



Verbundprojekt:

“Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien: Vom chemischen Partikel zum technischen Produkt“

Förderkennzeichen: 03X0091A

Laufzeit: 01.05.2010 bis 30.04.2013

Abschlussbericht der ausführenden Stelle mit Partnerkürzeln:

Stiftung Institut für Werkstofftechnik Bremen (IWT)

Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 03X0091A gefördert. Dieser Bericht ist in enger Anlehnung an den gemeinsamen Bericht der Gruppen der Universität Bremen (VdW, Öko) erstellt worden. Er beinhaltet primär die Ergebnisse des IWT. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei:

Lutz Mädler

Stiftung Institut für Werkstofftechnik (IWT)
Hauptabteilung Verfahrenstechnik
Badgasteiner Str. 3
28359 Bremen
Deutschland
Tel.: +49-421-218-51200
Fax: +49-421-218-51211
E-Mail: Imaedler@iwt.uni-bremen.de
Web: www.iwt-bremen.de

Bremen, im November 2013

Inhaltsverzeichnis

1	Kurzdarstellung des Projektes	3
1.1	Aufgabenstellung	3
1.2	Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	4
1.3	Planung und Ablauf des Vorhabens	6
1.4	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	6
1.5	Zusammenarbeit mit anderen Stellen	9
2	Eingehende Darstellung	10
2.1	Darstellung der Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele	10
2.1.1	Arbeitspaket 1.1.1: Herstellung spezifischer Nanomaterialien	10
2.1.2	Arbeitspaket 1.1.2: Charakterisierung der NM	15
2.1.3	Arbeitspaket 1.2.2: Begleitanalytik zu den APs 1.2.3 und 2.3.1 – 2.3.2	17
2.2	Notwendigkeit und Angemessenheit	24
2.3	Nutzen und Verwertbarkeit	24
2.4	Während des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt	24
2.5	Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen	25
3	Erfolgskontrollbericht	25
3.1	Beitrag der Ergebnisse zu den förderpolitischen Zielen	25
3.2	Wissenschaftlich-technisches Ergebnis des Vorhabens	25
3.3	Fortschreibung des Verwertungsplans	25
3.4	Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben	26
3.5	Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer	26
3.6	Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung	26

1 Kurzdarstellung des Projektes

1.1 Aufgabenstellung

Ziel des Verbundvorhabens war es, für Silbernanopartikel (AgNP) grundlegende Daten zu Verhalten, Verbleib und Wirkung in Abhängigkeit der Umgebungsbedingungen zu erarbeiten sowie unter Berücksichtigung der Vorgehensweise nach REACH eine exemplarische Risikoabschätzung durchzuführen. AgNP werden aufgrund ihrer bakteriziden Eigenschaften in zahlreichen Produkten des täglichen Lebens eingesetzt, wobei steigender Verbrauch zu erwarten war. In einem interdisziplinären Ansatz sollte eine Brücke zwischen Grundlagenarbeit und Praxisrelevanz geschlagen werden. Hierzu sollten parallel freie AgNP mit klar definierten Eigenschaften und reale AgNP-enhaltende Produkte am Beispiel Textilien in exemplarischen Nutzungsszenarien untersucht werden, um später in einer Risikoanalyse zusammengeführt zu werden. Im Rahmen des Vorhabens sollten zudem Methoden entwickelt werden, die den Nachweis von AgNP sowie die Beurteilung ihres ökotoxikologischen Gefährdungspotenzials in relevanten Umweltmedien bzw. –kompartimenten ermöglichen.

Das Projekt verfolgte drei Teilziele:

1. Das erste Teilziel war die Identifikation von Zusammenhängen zwischen spezifischen Nanomaterialeigenschaften und dem Verhalten und der Wirkung von AgNP zur Erarbeitung von generellen Aussagen. Teilaufgaben hierzu waren zum einen die Herstellung und die chemische Charakterisierung von AgNP mit spezifischen Eigenschaften und zum anderen die Bestimmung des Verhaltens und der Wirkung von diesen AgNP.
2. Das zweite Teilziel war die Untersuchung des Verbleibs, der Exposition und Wirkung von Silber in Verbrauchsprodukten anhand von produktspezifischen Silbernanomaterialien. Teilaufgaben hierzu waren die Simulation nutzungsrelevanter Szenarien, die Charakterisierung der Exposition und die Charakterisierung von biologischen Effekten.
3. Das dritte Teilziel war die Gefährdungs- und Risikoabschätzung für Silbernanomaterialien. Hier sollte die Gefährdungs- und Risikoabschätzung an spezifischen, idealisierten Szenarien unter Berücksichtigung der Variabilität von AgNP und Produkten durchgeführt werden. Dies sollte basierend auf den Ergebnissen der Teilziele 1 und 2 geschehen.

1.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Es war Ziel der Bekanntmachung des BMBF vom 18.07.2008, auf der dieses Vorhaben beruht, den Eintrag, die Verteilung, den Verbleib und die Wirkung von synthetisierten Nanopartikeln und Nanomaterialien in der Umwelt zu erforschen. Das Vorhaben wählte das Thema „Silber-Nanopartikel“ aufgrund einer Literaturstudie (UBA, FKZ 360 04 020, K. Hund-Rinke et al. 2008). Danach wurden zu dem Zeitpunkt der Studie bereits jährlich 1.100 kg Nanosilber in umweltrelevanten Bereichen eingesetzt. Es wurde prognostiziert, dass bis zum Jahr 2015 die Einsatzmenge signifikant steigen würde, wobei die wesentlichen Zuwächse für Anwendungen mit AgNP erwartet wurden. Die Kenntnisse bezüglich Wirkung, Verhalten und Verbleib von AgNP in der Umwelt waren zum Zeitpunkt der Antragstellung äußerst gering.

In dem von der Universität Bremen koordinierten Verbund waren der Partner IWT mit Partnern aus Industrie, Forschung und Regulierungsbehörden beteiligt:

<i>Kürzel</i>	<i>Partner</i>	<i>Beteiligung an AP VDW</i>
ÖKO	Ökologie, FB 2, Universität Bremen, UFT Zentrum für Umweltforschung und nachhaltige Technologien	1.2.3 2.3.1 2.3.2 3.1
HI	BPI Hohenstein e.V., Abteilung Textile Dienstleistungen und Innovationen	3.1
IME	Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie	2.3.1 2.3.2 3.1
UBA	Umweltbundesamt, FG IV 2.1	2.3.2
TuDr	TU Dresden, Institut für Verfahrenstechnik und Umwelttechnik	1.1.2 1.2.2
UM	Universität Marburg, FB Physik, AG Biophotonik	1.1.1 1.2.2 1.2.3
IWT	Stiftung Institut für Werkstofftechnik (IWT), Abteilung Verfahrenstechnik	1.1.1 1.2.2
VdW	Verfahrenstechnik der Wertstoffrückgewinnung, FB 4, Universität Bremen	1.1.1 1.2.2 1.2.3 3.1
BUI	Bremer Umweltinstitut GmbH	3.1
BGR	Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe, Fachbereich Boden als Ressource – Stoffeigenschaften und Dynamik	1.2.4 2.2.2
JRC	Europäische Kommission: Joint Research Centre (JRC), Institute for Health and Consumer Protection (IHCP), Institute for Environment and Sustainability (IES)	3.2
CHT	CHT R. Beitlich GmbH,	2.1.1
RAS	rent a scientist GmbH	2.1.1
OMPG	Ostthüringische Materialprüfungsgesellschaft für Textil- und Kunststoffe mbH (smartfiber AG)	2.1.1

Das Projekt gliederte sich in zwei Gruppen gemäß der Teilziele und der geplanten APs. Die erste Gruppe beschäftigte sich vor allem mit der Herstellung und der Charakterisierung von Nanomaterialien. Die zweite Gruppe untersuchte den Verbleib, die Exposition und die Wirkung von Silber in Verbrauchsprodukten. Die Gefährdungs- und Risikoabschätzung für Silbernanomaterialien wurde von Teilen beider Gruppen bearbeitet.

Dieser Bericht stellt die Ergebnisse der Arbeitspakete vor, an denen das IWT beteiligt war. Die Aufgabe des IWT im Konsortium war es, sehr gut definierte und charakterisierte TiO₂-geträgerte Ag-Nanopartikel an die Partner zu liefern, mit denen die entsprechenden Test der jeweiligen Partner-Arbeitspakete durchgeführt werden. Die Synthesen wurden eng mit den Partnern abgestimmt, womit sichergestellt wurde, dass alle synthetisierten Proben zum Test gekommen sind. Die Hauptaufgaben des IWT lagen im Zeitraum des ersten und teilweise auch des zweiten Bearbeitungsjahres. Die Analysen der Partner (Charakterisierung der NP in verschiedenen Medien und Test der Partikel in verschiedenen Umweltmodellsystemen) werden an dieser Stelle nicht aufgeführt.

