

Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe

Hannover

Untersuchungen zur kolloidalen Stabilität und Retention von Silbernanopartikeln in Böden

(Teilprojekt des BMBF-Verbundvorhabens „UMSICHT“)

Endbericht

Förderkennzeichen: 03X0091H

Bearbeiter: Martin Hoppe (BGR)
Dr. Jens Utermann (UBA)
Prof. Dr. Georg Guggenberger (LUH)
Dr. Robert Mikutta (LUH)
Prof. Dr. Wilhelmus Duijnsveld (BGR)

Bearbeitungszeitraum: 16.06.2010 – 31.07.2013

Auftraggeber: Bundesministerium für Bildung und
Forschung (BMBF)

Datum: 31.01.2014

Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 03X0091H gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Herausgeber Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe
Stilleweg 2
30655 Hannover
<http://www.bgr.bund.de>

Autoren Martin Hoppe (<mailto:martin.hoppe@bgr.de>)
Dr. Jens Utermann (UBA)
Prof. Dr. Georg Guggenberger (LUH)
Dr. Robert Mikutta (LUH)
Prof. Dr. Wilhelmus Duijnsveld (BGR)

Satz & Druck Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe

Ort Hannover

Jahr 2014

Kurzfassung

Die Untersuchungen zur Mobilität und Remobilisierung von Silbernanopartikeln (Ag ENP) in Böden wurden im Rahmen des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Projekts „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien: vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt“ (UMSICHT) durchgeführt.

Durch den steigenden kommerziellen Einsatz von künstlich hergestellten Nanopartikeln (ENP, englisch: Engineered Nanoparticles) kommt es zu einer Freisetzung der Partikel in die aquatische und terrestrische Umwelt. Mögliche Eintragspfade für ENP in Böden sind die landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm oder ein direkter Eintrag als Dünger oder Pflanzenschutzmittel (PSM). Aufgrund ihrer antimikrobiellen Eigenschaften kommen Silbernanopartikel (Ag ENP) verstärkt in Gebrauchsgegenständen zum Einsatz. Über den Abwasserpfad gelangen die Ag ENP in Kläranlagen, wo ein Großteil der Partikel im Klärschlamm abgeschieden wird. Bei der landwirtschaftlichen Verwertung des Klärschlammes kann es zu einer Anreicherung oder zu einer Verlagerung von Ag ENP in Böden kommen. Von der Freisetzung der Ag ENP in das Abwassersystem bis zum Eintrag in Böden unterliegen die physikochemischen Milieubedingungen hohen Variationen. Demnach ist eine Transformation (Homo- und Heteroaggregation, Auflösung) der Ag ENP möglich, was die potentiell hohe Reaktivität herabsetzen könnte. Viele Fragen hinsichtlich der Mobilität und Remobilisierbarkeit von Ag ENP in Böden sind momentan unklar, obwohl sich die Datengrundlage in den letzten Jahren kontinuierlich verbessert hat.

In diesem Projekt wurden Silberionen (Ag^+), sterisch stabilisierte OECD Standardnanopartikel (AgNM-300k) und mit Citrat stabilisierte Ag ENP (AgCN30) getestet. Für die Analytik wurden verschiedene Methoden (Dynamische Lichtstreuung (DLS), Rasterelektronenmikroskopie (REM) gekoppelt mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX), ICP OES (englisch: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) und ICP-MS (englisch: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) kombiniert, um Ag ENP in Dispersionen zu charakterisieren bzw. Ag_{total} Gehalte nach Aufschluss bzw. Ultrazentrifugation zu bestimmen. Unter Zugabe von ein- und mehrwertigen Kationen, sowie gelöster organischer Substanz (englisch: DOC) wurde die kolloidale Stabilität getestet. Mit 25 mitteleuropäischen Ackerböden erfolgten 24 stündige Batchversuche. Die Remobilisierbarkeit von AgNM-300k wurde mit Säulenversuchen getestet. Die Elution der beladenen Böden erfolgte jeweils nach einer Inkubationsdauer von drei und 92 Tagen.

Bei der Charakterisierung der Ag ENP zeigen sich hohe Wiederfindungsraten, wobei die unterschiedlichen Testsysteme die Ag ENP leicht verändern können. Einige Messmethoden (DLS, REM) weisen relativ hohe Nachweisgrenzen auf, weshalb die Untersuchung von umweltrelevanten Konzentrationen nicht möglich ist. Bei tiefen pH-Werten wurde eine partielle Aggregation von AgNM-300k Dispersionen festgestellt. Dies könnte auf pH bedingte Veränderungen des Coatings bzw. der Verbindung zwischen Coating und Partikel hindeu-

ten. Einwertige Kationen (Na^+) in bodenrelevanten Ionenstärken führen nicht zur Aggregation der Ag ENP. Bei der Zugabe von bodenrelevanten Ca^{2+} Konzentrationen ($\text{Ca}^{2+} = 3,3 \text{ mmol L}^{-1}$) bleibt AgNM-300k unverändert, während AgCN30 ($\text{Ca}^{2+} = 0,6-0,7 \text{ mmol L}^{-1}$) aggregiert. AgNM-300k erscheint aufgrund seiner höheren kolloidalen Stabilität für Tests mit Böden besser geeignet als AgCN30.

Batchversuche zeigen ein hohes Potential zur Retention von Ag^+ in Oberböden ($K_F = 277-12136 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 70$). Die Batchretention von AgNM-300k ist für die meisten getesteten Böden niedrig ($n = 19$, Gruppe 1), was eine hohe Mobilität in Böden impliziert. Die Retention folgt einem linearen Modell und die Retentionskoeffizienten (Mittelwert $K_{r, \text{linear}} = 3,7 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 19$) sind positiv mit dem Tongehalt korreliert ($r^2 = 0,4$, $n = 19$). Sechs Böden zeigen sehr hohe Retentionskoeffizienten (Mittelwert $K_{r, \text{linear}} = 1048 \text{ L kg}^{-1}$, Gruppe 2) für AgNM-300k, was sich wahrscheinlich durch hohe Tongehalte ($> 20 \%$) in Kombination mit tiefen pH-Werten oder hohen Ca^{2+} Gehalten erklären lässt. Trotz unterschiedlicher Stabilisierungsmechanismen bleibt die Einteilung der Böden in Gruppen mit hoher und niedriger Retention auch für AgCN30 erhalten. Demzufolge könnten die physikochemischen Bodeneigenschaften die Retention der Ag ENP stärker steuern als die spezifischen Eigenschaften des Coatings.

Säulenversuche zeigen, dass das applizierte AgNM-300k zu einem Großteil im Boden immobilisiert wird. Sollte dies auf Aggregationsprozesse zurückzuführen sein, ist von einer reduzierten Reaktivität der Aggregate auszugehen. Die höchste Ag_{total} Freisetzung (1 % des zugegebenen Ag_{total} , Wasser/ Feststoff = 1 L kg^{-1}) aus einer sandigen Braunerde (Tongehalt = 5 %) liegt über der höchsten Freisetzung (0,3 % des zugegebenen Ag_{total} , Wasser/ Feststoff = 2 L kg^{-1}) einer Parabraunerde (Tongehalt = 16 %). Die Batchversuche implizieren ebenfalls eine höhere Freisetzung für die Braunerde im Vergleich zur getesteten Parabraunerde, allerdings wäre aufgrund der niedrigen Batchretention ($K_{r, \text{linear}} = 0,9 \text{ L kg}^{-1}$) eine höhere Freisetzung zu erwarten.

Die gefundenen Ergebnisse zur Retention von Ag ENP sind nicht eindeutig, was sich mit den indifferenten Ergebnissen anderer Studien deckt. In der Literatur werden höhere Batchretentionskoeffizienten für Ag ENP gefunden als in dieser Arbeit. Perkulationsversuche mit Bodensäulen verschiedener Autoren zeigen sowohl hohe als auch niedrige Potentiale zur Mobilität von Ag ENP in Böden. Diese Arbeit findet für die Mehrheit der in Batchtests untersuchten Böden ein hohes Potential zur Mobilität. Über den Ansatz der Säulenelution von Ag ENP versetzten Böden wird ein geringes Potential zur Mobilität abgeleitet. Ob die hier verwendeten Ansätze auch auf den Feldmaßstab übertragen werden können, bleibt fraglich. Deshalb besteht weiterer Forschungsbedarf. Es werden Säulenversuche unter realistischen Flussbedingungen (präferenzielle Fließwege, Austrocknung und Wiederbefeuchtung, „first flush“) mit ungestörten Bodensäulen empfohlen. Außerdem ist der retentionssteuernde Prozess weiterhin ungeklärt, weshalb weitere Forschungen auf der mikro- und nanoskaligen Ebene nötig sind.

Schlagwörter: Silber, Silbernanopartikel, Böden, Mobilität, Batchtests, Säulenversuche, Retention

Abstract

In this study research about the mobility and fate of silver nanoparticles in soils was done. The project was embedded in the overall project UMSICHT (“environmental risk assessment for silver nanomaterials from the single particle to the technical product”) which was funded by the Federal Ministry of Education and Research.

Due to increasing application, engineered nanoparticles (ENP) will be released to aquatic and terrestrial environment. The applications of sewage sludge, fertilizer or plant protection are possible sources for the incorporation of ENP in soils. Based on antimicrobial properties the use of engineered silver nanoparticles (Ag ENP) in consumer products has increased. Thus, Ag ENP from multiple sources will be released into the municipal sewage system plants, where large quantities of Ag ENP are incorporated into sludge. If the sewage sludge is used for soil amendment, Ag ENP might get enriched in soils, or leached to groundwater. However, during the passage from the sewage system to the soil the physicochemical conditions of the ambient medium change. Hence, possible transformation (e.g. homo- and heteroaggregation, dilution) may minimize the reactivity of nanoparticles. However, knowledge about fate and transport of Ag ENP in soils is limited, although the database has improved during the last years.

In this study silver ions (Ag^+), the sterical stabilized OECD standard material (AgNM-300k) and the citrate stabilized Ag ENP (AgCN30) were tested. Different analytical methods (DLS (Dynamic Light Scattering), SEM (Scanning Electron Microscope) with EDX (Energy Dispersive X-ray spectroscopy), ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry), ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) were combined to characterize Ag ENP in dispersion, respectively Ag_{total} concentration after digestion or ultracentrifugation. Batch tests were conducted to determine the colloidal stability of Ag ENP under addition of mono and divalent cations and DOC (Dissolved Organic Carbon). Furthermore, in 25 Central European soils the colloidal stability of five different AgNM-300k contents was tested via 24 hour batch retention tests. The column leaching of two AgNM-300k loaded soils was determined after three and 92 days of incubation.

Test systems showed high recovery rates of Ag_{total} , whereupon some tests slightly changed the Ag ENP. However, some techniques (DLS, REM) showed high detection limits. Thus, the investigation of predicted environmental concentrations (PEC) was impossible. Adjusted pH (≤ 5) in dispersion of AgNM-300k led to aggregation, possibly due to the depletion of the coating. The addition of monovalent cations (Na^+) within soil relevant ionic strength did not induce aggregation of the used Ag ENP. Also the addition of realistic Ca^{2+} concentration (3.3 mmol L^{-1}) could not destabilize sterical stabi-

lized AgNM-300k. Contrary, the citrate stabilized AgCN30 showed complete aggregation caused by addition of Ca^{2+} (0.6-0.7 mmol L^{-1}). Due to higher colloidal stability under realistic soil conditions, AgNM-300k should be more suitable for environmental tests.

Batch tests showed a high retention potential for Ag^+ in topsoils ($K_F = 277\text{-}12136 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 70$). The batch retention of AgNM-300k for the tested soils was low for most of the investigated soils ($n = 19$, group 1), implying a high potential for mobility in the terrestrial system. The retention followed a linear model and the retention coefficients (mean $K_{r, \text{linear}} = 3.7 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 19$) were positively correlated with the clay content ($r^2 = 0.4$, $n = 19$). Six soils showed high retention coefficients (mean $K_{r, \text{linear}} = 1048 \text{ L kg}^{-1}$, group 2) for AgNM-300k, possibly due to high clay contents (< 20 %) combined with low pH or high Ca^{2+} concentrations. Despite different stabilizing mechanisms the classification in high and low retaining soils was identical when testing retention of AgCN30. These results imply that the physicochemical soil conditions may control the retention of Ag ENP to a greater extent than the stabilizing agent.

Column tests showed that the majority of added AgNM-300k was immobilized in soils. If the controlling retention mechanism is aggregation, the reactivity of the aggregates should be reduced. A higher release of Ag_{total} (1 % of the added Ag_{total} , water/ soil = 1 L kg^{-1}) was measured for a sandy Cambisol (clay content = 5 %) compared to the release (0.3 % of the added Ag_{total} , water/ soil = 2 L kg^{-1}) of a silty Luvisol (clay content = 16 %). Batch retention tests also implied a higher release from the Cambisol compared to the Luvisol but due to the low retention coefficient ($K_{r, \text{linear}} = 0.9 \text{ L kg}^{-1}$) a higher release had been expected.

The presented results about retention of Ag ENP in soil were ambiguous, which is in line with the debate in literature. Some studies showed higher batch retention coefficients for Ag ENP compared to the presented results. However, studies conducted from column experiments showed both high and low potential for mobility of Ag ENP. Here a high potential for mobility was shown for the majority of soils tested via batch tests. In contrast, the different approach of the column release study showed a high potential for immobilization. Whether the results of the laboratory approaches could be transferred to field conditions needs to be clarified. Hence, further research is needed, especially tests under realistic flow conditions (preferential flow, drying and wetting, first flush) in undisturbed soils are recommended. Furthermore, the retention controlling processes remain unclear, which is why further research on the micro- and nanoscale is necessary.

Keywords: silver, silver nanoparticles, soil, mobility, batch tests, column tests, retention,

Dank

Wir bedanken uns bei Frau Wargenau, Frau Kamphuis, Frau Fliegel, Herrn Brockmann, Frau Hachmeister und Frau Fastert für die sehr gute Laborarbeit. Herrn Krone danken wir für die interne Organisation und Frau Schulze für die Korrektur des Manuskripts. Bei Herrn Klosa möchten wir uns für die Aufnahmen am Rasterelektronenmikroskop bedanken.

Für die fachliche Unterstützung danken wir Herrn Harazim und Herrn Dr. Kaufhold. Herrn Dr. Birke wird für die Bereitstellung der Sedimentproben gedankt. Allen weiteren am Projekt beteiligten Mitarbeitern der Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe und der Leibniz Universität Hannover sei für die gute Zusammenarbeit herzlich gedankt.

Für die fruchtbare Zusammenarbeit innerhalb des Verbundvorhabens danken wir allen beteiligten Partnern und der Projektkoordination. Ein besonderer Dank gilt Frau Dr. Hund-Rinke und Herrn Dr. Schlich vom Fraunhofer-Institut in Schmallenberg, Herrn Nogowski vom Institut für Verfahrens- und Umwelttechnik an der TU-Dresden sowie Herrn Dr. Köser und Frau Dr. Engelke vom Zentrum für Umweltforschung und nachhaltige Technologien an der Uni Bremen für die sehr gute Zusammenarbeit bei der Durchführung gemeinsamer Versuche.

Herrn Prof. Dr. Wolf-Fritz Riekert wird für die kostenfreie Bereitstellung der Dokumentvorlage gedankt.

Dem BMBF danken wir für die Finanzierung des Projekts.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	iii
Abstract	v
Dank	vii
Inhaltsverzeichnis	1
Abbildungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis	6
1 Einführung und Projektübersicht	9
1.1 Aufgabenstellung.....	9
1.2 Voraussetzungen.....	10
1.3 Planungen und Ablauf	10
1.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand	11
1.5 Zusammenarbeit mit anderen Projektpartnern	12
2 Fachlich inhaltlicher Bericht	13
2.1 Charakterisierung und kolloidale Stabilität von Ag ENP.....	13
2.1.1 Einleitung	13
2.1.2 Material und Methoden	15
2.1.2.1 Vorbereitung der Ag ENP	15
2.1.2.2 Bestimmung des Ag _{total} Gehalts	16
2.1.2.3 Ultrazentrifugation und Messung der Ag _{ultra} Gehalte	16
2.1.2.4 HDD und Zetapotential	16
2.1.2.5 pH-Wert und Leitfähigkeit	17
2.1.2.6 REM und EDX.....	17
2.1.2.7 Aufbau der verschiedenen Batchversuche	17
2.1.3 Ergebnisse und Diskussion	18
2.1.3.1 Charakterisierung der Ag ENP.....	18
2.1.3.2 Charakterisierung der Ag ENP nach Batchtests.....	20
2.1.3.3 Einfluss des pH-Werts auf die kolloidale Stabilität von AgNM-300k	24
2.1.3.4 Kolloidale Stabilität von Ag ENP bei Zugabe von Kationen und OC.....	26
2.1.4 Zusammenfassung	30
2.2 Kolloidale Stabilität von Ag ENP in Batchtests mit Böden und Sedimenten	31
2.2.1 Einleitung	31
2.2.2 Material und Methoden	32
2.2.2.1 Probenahme und Analytik.....	32

2.2.2.2	Batchversuche zur Retention von Ag ⁺ und Ag ENP	32
2.2.2.3	Berechnung der Adsorptions- und Retentionskoeffizienten.....	33
2.2.3	Ergebnisse und Diskussion	34
2.2.3.1	Adsorption von Ag ⁺ in Acker- und Waldböden	34
2.2.3.2	Retention von AgNM-300k in Ackerböden	35
2.2.3.3	Retention von AgCN30 in Ackerböden	38
2.2.3.4	Gegenüberstellung der Ergebnisse für AgNM-300k und AgCN30.....	38
2.2.3.5	Auswirkungen auf Transport und Verbleib der Ag ENP in Böden.....	40
2.2.3.6	Retention von AgNM-300k in Sedimenten	41
2.2.4	Zusammenfassung.....	41
2.3	Elution von Ag ENP aus Böden.....	42
2.3.1	Einleitung.....	42
2.3.2	Material und Methoden.....	44
2.3.2.1	Auswahl, Beladung und Inkubation der Böden.....	44
2.3.2.2	Versuchsaufbau bei der Perkolation	44
2.3.2.3	Herstellung der DOC Lösung	45
2.3.2.4	Analytik von Böden und Perkolaten.....	45
2.3.3	Ergebnisse und Diskussion	45
2.3.3.1	Charakterisierung und Retentionskoeffizienten	45
2.3.3.2	Ag _{total} Wiederfindung in Böden vor und nach der Elution	46
2.3.3.3	Freisetzung von Ag _{total} aus gestörten Bodensäulen.....	47
2.3.4	Zusammenfassung.....	50
2.4	Schlussfolgerungen	50
3	Erfolgskontrolle.....	53
3.1	Förderpolitische Ziele	53
3.2	Fortschreibung des Verwertungsplans	53
3.3	Publikationen	54
	Literaturverzeichnis.....	55
	Anhang A: Methodische und analytische Probleme	61
	Zusammenarbeit im Projekt	61
	Methodische und analytische Schwierigkeiten	61
	Anhang B: Ergebnisse.....	63
	B.1 Kapitel 2.1	63
	B.2 Kapitel 2.2	67
	B.3 Kapitel 2.3	73
	Anhang C: Berichtsblatt.....	77
	Anhang D: Verantwortung.....	78

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Wiederfindung an Ag_{total} und Ag_{ultra} über unterschiedliche Verdünnungsstufen von AgNM-300k nach 24 h Batchtest. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von 17 Wiederholungsmessungen für die Ag_{total} Gehalte bzw. 11 Wiederholungsmessungen für die Ag_{ultra} Gehalte.....	21
Abbildung 2:	Wiederfindung an Ag_{total} und Ag_{ultra} über unterschiedliche Verdünnungsstufen von AgCN30 nach 24 h Batchtest. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von 11 Wiederholungsmessungen.	22
Abbildung 3:	Messung des HDD nach 24 h Batchtest über eine Verdünnungsreihe von AgNM-300k.	23
Abbildung 4:	Messung des HDD und des Zetapotentials nach 24 h Batchtest über eine Verdünnungsreihe von AgCN30.	24
Abbildung 5:	Wiederfindung verschiedener Ag Fraktionen nach 24 h Reaktionszeit im Vergleich zur Probe am Versuchsbeginn. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von vier Wiederholungsmessungen für die Proben mit eingestellten pH-Werten und drei Wiederholungsmessungen für das Original.....	25
Abbildung 6:	HDD und pH nach 24 h Reaktionszeit im Vergleich zur Probe am Versuchsbeginn. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von vier Wiederholungsmessungen für die Proben mit eingestellten pH-Werten und drei Wiederholungsmessungen für das Original.	25
Abbildung 7:	AgNM-300k ($Ag_{total} = 3,6 \text{ mg L}^{-1}$) bei einem pH-Wert von 5 und einer Zugabe von $3,3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2$. Der HDD bleibt konstant und unverändert im Vergleich zur Stammlösung.	27
Abbildung 8:	AgCN30 bei einem pH-Wert von 5, einer Ca^{2+} Zugabe von $0,64 \text{ mmol L}^{-1}$ und einer Ag Ausgangskonzentration von $3,6 \text{ mg L}^{-1}$. Der HDD ist schon bei Versuchsbeginn erhöht und nimmt während des Versuchs zu. Nach 250 min sind keine Ag ENP in der Dispersion nachweisbar.....	29
Abbildung 9:	AgCN30 bei einem pH-Wert von 7, Zugabe von $0,64 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ und einer Ausgangskonzentration von $3,6 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ag}$. Der HDD bleibt konstant und unverändert im Vergleich zur Stammlösung.	29
Abbildung 10:	Exemplarische Darstellung der Retention von AgNM-300k, AgCN30 und der Adsorption von Ag^+ nach 24 h Batchversuch für den Ah-Horizont eines Podsols. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von drei Replikaten für AgCN30.....	37
Abbildung 11:	Darstellung der Retention von AgNM-300k und der Adsorption von Ag^+ nach 24 h Batchversuch für 25 Ackerböden. Gruppe 1 zeigt Böden mit niedrigen Retentionskoeffizienten für AgNM-300k ($n = 19$), Gruppe 2 zeigt Böden mit hohen Retentionskoeffizienten für AgNM-300k ($n = 6$).....	37

Abbildung 12:	Darstellung der Retention von AgNM-300k und AgCN30 nach 24 h Batchversuch. Ein direkter Vergleich der Retentionskoeffizienten ist aufgrund der unterschiedlichen Ableitungen nicht zulässig.	39
Abbildung 13:	Freisetzung von $A_{g_{total}}$ dargestellt über das kumulierte Wasser zu Feststoff Verhältnis verschiedener Böden (Refesol, $A_{g_{total}} = 1,41$ mg pro Säule und Holtensen, $A_{g_{total}} = 1,13$ mg pro Säule) nach drei und 92 Tagen.	48
Abbildung 14:	Silberpartikel in Celluloseacetat Filter mit zugehörigem EDX.	63
Abbildung 15:	Histogramm einer DLS Messung von AgNM-300k Stammdispersion direkt nach dem Ansatz aus OECD Vial Nr. 6480, exemplarisch für alle Ansätze.	64
Abbildung 16:	Histogramm der DLS Messung einer AgCN30 Stammdispersion direkt nach dem Öffnen, exemplarisch für alle Ansätze.	64
Abbildung 17:	Histogramme für Original AgNM-300k ($A_{g_{total}} = 8,4$ mg L ⁻¹) und die entsprechenden Histogramme für die Dispersion nach 24 h Batchtest für unterschiedlich eingestellte pH-Werte (4, 5, 6, 7).....	65
Abbildung 18:	REM-Aufnahme zeigt Aggregate aus Citrat stabilisierten ENP (AgCN30, $A_{g_{total}} = 3,6$ mg L ⁻¹) auf einem Celluloseacetat Filter (0,45 µm) nach Zugabe von 3,3 mmol L ⁻¹ Ca(NO ₃) ₂ . Im Filtrat lassen sich mittels DLS keine ENP nachweisen.	66
Abbildung 19:	AgCN30 bei Zugabe von DOM (72,1 mg L ⁻¹) und 0,64 mmol L ⁻¹ Ca ²⁺ (pH = 6). Der HDD bleiben konstant und unverändert im Vergleich zur Stammlösung. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung aus 10 Messwiederholungen eines Probeansatzes.	66
Abbildung 20:	Lage der Probenahmepunkte in Deutschland und Verteilung der Proben im Korngrößendreieck. (Karte der Bodenausgangsgesteine, BGR, 2007).....	67
Abbildung 21:	Wechselwirkungen von AgNM-300k mit verschiedenen Kunststoffen nach Batchversuchen (Verdünnungsreihe $A_{g_{total}}$ von 0,5-15 mg L ⁻¹).	67
Abbildung 22:	Boxplots der logarithmierten K_F Werte abgeleitet aus Versuchen mit AgNO ₃ untergliedert nach Nutzungsart bzw. Oberböden (OB) und Unterböden (UB).	68
Abbildung 23:	REM-Aufnahme (a) zeigt AgNM-300k in der Bodenlösung für eine Fahlerde mit dem zugehörigen EDX Spektrum (c) des rot umrandeten Partikels. Abbildung b zeigt die DLS Messung der Bodenlösung und Abbildung d die Referenzbodenlösung ohne Zugabe von Ag ENP.	69
Abbildung 24:	Intensitätsgewichtete DLS Messungen von einem Gewässersediment mit geringen K_r Werten (a, b und c) und von einem Gewässersediment mit hohen K_r Werten (d und e). Abbildung a und d sind Referenzen ohne Zugabe von AgNM-300k. Bei Zugabe von AgNM-300k sind in den Abbildungen b und c Nanopartikel zu erkennen.	71
Abbildung 25:	Retentionskoeffizienten von AgNM-300k aufgetragen über den Schwefelgehalt von Gewässersedimenten.	72

Abbildung 26:	Versuchsaufbau bei der Elution von Bodensäulen.....	73
Abbildung 27:	Retention von AgNM-300k bei Zugabe zu Ah Horizonten von Ackerstandorten nach 24 h Batchversuch. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichungen aus drei Wiederholungen.	74
Abbildung 28:	Freisetzung von $A_{g_{ultra}}$ bezogen auf $A_{g_{total}}$ dargestellt über das kumulierte Wasser zu Feststoff Verhältnis von zwei Oberböden (Refesol, $A_{total} = 1,41$ mg pro Säule und Holtensen, $A_{g_{total}} = 1,13$ mg pro Säule) nach drei und 92 Tagen.....	74
Abbildung 29:	Darstellung des pH-Werts über die kumulierten Wasser zu Feststoff Verhältnisse zweier Oberböden (Refesol und Holtensen) nach drei (links) und 92 Tagen (rechts).....	75
Abbildung 30:	Darstellung der Leitfähigkeit über die kumulierten Wasser zu Feststoff Verhältnisse zweier Oberböden (Refesol und Holtensen) nach drei (links) und 92 Tagen (rechts).....	76

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Charakterisierung der AgNM-300k Stammdispersionen	19
Tabelle 2:	Charakterisierung einer AgCN30 Stammdispersionen	19
Tabelle 3:	Charakterisierung der für Säulenversuche ausgewählten Böden und deren Retentionskoeffizienten gegenüber AgNM-300k.....	46
Tabelle 4:	Wiederfindung des AgNM-300k nach KWA in den Böden vor und nach der Elution mit Regenwasser bzw. DOC Lösung nach drei Tagen bzw. 92 Tagen	47
Tabelle 5:	Charakterisierung von 25 mitteleuropäischen Ackerböden	68
Tabelle 6:	Lineare Regression mit $\log_{10} K_F$ als abhängiger Variable ($n = 25$)....	69
Tabelle 7:	Bodeneigenschaften, K_F Werte für Ag^+ und $K_{r, linear}$ Werte für AgNM-300k	70
Tabelle 8:	Bodeneigenschaften, K_F Werte für Ag^+ , $K_{r, linear}$ Werte für AgNM-300k und $K_{r, Freundlich}$ Werte für AgCN30.....	71
Tabelle 9:	Charakterisierung von Gewässersedimenten und Retentionskoeffizienten von AgNM-300k in den entsprechenden Sedimenten.....	72
Tabelle 10:	Charakterisierung der Elutionslösungen Regenwasser und DOC	73

Abkürzungsverzeichnis

AAS	englisch: A tom A bsorption S pectrometry
Ag	Silber
Ag ⁺	Silberionen
Ag _{total}	Silbergehalt nach Aufschluss
Ag _{ultra}	Silbergehalt nach Ultrazentrifugation
AgCN30	Citrat stabilisierte Silbernanopartikel
Ag ENP	Silbernanopartikel
AgNM-300k	sterisch stabilisierte Silbernanopartikel, OECD Standard, Hersteller: ras (Regensburg, Deutschland)
AgNO ₃	Silbernitrat
AP	A rbeits P aket
BBodSchG	B undes- B oden S chutz G esetz
BGR	B undesanstalt für G ewissenschaften und R ohstoffe
BMBF	B undes M inisterium für B ildung und F orschung
BUI	B remer U mwelt I nstitut
CCC	englisch: C ritical C oagulation C oncentration
DOC	englisch: D issolved O rganic C arbon
DLS	englisch: D ynamic L ight S cattering
DLVO	D erjaguin- L andau- V erwey- O verbeak-Theorie, Model das thermodynamische Wechselwirkungen zwischen Partikeln beschreibt
EDX	englisch: E nergy D ispersive X -ray spectroscopy
EMC	Gesellschaft zur Erfassung und Bewertung von Umweltdaten mbH
ENP	englisch: E ngineered N ano P articles,
HDD	H ydro D ynamischer D urchmesser (DLS Auswertung via Kumulantenanalyse)
H ₂ O _{dd}	doppelt destilliertes Wasser

HA	englisch: H umic A cid
ICP-MS	englisch: I nductively C oupled P lasma M ass S pectrometry
ICP-OES	englisch: I nductively C oupled P lasma O ptical E mission S pectrometry
IME	Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie
KAK	K ationen A ustausch K apazität
KWA	K önigs W asser A ufschluss nach DIN 38414-7
LUH	L eibniz U niversität H annover, Institut für Bodenkunde
NOM	englisch: N atural O rganic M atter
OECD	englisch: O rganisation for E conomic C o-operation and D evelopment
OC	englisch: O rganic C arbon
ÖKO	Allgemeine und Theoretische Ö K O logie, Universität Bremen
PEC	englisch: P redicted E vironmental C oncentration
PDI	P oly D ispersitäts I ndex
PVP	P oly V inyl P yrrolidon
PSM	P flanzen S chutz M ittel
ras	r ent a scientist GmbH
REACH	englisch: R egistration, E valuation, A uthorisation and R estriction of C hemicals, Verordnung (EG) Nr. 1907/2006
REM	R aster E lektronen M ikroskopie
RW	R egen W asser
SDBS	englisch: S odium D odecyl B enzene S ulfonate
TUDr	T echnische U niversität D resden, Arbeitsgruppe Mechanische Verfahrenstechnik
UBA	U mwelt B undes A mt
UFT	Zentrum für U mwelt F orschung und nachhaltige T echnologien
UMSICHT	Abschätzung der U Mweltgefährdung durch S ilber-Nanomaterialien: vom C Hemischen Partikel bis zum T echnischen Produkt

UV	englisch: UltraViolet light
UV/VIS-Spektroskopie	englisch: UltraViolet/VISible spectroscopy
VdW	V erfahrenstechnik d er W erkstoffrückgewinnung, Universität Bremen

1 Einführung und Projektübersicht

1.1 Aufgabenstellung

Durch die steigende Produktion und Verwendung von ENP (englisch: **Engineered Nano Particles**, künstlich hergestellte Nanopartikel) kommt es zu einer zunehmenden Freisetzung der Nanopartikel in die Umwelt (Lowry et al., 2010). Dies betrifft neben der aquatischen Umwelt im besonderen Maße landwirtschaftlich genutzte Böden. Nanopartikel können direkt als Dünger oder Pflanzenschutzmittel (PSM) in Böden eingetragen werden, ein indirekter Eintrag erfolgt bei der landwirtschaftlichen Verwertung von Klärschlamm (Batley et al., 2013). Aufgrund zunehmender Unsicherheiten seitens der Regulatoren, Hersteller und Verbraucher hinsichtlich Wirkung, Freisetzung und Verbleib von ENP förderte das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) das Verbundvorhaben UMSICHT (Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien: vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt). Ein wesentliches Ziel des Vorhabens war es, eine exemplarische, umweltseitige Risikoabschätzung für Silbernanopartikel (Ag ENP) durchzuführen. Diese Abschätzung wurde in Anlehnung an die Maßgaben der europäischen Chemikalien-Verordnung (REACH (englisch: Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals), Nr. 1907/2006) vorgenommen. Der mögliche Eintrag von ENP in Böden betrifft auch das Bundesbodenschutzgesetz (BGBl. I, 1998; BBodSchG), weil die ebd. festgeschriebene Vermeidung von Beeinträchtigungen der natürlichen Bodenfunktionen bzw. eine Grundwassergefährdung durch ENP momentan nicht ausgeschlossen werden können. Demzufolge leisten Untersuchungen zur Exposition und zum Verbleib von ENP in Böden einen wichtigen Beitrag, um mögliche Auswirkungen auf Bodenfunktionen aufzuzeigen. Im Rahmen von UMSICHT war die BGR (Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe) an der Untersuchung der Mobilität von Ag ENP in Böden beteiligt. Bearbeitet wurden die Arbeitspakete (AP) 1.2.4 (Verhalten von ENP in Porenwasser und Waschwasser) und AP 2.2.2 (Erfassung der Exposition im Boden). Aufgrund der besonderen physikochemischen Eigenschaften der ENP waren grundlegende methodische Arbeiten notwendig. Aus den Aufgaben der BGR wurden folgende Untersuchungsschwerpunkte abgeleitet:

- Charakterisierung und Untersuchung der kolloidalen Stabilität von Ag ENP (Kapitel 2.1)
- Batchtests zur Untersuchung der Retention von Ag^+ und Ag ENP in Böden und Sedimenten (Kapitel 2.2)
- Säulenelution von Ag ENP beladenen Böden (Kapitel 2.3).

