqueous solutions using iron sulfide nanoparticles stabilized by biopolymers. Science and Technology of Advanced Materials 6 (3-4), 370-374
- Park, K. (2005): Size-resolved kinetic measurements of aluminium nanoparticle oxidation with single particle mass spectrometry. J. Phys. Chem. B 109, 7290-7299
- Ponder, S.M. et al. (2000): Remediation of Cr(VI) and Pb(II) aqueous solutions using supported nanoscale zero-valent iron. Environ. Sci. Technol. 34, 2564-2569
- Reijnders, L. (2005): Nanotechnology and hazard reduction of manufactured nanoparticles. J. Cleaner Production, Seite und Volume unbekannt
- Rickerby, D.G. and M. Morrison (2006): Nanotechnology and the environment: A European perspective. Science and Technology of Advanced Materials. Online available November 2006
- Rieger, J. (2002): Birth and fate of nanoparticles in water. Schriften des Forschungszentrums Jülich, Materie und Material, 10 (Soft Matter: Complex Materials on Mesoscopic Scale), D1/1-D1/16.
- Rothen-Rutishauser BM, Schurch S, Haenni B, Kapp N, Gehr P. (2006): Interaction of fine particles and nanoparticles with red blood cells visualized with advanced microscopic techniques. Environ Sci Technol. 40, 4353-4359.
- Ruoff, R. et al. (1993): Solubility of C-60 in a variety of solvents. J. Phys. Chem. 97, 3379-3383
- Sakai H., Ito E., cai R-X, Yoshioka R., Kubota Y., Hashimoto K., Fujishima A. (1994): Intracellular Ca²⁺ concentration change of T24 cell under irradiation in the presence of TiO₂ ultrafine particles. Biochmica et Biophysica Acta 1201, 259-265.
- Sayes CM, Gobin AM, Ausman KD, Mendez J, West JL, Colvin VL. (2005): Nano-C₆₀ cytotoxicity is due to lipid peroxidation. Biomaterials 26, 7587-7595.
- Sayes CM, Wahi R, Kurian PA, Liu Y, West JL, Ausman KD, Warheit DB, Colvin VL. (2006): Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. Toxicol Sci. 92, 174-185.
- Sayes, C.M., Fortner J.D., Guo W., Lyon d., Boyd A.M., Ausman K.D., Tao Y.J., Sitharaman B., Wilson L.J., Hughes J. B., West J.L., Colvin V.L. (2004): The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. Nano Letters 4, 1881-1887.

- Sondi, I., Saloped-Sondi B. (2004): Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science* 275, 177-182.
- Soto KF, Carrasco A, Powell TG, Garza KM, Murr LE (2005): Comparative in vitro cytotoxicity assessment of some manufactured nanoparticulate materials characterized by transmissionelectron microscopy. *Journal of Nanoparticles Research*, 7, 145-169.
- Stone V., Fernandes T.F., Ford A.T., Chrisofi N. (2006): Mater.Res. Soc. Symp. Proc. 895, 03.1-03.5
- Tungittiplakorn, W.; Cohen, C.; Lion, L.; Zhang Wei-Xian; Karn, B. (2005): Engineered polymeric nanoparticles for bioremediation of hydrophobic contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 39 (5), 1345-1358.
- Tungittiplakorn, W.; Lion, L.W.; Cohen, C.; Kim, J-Y. (2004): Engineered polymeric nanoparticles for soil remediation. *Environ. Sci. Technol.* 38 (5), 1605-1610.
- Visskov, G.; Tzvetkoff, T. (2003): Nanoscale materials and nanotechnology processes in environmental protection. *Eurasian Chemico-Technological Journal* 5 (3), 185-191
- Wang, C.B. et al. (1997): Synthesizing Nanoscale Iron Particles for Rapid and Complete Dechlorination of TCE and PCBs. *Environ. Sci Technol.* 31, 2154-2156
- Wiesner, M. et al. (2006): Assessing the risks of manufactured nanomaterials. *Environ. Sci. Technol.* 40 (14), 4336-4345
- Xu, Z.; Li, Q. (2006): Impact of environmental macromolecules and contaminants on physical chemical properties of engineered nanomaterials. *Abstracts of Papers, 232nd ACS National Meeting*, San Francisco, CA, United States, Sept 10-14, 2006, SOCED-003 Publisher: American Chemical Society, Washington D.C.
- Yamakoshi, Y. N.; Yagami, T.; Fukuura, K.; Sueyoshi, S.; Miyata, N. (1994): Solubilization of fullerenes into water with polyvinylpyrrolidone applicable to biological tests. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1994, 4, 517-518.
- Yang, K. et al. (2006): Adsorption of PAHs by Carbon Nanomaterials. *Environ. Sci. Technol.* 40 (6), 1855-1861.
- Zhang, P.; Kan, A.T.; Tomson, M.B. (2006): Transport of nano-60 in porous media: soil column experiment. *Abstracts of Papers, 232nd ACS National Meeting*, San Francisco, CA, United States, Sept 10-14, 2006, SOCED-003 Publisher: American Chemical Society, Washington D.C.
- Zhang, W.X. et al. (2003): Nanoscale Iron Particles for Environmental Remediation: an Overview. *J. Nanopart. Res.* 5, 323-332
- Zhu, S., Oberdörster E., Haasch M.L. (2006): Toxicity of an engineered nanoparticle (fullerene, C60) in two aquatic species daphnia and fathead minnow. *Marine Environmental Research*. Doi: 10.1016/j.marenvres.2006.04.059.