1.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Das IWT war in die Arbeitspakete zur Herstellung spezifischer Nanomaterialien (AP 1.1.1) und zur Charakterisierung der NM (AP 1.1.2), zu der Erarbeitung / Empfehlungen zur Herstellung stabiler Applikationslösungen (AP 1.2.1, ohne eigene Kosten) und Begleitanalytik (AP 1.2.2) eingebunden.

Die im Rahmen des Arbeitspaketes 1.2.2 zur Begleitanalytik erarbeiteten *standard operation procedures* (SOP) für die Dynamische Lichtstreuung und die Messungen des Zetapotentials wurden in enger Kooperation mit dem IWT erstellt.

Tabelle K-1: Zeitlicher Verlauf der Arbeitspakete des IWT

Nr.	Arbeitspaket	2010	2011	2012	2013
AP 1.1.1	Herstellung spezifischer Nanomaterialien	■	■	■	
AP 1.1.2	Charakterisierung der NM	■	■	■	
AP 1.2.2	Begleitanalytik zu AP 1.2.3, 2.3.1-2.3.2				■

1.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Hauptabteilung Verfahrenstechnik ist eine der drei zentralen Forschungsstellen der Stiftung Institut für Werkstofftechnik und wird durch Herrn Prof. Dr.-Ing. habil. Lutz Mädler geleitet. Zentrale Forschungsschwerpunkte der Hauptabteilung sind die Herstellung, Verarbeitung, Modellierung und Charakterisierung von Partikeln in der Gasphase. Unsere langjährige Expertise auf diesem Gebiet, beginnend mit der konzeptionellen Idee und der Reaktorentwicklung ermöglicht heute die Herstellung von maßgeschneiderten Nanopartikeln und nanostrukturierten Oberflächen. Dabei ist das Design von Nanomaterialien zur Untersuchung

spezifischer Nano-Bio-Wechselwirkungen ein wesentlicher Schwerpunkt, siehe Publikationsliste:

Lin, S.J., Zhao, Y., Ji, Z.X., Ear, J., Chang, C.H., Zhang, H.Y., Low-Kam, C., Yamada, K., Meng, H., Wang, X., Liu, R., Pokhrel, S., Mädler, L., Damoiseaux, R., Xia, T., Godwin, H.A., Lin, S., Nel, A.E. "Zebrafish High-Throughput Screening to Study the Impact of Dissolvable Metal Oxide Nanoparticles on the Hatching Enzyme, ZHE1", *Small*, 9 (9-10) 1776-1785 (2013). <http://dx.doi.org/10.1002/smll.201202128>

Moller, W., Gibson, N., Geiser, M., Pokhrel, S., Wenk, A., Takenaka, S., Schmid, O., Bulgheroni, A., Simonelli, F., Kozempel, J., Holzwarth, U., Wigge, C., Eigeldinger-Berthou, S., Mädler, L., Kreyling, W.G. "Gold nanoparticle aerosols for rodent inhalation and translocation studies", *J. Nanopart. Res.*, 15 (4) (2013). <http://dx.doi.org/10.1007/s11051-013-1574-9>

Nel, A., Zhao, Y.L., Mädler, L. "Environmental Health and Safety Considerations for Nanotechnology", *Accounts of Chemical Research*, 46 (3) 605-606 (2013). <http://dx.doi.org/10.1021/ar400005v>

Pokhrel, S., Nel, A.E., Mädler, L. "Custom-Designed Nanomaterial Libraries for Testing Metal Oxide Toxicity", *Accounts of Chemical Research*, 46 (3) 632-641 (2013). <http://dx.doi.org/10.1021/ar300032q>

Xia, T., Malasarn, D., Lin, S.J., Ji, Z.X., Zhang, H.Y., Miller, R.J., Keller, A.A., Nisbet, R.M., Harthorn, B.H., Godwin, H.A., Lenihan, H.S., Liu, R., Gardea-Torresdey, J., Cohen, Y., Mädler, L., Holden, P.A., Zink, J.I., Nel, A.E. "Implementation of a Multidisciplinary Approach to Solve Complex Nano EHS Problems by the UC Center for the Environmental Implications of Nanotechnology", *Small*, 9 (9-10) 1428-1443 (2013). <http://dx.doi.org/10.1002/smll.201201700>

Gilbert, B., Fakra, S.C., Xia, T., Pokhrel, S., Mädler, L., Nel, A.E. "The Fate of ZnO Nanoparticles Administered to Human Bronchial Epithelial Cells", *ACS Nano*, 6 (6) 4921-4930 (2012). <http://dx.doi.org/10.1021/nn300425a>

Zhang, H., Ji, Z., Xia, T., Meng, H., Low-Kam, C., Liu, R., Pokhrel, S., Lin, S., Wang, X., Liao, Y.-P., Wang, M., Li, L., Rallo, R., Damoiseaux, R., Telesca, D., Mädler, L., Cohen, Y., Zink, J.I., Nel, A.E. "Use of Metal Oxide Nanoparticle Band Gap To Develop a Predictive Paradigm for Oxidative Stress and Acute Pulmonary Inflammation", *ASC Nano*, 6 (5) 4349-4368 (2012). <http://dx.doi.org/10.1021/nn3010087>

Damoiseaux, R., George, S., Li, M., Pokhrel, S., Ji, Z., France, B., Xia, T., Suarez, E., Rallo, R., Madler, L., Cohen, Y., Hoek, E.M.V., Nel, A. "No time to lose-high throughput screening to assess nanomaterial safety", *Nanoscale*, 3 (4) 1345-1360 (2011). <http://dx.doi.org/10.1039/c0nr00618a>

George, S., Pokhrel, S., Ji, Z.X., Henderson, B.L., Xia, T., Li, L.J., Zink, J.I., Nel, A.E., Mädler, L. "Role of Fe Doping in Tuning the Band Gap of TiO(2) for the Photo-Oxidation-Induced Cytotoxicity Paradigm", *Journal of the American Chemical Society*, 133 (29) 11270-11278 (2011). <http://dx.doi.org/10.1021/ja202836s>

Lin, S.J., Zhao, Y., Xia, T., Meng, H., Ji, Z.X., Liu, R., George, S., Xiong, S.J., Wang, X., Zhang, H.Y., Pokhrel, S., Mädler, L., Damoiseaux, R., Lin, S., Nel, A.E. "High Content Screening in Zebrafish Speeds up Hazard Ranking of Transition Metal Oxide Nanoparticles", *ACS Nano*, 5 (9) 7284-7295 (2011). <http://dx.doi.org/10.1021/nn202116p>
<http://pubs.acs.org/doi/pdfplus/10.1021/nn202116p>

Thomas, C.R., George, S., Horst, A.M., Ji, Z.X., Miller, R.J., Peralta-Videa, J.R., Xia, T.A., Pokhrel, S., Madler, L., Gardea-Torresdey, J.L., Holden, P.A., Keller, A.A., Lenihan, H.S., Nel, A.E., Zink, J.I. "Nanomaterials in the Environment: From Materials to High-Throughput Screening to Organisms", *ACS Nano*, 5 (1) 13-20 (2011). <http://dx.doi.org/10.1021/nn1034857>

Xia, T.A., Zhao, Y., Sager, T., George, S., Pokhrel, S., Li, N., Schoenfeld, D., Meng, H.A., Lin, S.J., Wang, X.A., Wang, M.Y., Ji, Z.X., Zink, J.I., Mädler, L., Castranova, V., Lin, S., Nel, A.E. "Decreased Dissolution of ZnO by Iron Doping Yields Nanoparticles with Reduced Toxicity in the Rodent Lung and Zebrafish Embryos", *ACS Nano*, 5 (2) 1223-1235 (2011). <http://dx.doi.org/10.1021/nn1028482>

George, S., Pokhrel, S., Xia, T., Gilbert, B., Ji, Z., Schowalter, M., Rosenauer, A., Damoiseaux, R., Bradley, K.A., Mädler, L., Nel, A.E. "Use of a Rapid Cytotoxicity Screening Approach To Engineer a Safer Zinc Oxide Nanoparticle through Iron Doping", *ACS Nano*, 4 (1) 15-29 (2010). <http://dx.doi.org/10.1021/nn901503q>

Nel, A.E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E.M.V., Somasundaran, P., Klaessig, F., Castranova, V., Thompson, M. "Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface", *Nature Materials*, 8 (7) 543-557 (2009). <http://dx.doi.org/10.1038/nmat2442>