1.2 Voraussetzungen

Die Bearbeitung des Vorhabens an der BGR wurde durch die finanzielle Unterstützung (Sach- und Personalmittel) durch das BMBF ermöglicht.

Innerhalb der BGR konnte auf wissenschaftliche Kompetenz hinsichtlich Untersuchung zur Mobilität von Spurenelementen in Böden zurückgegriffen werden. Weitere vorhandene Fachkompetenzen u. a. aus den Bereichen der Geochemie, Bodenkunde, Hydrogeologie und Mineralogie wurden genutzt. Eine weitere wesentliche Voraussetzung für die Projektdurchführung war die technische Ausstattung mit Geräten zur Analyse von Spurenelementen (u. a. ICP-MS, englisch: Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy) und die zugehörige technische Fachkompetenz.

Desweiteren leistete die enge fachliche und instrumentelle Zusammenarbeit mit der Leibniz Universität Hannover (LUH, Institut für Bodenkunde) eine wichtige Voraussetzung für das Projekt.

1.3 Planungen und Ablauf

Das Vorhaben untergliederte sich in drei wesentliche Arbeitsschwerpunkte, die in Kapitel 2 ausführlich beschrieben werden. Weil die bodenkundliche Forschung zur Mobilität von Nanopartikeln sich in einem frühen Stadium befindet, wurden entgegen der ursprünglichen Planungen zahlreiche Arbeitsstunden in die Entwicklung von Methoden, die Charakterisierung der Nanopartikel und die Untersuchung der kolloidalen Stabilität der Partikel investiert.

Die bewilligten Sach- und Personalmittel wurden im Wesentlichen entsprechend des Antrags verwendet. Da auf die geplante Anschaffung einer Säulenanlage verzichtet wurde und die entsprechenden Versuche mit einer Eigenentwicklung durchgeführt wurden, konnten die eingesparten Sachmittel in Personalmittel umgewidmet werden. Dieser Umstand ermöglichte eine kostenneutrale Verlängerung des Teilprojekts der BGR um drei Monate, so dass langfristige Inkubationsversuche mit Ag ENP beladenen Böden durchgeführt werden.

Folgende wesentlichen Arbeitsabläufe waren nötig, um die Projektaufgaben zu erfüllen:

- Auswahl und Charakterisierung geeigneter Bodenproben
- Erstellung von Adsorptionsisothermen für Silbernitrat in Batchtests
- Entwicklung von Aufschlussmethoden für Ag ENP
- Methodenanpassung (Batch und Säule) zur Wiederfindung von Ag ENP
- Veränderung der kolloidalen Stabilität von Ag ENP bei Zugabe von verschiedenen Kationen und organischen Substanzen

- Erstellung von Retentionskoeffizienten aus Batchtests mit AgNM-300k (sterisch stabilisierte Ag ENP) und AgCN30 (Citrat stabilisierte Silbernanopartikel)
- Säulenelution von Böden und Boden-Klärschlamm-Gemischen mit verschiedenen Elutionsmitteln.

Die Ergebnisse der einzelnen Punkte werden detailliert in Kapitel 2 dargestellt und diskutiert.

1.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand

Der wissenschaftliche Kenntnisstand hinsichtlich der Mobilität von Nanopartikeln in Umweltmedien war zu Beginn des Vorhabens auf einem niedrigen Niveau (Lowry et al., 2010). In der Zwischenzeit wurden Forschungsergebnisse zu Untersuchungen von Nanopartikeln in Böden von einigen Autoren zusammengefasst (Tourinho et al., 2012, Pan und Xing, 2012, Batley et al., 2013). Demnach hat sich die Informationsgrundlage in den letzten drei Jahren deutlich verbessert. Dennoch werden bisherige Forschungsergebnisse auch kritisch beurteilt. Von der Kammer et al. (2012) führen aus, dass adäquate Techniken zur Analyse von ENP fehlen, dies gilt insbesondere für umweltrelevante Konzentrationsbereiche. Die besonderen physikochemischen Eigenschaften von ENP führen dazu, dass die Forschung mitunter unzureichende Daten generiert, wenn gleiche Eigenschaften wie für gelöste Schadstoffe angenommen werden (Klaine et al., 2012). Außerdem sind die Daten zur Charakterisierung der Partikel häufig nicht vollständig publiziert, so dass die Vergleichbarkeit verschiedener Publikationen nicht immer gegeben ist (Tourinho et al., 2012).

Obwohl die Summe der Publikationen hinsichtlich ENP in Böden deutlich zugenommen hat, so gibt es weiterhin nur wenige Publikationen zur Mobilität von Silbernanopartikeln in Böden. Eine der ersten Publikationen, welche einen Batchansatz wählt, zeigt vergleichsweise hohe Retentionskoeffizienten für ungecoatete Ag ENP (Cornelis et al., 2010). Derselbe Testansatz zeigt für PVP (Polyvinylpyrrolidon) stabilisierte Ag ENP ebenfalls hohe Retentionskoeffizienten, die mit zunehmenden Tongehalten steigen (Cornelis et al., 2012). Andererseits dokumentiert eine Publikation von Lowry et al. (2012), dass PVP stabilisierte Ag ENP auch nach partieller Sulfidierung teilweise langfristig mobil bleiben können. In Versuchen mit Sandsäulen und SDBS (englisch: Sodium Dodecylbenzene Sulfonate) stabilisierten Ag ENP werden weniger als 15 % der ENP zurückgehalten (Tian und Gao, 2010). Die mit Wasser extrahierbare Menge an Citrat stabilisierten Ag ENP aus unterschiedlichen Böden nimmt über die Versuchszeit von 70 Tagen zu (Coutris et al., 2012). Dies deutet ebenfalls auf eine hohe Mobilität der Partikel in Böden hin, wobei die hier genannten Publikationen in den Testansätzen und auch in der Art des Ag ENP Stabilisators stark variieren, so dass die Vergleichbarkeit

der Ergebnisse nicht gegeben ist. Letztlich verweisen Cornelis et al. (2013) darauf, dass die Kenntnisse über die Mobilität und den Transport von Ag ENP in natürliche Böden weiterhin limitiert sind.

1.5 Zusammenarbeit mit anderen Projektpartnern

Die Koordination und Absprache mit allen Projektpartnern erfolgte während der regelmäßigen Projekt- und Clustertreffen. Im September 2011 wurde an der BGR ein zweitägiges Projekttreffen abgehalten.

Gemeinsame Versuche wurden zwischen der BGR und dem Partner IME (Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und angewandte Ökologie) durchgeführt. Die am IME hergestellten und mit AgNM-300k beladenen Klärschlämme wurden an der BGR charakterisiert und in Säulenversuchen eluiert. Hinsichtlich der Wiederfindungsraten von AgNM-300k und AgCN30 wurden mit den Partnern TUDr (Technische Universität Dresden) und VdW (Verfahrenstechnik der Werkstoffrückgewinnung, Universität Bremen) Methodenvergleiche durchgeführt. Versuche zur Ag (Silber) Spezifizierung in unterschiedlichen Nährmedien erfolgten in Zusammenarbeit mit den Partnern ÖKO (Allgemeine und theoretische Ökologie, Universität Bremen), VdW und TUDr. Für das BUI (Bremer Umwelt Institut) wurden an der BGR Stoffabriebe aufgeschlossen und analysiert.

Neben den gemeinsam durchgeführten Versuchen kam es zu einem intensiven Austausch mit allen genannten Partnern.

Desweiteren erfolgte eine gewinnbringende fachliche Zusammenarbeit mit dem Institut für Bodenkunde der LUH.

2 Fachlich inhaltlicher Bericht

Dieses Kapitel beinhaltet die Einordnung, Darstellung und Bewertung der wissenschaftlichen Ergebnisse. Hinweise auf Verwertbarkeit der Ergebnisse, und geplante Publikationen sind Kapitel 3 zu entnehmen.

Aus den Aufgaben die der BGR zugeschrieben wurden, können folgende Untersuchungsschwerpunkte abgeleitet werden:

- Charakterisierung und Untersuchung der kolloidalen Stabilität von Ag ENP (Kapitel 2.1)
- Batchtests zur Untersuchung der Retention von Ag⁺ und Ag ENP in Böden und Sedimenten (Kapitel 2.2)
- Säulenelution von Ag ENP beladenen Böden (Kapitel 2.3).

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Untersuchungsschwerpunkte in eigenständigen Kapiteln dargestellt, in den Kontext zu aktuellen Forschungsergebnissen gesetzt und abschließend diskutiert. Am Ende des Kapitels sollen wesentliche Ergebnisse aller Arbeitsschwerpunkte zusammengefasst, verknüpft und diskutiert werden.

Da sich die Batchtests aus AP 1.2.4. lediglich durch die Auswahl von Citrat stabilisierten Ag ENP im Vergleich zu den sterisch stabilisierten Ag ENP der Batchtests in AP 2.2.2 unterscheiden, wird die Auswertung von AP 1.2.4 in die Kapitel 2.1 und 2.2 integriert. Im Folgenden wird deshalb keine explizite Unterscheidung nach Arbeitspaketen vorgenommen.

2.1 Charakterisierung und kolloidale Stabilität von Ag ENP

2.1.1 Einleitung

Aufgrund ihrer besonderen physikochemischen Eigenschaften erfordert die Untersuchung von ENP andere analytische Methoden, als dies für gelöste vorliegende Chemikalien der Fall ist (Klaine et al., 2012). Domingos et al. (2009) demonstrieren, dass es keine ideale Analysetechnik für die Charakterisierung von ENP in Umweltmedien gibt. Analytische Unsicherheiten entstehen durch unzureichende Charakterisierung der Partikel, außerdem werden in vielen Untersuchungen hohe Konzentrationen verwendet, die realistische Umweltkonzentrationen übersteigen (Cumberland und Lead, 2009). Die Diskrepanz zwischen umweltrelevanten und in Tests eingesetzten Konzentrationen lässt sich häufig nicht überbrücken, da einschlägige Methoden zur Analytik von ENP (u. a. DLS) häufig relativ hohe Gesamtkonzentrationen benötigen. Umfangreiche Charakterisierungsstudien für den OECD Standard (englisch: Organisation for Economic Co-

operation and Development, AgNM-300k) wurden von Klein et al. (2011) durchgeführt. Diese Arbeiten bieten eine hilfreiche Informationsgrundlage. Auf eine Charakterisierung während laufender Versuche sollte aufgrund der besonderen physikochemischen Eigenschaften der ENP nicht verzichtet werden. Deshalb wurden in dieser Arbeit die AgNM-300k und AgCN30 Dispersionen direkt nach dem Ansatz und über ihre Verwendungsdauer charakterisiert. Auch während der Batchversuche mit Böden und Sedimenten erfolgte eine Charakterisierung der Ag ENP.

Die Prinzipien der Kolloidwissenschaft, basierend auf der DLVO Theorie (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek, Modell zu thermodynamischen Interaktionen zwischen Partikeln in Dispersionen), sind nötig, um die Aggregation von ENP unter variierenden Umweltbedingungen zu verstehen (Hotze et al., 2010). Die Aggregation von ENP ist eine der wichtigsten Steuergrößen für den Transport und Verbleib der Partikel in der Umwelt (Zhang et al., 2011). Die spezifischen Eigenschaften der Partikel (u. a. Oberflächenladung, Partikelform, Partikelgröße) sowie die chemische Zusammensetzung des umgebenden Mediums (u. a. pH-Wert, Ionenstärke) steuern die Aggregation (Batley et al., 2013). Die Oberflächenladung wird maßgeblich von der Art des Stabilisators bestimmt. Mittels PVP stabilisierte Ag ENP werden durch sterische Hinderung vor Aggregation geschützt (Thio et al., 2012). Dieser Mechanismus wird aufgrund der ähnlichen Struktur des Stabilisators auch für AgNM-300k angenommen. Aufgrund der geringen Anzahl von funktionellen Gruppen des Stabilisators sollte der Einfluss der H^+ Aktivität auf AgNM-300k moderat ausfallen. Badawy et al. (2010) zeigen, dass der HDD (hydrodynamischer Durchmesser) von PVP stabilisierten Ag ENP trotz stark variierender pH-Werte (2-10) konstant bleibt. Hingegen finden Thio et al. (2012) eine leichte Zunahme des HDD bei der Abnahme des pH-Werts. In der Literatur wurden keine Daten zur Veränderung des OECD Standards bei variierenden pH-Werten gefunden.

Dispersionen lassen sich durch die Zugabe von Kationen destabilisieren. Hierbei steigt die destabilisierende Wirkung mit zunehmender Wertigkeit der Kationen. Als wirkungsvollstes zweiwertiges Kation ist Ca^{2+} aus der Kolloidchemie bekannt, und es zeigt sich auch effektiv bei der Aggregation von Nanopartikeln (Levard et al., 2012). Bei höheren Ionenstärken kann Ca^{2+} in Abwesenheit von Huminstoffen zu einer kompletten Entfernung von Citrat stabilisierten Ag ENP aus der Dispersion führen (Cumberland und Lead, 2009). Die kolloidale Stabilität von Citrat stabilisierten Ag ENP ist bei Zugabe von Ca^{2+} geringer als die kolloidale Stabilität von PVP stabilisierten Ag ENP (Huynh und Chen, 2011). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Badawy et al. (2010) die zeigen, dass der HDD von PVP stabilisierten Ag ENP, bei Variation von Ionenstärke, pH und Elektrolytart konstant blieben, während Citrat stabilisierte Partikel aggregierten.

Neben der Ionenstärke und dem pH-Wert kann auch die O_2 Konzentration die Transformation von Citrat stabilisierten Ag ENP beeinflussen (Zhang et al., 2011). Die Ionen-

freisetzung aus Citrat stabilisierten Ag ENP wird durch Oxidation mittels O_2 und H^+ gesteuert (Liu und Hurt, 2010). Aggregation und Ag^+ (Silberionen) Freisetzung können gleichzeitig auftreten und einander gegenseitig beeinflussen (Zhang et al., 2011). Die Untersuchung der Ag^+ Freisetzung ist von besonderer Bedeutung, da die Toxizität von Ag ENP wahrscheinlich durch die Freisetzung von Ag^+ erklärt wird (Levard et al., 2012). Ob es auch eine direkte toxische Wirkung der Ag ENP gibt, ist noch nicht abschließend geklärt (ebd.).

Die Rolle von NOM bei der Stabilisierung von ENP wurde ausführlich diskutiert (u. a. Huynh und Chen, 2011, Cumberland und Lead, 2009, Lin et al., 2010). Häufig werden Huminsäuren eingesetzt, um Einflüsse der natürlichen organischen Substanz zu testen. Huminsäuren können sowohl Citrat stabilisierte als auch PVP stabilisierte Ag ENP bei Anwesenheit von Ca^{2+} durch Bridging Effekte destabilisieren (Huynh und Chen, 2011). Thio et al. (2012) finden eine erhöhte Mobilität von Ag ENP aufgrund von zusätzlicher sterischer Stabilisierung durch Huminstoffe. Auch Cumberland und Lead (2009) zeigen, dass mittels Citrat stabilisierte Ag ENP von Huminstoffen zusätzlich stabilisiert werden. Möglicherweise agiert NOM wie ein Coating auf der Oberfläche der ENP und beeinflusst dadurch die kolloidale Stabilität (Lin et al., 2010).

Ziel dieses Kapitels ist es, den OECD Standard (AgNM-300k) grundlegend über verschiedene Versuchsansätze zu charakterisieren und dessen kolloidale Stabilität zu testen. Soweit bekannt existieren für den AgNM-300k keine Daten zur Aggregation bzw. kolloidale Stabilität bei Änderung des pH-Werts, sowie für die Zugabe von Kationen und NOM. Deshalb wurde die Variation dieser Parameter sowie deren Einfluss auf die Aggregation und Auflösung von AgNM-300k getestet. Die gleichen Untersuchungen wurden zum Teil auch an Citrat stabilisierten Ag ENP durchgeführt.

2.1.2 Material und Methoden

2.1.2.1 Vorbereitung der Ag ENP

Alle Versuche wurden mit dem OECD Standardmaterial AgNM-300k durchgeführt. Die Partikel sind mit einem nichtionischen Tensid (4 % w/w Polyethylen Glyceroltrioleat und 4 % w/w Polyethylen (20 Sorbitan mono-Laurat)) stabilisiert. Der gesamte Inhalt eines OECD Vials wurde in einen Glaskolben überführt und mit doppelt destilliertem Wasser (H_2O_{dd}) verdünnt, so dass die Stammlösung eine Sollkonzentration (Ag_{total}) von $101,6 \text{ mg L}^{-1}$ aufweist. Diese Dispersion wurde für maximal 21 Tage im Dunkeln gelagert und für weitere Verdünnungen direkt vor Testbeginn verwendet. Zusätzlich kamen auch mit Citrat stabilisierte Ag ENP (AgCN30, nanoComposix, San Diego, USA) zum Einsatz. Der Ag_{total} Gehalt der 30 nm großen AgCN30 beträgt 20 mg L^{-1} . Das Material wurde bei $4 \text{ }^\circ\text{C}$ im Dunkeln gelagert. Die weitere Verdünnung erfolgte direkt vor den entsprechenden Versuchen.

2.1.2.2 Bestimmung des $A_{g_{total}}$ Gehalts

Es erfolgte eine wöchentliche Kontrolle der $A_{g_{total}}$ bzw. $A_{g_{ultra}}$ Gehalte nach Aufschluss bzw. Ultrazentrifugation. Zur Bestimmung der $A_{g_{total}}$ Gehalte aus Ag ENP Dispersionen müssen die Partikel zunächst aufgeschlossen werden, dies kann mittels HNO_3 erfolgen (u. a. Hagendorfer et al., 2012, Zhang et al., 2011). Die Methode wurde auch in dieser Arbeit verwendet, für den Aufschluss wurden 10 ml Ag ENP Dispersion und 10 ml Salpetersäure (65 %, HNO_3 , Merck, Darmstadt, Deutschland) für 2 h bei 130 °C gekocht. Dies erfolgte in einem System mit Rückflusskühler. Anschließend wurde die Probe mit H_2O_{dd} auf ein Volumen von 100 ml aufgefüllt. Die Ag Gehalte wurden mittels ICP-OES (englisch: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, Ciros Vision, Spectro, Kleve, Deutschland) bestimmt.

2.1.2.3 Ultrazentrifugation und Messung der $A_{g_{ultra}}$ Gehalte

Die Abtrennung von Partikeln aus der Suspension erfolgte durch Ultrazentrifugation, eine Methode die bereits von Hagendorfer et al. (2012) zur Fraktionierung von Ag ENP angewendet wurde. Die Trennung erfolgte mit einer Ultrazentrifuge (Optima LXP 100, Beckman Coulter, Brea, USA). Bei einem mittleren Schwerefeld von 390000 g wurden die Proben für 40 min zentrifugiert, so dass nach dem Stokesschen Gesetz Partikel größer 3 nm abgetrennt werden. Nach der Ultrazentrifugation wurden die Proben mit 100 μ l HNO_3 (65 %) angesäuert und anschließend mittels ICP-MS (Agilent 7500 Series, Santa Clara, USA) analysiert.

2.1.2.4 HDD und Zetapotential

Für die DLS Messungen wurden alle Proben über 0,45 μ m (Celluloseacetat, Whatman, Dassel, Deutschland) filtriert, um größere Aggregate abzutrennen, da diese die Messungen erheblich stören können. Die Messungen des HDD erfolgten bei 25°C unter einem Rückstreuwinkel von 173° bei fester Messposition (1,5 mm). Für die Gleichgewichtseinstellung wurden 300 s zur Verfügung gestellt. Die Berechnung des HDD erfolgte mittels Kumulantenanalyse, der die intensitätsgewichtete Größenverteilung zugrunde liegt (Malvern, 2009). Aufgrund der unterschiedlichen Polydispersität liegt die Nachweisgrenze für AgNM-300k bei einem $A_{g_{total}}$ Gehalt von 1,5 mg L⁻¹ und für AgCN30 bei 0,3 mg L⁻¹. Das Zetapotential wurde mittels Einwegküvetten (DTS1061, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, England) bei einer Gleichgewichtszeit von 180 s bestimmt. Die Berechnung des Zetapotentials erfolgte aus der gemessenen elektrophoretischen Mobilität mit Hilfe der Smoluchowski Näherung (ebd.). Hierbei wurde der Mittelwert aus fünf Wiederholungsmessungen gebildet.

2.1.2.5 pH-Wert und Leitfähigkeit

Die pH-Werte und Leitfähigkeiten in den Ag ENP Dispersionen wurden direkt nach der Verdünnung aus den Stammlösungen vor den jeweiligen Versuchen gemessen. Die Messung des pH-Werts erfolgte mit einer SenTix 41 Elektrode (WTW, Weilheim, Deutschland), die Messung der Leitfähigkeit mit einer TetraCon 325 Elektrode (WTW, Weilheim, Deutschland).

2.1.2.6 REM und EDX

Die Ausgangssuspensionen der Stammlösungen, Bodenlösungen, Bodenfestphase und Filtermembranen wurden auf Kohlenstoffträger überführt und anschließend mit flüssigem Stickstoff schockgefroren. Danach erfolgte die Gefriertrocknung (GAMMA 1-16 LSC, Christ, Osterode, Deutschland) der Proben. Die Raster Elektronen Mikroskopie wurde mit einem FEI Quanta 600 FEG (Hillsboro, USA) durchgeführt, hierbei kam eine Beschleunigungsspannung von 20 keV zum Einsatz. Mit Hilfe eines EDX Mikroanalyse Detektors (Apollo XL) erfolgte die Elementanalyse.

2.1.2.7 Aufbau der verschiedenen Batchversuche

Das entwickelte Testsystem für Versuche mit Böden wurde aus einer Arbeit von Utermann et al. (2005) abgeleitet, wobei die Methode ursprünglich für die Untersuchung der Mobilität von Spurenelementen entwickelt wurde. In Kapitel 2.1 sind die Ag ENP der gemessenen Referenzen ohne die Zugabe von Böden charakterisiert. Weitere Details zum Versuchsaufbau sind Kapitel 2.2.2.2 zu entnehmen.

Der Einfluss des pH-Werts auf die kolloidale Stabilität von AgNM-300k wurde in einem 24 h Batchversuch getestet. Die Einstellung der pH-Werte erfolgte mit $0,1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ bzw. $0,1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaOH}$ (Merck, Darmstadt, Deutschland). In einer Ag ENP Dispersion mit einem Ag_{total} Gehalt von $8,5 \text{ mg L}^{-1}$ wurden pH-Werte von 4, 5, 6 und 7 eingestellt. Anschließend wurden die Proben auf einem Horizontalschüttler für 24 h geschüttelt. Es folgten verschiedene Fraktionierungsschritte, zunächst eine Filtration über einen Faltenfilter (Whatman 595½, ca. $8 \mu\text{m}$ Porenweite), dann eine weitere Filtration mit einem $0,45 \mu\text{m}$ Filter (Whatman, Celluloseacetat) und als letzter Schritt die Ultrazentrifugation zu den oben aufgeführten Bedingungen. Die Proben wurden, wie oben beschrieben, nach der Filtration mittels HNO_3 aufgeschlossen bzw. nach der Ultrazentrifugation angesäuert. Die Analytik erfolgte je nach Konzentration mittels ICP-OES (Ciros Vision) bzw. ICP-MS (Agilent). HDD, Leitfähigkeit und pH-Werte wurden wie oben beschrieben bestimmt. Alle Ansätze wurden mit vier Wiederholungen gefahren.

Für die Untersuchungen der kolloidalen Stabilität wurden bodenrelevante Ionenstärken (10 mmol L^{-1} für NaNO_3 (Merck) und $3,3 \text{ mmol L}^{-1}$ für $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (Merck)) ausgewählt. Grundsätzlich ist Ca^{2+} das dominierende Kation in der Bodenlösung und sollte demnach

eine wichtige Steuergröße für die kolloidale Stabilität von ENP in Böden sein. Um die Bedeutung der Wertigkeit von Kationen für die Aggregation zu testen, wurde zusätzlich zu der dominierenden Spezies Ca^{2+} auch Na^+ ausgewählt. Zu den Ausgangselektrolyten wurden die Ag ENP Dispersionen ($\text{Ag}_{\text{total}} \text{ soll} = 5 \text{ mg L}^{-1}$) pipettiert. Anschließend folgte die Einstellung der pH-Werte wie oben beschrieben. Nach Filtration ($0,45 \mu\text{m}$, Celluloseacetat) wurde der HDD über den Zeitraum von 300 min mehrfach gemessen. Zusätzlich erfolgte eine Kontrolle der Ag_{total} Gehalte am Anfang und am Ende der Versuche (Analytik s. o.).

Für die Versuche mit NOM wurde ein Eluat aus Buchenstreu hergestellt und der DOC (englisch: Dissolved Organic Carbon) Gehalt mittels TOC Analysator (High TOC II, Elementar, Hanau, Deutschland) bestimmt. Es erfolgte der gleiche Versuchsablauf, der oben für die Zugabe von unterschiedlichen Kationen beschrieben wurde. Der Elektrolytlösung ($0,64 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2$) wurde zusätzlich vor der Einstellung des pH-Werts die konzentrierte NOM Lösung zugegeben, so dass der DOC Gehalt der verdünnten Probe $72,1 \text{ mg L}^{-1}$ beträgt.

2.1.3 Ergebnisse und Diskussion

2.1.3.1 Charakterisierung der Ag ENP

Die kolloidale Stabilität der verwendeten Ag ENP wurde über die Versuchszeit kontrolliert. Neun AgNM-300k Stammlösungen (Sollkonzentration $\text{Ag}_{\text{total}} = 101,6 \text{ mg L}^{-1}$) wurden direkt nach dem Ansatz analysiert, die Daten der Charakterisierung sind in Tabelle 1 hinterlegt. Die mittlere Wiederfindungsrate liegt nach HNO_3 Aufschluss bei 79 %. Etwas geringere Wiederfindungsraten wurden für die mit Citrat stabilisierten Ag ENP beobachtet (Tabelle 2, Daten exemplarisch für eine Stammdispersion mit einer Sollkonzentration $\text{Ag}_{\text{total}} = 20 \text{ mg L}^{-1}$). Kontrollmessungen an einer Dispersion wurden mit den Partnern TUDr und VdW vorgenommen. Dies führte bei unterschiedlichen Messmethoden zu vergleichbaren Ergebnissen. Mögliche Erklärungen für die niedrigen Wiederfindungsraten könnten Verluste durch Anhaftung größerer Aggregate an den Gefäßwänden der OECD Vials liefern. Auch die Ausbildung eines Silberspiegels an den Deckeln der Vials wurde beobachtet, was ebenfalls geringfügige Verluste erklären könnte. Andererseits finden Klein et al. (2011) nach Aufschluss der unverdünnten AgNM-300k Dispersion die angegebene Ag_{total} Konzentration vollständig wieder. Demnach könnten mögliche Verluste nur durch Alterungsprozesse während der Lagerung oder Veränderungen bei der Verdünnungsprozedur erklärt werden. Sichtbare Ablagerungen an den Originalgefäßen wurden auch für AgCN30 beobachtet. Inwieweit die beobachteten Phänomene die relativ hohen Verluste vollständig erklären können,

Tabelle 1: Charakterisierung der AgNM-300k Stammdispersionen

Analyse	Einheit	Mittelwert	Standard-abweichung	n
Ag _{total}	mg L ⁻¹	80,4	5,0	9
Wiederfindung Ag _{total}	%	79,1	5,0	9
Ag _{ultra}	mg L ⁻¹	4,0	0,3	9
Ag _{ultra}	%	5	1	9
pH		7,4	0,3	9
Leitfähigkeit	μS cm ⁻¹	146	4	9
HDD	nm	43	9	7
Polydispersitätsindex		0,48	0,01	7
Zetapotential	mV	-8,4	2,3	3

Tabelle 2: Charakterisierung einer AgCN30 Stammdispersionen

Analyse	Einheit	Mittelwert	Standard-abweichung	n
Ag _{total}	mg L ⁻¹	14,3	0,2	5
Wiederfindung Ag _{total}	%	71,3	1	5
Ag _{ultra}	mg L ⁻¹	0,18	0,04	5
Ag _{ultra}	%	1,3	0,2	5

oder ob andere Prozesse hier eine steuernde Rolle spielen, konnte nicht abschließend geklärt werden.