Xia, T., Kovochich, M., Liong, M., Mädler, L., Gilbert, B., Shi, H., Yeh, J.I., Zink, J.I., Nel, A.E. "Comparison of the Mechanism of Toxicity of Zinc Oxide and Cerium Oxide Nanoparticles Based on Dissolution and Oxidative Stress Properties", ACS Nano, 2 (10) 2121-2134 (2008). <http://dx.doi.org/10.1021/nn800511k>

Nel, A., Xia, T., Mädler, L., Li, N. "Toxic potential of materials at the nanolevel", Science, 311 (5761) 622-627 (2006). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1114397>

1.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Um einen kontinuierlichen Informationsaustausch zu gewährleisten, fanden mehrere Treffen aller Partner im Verbund statt, bei denen die Verbundpartner den Stand ihrer Arbeiten präsentierten, diskutierten und den weiteren Ablauf vereinbarten. Darüber hinaus gab es drei Treffen des Gesamtverbundes im Rahmen der DaNa-Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen NanoCare und NanoNature in Frankfurt, bei denen sich die Partner miteinander austauschen konnten:

10. Juni 2010	Kickoff-Meeting an der Universität Bremen
10.-11- Februar 2011	Projekttreffen beim Partner UM an der Universität Marburg
22. Februar 2011	DLS-Treffen beim Partner TUDr an der Technischen Universität Dresden
10. Mai 2011	DaNa Clustertreffen bei der DECHEMA in Frankfurt a. M.
12. März 2012	DaNa Clustertreffen bei der DECHEMA in Frankfurt a. M. (IWT vertreten durch Partner der Uni Bremen, IWT Arbeitspakete beendet)
14.-15. Januar 2013	DaNa Clustertreffen bei der DECHEMA in Frankfurt a. M. (IWT vertreten durch Partner der Uni Bremen, IWT Arbeitspakete beendet)

2 Eingehende Darstellung

2.1 Darstellung der Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

2.1.1 Arbeitspaket 1.1.1: Herstellung spezifischer Nanomaterialien

Ziel dieses AP war die kontrollierte Synthese von silberbasierten Referenzmaterialien zur Untersuchung der grundlegenden Mechanismen bei deren Wirkung auf biologische Modellsysteme in Abhängigkeit definierter Umweltmatrices. Dabei kamen zwei grundsätzlich verschiedenen Arten von silberbasierten NM zum Einsatz, die zum Zeitpunkt der Antragstellung in Anwendungen zu finden waren: Silber auf einer Metalloxid-Trägermatrix (Ag/TiO₂-NP) und reine Silbernanopartikel (AgNP). Dafür wurden zwei verschiedene Synthesemethoden verwendet (Flammensynthese, Kolloidsynthese). Das Verhalten von silberbasierten NP (Ag/TiO₂-NP und AgNP) wird wesentlich durch ihre Oberflächenmodifikation beeinflusst (lyophob, lyophil). Dieser Aspekt sollte durch gezielte Modifikation der NP-Oberfläche ebenfalls untersucht werden.

Dabei war das Ziel der Arbeitspakete des IWT, die kontrollierte Synthese von silberbasierten Referenzmaterialien zur Untersuchung der grundlegenden Mechanismen bei deren Wirkung auf biologische Modellsysteme in Abhängigkeit definierter Umweltmatrices. Hier kamen zwei grundsätzlich verschiedene Arten von silberbasierten Nanomaterialien zum Einsatz, die in den heutigen Anwendungen zu finden sind: Silber auf einer Metalloxid-Trägermatrix (Ag/TiO₂ NP) und reine Silbernanopartikel (Ag/NP). Dafür wurden zwei verschiedene Synthesemethoden verwendet (Flammensynthese, Kolloidsynthese). Das Verhalten von silberbasierten NP (Ag/TiO₂ NP und Ag/NP) wird wesentlich durch ihre Oberflächenmodifikation beeinflusst (lyophob, lyophil). Dieser Aspekt wurde durch gezielte Modifikation der NP-Oberfläche ebenfalls untersucht. Die Auswertung der Versuche mit den jeweiligen Prozessparametern sollte unter Einbeziehung der Ergebnisse der Partikelcharakterisierung AP 1.1.2 bewertet werden.

Herstellung spezifischer Nanomaterialien in der Sprüh-Flammen-Pyrolyse (AP 1.1.1) und deren Pulvercharakterisierung (z.T. AP 1.1.2)

Reines TiO₂ und Ag/TiO₂-NP wurden für in einem adaptierten FlammenSprüh-Pyrolyse (FSP)-Reaktor hergestellt. Die dafür notwendigen flüssigen Precursoren wurden entwickelt. Dabei wurden folgende Precursoren für das endgültige Syntheseverfahren ausgewählt: Silver(I) benzoate (99%), Titanium(IV) isopropoxide (97%). Für das Lösungsmittel erwies sich eine Mischung aus Xylene und Acetonitrile als geeignet. Nach Absprache mit den anderen Partnern wurde sich für ein Molverhältnis (Ag:Ti) = 5.0% als Ausgangswert entschieden. Dabei sind die wichtigsten Ergebnisse:

1.1 TiO₂-Nanopartikel mit und ohne Silberzusatz sind nahezu identisch in Bezug auf deren spezifische Oberfläche (SSA) und dem daraus resultierendem BET-äquivalenten Durchmesser (d_{BET}): TiO₂: 114.5 m²/g; 12.4nm, TiO₂/Ag5%: 125.7m²/g; 11.3nm. Gleichzeitig sind alle TiO₂-Primärpartikel Einzelkristalle, sodass die Kristallgröße (d_{XRD}) nahezu identisch mit d_{BET} ist: TiO₂: 13.6nm; TiO₂/Ag5%: 12.2nm. Auch das Anatase zu Rutil Verhältnis ist nahezu konstant (Abbildung 1). Dies ermöglicht erste Untersuchungen mit biologischen Umgebungen für Referenzmessung von TiO₂ mit und ohne Silber. Besondere Sorgfalt wurde in dieser ersten Bearbeitungsphase auf die Homogenität der Nanopartikelpulver gelegt. Dazu waren mehrere Untersuchungen mittels eines Scanning TEM notwendig. Diese ergaben, dass die geforderte homogene Verteilung der Silberpartikel auf den TiO₂-Partikel tatsächlich erreicht wurde. Gleichzeitig konnte deren Größe von etwa 3nm festgestellt werden (Abbildung 2 & 3). Dies entspricht dem Größenbereich der ungetragerten Silberpartikel der Projektpartner, was für die wissenschaftliche Interpretation der Gesamtstudien besonders wertvoll ist. Weiterhin konnte mit dieser Methode die nominale Silberkonzentration von 5at% mit gemessenen 4.5at% bestätigt werden (Abbildung 4).

1.2 Die Prozessparameter der FlammenSprüh-Pyrolyse wurden untersucht, um verschiedene TiO₂-Primärpartikelgrößen zu erhalten. Dabei ist es gelungen, drei verschiedene Primärpartikelgrößen des TiO₂ einzustellen. Die drei verschiedenen TiO₂-Nanopartikelgrößen weisen dabei keinen Unterschied in Bezug auf ihre polymorphe Struktur auf. Nahezu alle Primärpartikel in den drei Größenbereichen sind Einzelkristalle. Die drei mittleren Primärpartikelgrößen sind 7nm, 12nm und 21nm (Mittel aus d_{BET} und d_{XRD}). Abbildung 5 zeigt die Röntgendiffraktogramme und die Signalaufweitung aufgrund kleinerer Kristallitgrößen (Ausschnitt). Auch ist die gleichbleibende polymorphe Struktur der Proben sehr gut zu erkennen. In einem nächsten Schritt sollen nun diese Größenfraktionen mit Silber dotiert werden.

1.3 Die Gas-Flüssigabscheidung wurde bereits in Betrieb genommen und ist für das Projekt einsetzbar. Hierfür wurden im weiteren Projektablauf Rücksprachen mit den APP für die biologischen Tests geplant (am 10. & 11.02.2011 zum Arbeitstreffen in Marburg). Im Verlauf dieser Diskussion wurde sich darauf verständigt, dass die direkte Überführung der Partikel in eine flüssige Matrix nicht zwingend notwendig sei, da sich die gelieferten NP bei allen Partnern sehr gut verarbeiten und in die entsprechenden Matrices überführen ließen. Dieser Schritt war insofern möglich, als die erzeugten Pulver von allen Partnern als kontaminationsfrei (Filterfaser, Toxine usw.) deklariert werden konnten.

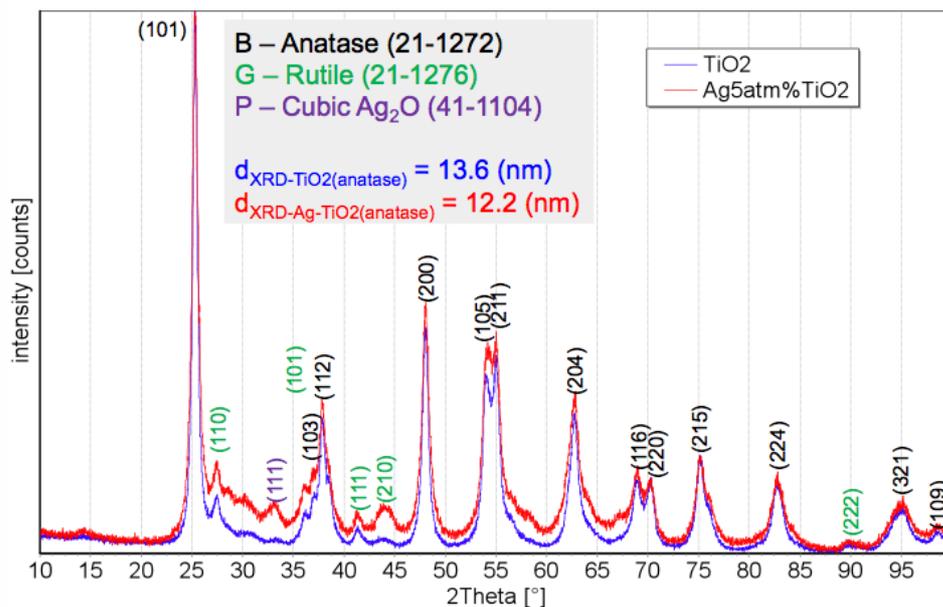


Abbildung 1: Röntgendiffraktogramm von TiO₂ und Ag/TiO₂ (5at%). Die Kristallstruktur des TiO₂ bleibt auch mit der Silberzugabe nahezu unverändert.

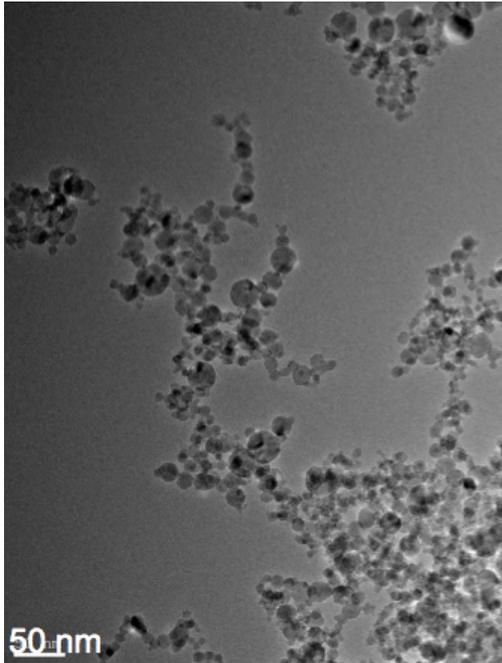


Abbildung 2: TEM Aufnahme der TiO₂-Nanopartikel. Die Partikel wurden einer Pulverprobe entnommen und zeigen eine gute Homogenität. Aussagen über das Agglomerationsverhalten können jedoch hier nicht getroffen werden.

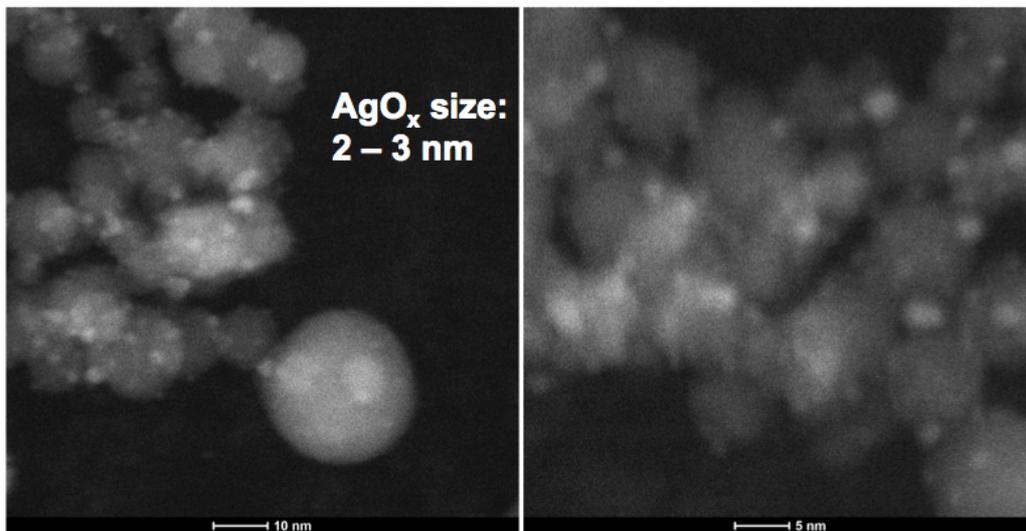


Abbildung 3: STEM Aufnahme zeigt deutliche Silbercluster (helle Punkte) auf den TiO₂-Nanopartikeln. Die Silbercluster sind sehr homogen verteilt und haben eine Größe von etwa 3 nm.

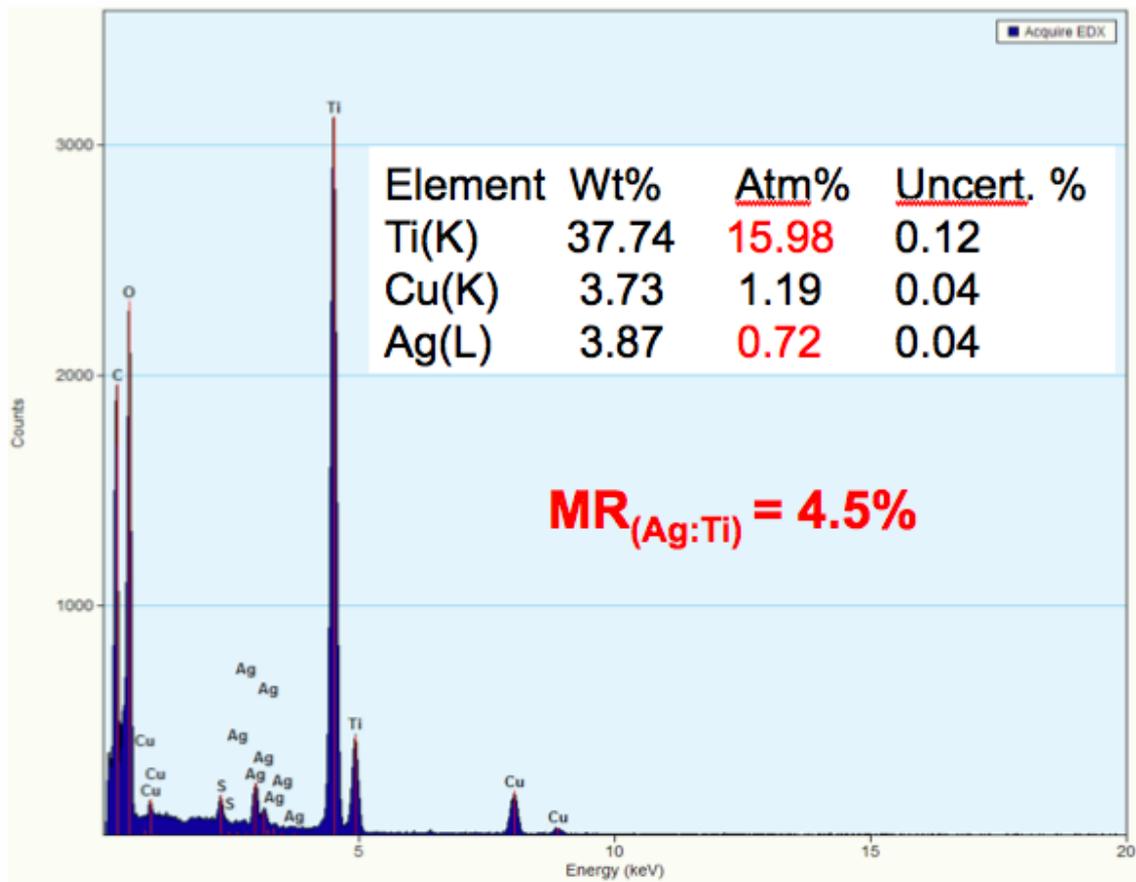


Abbildung 4: EDX Analyse der Ag/TiO₂ (5at% Ag). Die Analyse bestätigt die nominale Menge von 5at% sehr gut.