Der durch Ultrazentrifugation bestimmte Anteil an Silberionen beträgt in der Stammdispersion für AgNM-300k 5 % und liegt mit 1,3 % für AgCN30 deutlich niedriger, so dass das Citrat wahrscheinlich die Oxidation und damit die Bildung von Ag⁺ verhindert. Liu und Hurt (2010) konnten zeigen, dass die Auflösung von Ag ENP einen Oxidationsprozess darstellt, der O₂ und H⁺ verbraucht. Für AgNM-300k ergeben die DLS Messungen einen durchschnittlichen HDD von 43 nm. Dieser Wert liegt etwas unterhalb des von Klein et al. (2011) ermittelten Werts von 50-70 nm, was wahrscheinlich durch den zusätzlichen Filtrationsschritt erklärt werden kann. Die Filtration hält größere Aggregate zurück (Anhang B.1, Abbildung 14), demzufolge nimmt der berechnete, kumulierte

mittlere Partikeldurchmesser ab. Der PDI (englisch: Polydispersity Index) ist mit einem Wert von 0,48 sehr hoch, laut Zhang et al. (2011) deuten bereits Werte größer 0.25 auf eine hohe Polydispersität hin. Demnach impliziert der gemessene PDI eine sehr weite Größenverteilung der Partikel (Anhang B.1, Abbildung 15), dadurch ist die Auswertung der Messdaten mittels Kumulantenanalyse fehlerbehaftet und Fehlinterpretationen können nicht ausgeschlossen werden. Gleiches gilt für die Messungen des Zetapotentials, wobei die bestimmten Mittelwerte (-8,4 mV) zeigen, dass die Partikel sterisch stabilisiert sind, da Dispersionen mit Ladungen kleiner -30 mV nicht stabil sind (Lin et al., 2010). Abbildung 16 (Anhang B.1) zeigt die intensitätsgewichtete Größenverteilung einer AgCN30 Stammdispersion, die Partikel sind im Vergleich zu AgNM-300k Suspension monodispers verteilt.

Die bisher dargestellten Messdaten wurden direkt nach dem Ansatz (AgNM-300k) bzw. dem Anbrechen des Gebindes (AgCN30) gemessen. Während der Batchtests wurden die Dispersionen eines Ansatzes über längere Zeiträume (21 d bei AgNM-300k und 18 d bei AgCN30) verwendet. Die Ag_{total} und Ag_{ultra} Gehalte zeigten keine zeitabhängigen Abweichungen, so dass die Dispersionen für die genannten Zeiträume als stabil angesehen werden. Diese Ergebnisse werden durch die umfangreichen Charakterisierungen während der Batchtests (Kapitel 2.1.4.2) bestätigt. Dennoch wurde für AgCN30 bei längerer Lagerung (> 21 Tage) von angebrochenen Gebinden mitunter ein Farbumschlag von gelb hin zu blau beobachtet. Diese Farbveränderung wurde auch bei der Zugabe von Ca^{2+} zu AgCN30 Dispersionen beobachtet und gehen nachweislich mit einer Aggregation der Partikel einher (Kapitel 2.1.3.4).

Für AgNM-300k wird anhand der relativ hohen Standardabweichungen über die verschiedenen Ansätze der Stammdispersionen deutlich, dass die angesetzten Dispersionen Schwankungen unterliegen. Dies gilt besonders für die Ag_{total} Konzentrationen aber auch für den HDD.

2.1.3.2 Charakterisierung der Ag ENP nach Batchtests

Systeme mit ENP können von Faktoren wie pH-Wert, Ionenstärke, Strahlung und Temperatur verändert werden (von der Kammer et al., 2012). Um mögliche Veränderungen der ENP Dispersionen auszuschließen, wurden die zugegebenen Dispersionen während der Batchversuche mit Böden kontinuierlich charakterisiert. Die erwarteten umweltrelevanten Konzentrationen einzelner ENP sind niedrig, was häufig im Widerspruch zu hohen Konzentrationen in Labortests steht (Batley et al., 2013). Häufig existieren keine adäquaten Analysemöglichkeiten in Bereichen niedriger Konzentrationen. Dies gilt auch für diese Arbeit, wobei der Versuch unternommen wurde, ein möglichst breites Konzentrationsspektrum (Ag_{total} 0,15-15 mg L⁻¹) abzudecken. Die Wiederfindung des AgNM-300k nach den 24 stündigen Batchtests war konstant hoch (Abbildung 1).

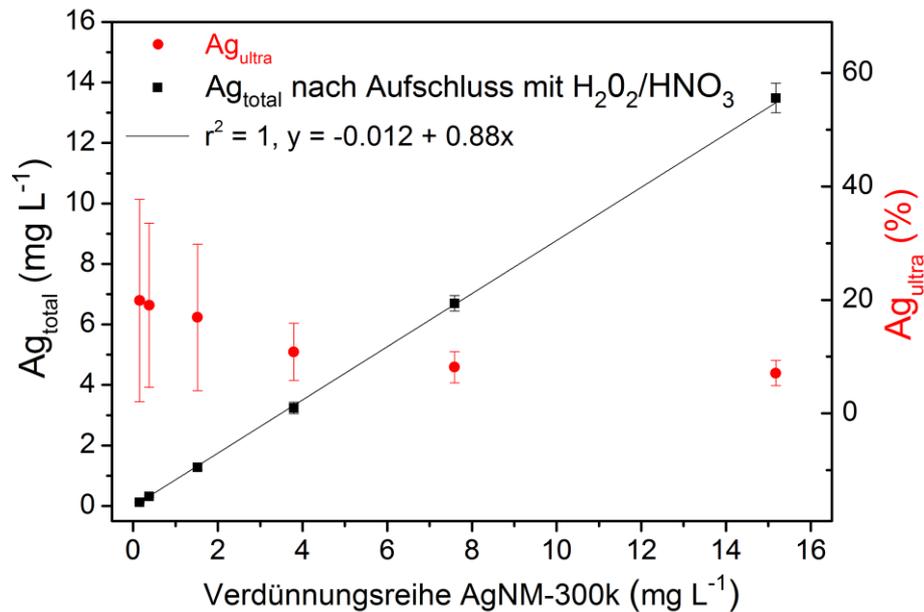


Abbildung 1: Wiederfindung an Ag_{total} und Ag_{ultra} über unterschiedliche Verdünnungsstufen von AgNM-300k nach 24 h Batchtest. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von 17 Wiederholungsmessungen für die Ag_{total} Gehalte bzw. 11 Wiederholungsmessungen für die Ag_{ultra} Gehalte.

Die geringen Verluste können über Bildung von Aggregaten erklärt werden, welche im Anschluss an den Test durch Filtration abgetrennt werden. Die Wiederfindungsraten des AgCN30 (Abbildung 2) sind ebenfalls gut reproduzierbar und im Vergleich zu AgNM-300k im Mittel etwas niedriger. Es wird eine Abnahme der Wiederfindungsraten von 86 % auf 65 % bei steigenden Zugaben beobachtet. Aufgrund der höheren Partikelanzahl bei steigenden Zugaben, nimmt die Wahrscheinlichkeit das Partikel im Batchtest aufeinandertreffen zu.

Im Vergleich zu AgNM-300k ist die kolloidale Stabilität des AgCN30 niedriger, was eine höhere „attachment efficiency (α)“¹ impliziert. Dies könnte die niedrigeren Wiederfindungsraten erklären, da mehr Aggregate größere als 0,45 μm entstehen, die anschließend durch den Filtrationsschritt abgetrennt werden.

Nach der Ultrazentrifugation von AgNM-300k wurde eine deutliche Phasentrennung aber keine Ausbildung eines Pellets beobachtet, so dass es potentiell zu einer schnelleren Rückdiffusion kommen kann. Dies und etwaige Bewegungen der Zentrifugenröhrchen nach der Zentrifugation limitieren die Methode, was sich an den hohen Standardabweichungen der Messungen ablesen lässt. Ähnliches gilt für AgCN30, wobei nach der Zentrifugation die Ausbildung eines Pellets beobachtet werden kann, weshalb

¹ Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Partikel bei Kontakt aneinander haften wird als Effizienz der Anhaftung (englisch: attachment efficiency) bezeichnet (Hotze et al., 2010).

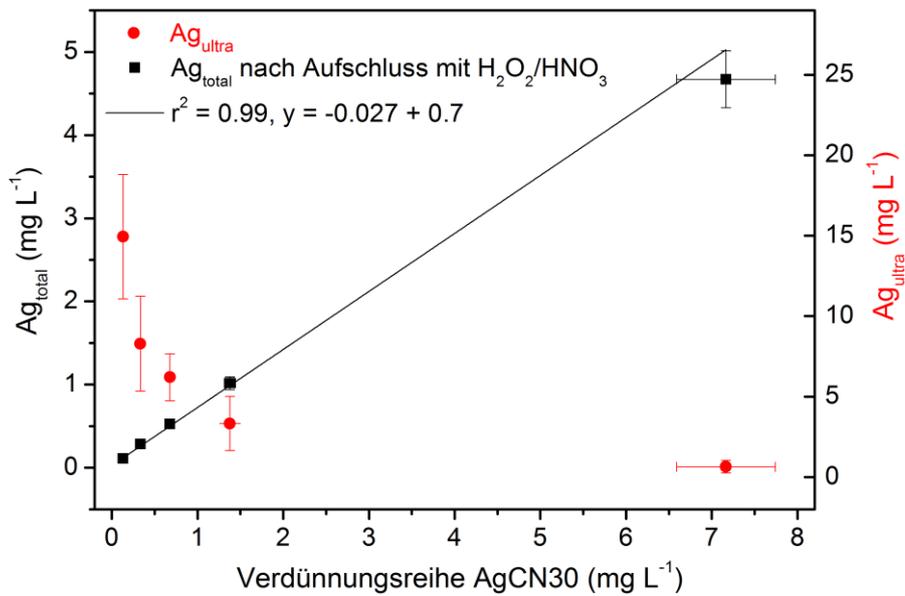


Abbildung 2: Wiederfindung an Ag_{total} und Ag_{ultra} über unterschiedliche Verdünnungsstufen von AgCN30 nach 24 h Batchtest. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von 11 Wiederholungsmessungen.

die Rückdiffusion erschwert oder verhindert wird. Der ionare Anteil erhöht sich deutlich mit zunehmender Verdünnung der Partikel. Die ansteigende Auflösung mit zunehmender Verdünnung lässt sich wahrscheinlich über leicht abnehmende pH-Werte (6 - 5,8 für AgNM-300k und 7,2 - 6,2 für AgCN30) erklären, da steigende H^+ Aktivitäten die Auflösung von Ag ENP verstärken kann (Liu und Hurt, 2010).

Der HDD liegt nach den Batchtests mit AgNM-300k bei 30 nm und lässt sich bis zu einer Verdünnung von $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ sicher bestimmen (Abbildung 3). Bei höheren Verdünnungen ist die Partikelzahl zu gering bzw. der PDI zu hoch, so dass die Reproduzierbarkeit der Messungen nicht mehr gegeben ist. Die Auswertung der Messsignale mit Hilfe der Kumulantenanalyse ist für polydisperse Systeme limitiert. Der niedrigere HDD im Vergleich zu dem in Kapitel 2.1.3.1 gefundenen Wert lässt sich folgendermaßen erklären: Zum einen können durch das Schütteln (höhere Trefferwahrscheinlichkeit) insbesondere größere Partikel aggregieren und anschließend über Filtration abgetrennt werden und zum anderen unterliegt der HDD des AgNM-300k leichten Schwankungen. Für die in den Batchtests eingesetzten OECD Vials (OECD Kontrollnummern: 6480, 6495, 6496) waren die HDD schon in den Ausgangsdispersionen deutlich kleiner als der mittlere HDD über alle eingesetzten OECD Standards ($HDD = 43 \pm 9 \text{ nm}$, Mittelwert \pm Standardabweichung). Messungen des Zetapotentials sind nicht dargestellt, weil im eingesetzten Konzentrationsbereich keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden konnten. Da das AgNM-300k sterisch stabilisiert ist, ist die Oberflächenladung von geringerer Bedeutung als für die über Ladungen stabilisierten AgCN30.

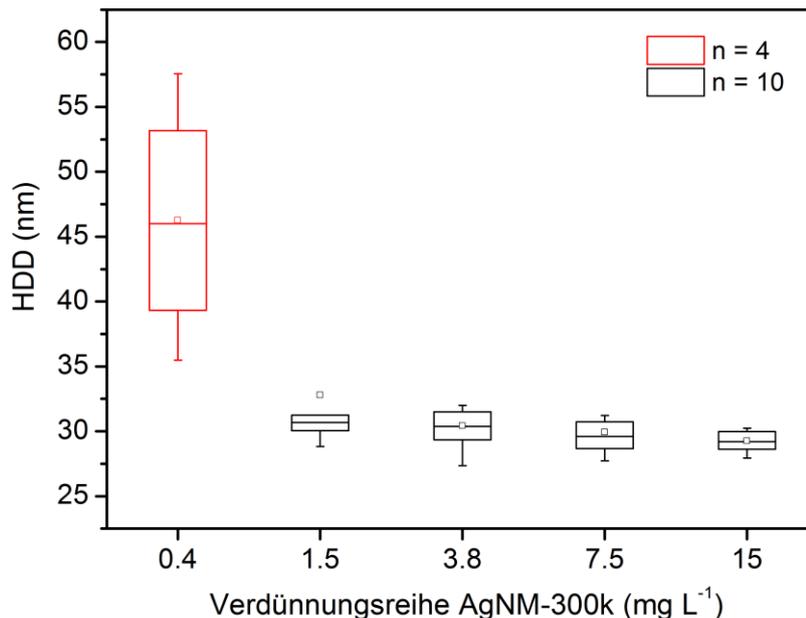


Abbildung 3: Messung des HDD nach 24 h Batchtest über eine Verdünnungsreihe von AgNM-300k.

Aufgrund des geringeren PDI lassen sich sowohl das Zetapotential als auch der HDD für AgCN30 gut ermitteln. Der HDD lässt sich bis zu einer Konzentration von $100 \mu\text{g L}^{-1}$ Ag_{total} bestimmen und die Messwerte steigen mit zunehmender Verdünnung leicht an (Abbildung 4). Das Zetapotential kann bis zu einer Konzentration von $300 \mu\text{g L}^{-1}$ Ag_{total} bestimmt werden. Mit zunehmender Verdünnung nimmt das negative Zetapotential leicht ab, mit dem positivsten Mittelwert von -40 mV kann die Dispersion nach Lin et al. (2010) als kolloidal stabil angesehen werden.

Es bleibt festzuhalten, dass trotz unvermeidbarer Verluste während der 24 h Batchtests, der größte Teil der zugegebenen Ag ENP Arten unverändert wiedergefunden werden kann. Grundsätzlich zeigen die Ergebnisse, dass sowohl AgNM-300k als auch AgCN30 vorteilhafte Eigenschaften für Untersuchungen im Labormaßstab aufweisen. So führt die geringere Polydispersität des AgCN30 zu reproduzierbaren Messergebnissen für HDD und Zetapotential. Die sterische, ladungsunabhängige Stabilisierung des AgNM-300k führt zu geringeren Wechselwirkungen der Partikel untereinander und auch zu geringeren Wechselwirkungen mit Kontaktmaterialien, was sich letztlich in höheren Wiederfindungsraten widerspiegelt. Neben den bisher diskutierten Ergebnissen ist eine wichtige Erkenntnis, dass die eingesetzten Dispersionen über einen gewissen Zeitraum stabil sind. Dennoch ist eine laufende Charakterisierung der ENP wichtig, um die Veränderungen der Dispersionen zu erkennen. Eine Farbveränderung der höher konzentrierten Dispersionen ist ein sicherer Indikator für Veränderungen, es gilt jedoch zu beachten, dass bereits vor einer farblichen Veränderung der Dispersion Prozesse wie Aggregation oder Auflösungen ablaufen und zu Veränderungen führen können.

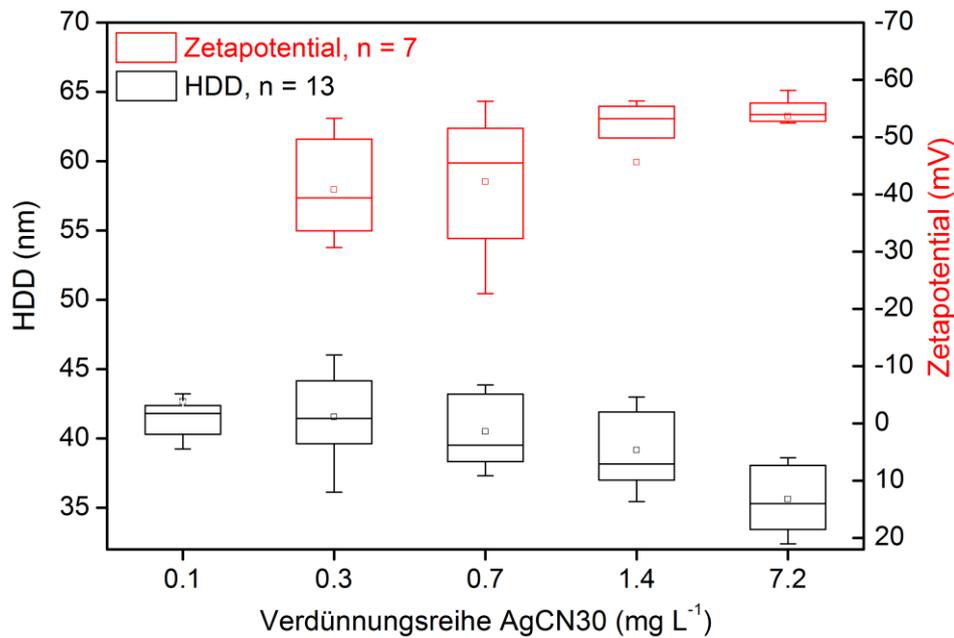


Abbildung 4: Messung des HDD und des Zetapotentials nach 24 h Batchtest über eine Verdünnungsreihe von AgCN30.

2.1.3.3 Einfluss des pH-Werts auf die kolloidale Stabilität von AgNM-300k

Die Aggregation von ENP steuert deren Verbleib und Transport in der Umwelt. Wichtige Steuergrößen der Aggregation sind natürliche Kolloide, NOM, Ionenstärke und der pH-Wert (Lin et al., 2010). Abbildung 5 zeigt den Einfluss des pH-Werts auf die Wiederfindung verschiedener Silberfraktionen nach 24 h Reaktionszeit. Grundsätzlich wird im Vergleich zur Referenz keine Zunahme der ionaren Fraktion festgestellt, eine pH induzierte Auflösung des AgNM-300k ist demnach nicht nachweisbar. Die pH-Werte steigen jedoch während der Versuche leicht an (Abbildung 6), weshalb eine Pufferung durch funktionelle Gruppen angenommen wird. Dieser Effekt führt wahrscheinlich zu einer verringerten Auflösung des AgNM-300k. Mit sinkenden pH-Werten nimmt die Wiederfindung in den partikulären Fraktionen deutlich ab, demnach muss es zur Aggregation von Nanopartikeln kommen. Die Aggregate werden durch die Filter zurückgehalten, wobei die Retention sowohl in der Fraktion größer 8 μm als auch in der Fraktion 8 bis 0,45 μm erfolgt. Da die Partikel keiner Stabilisierung durch Ladung unterliegen, was durch das Zetapotential (-8,4 mV) in der Stammlösung bestätigt wird, ist es wahrscheinlich, dass ein anderer Mechanismus die Aggregation steuert. Möglicherweise wird der Stabilisator mit sinkendem pH-Wert ganz oder zumindest teilweise von der Oberfläche der Partikel entfernt, was die Wahrscheinlichkeit der Aggregation erhöht.

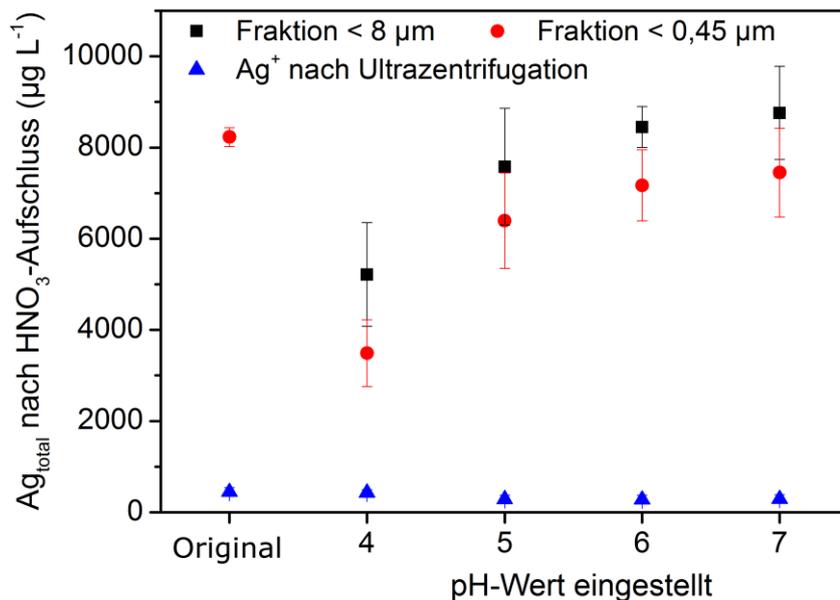


Abbildung 5: Wiederfindung verschiedener Ag Fraktionen nach 24 h Reaktionszeit im Vergleich zur Probe am Versuchsbeginn. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von vier Wiederholungsmessungen für die Proben mit eingestellten pH-Werten und drei Wiederholungsmessungen für das Original.

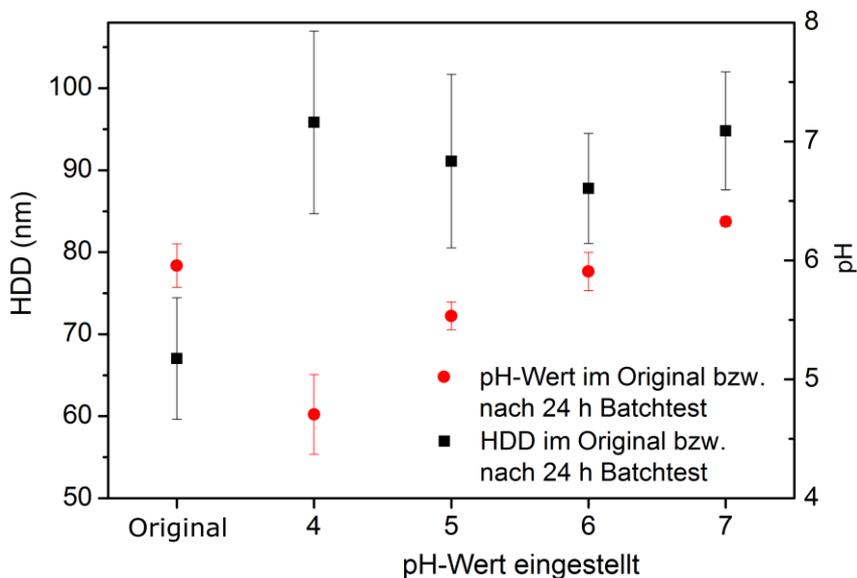


Abbildung 6: HDD und pH nach 24 h Reaktionszeit im Vergleich zur Probe am Versuchsbeginn. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von vier Wiederholungsmessungen für die Proben mit eingestellten pH-Werten und drei Wiederholungsmessungen für das Original.

In Dispersion verbleibende Ag ENP zeigen im Vergleich zur Ausgangsdispersion einen etwas erhöhten HDD. In der Stammdispersion ($Ag_{\text{total}} = 84,2 \pm 0,76 \text{ mg L}^{-1}$) ist der HDD im Vergleich zum Mittelwert über alle untersuchten OECD Standards mit 49 nm gegenüber 43 nm erhöht und nimmt mit dem Verdünnungsfaktor 10 ($Ag_{\text{total}} = 8,23 \pm 0,21 \text{ mg L}^{-1}$) auf 67 nm zu. Nach 24 h Batchversuch steigt der HDD über die verschiedenen eingestellten pH-Werte auf 88-96 nm an. Abbildung 15 (Anhang B.1) zeigt die hohe Polydispersität des AgNM-300k, weshalb die Kumulantenanalyse und damit die abgeleiteten HDD als limitiert angesehen werden müssen. Die intensitätsgewichteten Histogramme der in Dispersion verbleibenden ENP bestätigen jedoch, dass die Größenverteilung über die unterschiedlichen pH-Werte gleich bleibt. Demnach bleiben die Partikel, die nicht durch Filtration abgetrennt wurden, trotz sinkender pH-Werte unverändert. Bei Versuchen mit PVP stabilisierten Ag ENP finden Badawy et al. (2010) keinen pH Einfluss auf den HDD. Die unterschiedlichen Ergebnisse lassen sich wahrscheinlich über die variierenden Versuchszeiten erklären. Während in dieser Arbeit erst nach 24 h Reaktionszeit gemessen wurde, erfolgte die Analytik in der angegebenen Quelle direkt nach der Einstellung des pH-Werts. Eine leichte Zunahme des HDD zeigen hingegen Thio et al. (2012) für Citrat stabilisierte Ag ENP und für PVP stabilisierte ENP bei abnehmenden pH-Werten. Letztlich erscheint der Vergleich von Versuchen mit unterschiedlichen Ag ENP bzw. verschiedenen Versuchsansätzen nicht sinnvoll. Die dargestellten Ergebnisse der pH-Wert Einstellungen implizieren, dass die Messung des HDD nicht ausreicht, um auf unveränderte ENP schließen zu können. Dies erklärt sich folgendermaßen: Die intensitätsgewichteten DLS Messungen über die eingestellten pH-Werte sind vergleichbar, die nach den verschiedenen Fraktionierungsschritten wiedergefundenen Ag_{total} Gehalte nehmen jedoch mit sinkenden pH-Werten deutlich ab. Dadurch werden Fehlinterpretationen möglich, falls für die Auswertung nur die DLS Messungen herangezogen werden.

2.1.3.4 Kolloidale Stabilität von Ag ENP bei Zugabe von Kationen und OC

Die Zugabe von $10 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ bzw. $3,3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca(NO}_3)_2$ zu AgNM-300k ($Ag_{\text{total}} = 3,6 \text{ mg L}^{-1}$) führt nicht zur Veränderung des HDD oder PDI. Dies ist exemplarisch für die Zugabe von $3,3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca(NO}_3)_2$ in Abbildung 7 dargestellt. Wie bereits oben diskutiert, ist AgNM-300k nicht durch Ladungen stabilisiert, was Thio et al. (2012) auch für die ähnlichen PVP stabilisierten Ag ENP annehmen. Demnach ist nicht von der Gültigkeit der klassischen DLVO (Hotze et al., 2010) auszugehen, weshalb eine Homoaggregation (Definition ebd.) aufgrund von Kationen induzierten Ladungsschirmungen (Kompression der diffusen Doppelschicht) als unwahrscheinlich angesehen werden kann. Demzufolge entspricht die kolloidale Stabilität bei Zugabe von Kationen den theoretischen Erwartungen. Ein möglicher Mechanismus der zur Agglomeration führen könnte, wäre die Ausbildung von Brücken zwischen Ca^{2+} und den

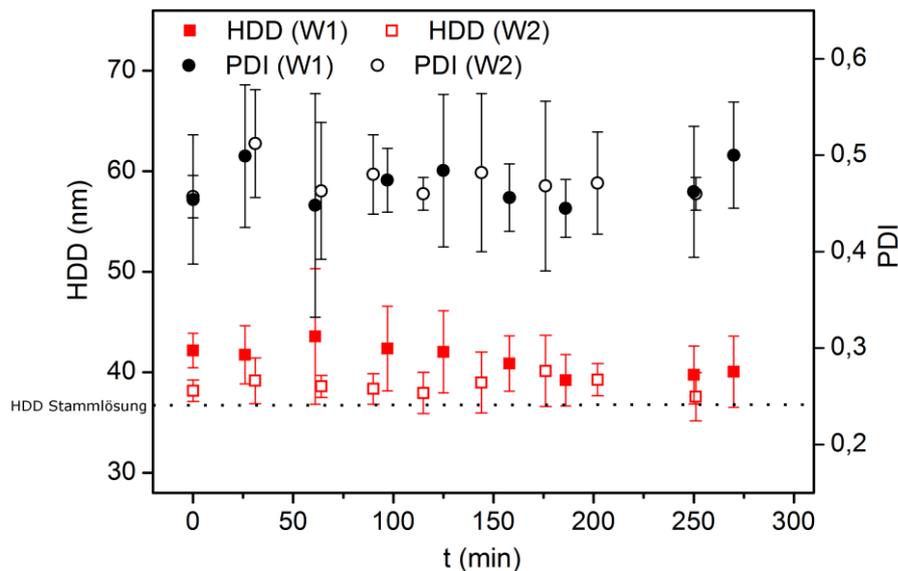


Abbildung 7: AgNM-300k ($A_{g_{total}} = 3,6 \text{ mg L}^{-1}$) bei einem pH-Wert von 5 und einer Zugabe von $3,3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2$. Der HDD bleibt konstant und unverändert im Vergleich zur Stammlösung.

funktionellen Gruppen des Stabilisators. Diese sogenannte Brückenbildung wurde bereits von Christian et al. (2008) in Kombination von ENP, Ca^{2+} und HA (englisch: Humic Acid) beschrieben. Eine Aggregation des AgNM-300k konnte bei der Zugabe von $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ($\leq 3,3 \text{ mmol L}^{-1}$) nicht beobachtet werden. Demnach ist grundsätzlich nicht mit einer verstärkten Homoaggregation von AgNM-300k in Böden zu rechnen, sofern die Ca^{2+} Konzentrationen im untersuchten Bereich liegen. Die Zugabe von NaNO_3 zu AgCN30 ($A_{g_{total}} = 3,6 \text{ mg L}^{-1}$) führt zu keiner Zunahme von HDD und PDI (Daten nicht gezeigt). Dies gilt für beide eingestellten pH-Werte (pH = 5 und pH = 7). Die einwertigen Kationen induzieren demnach keine Homoaggregation von AgCN30. Im Gegensatz dazu führt die Zugabe von $3,3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2$ zu einem direkten Farbumschlag der Dispersion (von gelb nach blau). Aufgrund niedriger Countraten sind keine DLS Messungen in der Fraktion kleiner $0,45 \mu\text{m}$ möglich. Demnach kann man von einer nahezu vollständigen Homoaggregation des AgCN30 ausgehen. Diese These wird durch eine REM-Aufnahme des $0,45 \mu\text{m}$ Filters (Celluloseacetat) unterstützt, auf der zahlreiche große Aggregate sichtbar sind (Anhang B.1, Abbildung 18). Wahrscheinlich induziert Ca^{2+} eine Ladungsabschirmung der negativen funktionellen Gruppen des Citrats, was letztlich eine Aggregation der Partikel ermöglicht (Badawy et al., 2010). Die Ergebnisse verdeutlichen, dass bei gleicher Ionenstärke der Effekt der Aggregation durch zweiwertige Kationen (Ca^{2+}) stärker induziert wird als durch einwertige Kationen (Na^+), was für Citrat stabilisierte Ag ENP bereits zuvor gezeigt wurde (u.a. Thio et al., 2012). Aufgrund dieser Ergebnisse erscheint es sinnvoll die Kritische Koagulationskonzentration (englisch: Critical Coagulation Concentration (CCC)) zu bestimmen, da Ca^{2+} das dominierende Kation in der Bodenlösung mitteleuropäischer Ackerböden ist.