TiO₂-(*d*_{XRD}): 21 nm @ Precursor flow: 7mL/min; O₂: 3.5 L/min; CH₄: 1.5 L/min
 TiO₂- (*d*_{XRD}):11 nm @ Precursor flow: 5mL/min; O₂: 4.5 L/min; CH₄: 1.5 L/min
 TiO₂- (*d*_{XRD}): 8 nm @ Precursor flow: 4mL/min; O₂: 7.0 L/min; CH₄: 1.5 L/min

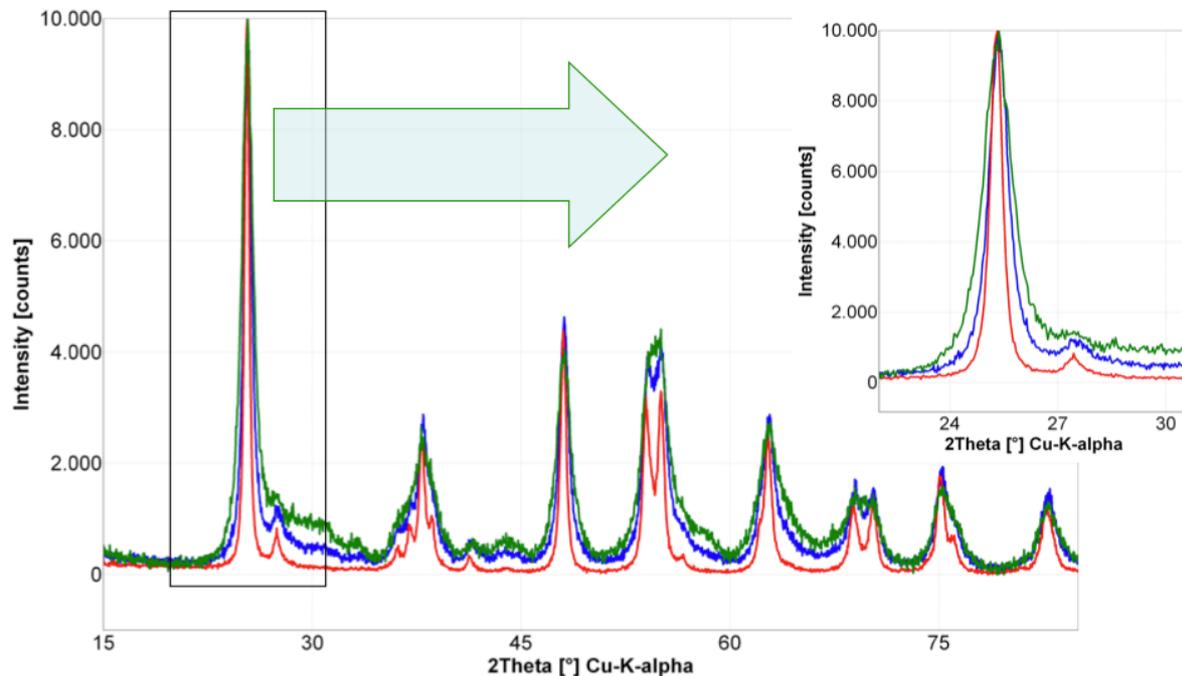


Abbildung 5: XRD Peak-Verbreiterung aufgrund kleinerer Kristallite der Primärpartikelgrößen. Diese konnten durch die FSP-Parameter gezielt eingestellt werden.

2.1.2 Arbeitspaket 1.1.2: Charakterisierung der NM

Eine zentrale Aufgabe des IWT war die Charakterisierung der NP als Pulver zu untersuchen. Diese Techniken sind komplementär zu den Suspensionsuntersuchen der Partner. Dabei wurde besonderen Wert auf die Auswertung/Interpretation der Messung gelegt.

Von jeder NP-Variation wurde die spezifische Oberfläche mittels BET-Verfahren bestimmt. Dies war für die Dosimetrie im biologischen System dringend erforderlich. Die Messung wurde aus Qualitätsgründen wiederholt. Weiterhin wurden Messungen der Kristallinität und der Kristallgröße von jeder Probe mittels XRD durchgeführt. Eine detaillierte Auswertung mittels Rietveldanalyse wurde etabliert und an ausgewählten Proben durchgeführt. Bildanalysen der NP mittels TEM wurden am IWT von ausgewählten Proben durchgeführt, wobei HRTEM und EELS in Zusammenarbeit mit dem Institut für Festkörperphysik Universität Bremen durchgeführt wurden.

Dabei standen folgende Aspekte im Mittelpunkt der analytischen Fragestellungen: (1) Charakterisierung der NP in den Testmedien, bevor diese mit den biologischen Testsystemen in Kontakt kommen, (2) Charakterisierung der NP aus den verschiedenen Testmatrizes, nach-

dem die NP mit biologischen Systemen in Kontakt waren, (3) Entwicklung von geeigneten Methoden, um NP in komplexen Umweltmedien (z.B. Klärschlamm, Waschabwasser, Boden) nachweisen und charakterisieren zu können.

Ein wesentlicher wissenschaftlicher Fortschritt bei der Charakterisierung der geträgerten Silberproben (Ag/TiO_2) konnte durch die selektiven Chemisorptionsmessungen erreicht werden. Damit ist es möglich, geträgerte und ungeträgerte Silberproben direkt miteinander zu vergleichen. Dies ist im Hinblick auf die ersten biologischen Ergebnisse, die auf eine höhere Wirkung der geträgerten Proben hinweisen, unabdingbar.

Die etablierte Methode umfasst die spezifische Chemisorption an Silber. Dabei wird eine Probenvorbereitung mit Wasserstoff bei 250°C durchgeführt, die zur Reduzierung des Silbers (Ag^0) führt. Anschließend wird die Probe direkt mit reinem Sauerstoff bei einer konstanten Temperatur von 170°C komplett oxidiert. Hier wird die Menge an Sauerstoff, die auf dem Material adsorbiert (physisorbiert) und mit dem Material reagiert (chemisorbiert), gemessen. Diese Anteile ergeben zusammen eine messbare Isotherme (combined isotherm). Anschließend wird die Probe evakuiert, um den physisorbierten Sauerstoff selektiv zu entfernen (nicht den chemisorbierten). In einem nächsten Schritt wird wiederum Sauerstoff bei 170°C zugegeben und die Menge an physisorbierten Sauerstoff gemessen (weak isotherm). Hierbei gilt zu beachten, dass bei dem geträgerten Ag/TiO_2 Physisorption sowohl am TiO_2 als auch am Ag stattfindet, die Chemisorption jedoch selektiv mit dem Silber erfolgt. Die Differenz von combined isotherm und weak isotherm ergibt die Menge an Sauerstoff, die an Ag chemisorbiert wurde (strong isotherm) (Abbildung 6). Mit einer Stoichiometrieannahme (zwei Ag Atome binden ein Sauerstoffmolekül) lässt sich damit die Silberoberfläche berechnen, die auf die Masse der gesamten Probe bezogen wird (Abbildung 2). Mit einer weiteren Annahme (sphärische Silbercluster) lässt sich dann eine Silbergröße berechnen (Abbildung 7). Diese ist in sehr guter Übereinstimmung mit der elektron-optisch bestimmten Größe von 3 nm.

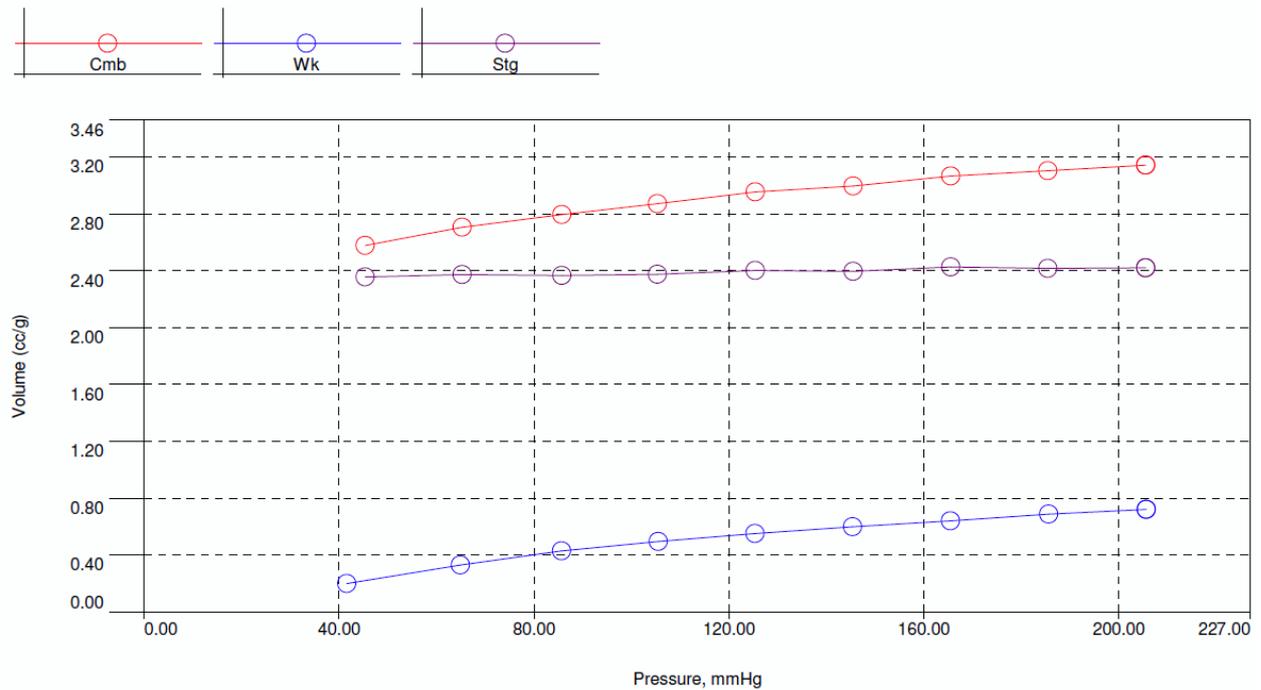


Abbildung 6: Silberspezifische Chemisorptionsmessung zur Bestimmung der exponierten Silberoberfläche (Erklärung siehe Text).

Active Metal Surface Area =	10.926 m ² /g
Percent Metal Dispersion =	34.097 %
Average Crystallite Size =	34.517 Å
Slope =	0.00043
Y - intercept =	2.33808
Correlation coefficient =	0.93820
Monolayer Uptake (Nm) =	104.302 μmol/g

Abbildung 7: Zusammenfassung der Silberdispersionsmessung. Die Silberoberfläche bezogen auf die Gesamtmasse der geträgerten Ag/TiO₂ beträgt 11 m²/g. Daraus lässt sich eine Silberclustergröße von 3.5 nm berechnen. Diese ist in sehr guter Übereinstimmung mit der elektron-optisch bestimmten Größe von 3 nm.

An folgende Partner wurden mehrere vom IWT speziell synthetisierte Proben versandt und die Charakterisierungsergebnisse kommuniziert: OMPG, UBA, VdW, TU Dresden, Öko. Die Ergebnisse finden sich in den Berichten der jeweiligen Partner.

2.1.3 Arbeitspaket 1.2.2: Begleitanalytik zu den APs 1.2.3 und 2.3.1 – 2.3.2

In diesem AP war das IWT mit der Bereitstellung der Proben beteiligt und hat an der Erarbeitung der SOP mitgewirkt. Für die Charakterisierung der TiO₂ und Ag/TiO₂-NP wurde die Dynamische Lichtstreuung eingesetzt und mit den Projektpartnern eine Standard Operating Procedure (SOP) erarbeitet. Diese enthält die folgende Punkte:

Suspension preparation:

- a) Glass containers were used as supplied (Neolab products) for the sample suspensions;
- b) Weigh suitable amounts of the powders (c.a. 7 mg each) and place them into the glass containers;
- c) Add Milli-Q H₂O (5 ml) to the glass container for making a dispersion of the powder;
- d) Shake the bottle manually for 1 minute, followed by exposure to ultrasonic bath for 3 minutes;
- e) To dilute the powder suspension, bigger PE containers were used after being rinsed with Milli-Q H₂O (3 repetitions);
- f) Transfer the suspension from glass containers to the PE containers;
- g) Rinse the glass containers twice and transfer the washed suspension to the PE containers;
- h) Add Milli-Q H₂O to PE containers to make a final volume of 45 ml (c.a. 0,15 g/L powder conc.);
- i) Shake the PE bottles for 10 seconds manually;
- j) The suspensions were tested immediately upon successful preparation of the suspensions.

Die individuellen Testbedingungen sind in Tabelle 1 dargestellt. Es wurden jeweils 10 individuelle Messungen von TiO₂-Nanopartikeln mit und ohne Silber durchgeführt. Die mittlere Aggregatgröße von silberdotierten TiO₂ NP (Ag/TiO₂) ist 1869 nm (Tabelle 2). Im Gegensatz dazu ist die mittlere Größe von reinen TiO₂ nur 545 nm (Tabelle 3). Dieser Unterschied ist äußerst signifikant, obwohl die Primärpartikelgröße beider Proben fast identisch sind (12.4 nm und 11.4 nm für TiO₂ und Ag/TiO₂; siehe oben). Ein Beispiel der jeweiligen Größenverteilungen ist jeweils in Abbildung 8 und Abbildung 9 dargestellt. Weitere Untersuchungen, ob dieses Phänomen auf die Oberflächenladung zurückzuführen ist, wurden bereits gestartet.

Damit lassen sich nun die biologischen Testergebnisse auf eine aktive Silberoberfläche beziehen. Dieser Parameter ist wesentlich wichtiger für die Bewertung als der massenbezogene Silbergehalt.

Tabelle 1: Charakterisierungsparameter

Measurement Condition:

Sampling Time (μs) : N/A
 Correlation Channel (ch) : 440
 Correlation Method : TD
 Accumulation Times : 30
 Attenuator 1 (%) : 1,56
 Measure position (mm) :Z: 5,5000
 Measure position (mm) :X: 7,1500
 Pinhole (μm) : 100 μm
 Scattering Angle ($^\circ$) : 165,0
 Temperature ($^\circ\text{C}$) : 25,0
 Diluent Name : WATER
 Viscosity (cP) : 0,8878
 Refractive Index : 1,3328

Tabelle 2: Aggregat Charakterisierung für Ag/TiO₂ (5mol% Ag)

DLS testing results (10 measurements for each sample):

Sample: Ag/TiO₂ (5mol% Ag)

Test Number	Intensity (cps)	Diameter (nm)	Polydispersity Index	In-G2(raw) Max
1	12442	2113	0,4	1,2182
2	9233	1957	0,533	1,2384
3	13186	1552	0,45	1,2078
4	13429	1902	0,54	1,2156
5	12153	2242		1,1568
6	11489	1897	0,418	1,1744
7	8746	1731	0,463	1,1883

Test Number	Intensity (cps)	Diameter (nm)	Polydispersity Index	In-G2(raw) Max
8	8806	1766	0,552	1,2608
9	6770	1559	0,424	1,2607
10	8853	1967	0,642	1,2894
Mean Value	N/A	1869	0,491	N/A
SD	N/A	211	0,075	N/A

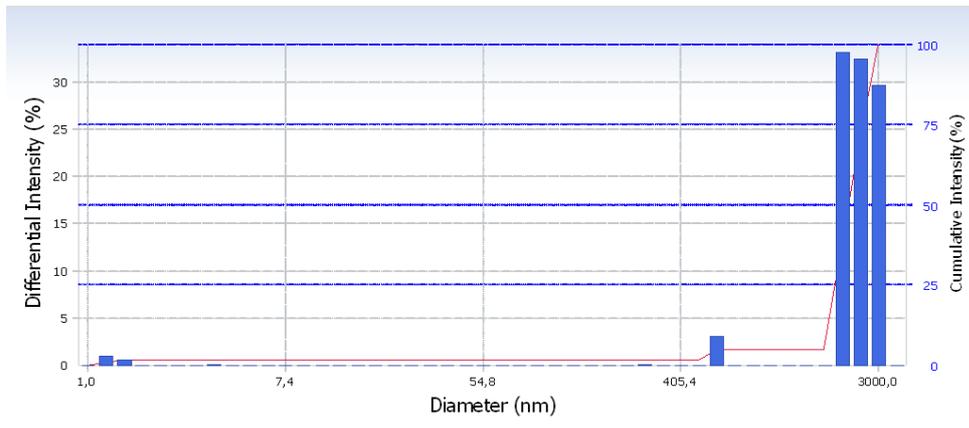


Abbildung 8: Größenverteilung für Ag/TiO₂ (Beispiel)

Tabelle 3: Aggregat Charakterisierung für TiO₂

DLS testing results (10 measurements for each sample):

Test Number	Intensity (cps)	Diameter (nm)	Polydispersity Index	In-G2(raw) Max
1	10701	820	0,345	1,4009
2	8685	625	0,269	1,3526
3	10426	562	0,247	1,3734

Test Number	Intensity (cps)	Diameter (nm)	Polydispersity Index	In-G2(raw) Max
4	10131	687	0,296	1,3539
5	8913	438	0,193	1,359
6	9501	563	0,242	1,3759
7	9478	422	0,186	1,3896
8	9509	355	0,281	1,3702
9	8825	469	0,185	1,3672
10	9387	511	0,228	1,3562
Mean Value	N/A	545	0,247	N/A
SD	N/A	131	0,050	N/A