Die Ca^{2+} Konzentration könnte somit eine entscheidende Steuergröße für die Retention von Citrat stabilisierten ENP sein. Titrationsversuche zeigen, dass die Dispersion auf die Zugabe unterschiedlicher Ca^{2+} Konzentrationen sehr schnell mit Farbveränderungen reagiert. Durch die Farbveränderung konnte eine beginnende Aggregation im Konzentrationsbereich von 0,6 -0,7 mmol L^{-1} (Ca^{2+}) ermittelt werden. Abbildung 8 zeigt, dass bei einer Ca^{2+} Zugabe von 0,64 mmol L^{-1} (pH-Wert eingestellt auf 5) die Aggregation des AgCN30 begonnen hat. Schon zu Versuchsbeginn sind die HDD im Vergleich zur Stammlösung erhöht und steigen über die Versuchsdauer kontinuierlich an. Zum Versuchsende sind die Gehalte von AgCN30 so niedrig, dass keine DLS Messungen möglich sind. Bei gleicher Zugabe an Kationen (Ca^{2+} Konzentration = 0,64 mmol L^{-1}) und einem pH-Wert von 7 zeigt sich keine Zunahme des HDD (Abbildung 9). Demnach ist die Dispersion kolloidal stabil, was durch die hohe Ag Wiederfindungsrate (90 %) am Versuchsende bestätigt wird. Die unterschiedlichen Ergebnisse bei gleicher Ca^{2+} Zugabe (0,64 mmol L^{-1}) verdeutlichen die Bedeutung des pH-Werts für die kolloidale Stabilität von Citrat stabilisierten Ag ENP. Die H^+ Aktivität könnte mehrere relevante Prozesse steuern:

- Auflösung der Ag ENP zu Ag^+ ,
- Veränderung der Bindung zwischen ENP und Citrat,
- Ladungsabschirmung durch Kompensation von funktionellen Gruppen.

Diese Prozesse konnten hier nicht abschließend aufgeklärt werden. Dennoch kann angenommen werden, dass der pH-Wert im Wesentlichen die Ladungskompensation an funktionellen Gruppen unterstützt. Der im Vergleich zur Ca^{2+} Konzentration geringe Unterschied der H^+ Aktivität (pH = 7 nach pH = 5) erklärt wahrscheinlich den Unterschied zwischen Aggregation und kolloidal stabiler Dispersion. Aufgrund dessen kann davon ausgegangen werden, dass die Ca^{2+} Konzentration von 0,64 mmol L^{-1} die CCC relativ genau angibt.

Die Versuche mit AgCN30 und NOM unter Ca^{2+} Zugabe von 0,64 mmol L^{-1} (pH = 6) zeigen eine erhöhte kolloidale Stabilität (Anhang B.1, Abbildung 19) im Vergleich zu Ansätzen ohne Zugabe organischer Substanz. Dies wird auch durch eine Ag_{total} Wiederfindungsrate von 100 % am Versuchsende bestätigt. Das im Vergleich zur Stammlösung deutlich positivere Zetapotential (-50,2 mV zu -19,7 mV) deutet darauf hin, dass die organische Substanz die Citrat stabilisierten Partikel sterisch stabilisiert. NOM kann einerseits durch sterische Kräfte zur Stabilisierung von ENP beitragen und andererseits durch bridging Effekte auch destabilisierend wirken (Hotze et al., 2010). Die destabilisierende Wirkung tritt im Zusammenspiel mit hohen Ca^{2+} Konzentrationen auf (Huynh und Chen, 2011). Wahrscheinlich sind die hier zugegebenen Ca^{2+} Konzentrationen zu niedrig um ein effektives „bridging“ zu induzieren, so dass die sterische Stabilisierung des AgCN30 überwiegt.

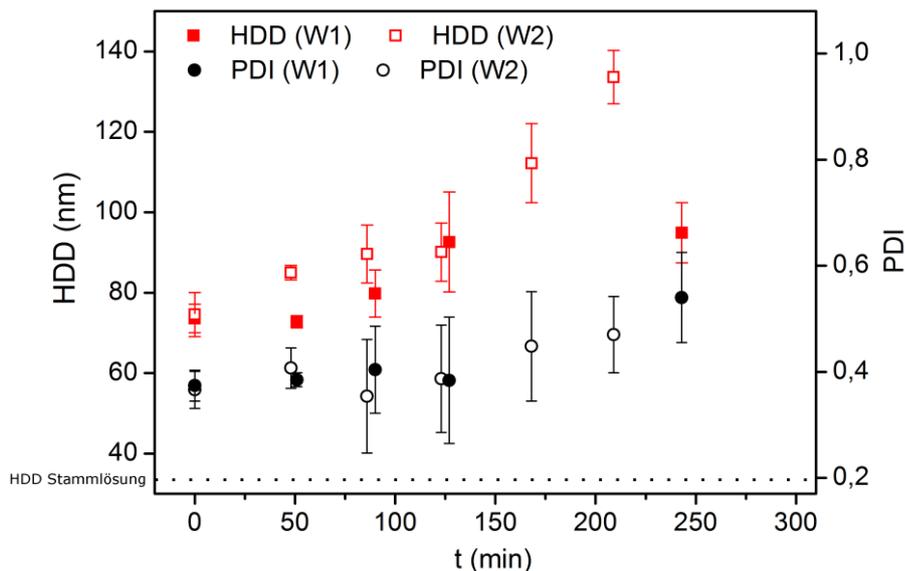


Abbildung 8: AgCN30 bei einem pH-Wert von 5, einer Ca^{2+} Zugabe von $0,64 \text{ mmol L}^{-1}$ und einer Ag Ausgangskonzentration von $3,6 \text{ mg L}^{-1}$. Der HDD ist schon bei Versuchsbeginn erhöht und nimmt während des Versuchs zu. Nach 250 min sind keine Ag ENP in der Dispersion nachweisbar.

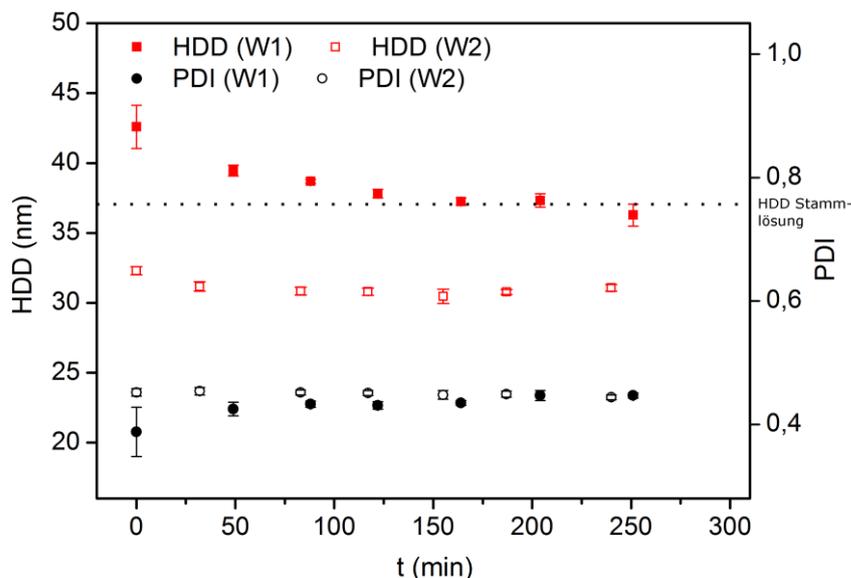


Abbildung 9: AgCN30 bei einem pH-Wert von 7, Zugabe von $0,64 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ und einer Ausgangskonzentration von $3,6 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ag}$. Der HDD bleibt konstant und unverändert im Vergleich zur Stammlösung.

Zusammenfassend können AgNM-300k und AgCN30 als kolloidal stabil bei der Zugabe von bodenrelevanten Ionenstärken (NaNO_3) mit einwertigen Kationen angesehen werden. Dies gilt auch für die Zugabe gleicher Ionenstärke ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) mit zweiwertigen Kationen zu AgNM-300k Dispersionen. Da AgNM-300k nicht durch Ladungen stabilisiert ist, entspricht das Ergebnis den Erwartungen. AgCN30 kann bei Zugabe von

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ($0,64 \text{ mmol L}^{-1}$) destabilisiert werden, es kommt zur Ausbildung von größeren Aggregaten ($> 0,45 \mu\text{m}$), was aufgrund der Art der Stabilisierung kalkulierbar war.

Tendenziell wird für das Umweltkompartiment Boden eine höhere Retention des AgCN30 im Vergleich zu AgNM-300k erwartet. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass einerseits die Retention verringert wird, wenn die Ca^{2+} Konzentrationen der Bodenlösung unterhalb der bestimmten CCC liegt und andererseits eine zusätzliche Stabilisierung durch OC (englisch: Organic Carbon) in der Bodenlösung möglich ist.

2.1.4 Zusammenfassung

Der zunehmende kommerzielle Einsatz von Ag ENP führt zu Fragen bezüglich einer Freisetzung der Partikel in die aquatische und terrestrische Umwelt. Aufgrund der besonderen physikochemischen Eigenschaften ist die umfassende Charakterisierung ein unerlässlicher Arbeitsschritt bei Untersuchungen zu Transport und Verbleib von ENP in der Umwelt. Desweiteren können Kenntnisse über Steuergrößen der kolloidalen Stabilität wichtige Informationen bereitstellen, um Transformation und Verbleib der ENP in der Umwelt vorauszusagen.

Verschiedene analytische Methoden, u. a. Dynamic Light Scattering (DLS), Rasterelektronenmikroskopie (REM) gekoppelt mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX), ICP OES (englisch: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) und ICP-MS nach Aufschluss bzw. Ultrazentrifugation kamen zum Einsatz. Mit diesen Methoden wurden sterisch stabilisierte Ag ENP (AgNM-300k) und durch negative Ladungen (Citrat) stabilisierte Ag ENP (AgCN30) untersucht.

Die Charakterisierung der eingesetzten Ag ENP ist in unterschiedlichen Testsystemen möglich, die Wiederfindungsraten sind relativ hoch und reproduzierbar. Grundsätzlich beeinflussen und verändern die verschiedenen Versuchsansätze die ENP unterschiedlich stark, dennoch bleiben die ENP als Nanopartikel nachweisbar. Einige der verwendeten Messmethoden (u. a. DLS, REM mit EDX) benötigen hohe Konzentrationen für einen sicheren Nachweis, so dass realistische Umweltkonzentrationen deutlich überschritten werden. Bei tiefen pH-Werten (≤ 4) und einer Versuchszeit von 24 h lässt sich für die sterisch stabilisierte Ag ENP eine Aggregation nachweisen. Möglicherweise verändern tiefe pH-Werte das Coating bzw. die Verbindung von Partikel und Coating. Bereits niedrige Ca^{2+} Konzentrationen ($0,6\text{-}0,7 \text{ mmol L}^{-1}$) können die mit Citrat stabilisierten Partikel vollständig destabilisieren. Dies gelingt nicht mit Na^+ gleicher Ionenstärke. NOM (englisch: Natural Organic Matter) kann zu einer erhöhten kolloidalen Stabilität von AgCN30 führen. Die sterisch stabilisierten Ag ENP bleiben auch bei hohen Ca^{2+} Konzentrationen ($3,3 \text{ mmol L}^{-1}$) kolloidal stabil.

Zusammenfassend wird festgehalten, dass die sterisch stabilisierten Ag ENP eine höhere kolloidale Stabilität aufweisen, weshalb auch eine höhere Mobilität in Umweltmedien wahrscheinlich ist.

2.2 Kolloidale Stabilität von Ag ENP in Batchtests mit Böden und Sedimenten

2.2.1 Einleitung

Aufgrund der antimikrobiellen Wirkung von Ag ENP hat deren Einsatz in den letzten Jahren stark zugenommen (Wijnhoven et al., 2009). Über das Abwasser gelangen Ag ENP aus diffusen Quellen in Kläranlagen (Benn et al., 2010). Während der Abwasserbehandlung wird ein Großteil der Ag ENP im Klärschlamm abgeschieden (Kaegi et al., 2011). Wird der Klärschlamm einer landwirtschaftlichen Verwertung zugeführt, kann es zu einem Eintrag von Ag ENP in Böden kommen (Blasar et al., 2008). Auch ein direkter Eintrag von ENP in Böden als Dünger oder Pflanzenschutzmittel ist möglich (Batley et al., 2013). Über den Transport und Verbleib von Ag ENP in Böden ist momentan wenig bekannt, da sich die Forschungen für ENP in einem frühen Stadium befinden (Pan und Xing, 2012).

Da die toxische Wirkung von Ag ENP zumindest teilweise durch die Freisetzung von Ag^+ erklärt wird (Levard et al., 2012), muss auch deren Verbleib und Transport untersucht werden. Die toxische Wirkung von Ag^+ in anoxischen Böden, Klärschlamm und Sedimenten wird als niedrig angesehen, da in diesen Medien unlösliche Silbersulfide gebildet werden (Ratte, 1999). In Böden wird die Mobilität von Spurenelementen durch Adsorptionsprozesse gesteuert und kann mit dem Freundlich Modell beschrieben werden (Altfelder et al., 2007). Die Adsorption Ag^+ wird durch die organische Bodensubstanz und den Tongehalt gesteuert (Jacobson et al., 2005).

Nach Zhang et al. (2011) ist die Aggregation von ENP eine der wichtigsten Steuergrößen für den Transport und Verbleib der Partikel in der Umwelt. Bei der Retention von ENP in Umweltmedien spielt die Heteroaggregation eine entscheidende Rolle, ein Prozess der als Aggregation von unterschiedlichen Partikeln (u. a. ENP mit Tonpartikeln) definiert wird (Hotze et al., 2010). Die Aggregation wird von verschiedenen substanzspezifischen Eigenschaften (u. a. Partikelladung, Partikelgröße, Partikelform, Art des Cappings) und von den Eigenschaften des umgebenden Mediums (u. a. pH-Wert, Ionenstärke) gesteuert (Petosa et al., 2010). Die Rolle von Huminstoffen bezüglich der Stabilität von ENP ist nicht eindeutig geklärt. Einerseits können Huminstoffe ENP zusätzlich stabilisieren (Thio et al., 2012), andererseits ist eine Brückenbildung zwischen Huminsäuren und ENP in Anwesenheit von Ca^{2+} möglich (Huynh und Chen, 2011).

Die Datenlage bezüglich der Transport- und Retentionsmechanismen für Ag ENP in Böden ist weiterhin limitiert (Cornelis et al., 2013), obwohl die Anzahl an Publikationen in den letzten Jahren zugenommen hat. Einerseits zeigen Cornelis et al. (2012), dass negativ geladene Ag ENP mit positiv geladenen Al- und Fe-Oxiden an den Kanten von Tonmineralen interagieren können, was zu einer Immobilisierung der ENP führt. Andererseits können mit Citrat stabilisierte Ag ENP eine kontinuierliche Quelle für bioverfügbares Silber in Böden darstellen (Coutris et al., 2012).

Das Ziel dieses Kapitels ist es, Abschätzungen zur Retention bzw. Mobilität von Ag^+ und Ag ENP in Böden zu treffen. Weiterhin soll versucht werden für die unterschiedlich stabilisierten Ag ENP, Steuergrößen der Retention aus den charakteristischen Bodeneigenschaften abzuleiten. Soweit bekannt, existieren bisher keine Studien zur Mobilität des hier getesteten OECD Standardmaterials (AgNM-300k) in Böden. Es wurden 25 verschiedene Proben von Ober- und Unterböden deutscher Ackerböden untersucht. Die Böden und Sedimente erhielten fünf verschiedene Angebotskonzentrationen an AgNM-300k ($0,15 - 15 \text{ mg L}^{-1}$) und Ag^+ ($0,2 - 100 \text{ mg L}^{-1}$). Wahrscheinlich werden Ag^+ durch Adsorptionsprozesse im Boden gebunden und wie andere Spurenelemente in vergleichsweise hohen Dosen adsorbiert. Im Gegensatz dazu werden für die Ag ENP unterschiedliche Retentionsmechanismen, wie Aggregation und Auflösung, angenommen. Mit Citrat stabilisierte AgCN30 können aufgrund von Ladungsabschirmung durch Gegenionen (Ca^{2+}) stärker aggregieren als das sterisch stabilisierte AgNM-300k. Demzufolge wird eine höhere Retention von AgCN30 im Vergleich zu AgNM-300k erwartet.

2.2.2 Material und Methoden

2.2.2.1 Probenahme und Analytik

Die Methoden zur Probenahme im Feld und zur Grundcharakterisierung der untersuchten Böden wurden in einer früheren Arbeit von Utermann et al. (2005) beschrieben. Die Lage der Probenahmepunkte ist in Abbildung 20 (Anhang B.2) dargestellt.

Informationen zu den verwendeten Ag ENP, zu deren Charakterisierung, zum HNO_3 Aufschluss und zu den analytischen Methoden (ICP-OES, ICP-MS, Ultrazentrifugation HDD, Zetapotential, pH-Wert, Leitfähigkeit, REM und EDX) sind dem Kapitel 2.1.2 zu entnehmen.

2.2.2.2 Batchversuche zur Retention von Ag^+ und Ag ENP

Eine etablierte Methode zur Untersuchung der Mobilität von Spurenelementen wurde für die Bestimmung der Mobilität von Ag^+ verwendet (Utermann et al., 2005). Es erfolgte eine Zugabe von 35 ml AgNO_3 Lösung (Silbernitrat, Merck, Darmstadt, Deutschland, $0,5 - 20 \text{ mg L}^{-1}$) zu einer Einwaage von 7 g des jeweiligen Bodens. Der Hintergrundelektrolyt wurde mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ eingestellt um die tatsächliche Ionenstärke der jeweili-

gen Bodenprobe zu simulieren, bezüglich weiterer Details sei auf Gäbler et al. (2009) verwiesen. Die Proben ($n = 114$) wurden für 24 h geschüttelt (10 rpm, Überkopfschüttler GFL 3040, Burgwedel, Deutschland) und anschließend für 30 min zentrifugiert (3000 g, Heraeus Cryofuge 8500i, Hanau, Deutschland) und filtriert ($0,45 \mu\text{m}$, Nylonfilter, Roth, Karlsruhe, Deutschland). Nach der Ansäuerung ($100 \mu\text{l}$ 65 % HNO_3 , Merck, Darmstadt, Deutschland) der Proben erfolgte die Messung der Ag^+ und Ca^{2+} Konzentrationen mittels ICP-OES (Ciros Vision) und ICP-MS (Agilent) (Kapitel 2.1.2.2). Direkt nach Ende des Batchtests wurden pH-Wert (SenTix 41 Elektrode 325, Weilheim, Deutschland) und Leitfähigkeit (TetraCon 325 Elektrode, Weilheim, Deutschland) in der unfiltrierten Bodenlösung gemessen.

Da die Ausbringung von Klärschlamm ausschließlich auf ackerbaulich genutzten Flächen zulässig ist, und dies einen Haupteintragspfad für Ag^+ und Ag ENP in Böden darstellt, wurde für weiterführende Untersuchungen ein Probenkollektiv ($n = 25$) verwendet, das ausschließlich Ackerböden enthält. Für die Versuche mit AgNM-300k musste die Methode angepasst werden, da verschiedene Kunststoffe (u. a. Polypropylen, Polyethylen, Polyethylenterephthalat, Polytetrafluorethylen) mit dem OECD Standard reagieren (Anhang B.2, Abbildung 21). Die Wechselwirkungen beruhen vermutlich auf Reaktionen zwischen den Kunststoffen und dem Stabilisator. Deshalb erfolgten die Versuche mit AgNM-300k in Glasflaschen. Die Versuche mit AgCN30 wurden, wie die Versuche mit Ag^+ , direkt in Zentrifugenröhrchen (50 ml Polypropylen, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) durchgeführt. Nach der Zentrifugation (wie oben) erfolgte die Filtration über $0,45 \mu\text{m}$ Filter (Whatman, Celluloseacetat), weil die ursprünglich eingesetzten Nylonfilter das AgNM-300k zurückhalten. Die Messung von pH-Wert und Leitfähigkeit erfolgte wie oben beschrieben. Die Ag_{total} Gehalte wurden nach einer geänderten Aufschlussmethode gemessen, weil die avisierte HNO_3 Methode zur Ausflockung von gelöster organischer Substanz führte. Deshalb wurde ein UV (engl. UltraViolet light) Aufschluss (Metrohm UV Digester, Herisau, Schweiz) unter Zugabe von $100 \mu\text{l}$ HNO_3 (65 %, Merck) und $200 \mu\text{l}$ H_2O_2 (30 %, Merck) zu 5 ml Probe vorgenommen und anschließend auf ein Gesamtvolumen von 10 ml mit $\text{H}_2\text{O}_{\text{dd}}$ aufgefüllt. Die Inkubationszeit im Aufschlussblock lag bei 30 min . Die Abtrennung der kolloidalen Phase aus der Probe erfolgte mittels Ultrazentrifugation zu den gleichen Bedingungen wie oben beschrieben. Mit Hilfe der ICP-MS Technik wurde im Zentrifugat der gelöste Anteil bzw. der Silberanteil in der Fraktion kleiner 3 nm bestimmt (Kapitel 2.1.2.3).

2.2.2.3 Berechnung der Adsorptions- und Retentionskoeffizienten

Die Adsorption von Ag^+ an Böden konnte am besten mit der Freundlich Gleichung beschrieben werden. Aus dem Modell abgeleitete Koeffizienten (K_F) werden in der Literatur zur Abschätzung der Mobilität bzw. der Bindungskapazität von Ag^+ in Böden verwendet (u. a. Jones et al., 1986). Dies geschieht unter der Annahme, dass sich während

des Versuchs (24 h in dieser Arbeit) ein Gleichgewicht zwischen der gelösten und der festen Phase ausbildet. Aus der in Lösung verbleibenden Ag^+ Konzentration (c_{eq}) wird auf die im Boden adsorbierte Menge (S) geschlossen. Aus den aufgetragenen Analyse-daten werden via Freundlich Gleichung ($S = K_F (c_{\text{eq}})^n$) die K_F Werte berechnet.

Für die Berechnung der Adsorptions- bzw. Retentionskoeffizienten wird angenommen, dass die natürlichen und anthropogenen Ag Konzentrationen in Böden zu vernachlässigen sind ($S_0 = 0 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Ag}_{\text{total}} \leq 0,47 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, 1:2 Extrakt, $n = 145$). Für die Ableitung der Adsorptions- bzw. Retentionskoeffizienten wurden mindestens vier Messpunkte einbezogen.

Im Gegensatz zur Adsorption von Spurenelementen kann bei Zugabe von Ag ENP nach 24 h nicht von der Einstellung eines Gleichgewichts ausgegangen werden, da dies strenggenommen nur bei vollständiger Auflösung der Ag ENP zu Ag^+ gegeben wäre. Demnach wird die Rückhaltung von Ag ENP in Böden bei Cornelis et al. (2012) als Retention im Ungleichgewicht (c_{uneq}) bezeichnet. Weil sich die Analysedaten für AgNM-300k durch eine lineare Funktion ($S = K_{r, \text{linear}} (c_{\text{uneq}})$) beschreiben lassen, wird die Retention für AgNM-300k durch einen linearen Retentionskoeffizienten ($K_{r, \text{linear}}$) beschrieben. Im Gegensatz dazu lässt sich die Retention des AgCN30 durch das Freundlich Modell ($S = K_{r, \text{Freundlich}} (c_{\text{uneq}})^n$) beschreiben, demnach werden entsprechende Retentionskoeffizienten ($K_{r, \text{Freundlich}}$) abgeleitet.

2.2.3 Ergebnisse und Diskussion

2.2.3.1 Adsorption von Ag^+ in Acker- und Waldböden

Die Adsorptionskoeffizienten nach Freundlich (K_F) für Ag^+ sind differenziert nach Nutzungsart und untergliedert nach Ober- bzw. Unterboden für 114 Bodenproben (Anhang B.2, Abbildung 22) dargestellt. In die Berechnung wurden mindestens vier Messpunkte einbezogen. Die Mindestanforderungen an das Bestimmtheitsmaß des Fittings nach Freundlich lag bei $r^2 \geq 0,99$. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass Oberböden ein höheres Potential zur Adsorption von Ag^+ zeigen als Unterböden. Dies deutet auf eine steuernde Funktion der organischen Substanz des Bodens hin, was bereits von Jacobson et al. (2005) für kleinere Probenzahlen gezeigt wurde. Desweiteren sind die K_F Werte im Vergleich zwischen Ober- und Unterböden auf Waldstandorten deutlich niedriger als auf den Acker- bzw. Grünlandstandorten, was auf einen Einfluss des pH-Werts und der Bodenart hindeutet.

Die ausgewählten 25 Proben ackerbaulich genutzter Standorte zeigen eine hohe Variabilität in den grundlegenden Bodeneigenschaften (Anhang B.2, Tabelle 5). Durch multiple Regression wurden OC, Tongehalt und pH-Wert als Steuergrößen der Adsorptionskoeffizienten ($r^2_{\text{multiple}} = 0,96$, Anhang B.2, Tabelle 6) identifiziert. Die Berechnun-

gen erfolgten im logarithmierten Zahlenraum und explizieren, dass mit zunehmenden Werten der ermittelten Steuergrößen auch die K_F Werte steigen. Diese Konstanten stehen nach Jones et al. (1986) in direkter Beziehung zur Bindungskapazität, weshalb Böden mit hohen OC Gehalten, pH-Werten und Tongehalten eine hohe Retentionskapazität gegenüber Ag^+ aufweisen. Der OC Gehalt ist der Kontrollfaktor der den stärksten Einfluss auf die Adsorption aufweist.

2.2.3.2 Retention von AgNM-300k in Ackerböden

Die Retention des AgNM-300k wird am besten mit linearen Retentionskoeffizienten ($K_{r, \text{linear}}$) beschrieben (Kapitel 2.2.2.3). Abbildung 10 zeigt exemplarisch für einen Oberboden (Gley-Podsols) mit niedrigem $K_{r, \text{linear}}$ die lineare Anpassung an die Analysedaten. Es wird deutlich, dass für den dargestellten Gley-Podsol die Adsorption von Ag^+ wesentlich höher ist als für die Retention des AgNM-300k. Aufgrund der unterschiedlichen Funktionen die für die Ableitung der Retentionskoeffizienten verwendet wurden, ist ein direkter Vergleich der Koeffizienten nicht zulässig. Dennoch spiegeln die verschiedenen Dimensionen der Koeffizienten die Unterschiede der Retentionskapazitäten wieder.

Bei den mit AgNM-300k getesteten Böden bilden sich zwei Gruppen aus, die sich signifikant durch ihre Retentionskoeffizienten unterscheiden (Abbildung 11). Gruppe 1 zeigt niedrige Retentionskoeffizienten (Mittelwert $K_{r, \text{linear}} = 3,7 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 19$). Diese niedrigen Werte implizieren eine relative hohe kolloidale Stabilität der Partikel. Bei den hohen Zugaben ($\text{Ag}_{\text{total}} = 11,7 \text{ mg L}^{-1}$ nach Versuch) lassen sich Nanopartikel am Versuchsende nachweisen. Die REM Aufnahme mit dem zugehörigen EDX Spektrum (Anhang B.2, Abbildung 23 a und 23 c) belegt eindeutig, dass sich Ag ENP in der Bodenlösung befinden. Dies bestätigen die intensitätsgewichteten DLS Messungen (Anhang B.2, Abbildung 23 b und 23 d) derselben Bodenlösung mit und ohne Zugabe von AgNM-300k. In der Probe mit AgNM-300k sind im Größenbereich von 10-100 nm ENP sichtbar, während in der Referenz ohne Zugabe von AgNM-300k keine Partikel kleiner 80 nm nachweisbar sind.

Für die Böden der Gruppe 1 zeigt sich nach 24 h eine hohe kolloidale Stabilität der ENP. Im Vergleich zu Ag^+ wird eine wesentlich höhere Mobilität des AgNM-300k in Böden erwartet. Unterschiede in den Adsorptions- und Retentionskoeffizienten zwischen Ag^+ und Ag ENP wurden bereits von Cornelis et al. (2010) aufgezeigt. Im Gegensatz zu Ag^+ wird die Retention des AgNM-300k nicht eindeutig durch Bodenkenngrößen, die die Mobilität von zahlreichen Spurenelementen steuern, bestimmt. Zunehmende Tongehalte zeigen einen schwachen statistischen Zusammenhang mit steigender Retention in den Gruppe 1 Böden ($r^2 = 0,4$, $n = 19$). Cornelis et al. (2012) finden höhere Retentionskoeffizienten für 16 australische Böden, wobei die untersuchten Böden durch wesentlich höhere Tongehalte gekennzeichnet sind als die Gruppe 1 Böden (Anhang

B.2 Tabelle 7). In der Literatur werden Tonpartikel häufig als potentielle Kollektoren für Nanopartikel benannt (u. a. Lin et al., 2010, Hotze et al., 2010, Cornelis et al., 2012, Cornelis et al., 2013). Möglicherweise verhindert bzw. verringert die sterische Stabilisierung des AgNM-300k die Effizienz der Anhaftung an Tonminerale. Ähnliche Effekte wurden für die Deposition von PVP stabilisierten Ag ENP auf Silica Oberflächen beobachtet (Thio et al., 2012).