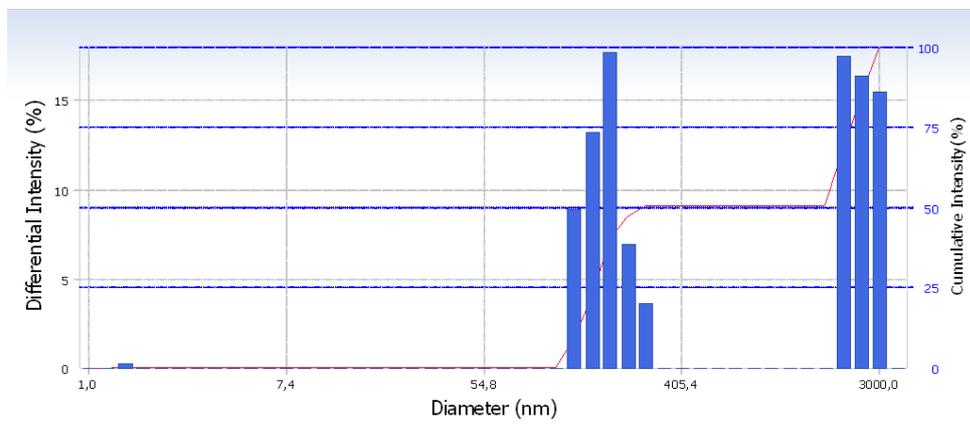


Abbildung 9: Größenverteilung für TiO₂ (Beispiel)

Gleichzeitig erfolgte eine Verleihung eines Gerätes und Wissenstransfer an das BUI zur Erfassung der Exposition luftgetragener Partikel. Dabei handelt sich um ein Gerät im Wert von etwa 70 T€.

Charakterisierung der TiO_2/Ag_2O -Nanopartikel in Medien

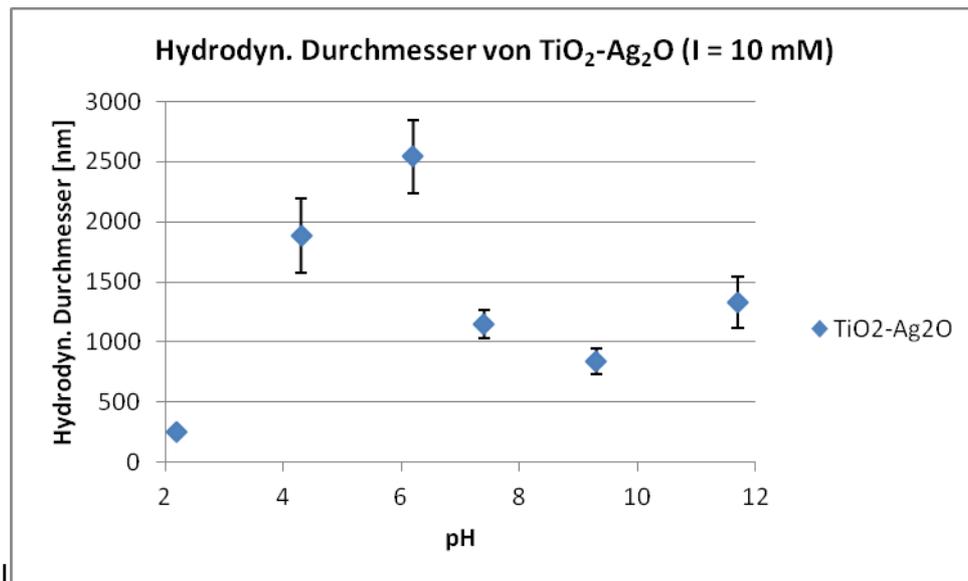


Abbildung 23: Hydrodynamischer Durchmesser der TiO_2/Ag_2O -Dispersionen (Kumulanten-Methode) in Abhängigkeit vom pH bei $I = 10$ mM.

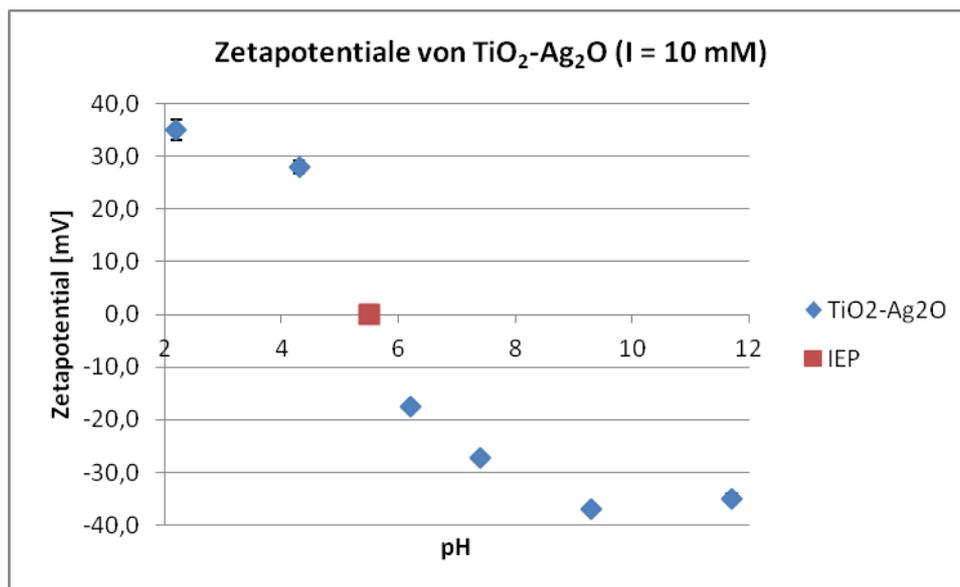


Abbildung 24: Gemessene Zetapotentiale der TiO_2/Ag_2O -Dispersionen in Abhängigkeit vom pH bei $I = 10$ mM und die Abschätzung des isoelektrischen Punkts IEP.

In Zusammenarbeit wurde mit dem Partner VdW die Charakterisierung der Titandioxid-Silber-Komposit-Nanopartikel durchgeführt. Zunächst wurden in Abhängigkeit des pH-Werts von ca. pH 2 bis pH 12 die hydrodynamischen Durchmesser und die Zetapotentiale der Partikel mit den etablierten SOPs bestimmt. Die Konzentration der Partikel war dabei 0,15 g/L. Die unterschiedlichen pH-Werte der TiO_2/Ag_2O -Dispersionen wurden mit verdünnten Natriumhydroxid- und Salzsäure-Lösungen so eingestellt, dass die Dispersionen eine Ionenstärke (I) von ca. 10 mM hatten. Die Ergebnisse für die hydrodynamischen Durchmesser (mit der Kumulanten-Methode bestimmt) sind in der Abbildung 23 gezeigt. Die gemessenen Zetapo-

tentiale sind in der Abbildung 24 dargestellt. Beim Vergleich der beiden Darstellungen ist klar zu erkennen, dass im pH-Bereich in der Nähe des isoelektrischen Punktes (IEP), bedingt durch die kleineren Zetapotentiale, die Nanopartikel zu Agglomeration neigen und somit in diesem Bereich größere hydrodynamische Durchmesser gemessen wurden. In diesem liegen die pH-Werte der Medien für die verwendeten biologischen Testsysteme, daher ist eine starke Neigung zu Agglomeration hier sehr wahrscheinlich.

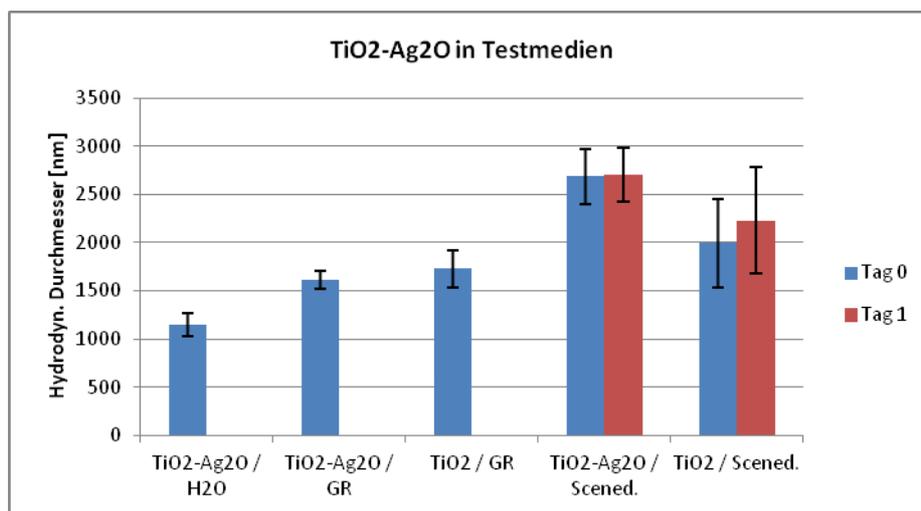


Abbildung 25: Hydrodynamischer Durchmesser der TiO₂/Ag₂O -Dispersionen in den Medien H₂O (mit 10 mM NaCl), GR und *Scenedesmus vacuolatus*.