Gruppe 2 Böden sind gekennzeichnet durch Tongehalte $> 20 \%$ und zeigen hohe Retentionskoeffizienten ($K_{r, linear} = 139 - 2391 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 6$). Diese Gruppe enthält drei Unterböden mit niedrigen pH-Werten und drei Oberböden mit hohen Ca^{2+} Konzentrationen (max. $\text{Ca}^{2+} = 52,7 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$) in der Bodenlösung nach den Batchversuchen. In Kapitel 2.1.3.4 wurde gezeigt, dass bei Zugabe von $132 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ keine Destabilisierung des AgNM-300k erfolgt. Die Bedingungen in den einfachen Testsystemen ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, AgNM-300) sind natürlich kaum mit den Bedingungen in den komplexen, individuellen Bodenlösungen zu vergleichen. Davon ausgehend, dass die hohen Ca^{2+} Konzentrationen nicht zur Homoaggregation führen, sind andere retentionssteuernde Effekte denkbar. Einerseits könnte Ca^{2+} Brücken zwischen dem organischen Stabilisator und der organischen Bodensubstanz ausbilden und dadurch die Deposition erzeugen. Ähnliche Effekte konnten von Huynh und Chen (2011) für die Zugabe von Huminsäuren und Ca^{2+} zu PVP stabilisierten Ag ENP gezeigt werden. Andererseits könnte das Ca^{2+} auch an potentiellen Kollektoren (Tonmineralen) die Ladungen abschirmen und somit die Heteroaggregation mit AgNM-300k erleichtern, da eine reduzierte Energiebarriere nach Kretzschmar et al. (1999) die Effektivität der Anhaftung erhöht. Im Gegensatz dazu stehen die Unterböden der Gruppe 2, da diese Böden wenig Ca^{2+} enthalten, müssen hier andere Mechanismen die hohe Retention des AgNM-300k steuern. Die DLS Messungen der Bodenlösungen weisen selbst bei den höchsten Zugaben keine Partikel $< 100 \text{ nm}$ auf. Möglicherweise haben die sauren Bedingungen in den Böden die Auflösung der Ag ENP zu Ag^+ beschleunigt, wie bereits bei Liu und Hurt (2010) beschrieben. Dennoch ist nicht davon auszugehen, dass es innerhalb von 24 h zu einer kompletten Auflösung der Partikel gekommen ist. Demnach müssen weitere Effekte die Retention erklären. Nach Kaiser und Guggenberger (2003) sind Minerale in Unterböden weniger mit organischer Substanz bedeckt, was die sterische Stabilisierung der Minerale untereinander und auch die Stabilisierung gegenüber AgNM-300k reduzieren könnte. Dieser potentiell größte Effekt könnte die Retention folgendermaßen erklären: Durch die tiefen pH-Werte wird der Stabilisator verändert oder gar von der Partikeloberfläche abgelöst, so dass sowohl Homoaggregation als auch Heteroaggregation erleichtert werden. Letztlich könnte die Summe der benannten Effekte die hohe Retention in den drei Unterböden erklären.

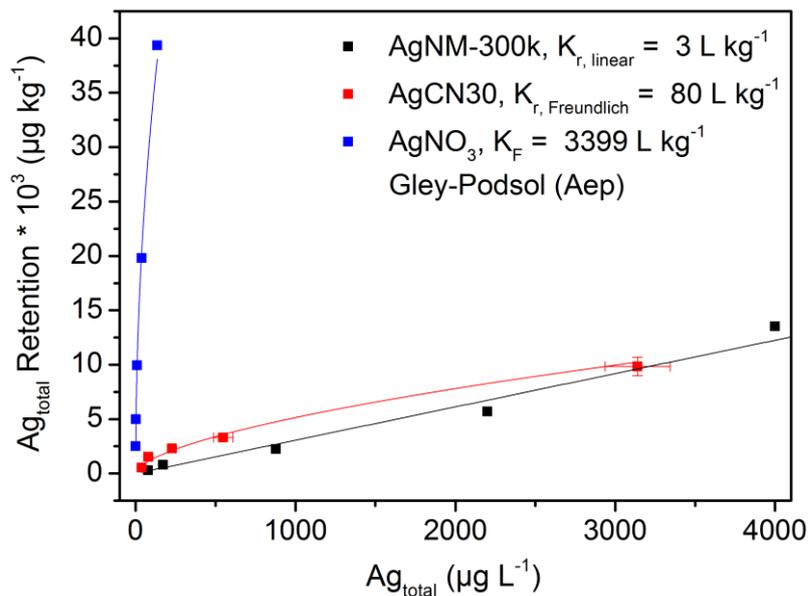


Abbildung 10: Exemplarische Darstellung der Retention von AgNM-300k, AgCN30 und der Adsorption von Ag^+ nach 24 h Batchversuch für den Ah-Horizont eines Podsols. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung von drei Replikaten für AgCN30.

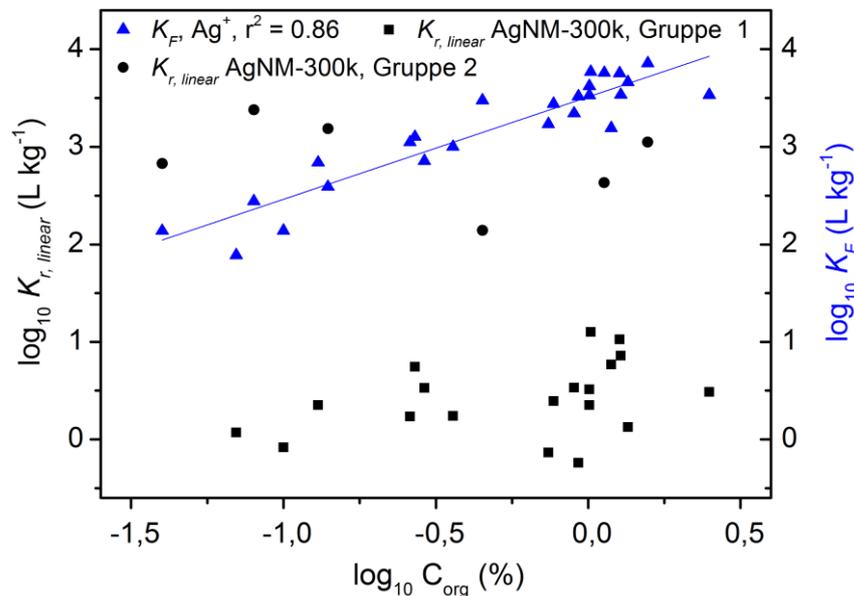


Abbildung 11: Darstellung der Retention von AgNM-300k und der Adsorption von Ag^+ nach 24 h Batchversuch für 25 Ackerböden. Gruppe 1 zeigt Böden mit niedrigen Retentionskoeffizienten für AgNM-300k ($n = 19$), Gruppe 2 zeigt Böden mit hohen Retentionskoeffizienten für AgNM-300k ($n = 6$).

2.2.3.3 Retention von AgCN30 in Ackerböden

Die Messergebnisse von AgCN30 lassen sich mit der Freundlich Gleichung beschreiben, was zur Ableitung entsprechender Koeffizienten ($K_r, \text{Freundlich}$) führt. Abbildung 10 verdeutlicht, dass für den dargestellten Gley-Podsol die Adsorption von Ag^+ wesentlich höher ist als die Retention von AgCN30. Aufgrund der unterschiedlichen Mechanismen, die für die Retention vermutet werden, ist ein direkter Vergleich der Koeffizienten nicht zulässig. Die Dimensionen der Koeffizienten spiegeln jedoch die Unterschiede der Retentionskapazitäten wieder. Sechs der acht untersuchten Böden zeigen geringe Retentionskoeffizienten (Mittelwert $K_r, \text{Freundlich} = 44 \pm 29 \text{ L kg}^{-1}$) während zwei Böden hohe Koeffizienten ($K_r, \text{Freundlich} = 525$ und 1164 L kg^{-1}) aufweisen (Anhang B2, Tabelle 8). Nach den Batchtests sind, mit Ausnahme von Probe NS52/7, die Gehalte an Ag_{total} in der Bodenlösung bei Zugabe von Ag^+ wesentlich niedriger als bei Zugabe von AgCN30. Dies impliziert eine höhere Retentionskapazität für Ag^+ im Vergleich zu AgCN30. Statistische Aussagen hinsichtlich retentionssteuernder Bodencharakteristika sind aufgrund der geringen Anzahl an Proben kaum möglich. Tendenziell zeigt Abbildung 12, dass mit steigendem Tongehalt auch die Retention des AgCN30 zunimmt. Einzig in Probe HS9/1 (53 mg L^{-1}) wird die in Kapitel 2.1 ermittelte kritische Koagulationskonzentration ($\text{Ca}^{2+} = 26 \text{ mg L}^{-1}$ bei $\text{Ag}_{\text{total}} = 3,6 \text{ mg L}^{-1}$) überschritten, was mit hoher Wahrscheinlichkeit den hohen Retentionskoeffizienten aufgrund von Aggregation erklärt.

2.2.3.4 Gegenüberstellung der Ergebnisse für AgNM-300k und AgCN30

Für AgNM-300k zeigen die Retentionskoeffizienten entweder niedrige oder hohe Werte (Kapitel 2.2.3.2), was einerseits auf retentionsschwache (Gruppe 1) und andererseits retentionsstarke Böden (Gruppe 2) hindeutet. Bei den Tests mit AgCN30 ergeben sich die gleichen Einteilungen für die jeweiligen Böden, dies könnte bedeuten, dass die Retention der untersuchten Ag ENP stärker durch die Bodencharakteristika gesteuert wird als durch die individuellen Eigenschaften der Ag ENP. Die Verifikation dieser Aussage ist aufgrund der ungeklärten Retentionsmechanismen nicht möglich. Insgesamt liegt die Retention des AgCN30 bei den relevanten niedrigen Zugaben ($0,15 - 3,8 \text{ mg L}^{-1}$) über der Retention des AgNM-300k, was exemplarisch in Abbildung 10 dargestellt ist und von der Tendenz auch für die anderen retentionsschwachen Böden gilt. Von allen bestimmten Bodencharakteristika zeigt einzig der Tongehalt einen schwachen positiven Zusammenhang mit den Retentionskoeffizienten (Abbildung 12). Dieser Zusammenhang konnte früher bereits für Ag ENP und CeO_2 ENP von Cornelis et al. (2010), Cornelis et al. (2011) und Cornelis et al. (2012) gezeigt werden. Auch Tourinho et al. (2012) heben die Bedeutung von Wechselwirkungen zwischen ENP und der Bodenfestphase für den Verbleib der Partikel im Boden hervor. Im Gegensatz dazu sehen Pan und Xing (2012) das System Boden als zu komplex an, so dass eine Eigenschaft den

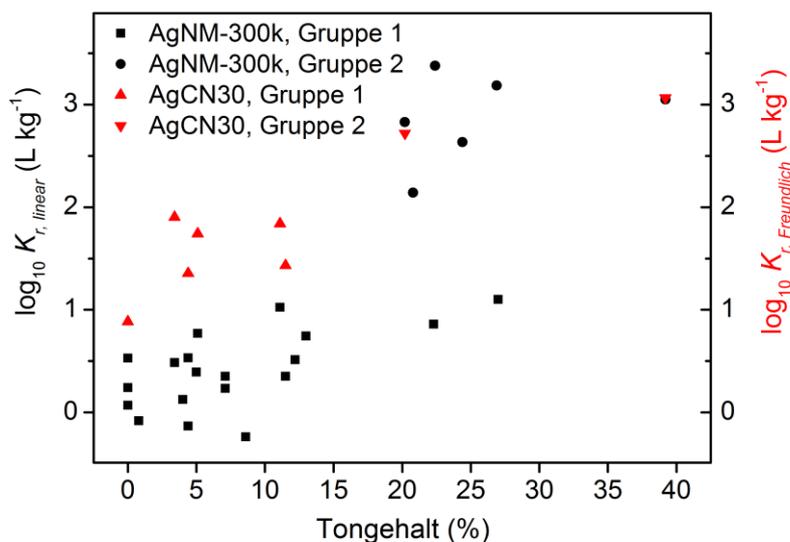


Abbildung 12: Darstellung der Retention von AgNM-300k und AgCN30 nach 24 h Batchversuch. Ein direkter Vergleich der Retentionskoeffizienten ist aufgrund der unterschiedlichen Ableitungen nicht zulässig.

Transport und die Deposition von ENP nicht erklären kann. Die unterschiedlichen Oberflächenladungen der untersuchten ENP führten zur Annahme, dass verschiedene Retentionsmechanismen die kolloidale Stabilität steuern. So kommen ladungsbedingte Wechselwirkungen für das nahezu ungeladene und sterisch stabilisierte AgNM-300k kaum in Frage. Badawy et al. (2010) vermuten für sterisch stabilisierte Ag ENP das größte Potential zur Mobilität und Verlagerung in der Umwelt. In den Bodenlösungen der Gruppe 1 verhindert wahrscheinlich die sterische Stabilisierung des AgNM-300k die Homo- und Heteroaggregation für einen Großteil der Partikel, so dass für diese Böden ein Potential zur Mobilität des AgNM-300k vorhanden ist.

Ein eindeutiger Retentionsmechanismus für die Gruppe 1 Böden und AgCN30 konnte nicht ermittelt werden. Da sich die Daten gut an das klassische Freundlich Modell anpassen lassen, könnte eine ladungsbedingte Wechselwirkung zwischen den negativ geladenen ENP und positiv geladenen Oxidoberflächen die Retention steuern. Cornelis et al. (2012) vermuten eine schnelle Heteroaggregation zwischen negativ geladenen PVP stabilisierten Ag ENP und positiv geladenen Al und Fe Oxiden. Für AgCN30 existiert keine Korrelation zwischen Retentionskoeffizienten und den Sesquioxidgehalten der Böden. Möglicherweise wird der Zugang zu den positiv geladenen Gruppen durch elektrosterische Abschirmung von negativ geladener organischer Substanz verhindert.

Ein wesentlicher Unterschied der untersuchten Ag ENP besteht in den verschiedenen Wechselwirkungen mit Ca^{2+} . Das sterisch stabilisierte AgNM-300k blieb in vereinfachten Systemen ($\text{AgNM-300k} + \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + \text{HNO}_3$ zur Einstellung des pH-Werts) bei bodenrelevanten Ca^{2+} Konzentrationen bis zu 132 mg L^{-1} unverändert. Im Gegensatz

dazu führten schon geringere Konzentrationen an Ca^{2+} ($\approx 26 \text{ mg L}^{-1}$) in denselben Systemen zur Aggregation von AgCN30. Diese kritische Koagulationskonzentration wurde jedoch nur in einem Boden (HS9/1) überschritten, wobei diese Probe auch den höchsten Retentionskoeffizienten ($K_r, \text{Freundlich} = 1164 \text{ L kg}^{-1}$) aufweist.

In allen Böden mit Tongehalten über 20 % (Ausnahmen HS41/1 und NS5/2) ist die Retention von AgCN30 und AgNM-300k hoch. Demzufolge sollte die Heteroaggregation der ENP mit Tonmineralen (besser: Bodenkolloiden) eine wichtige Steuergröße der Deposition in Böden darstellen. Die retentionstarken Böden weisen zusätzlich zu den hohen Tongehalten entweder hohe pH-Werte oder niedrige pH-Werte auf. Niedrige pH-Werte könnten eine Veränderung der Stabilisatoren induzieren. Für AgNM-300k kommt eine Veränderung der Struktur oder gar die partielle Entfernung von der Partikeloberfläche in Frage, was letztlich die Homo- und Heteroaggregation begünstigt. Bei AgCN30 führen tiefere pH-Werte zur Verringerung der negativen Oberflächenladung (Zetapotential) aufgrund von Protonierung funktioneller Gruppen. Letztlich kann dies Aggregationsprozesse fördern. Der mögliche Effekt der Koagulation für AgCN30 bei hohen pH-Werten, die in den untersuchten Böden mit hohen Ca^{2+} Konzentrationen einhergehen, wurde bereits oben diskutiert.

Der genaue Mechanismus der die Retention von AgNM-300k steuert bleibt unklar. Da die Böden hohe Tongehalte und Ca^{2+} Konzentrationen aufweisen, könnte die Kompression der diffusen Doppelschicht an potentiellen Kollektoren (Tonmineralen) die Heteroaggregation mit den Ag ENP begünstigen. Außerdem könnte Ca^{2+} auch die organische Bodensubstanz und AgNM-300k verbinden und über die Ausbildung von größeren Agglomeraten letztlich zur Deposition führen.

2.2.3.5 Auswirkungen auf Transport und Verbleib der Ag ENP in Böden

Aufgrund der Einflüsse von Stabilisator, Größe und Form der Ag ENP auf den Transport der Partikel in der Umwelt sei darauf verwiesen, dass die im Folgenden dargelegten möglichen Konsequenzen für Transport und Verbleib der Ag ENP in Böden nur für die getesteten ENP gelten. Während in tonreichen Böden ($n = 6$) beide Ag ENP stark zurückgehalten werden, bleiben die Partikel in einer Vielzahl der Böden ($n = 19$) zumindest in Teilen kolloidal stabil (Abbildung 12). In diesen Böden besteht das Potential zur Verlagerung der Partikel von der ungesättigten Zone hin zum Grundwasser, was auch bei anderen Autoren diskutiert wurde (Thio et al., 2012, Lowry et al., 2012, Cumberland und Lead, 2009). So zeigen Lowry et al. (2012) in aufwendigen Versuchen unter Freilandbedingungen, dass Ag ENP zum Teil (70 %) in Böden zurückgehalten werden und zum Teil auch nach 18 Monaten bioverfügbar waren. Dennoch können veränderte Umweltbedingungen (u. a. pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit, Redoxpotential, Gehalt und Art der organischen Substanz, Bodenart) während des Transports zu einer weiteren Aggregation der Ag ENP führen.

2.2.3.6 Retention von AgNM-300k in Sedimenten

Die Retention des AgNM-300k in Sedimenten lässt sich, analog zur Retention in Böden, mit Hilfe eines linearen Zusammenhangs beschreiben. Von den untersuchten Sedimentproben zeigen drei niedrige Retentionskoeffizienten ($K_{r, linear} = 3-10 \text{ L kg}^{-1}$), während die anderen drei Proben hohe Retentionskoeffizienten ($K_{r, linear} = 49-156 \text{ L kg}^{-1}$) aufweisen. DLS Messungen zeigen, dass in Proben mit niedrigen Retentionskoeffizienten Nanopartikel nachweisbar sind, während in Proben mit hohen Retentionskoeffizienten keine Nanopartikel nachweisbar sind (Anhang B.2, Abbildung 24). Die Anzahl der Proben ist für eine abgesicherte statistische Auswertung zu klein, demnach sind die folgenden Überlegungen über Retentionsmechanismen rein hypothetischer Art. Tabelle 9 (Anhang B.2) zeigt grundlegende Eigenschaften der Sedimente. Tendenziell gehen höhere Retentionskoeffizienten auch mit höheren pH-Werten einher. Dies deutet auf erhöhte Ca^{2+} Gehalte hin, die zu einer Retention durch Ca^{2+} Brückenbildung zwischen ENP und organischer Substanz führen könnten. Abbildung 25 (Anhang B.2) impliziert einen positiven Zusammenhang zwischen Retention und organischem Schwefelgehalt. Letztlich könnten Wechselwirkungen zwischen den Ag ENP und S Gruppen von organischen Makromolekülen die Deposition steuern. Es sei darauf verwiesen, dass die hier verwendeten Gewässersedimente nach der Probenahme getrocknet wurden, so dass die Ergebnisse lediglich als Grundlage für weitere Versuche angesehen werden müssen, da unter natürlichen Bedingungen in den Gewässersedimenten andere Redoxpotentiale vorliegen. Details über mögliche mobilitätsrelevante Konsequenzen der Sulfidierung von Ag ENP in unterschiedlichen Medien werden umfangreich bei Kaegi et al. (2013), Lowry et al. (2012) und Levard et al. (2012) diskutiert.

2.2.4 Zusammenfassung

Die steigende Verwendung von Ag ENP in diversen Konsumprodukten führt auch zur Frage nach deren Verbleib und Mobilität in Umweltmedien. Die landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm ist ein möglicher Eintragspfad für ENP in Böden. In dieser Studie wird die Mobilität von Silberionen in deutschen Acker- und Waldböden ($n = 114$) und die Mobilität von OECD Standard Silbernanopartikeln (AgNM-300k, sterische Stabilisierung) in 25 Proben von deutschen Ackerböden untersucht. Die Untersuchungen erfolgten mittels Batchtests bei einer Versuchsdauer von 24 h. Es wurden verschiedene Gehalte an Ag^+ und Ag ENP zu den Bodenproben zugegeben. Die Ackerböden repräsentieren ein breites Spektrum an Bodentypen mit einer hohen Variation der Bodeneigenschaften ($\text{OC} = 0,04-2,5 \%$, Tongehalte $\leq 0,01-39 \%$). Eine Auswahl der Böden wurde zusätzlich mit unterschiedlich stabilisierten Ag ENP (AgCN30, Stabilisierung durch negative Ladungen) untersucht. Außerdem erfolgten Batchversuche mit sechs Gewässersedimenten und AgNM-300k.

Die Bodenlösungen wurden mit DLS und REM untersucht, die Bestimmung der Ag_{total} Gehalte erfolgte nach Aufschlüssen bzw. Ultrazentrifugation mittels ICP-OES (Ciros Vision) oder ICP-MS (Agilent).

Die Retention von Ag^+ lässt sich mit dem klassischen Freundlich Modell beschreiben, wobei die berechneten Koeffizienten eine relativ breite Verteilung über alle Oberböden zeigen (Spannweite $K_F = 277 - 12136 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 70$) und auf eine hohe Adsorptionskapazität schließen lassen. Die Retention in den Ackerböden steigt mit zunehmenden OC Gehalten, Tongehalten und pH-Werten ($r^2_{multiple} = 0,96$, $n = 25$). Im Gegensatz dazu folgt die Retention des AgNM-300k einem linearen Modell, wobei die meisten Böden eine geringe Retention gegenüber den Ag ENP (Mittelwert $K_{r, linear} = 3,7 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 19$, Gruppe 1) zeigen. Die Retention des AgNM-300k ist schwach mit dem Tongehalt korreliert ($r^2 = 0,4$, $n = 19$, Gruppe 1). Sechs Böden zeigen einen starken Rückhalt von AgNM-300k und wurden der Gruppe 2 zugeordnet (Mittelwert $K_{r, linear} = 1048 \text{ L kg}^{-1}$, $n = 6$, Gruppe 2). Diese Proben weisen entweder vergleichsweise tiefe ($< 5,1$) oder hohe ($> 7,0$) pH-Werte sowie hohe Tongehalte ($> 20 \%$) auf. Die Retention des AgCN30 liegt im Vergleich zum AgNM-300k innerhalb der gleichen Größenordnungen, wobei die AgCN30 Rückhaltung für die meisten Böden etwas höher ist. Trotz unterschiedlicher Stabilisierungsmechanismen ist die Gruppierung in Böden mit hohen bzw. niedrigen Retentionskoeffizienten für die unterschiedlichen Ag ENP identisch. Von den untersuchten Gewässersedimenten zeigen jeweils drei eine hohe und drei eine niedrige Retention gegenüber AgNM-300k.

Für die Mehrzahl der untersuchten Böden zeigt das sterisch stabilisierte AgNM-300k ein Potential zur Mobilität. Böden mit hohen Tongehalten besonders in Kombination mit tiefen pH-Werten oder hohen Ca^{2+} Konzentrationen unterstützen die Homo- und Heteroaggregation der ENP. Diese Prozesse können zu einer Akkumulation größerer Aggregate (Ag ENP - Ag ENP und Ag ENP - Bodenkolloid) in der Bodenmatrix führen.

2.3 Elution von Ag ENP aus Böden

2.3.1 Einleitung

Der Eintrag von Nanopartikeln in die belebte Umwelt wird zunehmen, wenn die Industrie weitere Einsatzmöglichkeiten findet (Lowry et al. 2010). Über Klärschlammapplikation gelangen die Partikel in Böden (Blasar et al., 2008). Auch ein direkter Eintrag als Dünger oder Pflanzenschutzmittel ist möglich (Batley et al., 2013). Demnach müssen Verbleib und Transport von ENP in Böden untersucht werden (Cumberland and Lead, 2009). Das Wissen zum Transport von Ag ENP in natürlichen Böden ist momentan limitiert (Cornelis et al., 2013), obwohl die Zahl der verfügbaren Publikationen stetig zunimmt. Hierbei liegt der Fokus aktueller Untersuchungen häufig auf der Perkolation

von Säulen die mit Glasperlen und Quarzsand gepackt sind (Petosa et al., 2010). So zeigen Tian et al. (2010) bei der gesättigten Perkolation von Ag ENP über Sandsäulen hohe Wiederfindungsraten von 85 %. Die Retention von Ag ENP, in Säulen mit Sanden verschiedener Korngrößen, steigt mit der Ionenstärke und sinkender Partikelgröße (Liang et al., 2013). Aufgrund von bodenchemisch gesteuerten Retentionsmechanismen für Ag ENP wird die Bedeutung von Tests mit natürlichen Böden zunehmend hervorgehoben (Sagee et al., 2012). So nimmt die Mobilität von Ag ENP ab, wenn der Anteil an kleinen Bodenaggregaten zunimmt, wobei insgesamt ein hohes Potential zur Mobilität besteht (ebd.). Bei Säulenversuchen mit 11 verschiedenen Böden und PVP stabilisierten Ag ENP zeigen alle Böden ein hohes Potential zur Retention (Cornelis et al., 2013). Die gegensätzlichen Ergebnisse können möglicherweise durch die unterschiedlichen Stabilisatoren (Citrat vs. PVP) der Ag ENP erklärt werden, da diese die Wechselwirkungen zwischen ENP und Bodenkolloiden entscheidend beeinflussen könnten.

Eine weitere Methode zur Abschätzung der Mobilität von potentiell grundwassergefährdenden Stoffen in Böden ist die Analyse von Batchextrakten. So zeigen Batchversuche, dass mit steigendem Tongehalt auch die Retention von Ag ENP in Böden zunimmt, wobei die abgeleiteten Retentionskoeffizienten (Cornelis et al., 2010, Cornelis et al., 2012) die in dieser Arbeit (Kapitel 2.2.) bestimmten Retentionskoeffizienten überschreiten. Dies könnte auf geringere Tongehalte der hier getesteten mitteleuropäischen Böden zurückzuführen sein.

Letztlich existieren wenige Studien zur Remobilisierung von Ag ENP aus natürlichen Böden. Coutris et al. (2011) konnten zeigen, dass Ag ENP eine konstante Quelle für bioverfügbares Ag in Böden darstellen können. Soweit bekannt, existieren bisher keine Daten zur Remobilisierung von AgNM-300k aus natürlichen Böden, die durch die Perkolation von Bodensäulen gewonnen wurden. Hier werden zwei Ackerböden mit dem OECD Standardmaterial AgNM-300k beladen und inkubiert. Die Elution der gestörten Bodensäulen erfolgt nach drei und 92 Tagen Lagerung in Anlehnung an DIN 19528. Aus Batchversuchen wurde in Kapitel 2.2. eine hohe kolloidale Stabilität von Ag ENP in sandigen Böden abgeleitet. Die Literatur zeigt, dass die Perkolation von ENP in sandigen Medien zu hohen Wiederfindungsraten führt (Tian et al., 2010). Demnach wird für die sandige Braunerde (Refesol 01A) eine hohe Freisetzung an Ag_{total} prognostiziert. Gegenteilig wird für die schluffige Parabraunerde (Holtensen) eine geringe Freisetzung vorausgesagt, da in der Literatur (u. a. Cornelis et al., 2013) häufig auf abnehmende Mobilität mit zunehmendem Anteil an Tonmineralen bzw. kleinen Bodenaggregaten verwiesen wird.

2.3.2 Material und Methoden

2.3.2.1 Auswahl, Beladung und Inkubation der Böden

Die Auswahl der verwendeten Böden erfolgte nach deren Bodencharakteristika und ihrer Relevanz für den Pfad Boden Klärschlamm (Oberböden von Ackerstandorten). In Kapitel 2.2 wurden Böden (Gruppe 1) abgeleitet, in denen ein Potential zur Mobilität für Ag ENP besteht. Dieses Potential steigt mit abnehmenden Tongehalten, falls diese unter 20 % liegen. Demnach wurde ein schluffiger Boden (Holtensen, Tongehalt = 16 %) und ein sandiger Boden (Refesol 01A, Tongehalt = 5 %) ausgewählt. Der Refesol 01A wurde zu dem von anderen Projektpartnern für toxikologische Tests verwendet, weshalb die mögliche Freisetzung von AgNM-300k aus diesem Boden von besonderem Interesse ist.

Das AgNM-300k wurde auf die lufttrockenen Böden (4 kg) aufgesprüht. Die Einstellung des Wassergehalts (55 % der maximalen Wasserhaltekapazität) erfolgte für beide Böden über die Zugabe von AgNM-300k (0,5 L, $A_{g_{total}} = 43 \text{ mg L}^{-1}$ (Refesol), $A_{g_{total}} = 44,7 \text{ mg L}^{-1}$ (Holtensen)), zum Holtensen Boden wurden aufgrund der höheren Wasserhaltekapazität zusätzlich H_2O_{dd} zugegeben. Bei den Referenzproben erfolgte die Einstellung des Wassergehalts mittels H_2O_{dd} . Die Böden wurden mechanisch durchmischt und für 95 Tage (dunkel, 20 °C) inkubiert. Über die gesamte Dauer der Inkubation erfolgte eine wöchentliche Einstellung des Wassergehalts. Nach drei bzw. 92 Tagen Inkubation wurde eine Teilprobe in Säulen gefüllt und perkoliert. Vor und nach der Elution erfolgte die Probenahme aus den Säulen, hierbei wurden jeweils drei Stichproben für die Bodenanalytik (Wassergehalt, pH-Wert, Leitfähigkeit, OC, KWA) entnommen.

2.3.2.2 Versuchsaufbau bei der Perkolation

Die Elution der mit AgNM-300k beladenen Böden erfolgte in Anlehnung an DIN 19528. Vorversuche zeigten Verluste bei Ag^+ Wiederfindung, so dass die vorgeschlagenen Materialien Sand und Glaswolle durch Glaskugeln (Siedeperlen, Merck) ersetzt wurden (Anhang B3, Abbildung 26). Zur Kontrolle wurden die unbeladenen Referenzböden und das Säulensystem nur mit Glaskugeln, jeweils in dreifacher Wiederholung getestet. Die Perkolation der beladenen Böden erfolgte ebenfalls im Dreifachansatz mit künstlich hergestelltem Regenwasser (Siemens et al., 2008) oder mit DOC Lösung (Kapitel 2.3.2.3). Die Einwaage der Böden erfolgte direkt vor der beginnenden Aufsättigung der Böden. Hierbei wurde der jeweilige Boden auf die Stüttschicht aus Glaskugeln eingebracht und mit einem Stempel verdichtet. Anschließend erfolgte die Zugabe von Glaskugeln, die als obere Stüttschicht dienten. Aus der eingewogenen Masse und dem zugehörigen Volumen konnte das Porenvolumen berechnet werden. Die Perkolation wurde unter Einhaltung einer Kontaktzeit von 5 h ($\pm 0,5h$) pro Porenvolumen durchgeführt. Es erfolgten vier Probenahmen jeweils nach dem Austausch eines Massenäqui-

valents an Perkolationslösung bezogen auf die eingewogene Bodenmasse, so dass kumulierte Wasser zu Feststoff Verhältnisse von 1, 2, 3 und 4 L kg⁻¹ eluiert wurden.

2.3.2.3 Herstellung der DOC Lösung

Für die Herstellung der DOC Perkolationslösung wurde die organische Auflage eines Waldbodens (Buche als Hauptbestand) verwendet. Die gemörserte Probe wurde mit H₂O_{dd} versetzt und anschließend für 24 h geschüttelt (10 rpm, GFL 3040). Die Abtrennung partikulärer Bestandteile erfolgte durch Filtration (Whatman, Cellulosacetat, 0,45 µm). Das gewonnene Konzentrat wurde auf eine Zielkonzentration von 50 mg L⁻¹ verdünnt. Die Charakteristika (pH-Werte, Leitfähigkeiten und DOC Gehalte) der Elutionslösungen sind in Tabelle 10 (Anhang B.3) dargestellt. Kontrollmessungen via TOC Analysator (High TOC II, Elementar) zeigten, dass während der Versuche ein abbaubedingter Verlust von DOC (max. 30 %) in der DOC Lösung auftritt.

2.3.2.4 Analytik von Böden und Perkolaten

Die Charakterisierung der Böden und des AgNM-300k erfolgte wie in den Kapiteln 2.1.2 und 2.2.2 beschrieben. Gleiches gilt für die Ableitung der Retentionskoeffizienten für die Braunerde (Refesol 01A) und die Parabraunerde (Holtensen). Zur Bestimmung der Ag und Ca Gehalte wurden die Böden mit Königswasser (DIN 38414-7) aufgeschlossen und anschließend am ICP-MS (Agilent) bzw. ICP-OES (Ciros Vision) gemessen.

In den Perkolationslösungen aus den Säulenversuchen wurden nach Zentrifugation (Hereaeus Cryofuge 8500i, 30 min bei 3000 g) pH-Werte, Leitfähigkeiten und DOC Gehalte bestimmt. Nach Filtration (Whatman, Cellulosacetat, 0,45 µm) erfolgte ein Totalaufschluss mittels HNO₃ Methode und anschließender Analytik (Kapitel 2.1.2.2). Die Fraktion < 0,45 µm wurde ultrazentrifugiert und anschließend mittels ICP-MS (Agilent) analysiert (Kapitel 2.1.2.3).

2.3.3 Ergebnisse und Diskussion

2.3.3.1 Charakterisierung und Retentionskoeffizienten

Die Grundcharakteristika der Böden und die zugehörigen Retentionskoeffizienten gegenüber AgNM-300k sind in Tabelle 3 dargestellt. Beide Oberböden weisen hinsichtlich ihres Ausgangsgesteins eine für Mitteleuropa typische Bodengenese auf. Die Retention für Ag⁺ wird, ob der in Kapitel 2.2 ermittelten Steuergrößen (OC, Ton, pH), für beide Böden als hoch eingeschätzt. Wahrscheinlich liegt der Adsorptionskoeffizient der Holtensen Probe aufgrund des hohen pH-Werts und Tongehalts deutlich höher als die der Refesol Probe. Die Batchretention beider Böden ist in Abbildung 27 (Anhang B.3) dargestellt, der abgeleitete Retentionskoeffizient ist für die Holtensen Probe um Faktor

Tabelle 3: Charakterisierung der für Säulenversuche ausgewählten Böden und deren Retentionskoeffizienten gegenüber AgNM-300k

Charakteristik	Holtensen Mittelwert	Holtensen Stabw. ¹	Refesol 01A Mittelwert	Refesol 01A Stabw.
C _{org} (%)	1,17	0,01	0,94	0,01
Leitfähigkeit ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	199	3	105	8
pH (H ₂ O _{dd})	7,30	0,04	5,46	0
KWA ² Ag Ge- halt (mg kg ⁻¹)	0,04	0,01	0,1	0,02
KWA Ca Ge- halt (mg kg ⁻¹)	2643	75	699	17
KAK ³ (mmol _c kg ⁻¹)	130	n. b. ⁴	28,5	0,3
Ton (%)	16	n. b.	5 ⁵	n. b.
Schluff (%)	82	n. b.	24 ⁵	n. b.
Sand (%)	2	n. b.	71 ⁵	n. b.
K _{r, linear} (L kg ⁻¹)	8,4 ⁶	n. b.	0,9 ⁶	n. b.

¹Standardabweichung, ²Königswasseraufschluss nach DIN 38414-7, ³Kationaustauschkapazität, ⁴nicht bestimmt (n < 3), ⁵Analyse Fraunhofer Institut IME, ⁶r² > 0,97, n = 5, p < 0,01.

10 höher als für die Refesol Probe. Dies lässt sich nach den Ergebnissen aus Kapitel 2.2 auf die höheren Tongehalte und pH-Werte zurückführen. Dementsprechend wird für den Holtensen Boden eine niedrigere Ag Freisetzung aus den Säulen erwartet als für den Refesol Boden.

2.3.3.2 Ag_{total} Wiederfindung in Böden vor und nach der Elution

Aus den Zugaben an AgNM-300k ergeben sich für die Refesol Probe eine Sollbeladung von 5,4 mg kg⁻¹ und für die Holtensen Probe von 5,6 mg kg⁻¹. Die tatsächlich gemessenen Ag_{total} Gehalte der Böden zeigen eine vollständige Wiederfindung der Zugaben zu Beginn der Elutionen (Tabelle 4). Die geringsten Wiederfindungsraten werden (87 ± 6,5 %) während der Elution (Regenwasser) des Refesols nach drei Tagen Inkubation festgestellt. Da die Wiederfindungsraten mit der Inkubationszeit zunehmen (96 ± 4,9 %), könnte durch Alterung eine zunehmende Stabilisierung der Ag ENP induziert werden. Die Wiederfindungsraten im Holtensen Boden betragen nach drei Tagen Inkubation 98,5 ± 4,9 für die DOC Variante und 99,3 ± 5,7 für die Variante mit Regenwasser.

Tabelle 4: Wiederfindung des AgNM-300k nach KWA in den Böden vor und nach der Elution mit Regenwasser bzw. DOC Lösung nach drei Tagen bzw. 92 Tagen

Probe	Elution, 3 d			Elution, 92 d		
	Start (mg kg ⁻¹)	Ende (mg kg ⁻¹)	Wf ¹ (%)	Start (mg kg ⁻¹)	Ende (mg kg ⁻¹)	Wf (%)
Refesol AgNM-300k EM ³ DOC ⁴	5,33 (0,22) ²	5,01 (0,57)	94 (12,2)	5,58 (0,17)	5,48 (0,14)	98 (3,4)
Refesol AgNM-300k EM RW ⁵	5,56 (0,15)	4,84 (0,33)	87 (6,5)	5,58 (0,20)	5,36 (0,21)	96 (4,8)
Refesol EM RW	0,08 (0,02)	n. b. ⁶	n.b.	0,10 (0,04)	n. b.	n.b.
Holtensen AgNM-300k EM DOC	5,75 (0,17)	5,65 (0,17)	98,5 (4,9)	6,05 (0,05)	6,11 (0,08)	101 (1,4)
Holtensen AgNM-300k EM RW	5,75 (0,13)	5,70 (0,28)	99,3 (5,7)	6,04 (0,03)	6,02 (0,06)	99,5 (1,1)
Holtensen EM RW	0,04 (0,01)	n. b.	n.b.	0,08 (0,01)	n. b.	n.b.

¹Wiederfindungsrate bezogen auf Unterschiede zu Elutionsbeginn und Elutionsende, ²Standardabweichung aus drei Wiederholungen pro Säule und drei Ansätzen (n = 9), ³Elutionsmittel, ⁴DOC eluiert aus Buchenstreu, ⁵Regenwasser, ⁶nicht bestimmt.

Demnach ist die Retention in der schluffigen Parabraunerde erwartungsgemäß höher als in der sandigen Braunerde. Dies hatten auch die $K_{r, linear}$ Werte aus den Batchversuchen impliziert. Eine detaillierte Diskussion zu diesen Ergebnissen wird gemeinsam mit den Ergebnissen der Säulenversuche vorgenommen (Kapitel 2.3.3.3).

2.3.3.3 Freisetzung von Ag_{total} aus gestörten Bodensäulen

Die Messungen der Referenzen (Böden ohne Zugabe von AgNM-300k bzw. Säulensystem ohne Böden) sind im Folgenden nicht dargestellt, da die gemessenen Werte unterhalb von 1 µg L⁻¹ liegen. Grundsätzlich sind die Unterschiede in der Freisetzung über die unterschiedlichen Elutionsmittel marginal, obwohl die Tendenzen zu einer etwas geringeren Freisetzung bei der Elution mit DOC Lösung zu erkennen sind (Abbildung 13). Auch für die Ag_{ultra} Anteile (Anhang B.3, Abbildung 28), pH-Werte (Anhang B.3, Abbildung 29) und Leitfähigkeiten (Anhang B.3, Abbildung 30) zeigen die verschiedenen Elutionsmittel nur geringfügige Unterschiede für den jeweiligen Messwert.

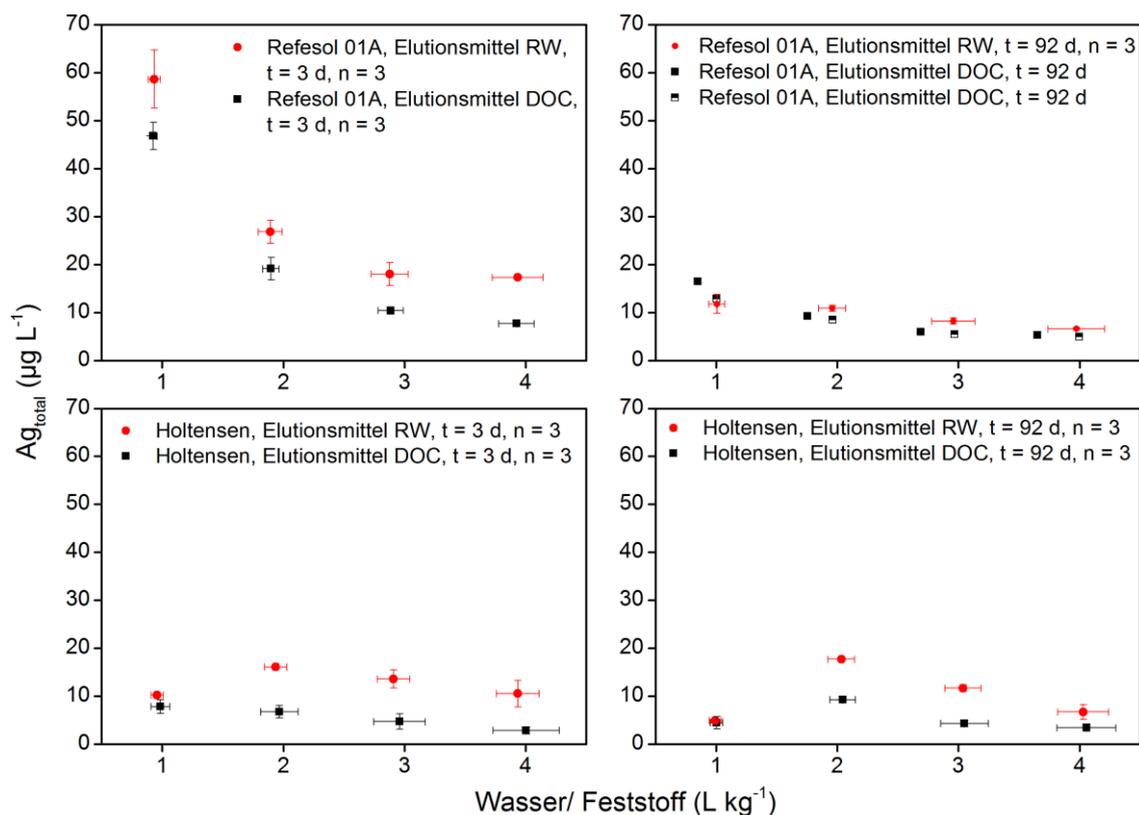


Abbildung 13: Freisetzung von Ag_{total} dargestellt über das kumulierte Wasser zu Feststoff Verhältnis verschiedener Böden (Refesol, $Ag_{total} = 1,41$ mg pro Säule und Holtensen, $Ag_{total} = 1,13$ mg pro Säule) nach drei und 92 Tagen.

Die in den Eluaten gefundenen Ag_{total} Gehalte bestätigen die Ergebnisse aus den KWA Analysen der Böden vor bzw. nach der Elution. Demzufolge wird ein Großteil der zugegebenen Partikel von den Böden immobilisiert. Versuche mit Böden und Ag ENP als Perkolationslösung führten ebenfalls zu einer hohen Retention und einem geringen Potential der Verlagerung hin zum Grundwasser (Cornelis et al., 2013). Andererseits zeigen Sagee et al. (2012) in vergleichbaren Versuchen, dass für Ag ENP ein hohes Potential zur Mobilität besteht.

Der höhere Rückhalt des Holtensen Bodens im Vergleich zum Refesol Boden konnte durch den höheren Retentionskoeffizienten vorhergesagt werden. Auch Bodencharakteristika wie hohe Tongehalte und hohe Ca Gehalte deuten auf ein hohes Retentionsvermögen hin. Der höhere Anteil an Ton- und Schluffpartikeln stellt mehr potentielle Aggregationspartner zur Verfügung, ein Zusammenhang der mehrfach für ENP gefunden wurde (Batley et al., 2013, Cornelis et al. 2012, Cornelis et al., 2010). Die hohen Ca Gehalte unterstützen die Aggregation wahrscheinlich zusätzlich durch Ladungskompensation und Brückenbildungen. Die leicht erhöhte Freisetzung an Ag_{total} beim zweiten Elutionsschritt (Wasser/ Feststoff = $2 L kg^{-1}$), die sowohl nach drei Tagen als auch nach 92 Tagen der Inkubation auftritt, könnte folgendermaßen erklärt werden: Vorausgesetzt,

dass die Retention der Ag ENP über Heteroaggregation mit Tonmineralen abläuft, könnte durch die stark abfallende elektrische Leitfähigkeit ($\approx IS$) die Dispergierbarkeit der Bodenkolloide zunehmen und somit der kolloidale Austrag aus der Säule erhöht werden.

Die höchste Freisetzung zeigt erwartungsgemäß der sandige Refesol nach drei Tagen Inkubation, was bereits die Retentionskoeffizienten der Batchversuche impliziert haben. Nach der langfristigen Inkubation nimmt die Freisetzung deutlich ab, wahrscheinlich kommt es zu einer Alterung des AgNM-300k. Dies könnte auf eine weitere Heteroaggregation mit nichtmobilen Bodenpartikeln, zunehmende Auflösung oder auf eine verstärkte Diffusion in Aggregate hindeuten. Die Braunerde (Refesol) zeigt im Vergleich zu den in Kapitel 2.2 untersuchten Böden ($n = 25$) einen der niedrigsten Retentionskoeffizienten. Dennoch wird ein Großteil des zugegebenen AgNM-300k im Boden zurückgehalten und nur ein geringer Anteil freigesetzt (max. Freisetzung 1 % des zugegebenen Ag_{total} , Elution bei $W/F = 1 \text{ L kg}^{-1}$). Andere Autoren leiten aus Säulenversuchen mit Ag ENP eine hohe Mobilität der Partikel in Böden ab, die zu einer Verlagerung ins Grundwasser führen kann (Sagee et al., 2012). Andererseits diskutieren Handy et al. (2012), dass natürliche Böden als Filter für Nanopartikel während des Transports durch die Bodenmatrix wirken können. Vielleicht können die unterschiedlichen Forschungsergebnisse durch die Komplexität der Retention von ENP in Böden erklärt werden. So subsumieren Lin et al. (2010), dass die Filtration von Partikeln durch Kollektoren von chemisch kolloidalen Interaktionen der Partikel mit Oberflächen bestimmt werden, die ihrerseits von der Zusammensetzung der Lösung (pH, Ionenstärke, OC) und den Eigenschaften der Partikel reguliert werden.

Die bestimmten Ag_{ultra} Anteile sind in ihrer Aussagekraft limitiert, da die chemische Zusammensetzung der Perkolate über die unterschiedlichen Böden, die einzelnen Elutionsschritte und die Inkubationsdauer stark variieren. Dadurch sind die Bedingungen für die Auflösung von Ag ENP ungleich. Demnach lässt sich aus den Messungen lediglich ableiten, dass der größte Anteil des freigesetzten Ag (70 % in der Fraktion $< 0,45 \mu\text{m}$) partikulär vorliegt. Inwieweit es sich um Ag ENP oder um an Kolloide assoziierte Ag ENP handelt, konnte aufgrund der niedrigen Ag_{total} Gehalte ($< 58 \mu\text{g L}^{-1}$), weder mittels DLS noch mittels REM gezeigt werden. Besonders in niedrigen Konzentrationsbereichen ($< 100 \mu\text{g L}^{-1}$) sind weitere methodische Arbeiten nötig, damit eine umfassende Risikoabschätzung vorgenommen werden kann. Gleiches gilt für Säulenversuche mit ENP, da die Transporteigenschaften von Partikeln in porösen Medien (Größenbereich von 30-1000 nm) momentan nicht abschließend geklärt sind (Lin et al., 2010). Die hier eingesetzten Säulenversuche wurden im gesättigten Fluss an gestörten Böden vorgenommen, weshalb wichtige transportsteuernde Effekte („first flush“, präferenzzieller Fluss, Flussunterbrechungen, Austrocknung und Befeuchtung) nicht berücksichtigt wurden.

2.3.4 Zusammenfassung

Die Remobilisierung von Ag ENP aus Böden ist bisher kaum untersucht. Deshalb wurden zwei Böden, die unterschiedliche Retentionskoeffizienten für Ag ENP aufweisen (Batchversuche Kapitel 2.2), mit AgNM-300k beladen und anschließend zu verschiedenen Zeitpunkten ($t = 3$ d und $t = 92$ d) eluiert. Die Analytik erfolgte nach Aufschlüssen (Königswasseraufschluss (KWA) für Böden, HNO_3 für Perkolate) bzw. Ultrazentrifugation mittels ICP-OES (Ciros Vision) und ICP-MS (Agilent) zur Bestimmung der Ag_{total} Gehalte. Darüber hinaus wurden bodenrelevante Summenparameter wie pH-Wert, DOC Gehalt, Leitfähigkeit und OC Gehalt bestimmt.

Aus Batchtests abgeleitete Retentionskoeffizienten deuten auf eine höhere Mobilität der sandigen Braunerde gegenüber der schluffigen Parabraunerde hin. Dies wird durch die höhere Ag_{total} Freisetzung aus der Braunerde bestätigt. Insgesamt ist die Freisetzung aus den gestörten Bodensäulen jedoch für beiden Böden relativ niedrig (max. 1 % des zugegebenen Ag_{total} (Elution bei $W/F = 1 \text{ L kg}^{-1}$), so dass insbesondere der niedrige Retentionskoeffizient für den Refesol ($K_{r, \text{linear}} = 0,9 \text{ L kg}^{-1}$) wahrscheinlich zur Überschätzung der Ag ENP Mobilität führt. Da die Ag Freisetzung der Braunerde über die Inkubationszeit abnimmt, könnten Alterungsprozesse die ENP zusätzlich im Boden stabilisieren. Die Speziierung der Eluate zeigt, dass der Großteil des freigesetzten Ag in partikulärer Form vorliegt. Inwieweit es sich um Ag ENP oder an Bodenkolloide assoziiertes Ag handelt war aufgrund der niedrigen Freisetzungen (max. $58 \mu\text{g L}^{-1}$) nicht differenzierbar.

Die Ergebnisse implizieren, dass beim Eintrag von Ag ENP in Böden eine langfristige Immobilisierung möglich ist. Dies geht mit einer Anreicherung der Ag ENP im Boden einher, die aber wahrscheinlich durch Aggregation an Reaktivität verloren haben. Versuche im aufwärtsgerichteten Fluss mit gestörten Bodensäulen sind limitiert, weil Effekte durch Austrocknung und Wiederbefeuchtung, präferenzielle Fließwege und der sogenannte „first flush“ Effekt unberücksichtigt bleiben. Deshalb besteht weiterer Forschungsbedarf für Säulenversuche mit ungestörten Bodensäulen unter realistischen Flussbedingungen. Gleiches gilt für die Entwicklung von eindeutigen Nachweismethoden zur Unterscheidung zwischen Ag ENP und an Partikel assoziierte Ag ENP in der kolloidalen Fraktion der Bodenlösung.

2.4 Schlussfolgerungen

Im Folgenden werden die wesentlichen Ergebnisse zusammengefasst und die resultierenden Implikationen für Transport und Verbleib von Ag ENP im Boden diskutiert. Abschließend erfolgt ein Ausblick auf zukünftige Untersuchungen.

Beide untersuchten Ag ENP lassen sich über die verschiedenen Versuchsansätze reproduzierbar wiederfinden. Das ladungsstabilisierte AgCN30 ist im Vergleich zum sterisch stabilisierten AgNM-300k monodisperser, was zu niedrigeren Bestimmungsgrenzen für DLS Messungen führt. Dennoch gilt für verschiedene Messmethoden (DLS, REM), dass Bestimmungsgrenzen die vorhergesagten Umweltkonzentrationen um ein Vielfaches überschreiten. Für Transportversuche erscheint AgNM-300k besser geeignet, da bei bodenrelevanten Ca^{2+} Gehalten die CCC nicht überschritten wird, wie dies zum Teil bei AgCN30 der Fall ist.

Auch wenn momentan noch nicht abschließend geklärt, vermuten zahlreiche Autoren, dass die toxische Wirkung von Ag ENP im Wesentlichen durch freigesetzte Ag^+ bestimmt wird. Insbesondere für Oberböden konnten sehr hohe Adsorptionskoeffizienten für Ag^+ ermittelt werden, was eine starke Retention impliziert. Hingegen zeigen 19 von 25 Böden (Gruppe 1) eine hohe kolloidale Stabilität für AgNM-300k in Batchversuchen. Dies zeigt ein Potential zur Mobilität, wobei die Retention mit zunehmenden Tongehalten ansteigt. Es zeigt sich der Zusammenhang, der in der aktuellen Literatur mehrfach gefunden wurde und der möglicherweise die sehr hohe Retention in sechs Böden (Gruppe 2, Ton > 20 %) erklären kann. Für diese Böden wird eine Anreicherung des AgNM-300k vorhergesagt. Eindeutige Aussagen zu einer möglichen Remobilisierung (u. a. Aufnahme durch Pflanzen) können hier nicht getroffen werden. Sollte die Heteroaggregation mit Tonmineralen der retentionssteuernde Prozess sein, kann von einer verminderten Reaktivität und einem verminderten Potential zur Remobilisierung ausgegangen werden. Dies gilt auch für die Versuche mit AgCN30, weil Böden mit hoher bzw. niedriger Retention gegenüber AgNM-300k dies auch für AgCN30 zeigen. Demnach könnte die Physikochemie der Bodenlösung die Retention der Ag ENP stärker steuern als deren Stabilisator.

Säulenversuche mit zwei AgNM-300k beladenen Böden zeigen, dass die Ag Freisetzung für eine sandige Braunerde höher ist als für eine schluffige Parabraunerde. Dies bestätigt tendenziell die Batchversuche (Retentionskoeffizienten), wobei die Batchversuche die Mobilität des AgNM-300k in Relation zu den Säulenversuchen überschätzen. Die Ag_{total} Freisetzung aus den Säulen ist auf einem niedrigen Niveau. Die Braunerde zeigt eine erhöhte Ag_{total} Freisetzung zu Beginn der Inkubation, diese hat sich nach 92 Tagen deutlich verringert, so dass von einer Alterung der Partikel ausgegangen werden kann. Aufgrund der sehr niedrigen Ag Freisetzungen (max. $58 \mu\text{g L}^{-1}$) konnte keine weitere Differenzierung der kolloidalen Fraktion ($< 0,45 \mu\text{m}$) vorgenommen werden. Demzufolge bleibt unklar, ob das ausgetragene Ag als Nanopartikel oder assoziiert an Bodenkolloide vorliegt.

Der Überblick über Ergebnisse aus dieser Arbeit und deren Implikation für Transport und Verbleib der Ag ENP in Böden verdeutlicht, dass zukünftige Untersuchungen vor zahlreichen Herausforderungen und offenen Fragen stehen. Wichtig ist die Aufklärung

des Retentionsmechanismus von ENP in Böden. Hierfür könnten Versuche mit Modellsubstanzen (Tonminerale, OC) hilfreich sein, da in der komplexen Bodenlösung hochauflösende Techniken (u. a. REM, XPS) häufig limitiert sind. Die Differenzierung zwischen Ag ENP und an Bodenkolloide assoziierten Ag ENP in der Fraktion $< 0,45 \mu\text{m}$ sollte weiterentwickelt werden, da hieraus wichtige Informationen über Migration und Reaktivität gewonnen werden können. Die Diskrepanz zwischen PEC (englisch: Predicted Environmental Concentration) und sicheren analytischen Bestimmungsgrenzen scheint nur schwer überwindbar, dennoch sind methodische und gerätespezifische Innovationen möglich. Die Elution gestörter Böden im gesättigten Fluss bildet den Feldmaßstab nur unzureichend ab. Demnach sollte die Mobilität der Ag ENP, unter Rücksichtnahme transportbestimmender Effekte wie präferenzielle Fließwege, „first flush“ sowie Austrocknung und Wiederbefeuchtung, an ungestörten Bodensäulen getestet werden. Letztlich sind auch langfristige Versuche unter Zugabe von Ag ENP und Ag ENP beladenen Klärschlämmen an Feldlysimetern empfehlenswert.

3 Erfolgskontrolle

Sämtliche wissenschaftliche Ergebnisse sind in Kapitel 2 dargestellt. Im Anhang A werden Schwierigkeiten benannt, die zu Verzögerungen geführt haben, bzw. erklären warum avisierte Lösungen nicht erreicht werden konnten. Informationen zu Forschungsergebnissen von Dritten werden im Kapitel 2 ausführlich diskutiert. Hinsichtlich der Darstellung zur Einhaltung der ursprünglichen Zeitplanung sei auf Kapitel 1.3 verwiesen. Die Auflistung des zahlenmäßigen Nachweises bzw. Informationen zur Einhaltung der Ausgabenplanung sind nicht in diesem Bericht enthalten und werden dem Projektträger separat übermittelt.

3.1 Förderpolitische Ziele

Die Bekanntmachung definierte das Ziel: Eintrag, Verteilung, Verbleib und Wirkung von synthetischen Nanopartikeln und Nanomaterialien in der Umwelt zu erforschen. Der gewählte Ansatz beruhte darauf, die Wettbewerbsfähigkeit der betroffenen Industrie auszubauen sowie die Bedingungen für die menschliche Gesundheit und die Umwelt zu verbessern.

Die BGR war maßgeblich an der Erarbeitung von Themenschwerpunkt 2 (Auswirkungen synthetischer Nanopartikel und Nanomaterialien auf die Umwelt) der Ausschreibung beteiligt. Hierbei lag der Arbeitsschwerpunkt auf Untersuchungen zur Mobilität der ENP in Böden. Darüber hinaus wurde Themenschwerpunkt 3 (Entwicklung von Messmethoden zur Charakterisierung von Nanopartikeln in der Umwelt) bearbeitet. Dabei war die BGR an der Entwicklung verschiedener SOPs (Reinigung von Gefäßen, Messung des pH-Werts, Messung des Zetapotentials) beteiligt.

3.2 Fortschreibung des Verwertungsplans

Der zunehmende Einsatz an Nanopartikeln führt auch zu einer steigenden Verunsicherung hinsichtlich der Umweltgefährdung bei Verbrauchern und in der Öffentlichkeit. Regulation, Industrie und Handel benötigen demnach dringend wissenschaftliche Datengrundlagen, um Planungssicherheit zu erlangen. Die avisierten wirtschaftlichen und wissenschaftlichen Verwertungen (Präsentationen auf Fachtagungen, Datenaustausch) wurden vorgenommen. So sind wichtige Präsentationen der Ergebnisse in Kapitel 3.3 aufgeführt. Zusätzlich sind momentan zwei Schriftpublikationen (peer-reviewed) in Bearbeitung. Darüber hinaus wurden die erzielten Ergebnisse mit den Partnern ÖKO, IME und UBA (Umweltbundesamt) kommuniziert, so dass die Ergebnisse auch in nationale und internationale Gremien übermittelt wurden.

3.3 Publikationen

Bisher sind folgende Publikationen aus dem Teilprojekt der BGR entstanden:

- Hoppe, M., Utermann, J., Mikutta, R., Duijnsveld, W. und Guggenberger, G. Retention von Silbernanopartikeln in Böden. Vortrag, DBG Jahrestagung, 2013.
- Hoppe, M., Utermann, J., Mikutta, R. and Guggenberger, G. Mobility of silver and silver nanoparticles in soils. Poster, EUROSIL, 2012.
- Hoppe, M., Utermann, J., Mikutta, R. und Guggenberger, G. Mobilität von Silber und Silbernanopartikeln in Böden. Poster, DECHEMA e. V., 2012.
- Hoppe, M., Utermann, J., Mikutta, R. und Guggenberger, G. Silber und Silbernanopartikel in Böden. Poster, DECHEMA e. V., 2011.
- Hoppe, M., Utermann, J., Mikutta, R. und Guggenberger, G. Mobilität von Silber und Silbernanopartikeln in Böden. Vortrag mit Publikation, DBG Jahrestagung, 2011.

Folgende Publikationen sind momentan in Bearbeitung:

- Hoppe, M., Mikutta, R., Utermann, J., Duijnsveld, W. and Guggenberger, G. Retention of sterically and electrosterically stabilized silver nanoparticles in soils. 2014.
- Hoppe, M., Mikutta, R., Utermann, J., Duijnsveld, W. and Guggenberger, G. Release of sterically stabilized silver nanoparticles from farmland soils determined by column leaching. 2014.

Literaturverzeichnis

Ad-hoc-AG Boden. (2006). Bodenkundliche Kartieranleitung. 5. verbesserte und erweiterte Auflage. BGR in Zusammenarbeit mit den Staatlichen Geologischen Diensten (Ed.), (pp. 438): *Schweizerbart Science Publishers*.

Altfelder, S., Duijnisveld, W. H., Streck, T., Meyenburg, G. and Utermann, J. (2007). Quantifying the influence of uncertainty and variability on groundwater risk assessment for trace elements. *Vadose Zone J.*, 6, 668-678.

Badawy, A. M., T.P., L., Silva, R. G., Scheckel, K. G., Suidan, M. T. and Tolaymat, T. M. (2010). Impact of environmental conditions (pH, ionic strength, and electrolyte type) on the surface charge and aggregation of silver nanoparticles suspensions. *Environmental Science & Technology*, 44, 1260-1266.

Batley, G. E., Kirby, J. K. and McLaughlin, M. J. (2013). Fate and Risks of Nanomaterials in Aquatic and Terrestrial Environments. *Accounts of Chemical Research*, 46(3), 854-862.

Benn, T., Cavanagh, B., Hristovski, K., Posner, J. D. and Westerhoff, P. (2010). The Release of Nanosilver from Consumer Products Used in the Home. *Journal of Environmental Quality*, 39, 1875–1882.

BGBI. I (1998). Bundesgesetzblatt Teil 1 Gesetz zum Schutz des Bodens; BGBI I, S. 502ff.