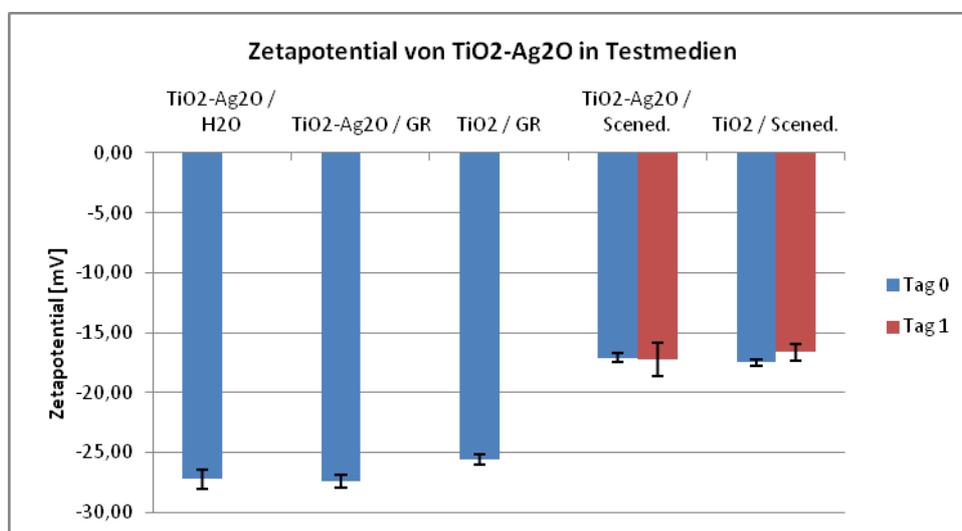


Abbildung 26: Gemessene Zetapotentiale der TiO₂/Ag₂O -Dispersionen in den Medien H₂O (mit 10 mM NaCl), GR und *Scenedesmus vacuolatus*.

In den Medien für das Enzym GR (pH 7,5) und für *Scenedesmus vacuolatus* (pH 6,7) konnte die Vorhersage des Agglomerationsverhaltens der TiO₂/Ag₂O-Partikel aus den vorherigen Messungen bestätigt werden. Die gemessenen hydrodynamischen Durchmesser (Kumulanten-Methode) und die gemessenen Zetapotentiale lagen in dem Bereich pH 6 bis pH 8 der pH-abhängigen Messungen. Ebenso zeigte sich kein signifikanter Unterschied zu dem kollo-

idalen Verhalten der reinen TiO₂-Partikel, die ebenfalls untersucht wurden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 25 für die hydrodynamischen Durchmesser und in Abbildung 26 für die Zetapotentiale dargestellt.

Tabelle 16: Ausgabenübersicht

Forschungsvorhaben BMBF UMSICHT 03X0091G												
Laufzeit:		01.05.2010 - 30.04.2013 (VT beginnt ab 08/10)						(Koträger 21101)				
Bearbeiter:		Mädler										
	Bewilligung		Ausgaben 2010		Ausgaben 2011		Ausgaben 2012		Ausgaben 2013		Rest	
	Euro	Mte.	Euro	Mte.	Euro	Mte.	Euro	Mte.	Euro	Mte.	Euro	Mte.
Wi Mi	121.820,00	24,00	28.031,64	5,10	35.997,04	6,56	45.618,51	8,20	18.277,35	2,87	-6.104,54	1,27
Gesamt Personal	121.820,00		28.031,64		35.997,04		45.618,51		18.277,35		-6.104,54	
Reisen 0846	4.500,00		0,00		307,24		101,42		0,00		4.091,34	
Material 0843	11.000,00		2.675,09		3.648,53		3.570,59		729,94		375,85	
Gesamt	137.320,00		30.706,73		39.952,81		49.290,52		19.007,29		-1.637,35	
Raten:	137.320,00		27.000,00		40.000,00		35.000,00		35.320,00			

2.2 Notwendigkeit und Angemessenheit

Zum Zeitpunkt der Antragstellung war zu den dort formulierten Fragen sehr wenig bekannt. Während des Vorhabens haben die Forschungen zu Silbernanopartikeln sprunghaft zugenommen.

2.3 Nutzen und Verwertbarkeit

Die Bearbeiter konnten durch das Vorhaben ihre Expertise zu Silbernanopartikeln ganz entscheidend erweitern. Viele der gewonnenen Erkenntnisse sind wissenschaftlich auch anderweitig einsetzbar (z.B. Synthese von anderen Nanopartikelarten).

2.4 Während des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt

Neue wissenschaftliche Erkenntnisse und Fortschritte im Lauf des Vorhabens wurden durch Literaturstudium und Tagungsbesuche kontinuierlich im Auge behalten. Falls erforderlich, wurden experimentelle Arbeiten und Versuchsplanung entsprechend modifiziert.

2.5 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen

Die wesentlichen im Vorhaben erzielten Ergebnisse sind alle zur Veröffentlichung in wissenschaftlichen Fachzeitschriften vorgesehen.

1. Engelke M, Köser J, Zhang H, Mädler L, Filser J. 2013. A miniaturized solid contact test with *Arthrobacter globiformis* for the assessment of the environmental impact of silver nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, submitted.

3 Erfolgskontrollbericht

3.1 Beitrag der Ergebnisse zu den förderpolitischen Zielen

Im Rahmen des Verbundprojekts „UMSICHT“ lieferten die in diesem Teilprojekt durchgeführten Arbeiten zahlreiche Ergebnisse zu den förderpolitischen Zielen am Beispiel von Silbernanopartikeln. **Auswirkungen synthetischer Nanopartikel auf die Umwelt** wurden anhand verschiedener ökotoxikologischer Testsysteme mit den jeweiligen **Wirkschwellen** aufgezeigt. **Langzeituntersuchungen an umweltrelevanten realen Matrices** zeigten langfristige Änderungen der **Bioverfügbarkeit** und Toxizität und lieferten somit sehr wichtige Erkenntnisse bezüglich der Möglichkeiten und Grenzen etablierter Gefährdungsabschätzungsverfahren. Eine **Lebenszyklusanalyse** schätzte die voraussichtliche Umweltexposition **am Beispiel realer Produkte** ab. Bei der **Charakterisierung von Nanopartikeln** in wässrigen Medien konnten mit Messungen und numerischen Simulationen zur Speziation wesentliche Fortschritte erzielt werden, die ansatzweise auch Rückschlüsse auf **Wirkmechanismen** erlaubten. Schließlich wurden im Projekt auch diverse **Basistechniken und Standardtestverfahren** zur **Charakterisierung** und **Abschätzung der Ökotoxizität** erarbeitet bzw. modifiziert und in Form von **SOP** oder Publikationen schriftlich dokumentiert.

3.2 Wissenschaftlich-technisches Ergebnis des Vorhabens

Das wissenschaftlich-technische Ergebnis des Vorhabens ist unter 2.1 eingehend dargestellt.

3.3 Fortschreibung des Verwertungsplans

Die im Vorhaben „UMSICHT“ durchgeführten Arbeiten haben bei Studierenden sehr großes Interesse an der Thematik erweckt. In den vergangenen Jahren wurden zahlreiche Abschlussarbeiten in diesem Forschungskontext erstellt, aktuell laufen weitere.

Wir beabsichtigen, wichtige ungelöste Fragen zu AgNP im Rahmen unserer Kompetenzen noch zu bearbeiten, werden uns künftig aber stärker auf andere Nanopartikel konzentrieren, insbesondere solche mit höherer zu erwartender Umweltexposition wie Siliziumdioxid und Cerdioxid. Am 30.04.2013 wurde der Verbundantrag „DENANA“ beim BMBF eingereicht. In diesen von den Berichterstattern koordinierten Verbund konnte ein Großteil der Projektpartner eingebunden werden, um die in UMSICHT gewonnene Expertise in verändertem Kontext zu sichern und auszuweiten.

3.4 Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Keine

3.5 Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Mögliche Nutzer haben Zugang zu den Ergebnissen über die Fachzeitschriften, Präsentationen bei Tagungen, öffentliche Vortragsveranstaltungen, die UMSICHT-Homepage und die DANA-Datenbank.

3.6 Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung

Die Zeitplanung konnte weitestgehend eingehalten werden. Manche Projektpartner brauchten in ihrer Bewertung der NP etwas mehr Zeit als ursprünglich geplant. Diese konnte jedoch durch eine spätere definierte Synthese der Partikel (Mittelumbuchung ins Folgejahr seitens des IWT) ausgeglichen werden.