BGR. (2007). Karte der Gruppen von Bodenausgangsgesteinen in Deutschland im Maßstab 1:5 Mio. Datenquelle: BAG 5000 v3.0, (c) BGR, Hannover.

Blaser, S. A., Scheringer, M., MacLeod, M. and Hungerbühler, K. (2008). Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *Science of the Total Environment*, 390, 396-409.

Christian, P., von der Kammer, F., Baalousha, M. and Hofmann, T. (2008). Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicologie*, 17, 326-343.

Cornelis, G., Kirby, J. K., Beak, D. and McLaughlin, M. J. (2010). A method for determination of retention of silver and cerium oxide manufactured nanoparticles in soils. *Environ. Chem.*, 7, 298-308.

Cornelis, G., Ryan, B., McLaughlin, M. J., Kirby, J. K., Beak, D. and Chittleborough, D. (2011). Solubility and Batch Retention of CeO₂ Nanoparticles in Soils. *Environmental Science & Technology*, 45(7), 2777-2782.

- Cornelis, G., Doolette, C., McLaughlin, M. J., Kirby, J. K., Beak, D. and Chittleborough, D. (2012). Retention and Dissolution of Engineered Silver Nanoparticles in Natural Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 76(3), 891-902.
- Cornelis, G., Pang, L., Doolette, C., Kirby, J. K. and McLaughlin, M. J. (2013). Transport of silver nanoparticles in saturated columns of natural soils. *Science of the Total Environment*, 463-464, 120-130.
- Coutris, C., Joner, E. J. and Oughton, D. H. (2012). Aging and soil organic matter content affect the fate of silver nanoparticles in soil. *Science of the Total Environment*, 420(0), 327-333.
- Cumberland, S. A. and Lead, J. R. (2009). Particle size distributions of silver nanoparticles at environmentally relevant conditions. *Journal of Chromatography A*, 1216(52), 9099-9105.
- DIN 19528. (2009). Leaching of solid materials - Percolation method for the joint examination of the leaching behaviour of inorganic and organic substances.
- DIN 38414-7. (1983). German standard methods for the examination of water, waste water and sludge; Sludge and sediments (Group S); Digestion using aqua regia for subsequent determination of the acid-soluble portion of metals (S7).
- Domingos, R. F., Baalousha, M. A., Ju-Nam, Y., Reid, M. M., Tufenkji, N., Lead, J. R. and Wilkinson, K. J. (2009). Characterizing Manufactured Nanoparticles in the Environment: Multimethod Determination of Particle Sizes. *Environmental Science & Technology*, 43(19), 7277-7284.
- Gäbler, H.-E., Glueh, K., Bahr, A. and Utermann, J. (2009). Quantification of vanadium adsorption by German soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 103, 37-44.
- Hagendorfer, H., Kaegi, R., Parlinska, M., Sinnet, B., Ludwig, C. and Ulrich, A. (2012). Characterization of Silver Nanoparticle Products Using Asymmetric Flow Field Flow Fractionation with a Multidetector Approach – a Comparison to Transmission Electron Microscopy and Batch Dynamic Light Scattering. *Anal. Chem.*, 84(6), 2678-2685.
- Handy, R. D., Cornelis, G., Fernandes, T., Tsyusko, O., Decho, A., Sabo-Attwood, T. and Horne, N. (2012). Ecotoxicity test methods for engineered nanomaterials: Practical experiences and recommendations from the bench. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(1), 15-31.
- Hotze, E. M., Tanapon, P. and Lowry, G. V. (2010). Nanoparticle aggregation: Challenges to understanding transport and reactivity in the environment. *J. Environ. Qual.*, 39, 1909-1924.

- Huynh, K. A. and Chen, K. L. (2011). Aggregation Kinetics of Citrate and Polyvinylpyrrolidone Coated Silver Nanoparticles in Monovalent and Divalent Electrolyte Solutions. *Environmental Science & Technology*, 45(13), 5564-5571.
- Jacobson, A. R., Klitzke, S., McBride, M. B., Baveye, P. and Steenhuis, T. S. (2005). The desorption of silver and thallium from soils in the presence of a chelating resin with thiol functional groups. *Water, Air Soil Poll.*, 160, 41-54.
- Jones, K. C., Davis B. E. and Peterson, P. J. (1986). Silver in Welsh soils: Physical and chemical distribution studies. *Geoderma*, 37, 157-174.
- Kaegi, R., Voegelin, A., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Burkhardt, M. and Siegrist, H. (2011). Behavior of Metallic Silver Nanoparticles in a Pilot Wastewater Treatment Plant. *Environmental Science & Technology*, 45(9), 3902-3908.
- Kaegi, R., Voegelin, A., Ort, C., Sinnet, B., Thalmann, B., Krismer, J. and Mueller, E. (2013). Fate and transformation of silver nanoparticles in urban wastewater systems. *Water Research*, 47(12), 3866-3877.
- Kaiser, K. and Guggenberger, G. (2003). Mineral surfaces and soil organic matter. *European Journal of Soil Science*, 54, 219-236.
- Klaine, S. J., Koelmans, A. A., Horne, N., Carley, S., Handy, R. D., Kapustka, L. and von der Kammer, F. (2012). Paradigms to assess the environmental impact of manufactured nanomaterials. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31, 3-14.
- Klein, C. L., Comero, S., Stahlmecke, B., Romazanov, J., Kuhlbusch, T. A. J., Doren, E. V. and Gawlik, B. M. (2011). NM-Series of representative manufactured nanomaterials NM-300 Silver characterisation, stability, homogeneity: JRC.
- Kretzschmar, R., Borkovec, M., Grolimund, D. and Elimelech, M. (1999). Mobile Subsurface Colloids and Their Role in Contaminant Transport. In D. L. Sparks (Ed.), (Vol. 66, pp. 121-193): *Academic Press*.
- Levard, C. M., Hotze, E. M., Lowry, G. V. and Brown, G. E. (2012). Environmental Transformations of Silver Nanoparticles: Impact on Stability and Toxicity. *Environmental Science & Technology*, 46(13), 6900-6914.
- Liang, Y., Bradford, S. A., Simunek, J., Vereecken, H. and Klumpp, E. (2013). Sensitivity of the transport and retention of stabilized silver nanoparticles to physicochemical factors. *Water Research*, 47(7), 2572-2582.
- Lin, D., Tian, X., Wu, F. and Xing, B. (2010). Fate and Transport of Engineered Nanomaterials in the Environment. *Journal of Environmental Quality*, 39, 1896-1908.
- Liu, J. and Hurt, R. (2010). Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids. *Environmental Science & Technology*, 44, 2169-2175.

- Lowry, G. V., Hotze, E. M., Bernhardt, E. S., Dionysiou, D. D., Pedersen, J. A., Wiesner, M. R. and Xing, B. (2010). Environmental Occurrences, Behavior, Fate, and Ecological Effects of Nanomaterials: An Introduction to the Special Series. *J. Environ. Qual.*, 39(6), 1867-1874.
- Lowry, G. V., Espinasse, B. P., Badireddy, A. R., Richardson, C. J., Reinsch, B. C., Bryant, L. D., Bone, A. J., Deonarine, A., Chae, S., Therezien, M., Colman, B. P., Hsu-Kim, H., Bernhardt, E. S., Matson, C. W. and Wiesner, M. R. (2012). Long-Term Transformation and Fate of Manufactured Ag Nanoparticles in a Simulated Large Scale Freshwater Emergent Wetland. *Environmental Science & Technology*, 46, 7027-7036.
- Malvern. (2009). Zetasizer Nano User Manual. (MAN0317 Issue 5.0). Malvern Instruments Ltd.
- Pan, B. and Xing, B. (2012). Applications and implications of manufactured nanoparticles in soils: a review. *European Journal of Soil Science*, 63(4), 437-456.
- Petosa, A. R., Jaisi, D. P., Quevedo, I. R., Elimelech, M. and Tufenkji, N. (2010). Aggregation and deposition of engineered nanomaterials in aquatic environments: role of physicochemical interactions. *Environmental Science & Technology*, 44, 6532-6549.
- Ratte, H. T. (1999). Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 89-108.
- Sagee, O., Dror, I. and Berkowitz, B. (2012). Transport of silver nanoparticles (AgNPs) in soil. *Chemosphere*, 88(5), 670-675.
- Siemens, J., Ilg, K., Pagel, H. and Kaupenjohann, M. (2008) Is Colloid-Facilitated Phosphorus Leaching Triggered by Phosphorus Accumulation in Sandy Soils? *J. Environ. Qual.*, 37, 2100-2107.
- Thio, B. J. R., Montes, M. O., Mahmoud, M. A., Lee, D.-W., Zhou, D. and Keller, A. A. (2012). Mobility of Capped Silver Nanoparticles under Environmentally Relevant Conditions. *Environmental Science & Technology*, 46(13), 6985-6991.
- Tian, Y., Gao, B., Silvera-Batista, C. and Ziegler, K. (2012). Transport of engineered nanoparticles in saturated porous media. *Journal of Nanoparticle Research*, 12, 2371-2380.
- Tourinho, P. S., van Gestel, C. A. M., Lofts, S., Svendsen, C., Soares, A. M. V. M. and Loureiro, S. (2012). Metal-based nanoparticles in soil: Fate, behavior, and effects on soil invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(8), 1679-1692.
- Utermann, J., Meyenburg, G., Altfelder, S., Gaebler, H.-E., Duijnsveld, W., Bahr, A. und Streck, T. (2005). *Entwicklung eines Verfahrens zur Quantifizierung von Stoffkonzentrationen im Sickerwasser auf der Grundlage chemischer und physikalischer*

Pedotransferfunktionen: Federal Institute for Geosciences and Natural Resources.
[Download](#).

von der Kammer, F., Ferguson, P. L., Holden, P. A., Masion, A., Rogers, K. R., Klaine, S. J. and Unrine, J. M. (2012). Analysis of engineered nanomaterials in complex matrices (environment and biota): General considerations and conceptual case studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(1), 32-49.

Wijnhoven, S., Peijnenburg, W., Herberts, C., Hagens, W., Oomen, A., Heugens, E., Roszek, B., Bisshops, J., Gosens, I., van de Meent, D., Dekkers, S., De Jong, W., van Zijverden, M., Sips, A. and Geertsma, R. (2009). Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. *Nanotoxicology*, 3, 109-138.

Zhang, W., Yao, Y., Li, K., Huang, Y. and Chen, Y. (2011). Influence of dissolved oxygen on aggregation kinetics of citrate-coated silver nanoparticles. *Environmental Pollution*, 159(12), 3757-3762.

Anhang A: Methodische und analytische Probleme

Zusammenarbeit im Projekt

Um Untersuchungen zur Mobilität von Silbernanopartikeln in Böden und Klärschlämmen durchzuführen, ist eine grundlegende Charakterisierung des Materials über den Versuchsablauf unerlässlich. Deshalb beteiligte sich die BGR auch an Arbeitspaketen zur Charakterisierung, die nicht zu den festgelegten Projektaufgaben gehören. So erfolgte u.a. in Zusammenarbeit mit den Partnern TUDr und UFT (Zentrum für Umweltforschung und nachhaltige Technologien, Universität Bremen) ein Methodenvergleich bezüglich UV/VIS-Spektroskopie (englisch: UltraViolet/VISible), AAS (englisch: Atom Absorption Spectrometry) und ICP-OES (Ciros Vision) nach unterschiedlichen Aufschlüssen. Weitere gemeinsame Versuche wurden zwischen der BGR und dem Partner IME (Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und angewandte Ökologie) durchgeführt. Die am IME hergestellten und mit AgNM-300k beladenen Klärschlämme wurden an der BGR charakterisiert und in Säulenversuchen eluiert. Versuche zur Ag-Speziierung in unterschiedlichen Nährmedien erfolgten in Zusammenarbeit mit den Partnern ÖKO (Allgemeine und theoretische Ökologie, Universität Bremen), VdW und TUDr. Für das BUI (Bremer Umwelt Institut) wurden an der BGR Stoffabriebe aufgeschlossen und analysiert.

Methodische und analytische Schwierigkeiten

Nanopartikel weisen in wässrigen Dispersionen häufig andere chemische und physikalische Eigenschaften auf als die dominierenden ionaren Spezies desselben Elements. Zusätzlich werden kommerzielle Silbernanopartikel mit ihrem assoziierten Disperser in definierten Dispersionen angeboten. Demzufolge steuern nicht nur die Bodencharakteristika sondern auch der Disperser die Mobilität von Ag ENP in der Umwelt. Aufgrund der genannten Fakten war es nötig bekannte bodenkundliche Methoden anzupassen:

1. Methodenentwicklung Batch

- Methodenentwicklung zur Charakterisierung von Silbernanopartikeln (Partikelgröße, Zetapotential, Ultrazentrifugation, diverse Aufschlussmethoden, schonende Konservierung für REM)
- Entwicklung und Anpassung von Batch-Methoden zur Ableitung der Retention von AgNM-300k in Böden
- Entwicklung und Anpassung von Batch-Methoden zur Ableitung der Retention von citratstabilisierten Silbernanopartikeln (AgCN30) in Böden

- Entwicklung und Anpassung von Batch-Methoden zur Ableitung der Wechselwirkungen von Silbernanopartikeln (AgCN30, AgNM-300k) mit Tonmineralen
- Entwicklung und Anpassung von Methoden zur Ableitung der Wechselwirkungen von Silbernanopartikeln (AgCN30, AgNM-300k) mit verschiedenen organischen Substanzen
- Entwicklung und Anpassung von Batchversuchen zur Ableitung der Mobilität von AgNM-300k in Gewässersedimenten.

2. Methodenentwicklung Säulenanlage

Viel Arbeitszeit war für die Entwicklung eines Säulensystems zur Elution von Boden und Boden Klärschlamm-Gemischen nötig. Schwierig gestaltete sich die Entwicklung eines System, welches sich sowohl inert gegenüber Silberionen als auch inert gegenüber AgNM-300k zeigt. Es wurden umfangreiche Tests mit einem Säulensystem der Firma EMC (Gesellschaft zur Erfassung und Bewertung von Umweltdaten mbH) durchgeführt. Eine der entwickelten Säulenvarianten (Glassäule, poröse Platte aus Glas) zeigte geringe adsorptive Verluste für AgNM-300k und Silberionen, leider war dieses System nicht praxistauglich, da es an der Kontaktfläche zwischen Säule und Glasplatte häufig zum Bruch kam. Letztlich erfolgte eine Anpassung von DIN 19528, so dass die Retention von Silberionen und AgNM-300k innerhalb des Säulensystems minimiert wurde.

Trotz erheblicher methodischer und analytischer Schwierigkeiten konnten die im Projektantrag avisierten Versuche erfolgreich durchgeführt werden.

Anhang B: Ergebnisse

B.1 Kapitel 2.1

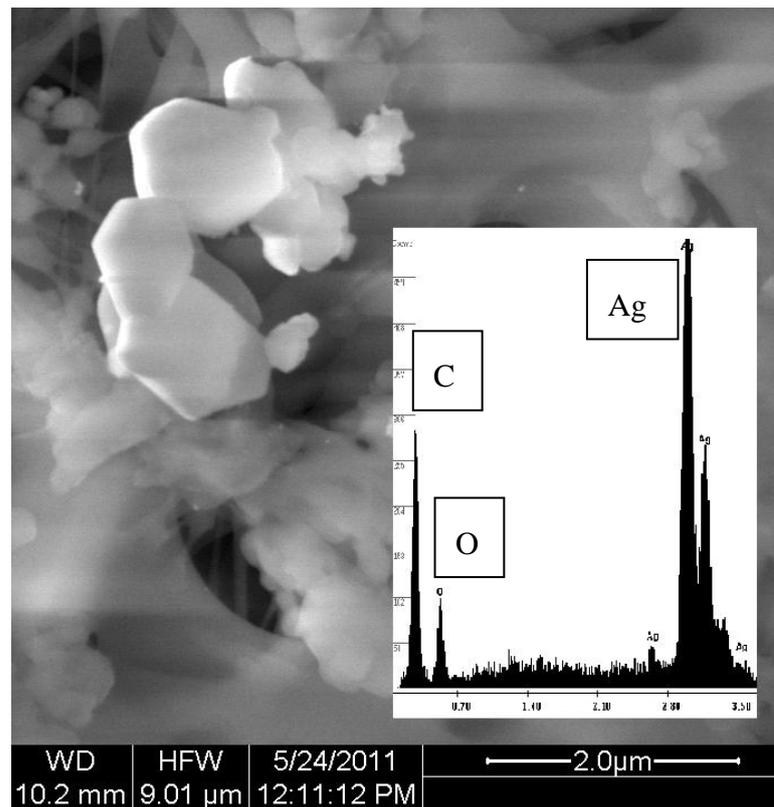


Abbildung 14: Silberpartikel in Celluloseacetat Filter mit zugehörigem EDX.

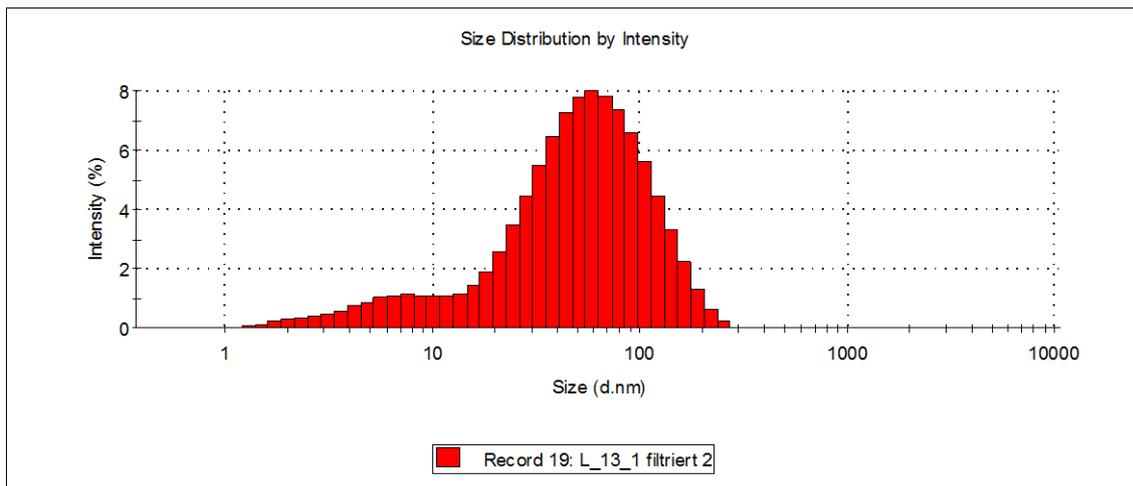


Abbildung 15: Histogramm einer DLS Messung von AgNM-300k Stammdispersion direkt nach dem Ansatz aus OECD Vial Nr. 6480, exemplarisch für alle Ansätze.

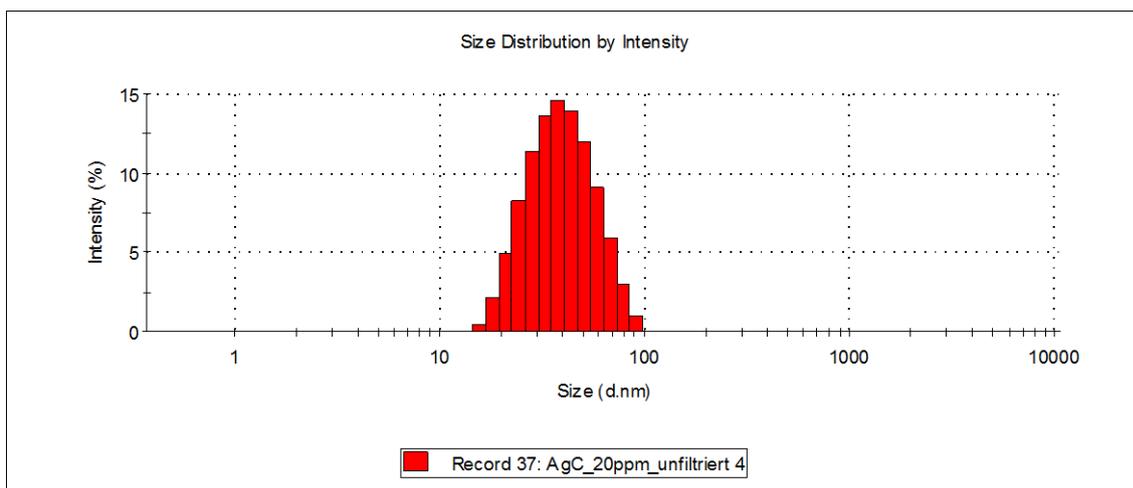


Abbildung 16: Histogramm der DLS Messung einer AgCN30 Stammdispersion direkt nach dem Öffnen, exemplarisch für alle Ansätze.

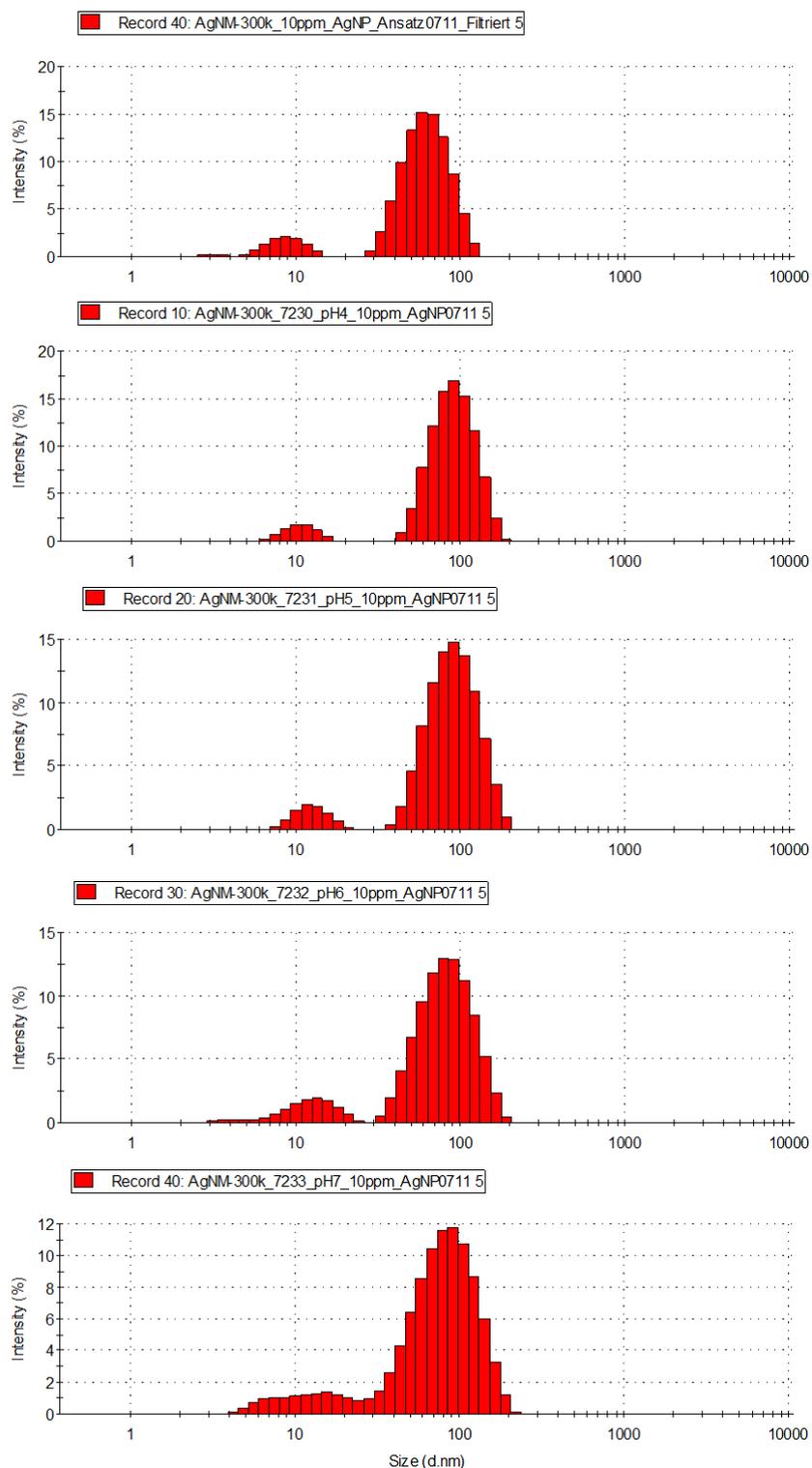


Abbildung 17: Histogramme für Original AgNM-300k ($Ag_{total} = 8,4 \text{ mg L}^{-1}$) und die entsprechenden Histogramme für die Dispersion nach 24 h Batchtest für unterschiedlich eingestellte pH-Werte (4, 5, 6, 7).

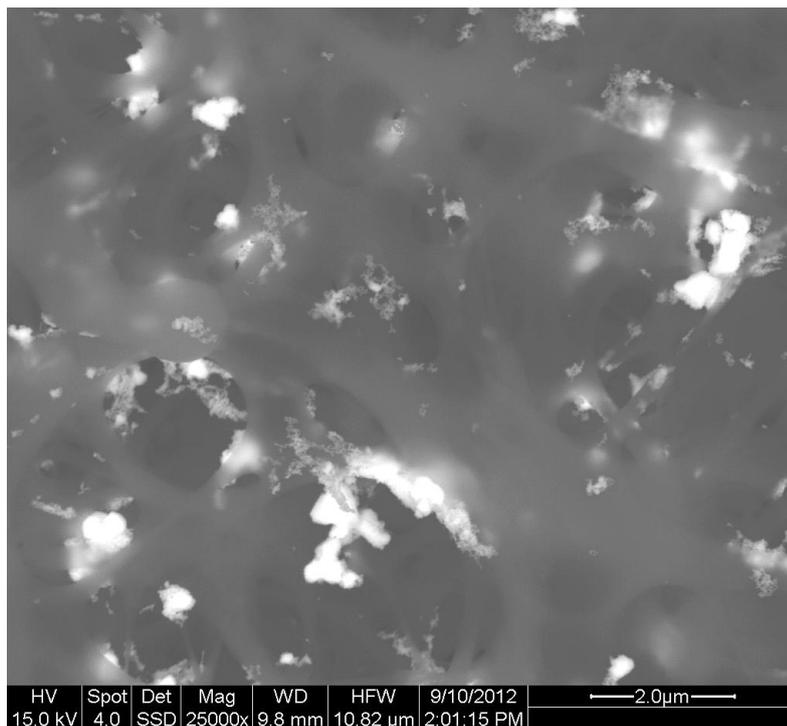


Abbildung 18: REM-Aufnahme zeigt Aggregate aus Citrat stabilisierten ENP (AgCN30 , $\text{Ag}_{\text{total}} = 3,6 \text{ mg L}^{-1}$) auf einem Celluloseacetat Filter ($0,45 \mu\text{m}$) nach Zugabe von $3,3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2$. Im Filtrat lassen sich mittels DLS keine ENP nachweisen.

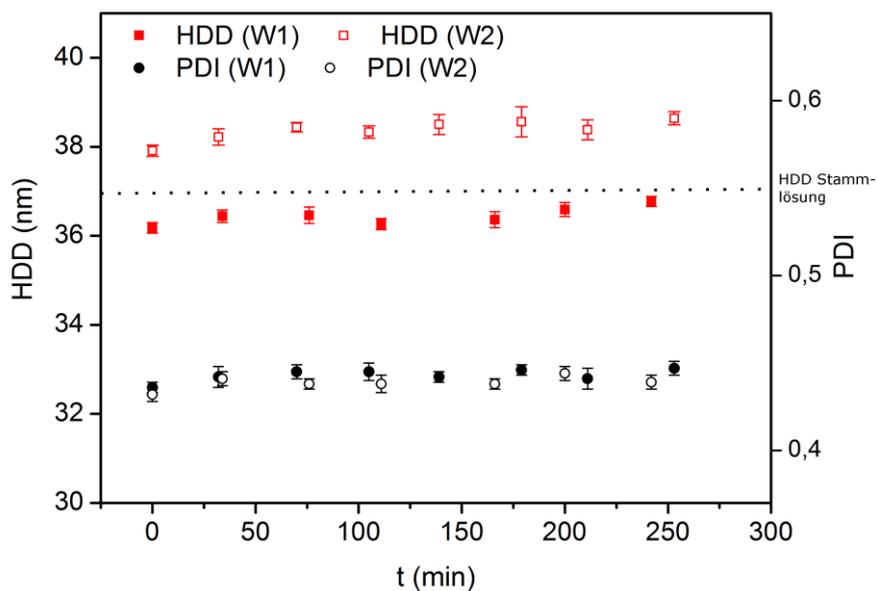


Abbildung 19: AgCN30 bei Zugabe von DOM ($72,1 \text{ mg L}^{-1}$) und $0,64 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Ca}^{2+}$ ($\text{pH} = 6$). Der HDD bleiben konstant und unverändert im Vergleich zur Stammlösung. Die Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung aus 10 Messwiederholungen eines Probeansatzes.

B.2 Kapitel 2.2

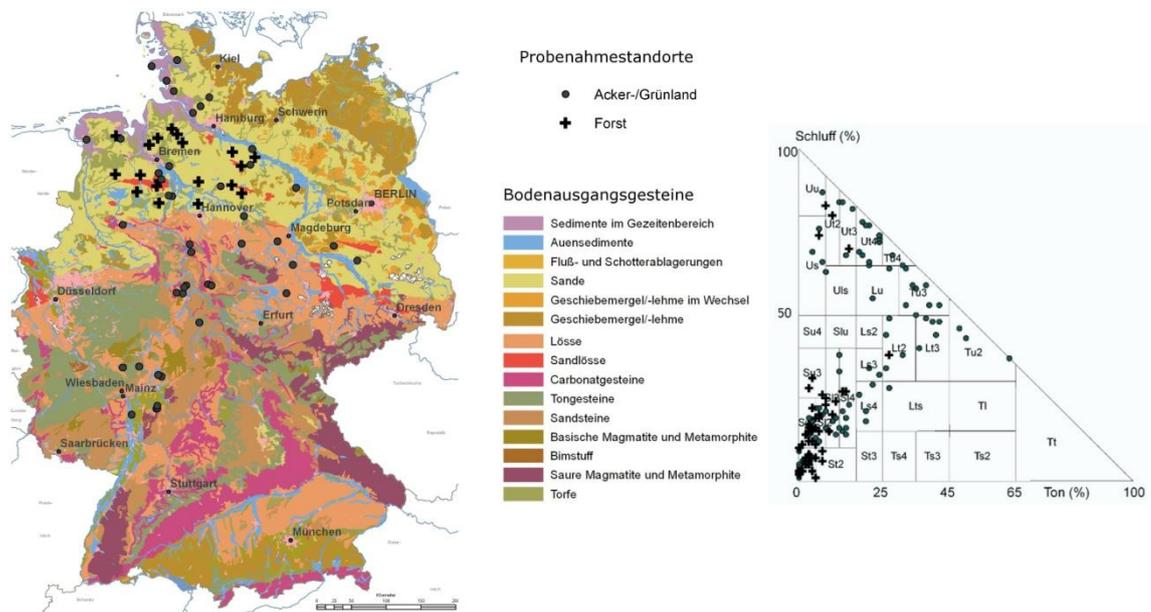


Abbildung 20: Lage der Probenahmepunkte in Deutschland und Verteilung der Proben im Korngrößendreieck. (Karte der Bodenausgangsgesteine, BGR, 2007).

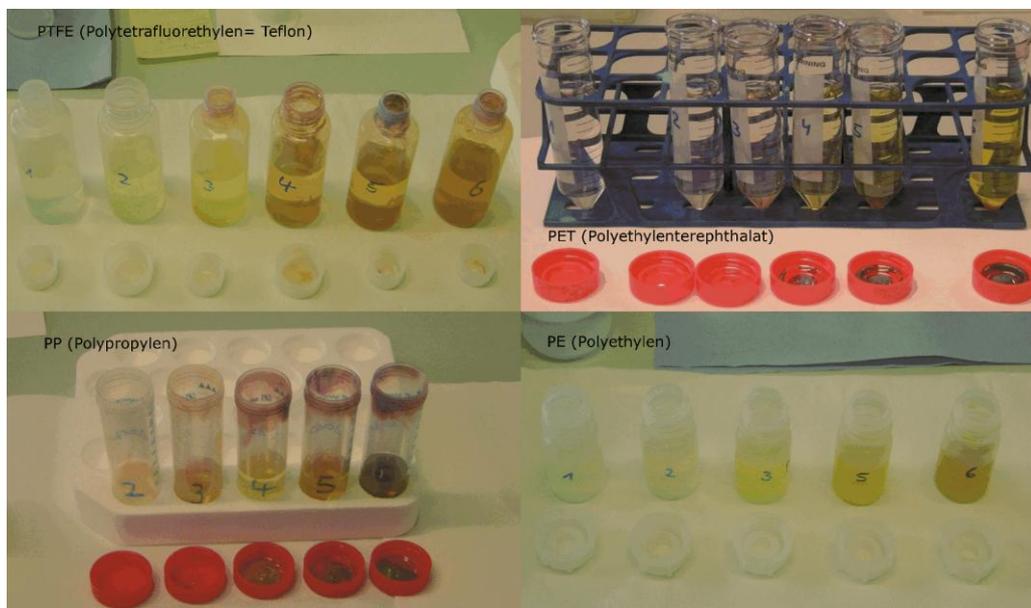


Abbildung 21: Wechselwirkungen von AgNM-300k mit verschiedenen Kunststoffen nach Batchversuchen (Verdünnungsreihe Ag_{total} von 0,5-15 mg L⁻¹).

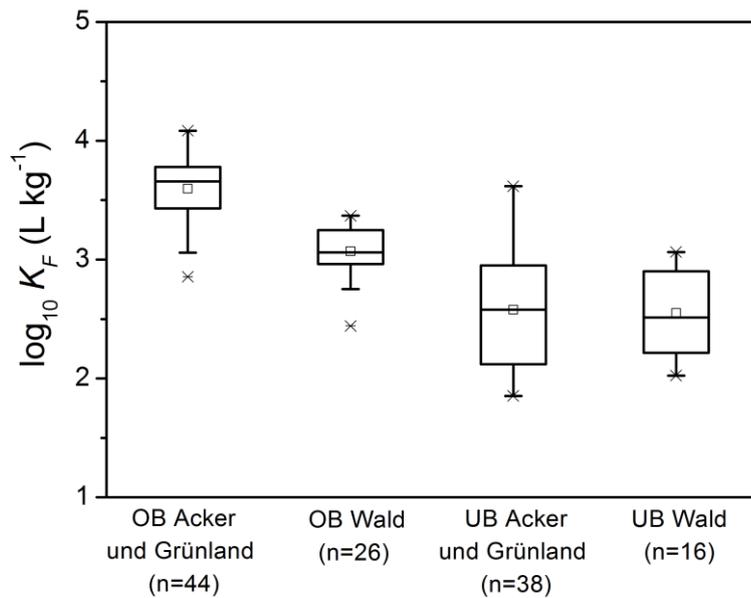


Abbildung 22: Boxplots der logarithmierten K_F Werte abgeleitet aus Versuchen mit AgNO_3 untergliedert nach Nutzungsart bzw. Oberböden (OB) und Unterböden (UB).

Tabelle 5: Charakterisierung von 25 mitteleuropäischen Ackerböden

Eigenschaften	Perzentile			Spannweite
	5	50	95	
C_{org} (%)	0.05	0.77	2.22	2.46
KAK ($\text{mmol}_c \text{ kg}^{-1}$) ^a	2	64.3	209	211
pH ^b	4.4	5.8	7.2	3
Leitfähigkeit ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	16	52	270	271
Tongehalt (%)	<0.1	9	36	39
Schluffgehalt (%)	2	22	86	86

^aKationenaustauschkapazität, ^b0.01 mol L⁻¹ CaCl₂.

Tabelle 6: Lineare Regression mit $\log_{10} K_F$ als abhängiger Variable ($n = 25$)

model	not standardized coefficients		standardized coefficient	T	Sig.
	regression coefficient	standard error	Beta		
constant	2.458	.186		13.251	.000
pH	.140	.033	.239	4.289	.000
$\log_{10}(C_{org})$.877	.055	.834	15.809	.000
$\log_{10}(\text{clay content})$.217	.066	.168	3.263	.004

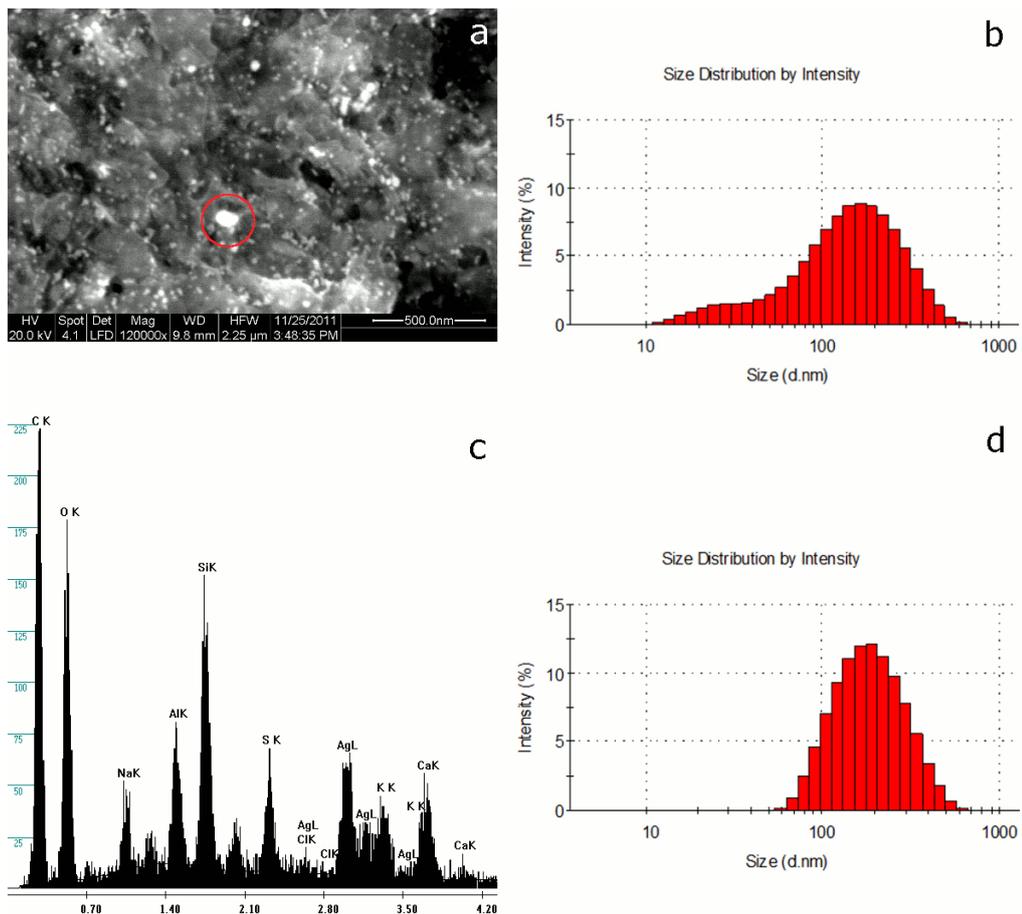


Abbildung 23: REM-Aufnahme (a) zeigt AgNM-300k in der Bodenlösung für eine Fallerde mit dem zugehörigen EDX Spektrum (c) des rot umrandeten Partikels. Abbildung b zeigt die DLS Messung der Bodenlösung und Abbildung d die Referenzbodenlösung ohne Zugabe von Ag ENP.

Tabelle 7: Bodeneigenschaften, K_F Werte für Ag^+ und $K_{r, linear}$ Werte für AgNM-300k

Sample ID	Bodentyp ^a	C_{org} (%)	pH ^b	Ton (%)	K_F ^c (L kg ⁻¹)	N^d	$K_{r, lin.}^e$ (L kg ⁻¹)	N^d
ST17/1	Gleysol	0.9	5.9	8.6	3291	5	0.6	6
ST2/1	Albeluvisol	0.7	5.4	4.4	1712	4	0.7	4
NS25/3	Podzol	0.1	4.8	0.8	138	6	0.8	6
NS57/4	Podzol	0.1	4.8	0.0	78	5	1.2	5
NS49/1	Cambisol	1.4	5.3	4.0	4609	5	1.3	5
ST12/2	Albeluvisol	0.3	6.4	7.1	1115	5	1.7	5
NS49/2	Cambisol	0.4	5.2	0.0	1000	6	1.7	6
NS27/3	Luvisol	0.1	5.8	7.1	692	5	2.3	5
HS31/1	Stagnosol	1.0	6.3	11.5	4198	5	2.3	5
NS64/1	Cambisol	0.8	7.0	5.0	2762	6	2.5	4
NS25/1	Podzol	2.5	5.2	3.4	3399	5	3.1	6
HS12/1	Luvisol	1.0	5.9	12.2	3368	5	3.3	6
NS64/2	Luvisol	0.3	6.2	0.0	717	7	3.4	6
NS27/2	Cambisol	0.9	5.9	4.4	2207	5	3.4	4
HS30/3	Luvisol	0.3	6.5	13.0	1269	6	5.5	6
NS57/2	Podzol	1.2	4.9	5.1	1555	4	5.9	5
HS41/1	Stagnosol	1.3	5.6	22.3	3419	5	7.2	5
SH11/1	Stagnosol	1.3	5.2	11.1	5684	5	10.6	5
NS5/2	Chernozem	1.0	6.7	27.0	5884	6	12.6	5
HS11/2	Leptosol	0.5	7.2	20.8	2997	6	139.0	5
ST37/2	Anthrosol	1.1	7.3	24.4	5737	6	429.7	5
NS52/7	Luvisol	0.0	4.3	20.2	138	5	674.3	6
HS9/1	Luvisol	1.6	7.0	39.2	7188	5	1120.4	5
HS31/3	Stagnosol	0.1	4.5	26.9	390	5	1535.1	5
NS52/5	Luvisol	0.1	5.1	22.4	277	5	2390.8	6

^aAd-hoc-AG Boden², ^b0.01 M CaCl₂, ^c $r^2_{fitting} > 0.99$, ^dAnzahl der Messpunkte für das Fitting, ^e $r^2_{fitting} > 0.89$.

Tabelle 8: Bodeneigenschaften, K_F Werte für Ag^+ , $K_{r, linear}$ Werte für AgNM-300k und $K_{r, Freundlich}$ Werte für AgCN30

ID	Soil group ^a	Mean	SD ^b	Mean	SD	K_F	$K_{r, linear}$	$K_{r, Freund.}^c$
		Al _{ox}	Al _{ox}	Fe _{ox}	Fe _{ox}	Ag ⁺	NM-300k	AgCN30
		(mg kg ⁻¹)				(L kg ⁻¹)		
ST2/1	Albeluvisol	297	11	1059	157	1712	0.7	22.7
NS57/4	Podzol	655	242	183	57	78	1.2	7.7
HS31/1	Stagnosol	1096	82	3688	434	4198	2.3	27.1
NS25/1	Podzol	1365	104	694	75	3399	3.1	80.2
NS57/2	Podzol	3171	-	707	-	1555	5.9	55.2
SH11/1	Stagnosol	619	-	2848	439	5684	10.6	69.1
NS52/7	Luvisol	713	109	1391	310	138	674.3	524.7
HS9/1	Luvisol	856	155	1831	391	7188	1120.4	1164.3

^aAd-hoc-AG Boden², ^bStandardabweichung von drei Wiederholungen, ^c $r^2_{fitting} > 0.89$.

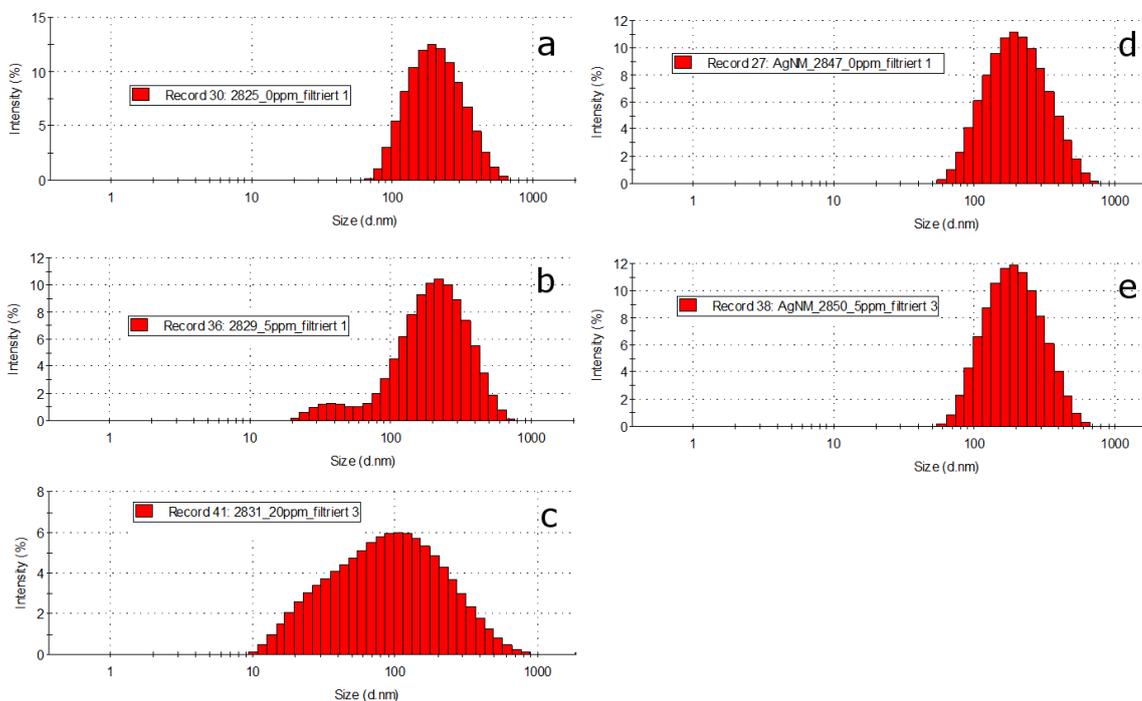


Abbildung 24: Intensitätsgewichtete DLS Messungen von einem Gewässersediment mit geringen K_F Werten (a, b und c) und von einem Gewässersediment mit hohen K_F Werten (d und e). Abbildung a und d sind Referenzen ohne Zugabe von AgNM-300k. Bei Zugabe von AgNM-300k sind in den Abbildungen b und c Nanopartikel zu erkennen.

Tabelle 9: Charakterisierung von Gewässersedimenten und Retentionskoeffizienten von AgNM-300k in den entsprechenden Sedimenten

Name	K_r Wert ¹ (L kg ⁻¹)	$r^2_{kor.}$ ²	C (%)	S (%)	pH (CaCl ₂) ³	Leitfähigkeit ($\mu\text{S cm}^{-1}$)
S1	3	0,98	0,39	0,017	6,48	263
S5	4	0,97	0,31	0,033	5,57	203
S6	10	0,98	0,62	0,012	7,44	190
S3	49	0,99	1,74	0,052	7,10	421
S2	75	1,00	1,18	0,051	7,25	436
S4	156	0,99	0,52	0,101	7,35	463

¹lineare Anpassung (n = 5), ²korrigiertes r^2 der Anpassung, 0,01 mol L⁻¹ CaCl₂.

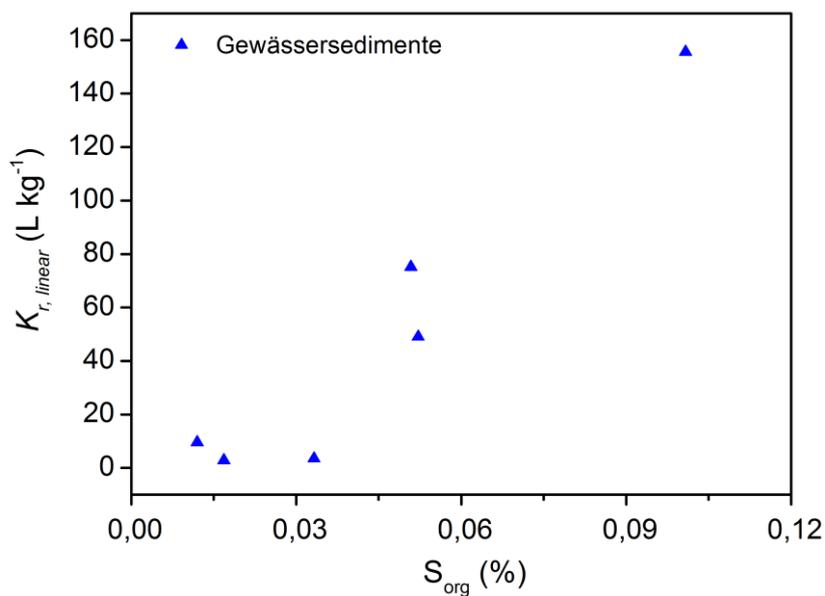


Abbildung 25: Retentionskoeffizienten von AgNM-300k aufgetragen über den Schwefelgehalt von Gewässersedimenten.

B.3 Kapitel 2.3



Abbildung 26: Versuchsaufbau bei der Elution von Bodensäulen

Tabelle 10: Charakterisierung der Elutionslösungen Regenwasser und DOC

Elution	pH	Leitfähigkeit ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	DOC (mg L^{-1}) t = 0	DOC (mg L^{-1}) (t = 72)
Lauf 1 (Refesol)				
RW	5,56 (0,16) ¹	19,5 (0,4)	n. b. ²	n. b.
DOC	4,20	45,0	n. b.	35,0
Lauf 2 (Holtensen)				
RW	5,54 (0,10)	20,1(0,9)	n. b.	n. b.
DOC	4,18	47,2	48,3 (0,1)	40,5
Lauf 3 (Refesol)				
RW	5,83 (0,10)	20,7 (0,5)	n. b.	n. b.
DOC	4,06	45,6	49,4 (1,0)	39,2
Lauf 4 (Holtensen)				
RW	5,67 (0,01)	20,8 (0,2)	n. b.	n. b.
DOC	4,05	n. b.	n. b.	38,2

¹Standardabweichung, ²nicht bestimmt.

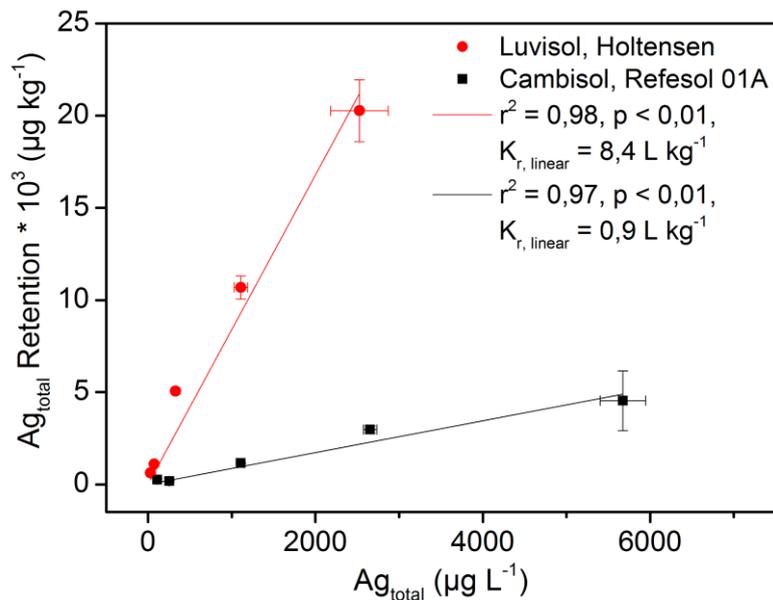


Abbildung 27: Retention von AgNM-300k bei Zugabe zu Ah Horizonten von Ackerstandorten nach 24 h Batchversuch. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichungen aus drei Wiederholungen.

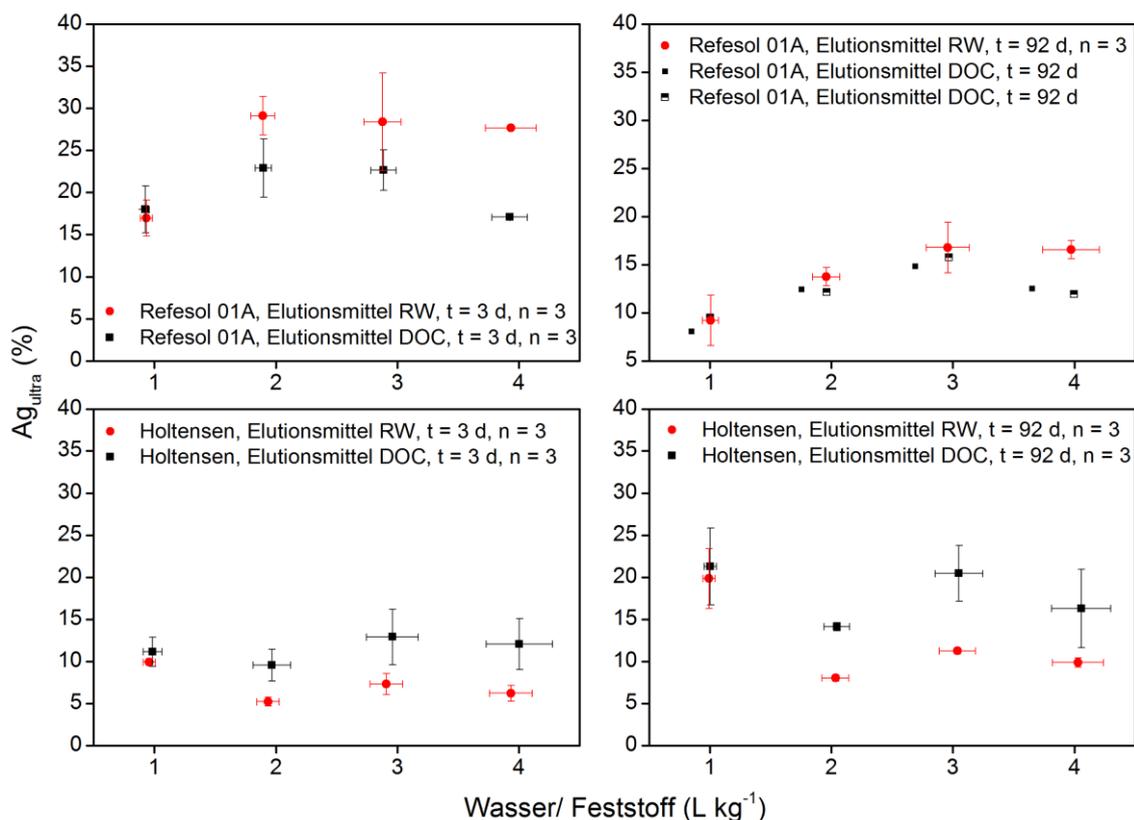


Abbildung 28: Freisetzung von Ag_{ultra} bezogen auf Ag_{total} dargestellt über das kumulierte Wasser zu Feststoff Verhältnis von zwei Oberböden (Refesol, $A_{total} = 1,41$ mg pro Säule und Holtensen, $Ag_{total} = 1,13$ mg pro Säule) nach drei und 92 Tagen.

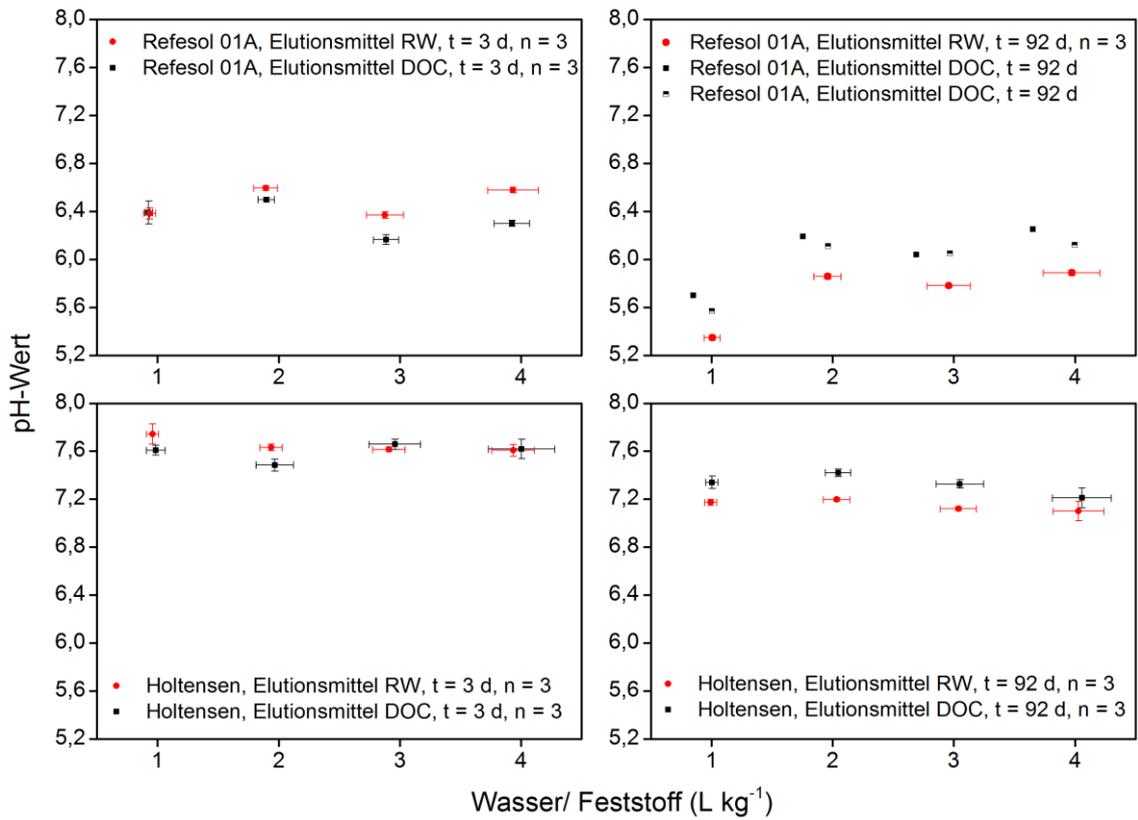


Abbildung 29: Darstellung des pH-Werts über die kumulierten Wasser zu Feststoff Verhältnisse zweier Oberböden (Refesol und Holtensen) nach drei (links) und 92 Tagen (rechts).

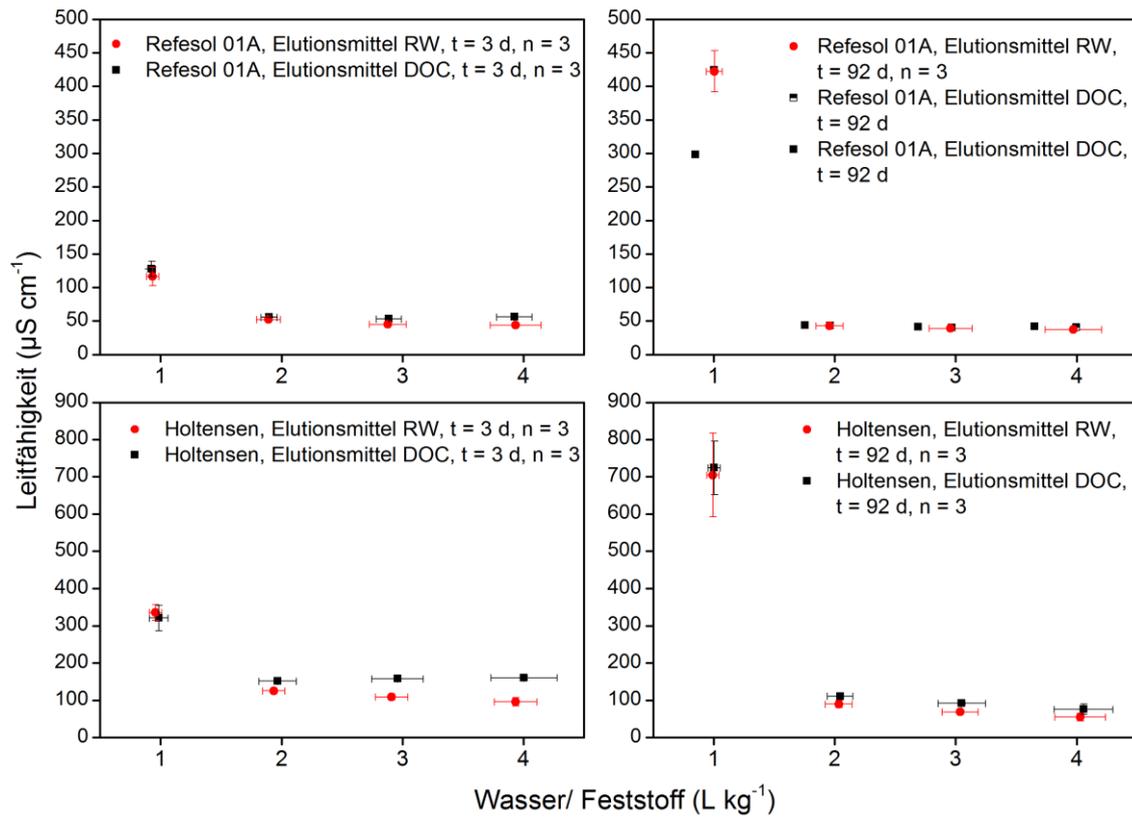


Abbildung 30: Darstellung der Leitfähigkeit über die kumulierten Wasser zu Feststoff Verhältnisse zweier Oberböden (Refesol und Holtensen) nach drei (links) und 92 Tagen (rechts).

Anhang C: Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht	
3. Titel Untersuchungen zur kolloidalen Stabilität und Retention von Silbernanopartikeln in Böden		
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Hoppe, Martin Utermann, Jens Mikutta, Robert Guggenberger, Georg Duijnisveld, Wilhelmus		5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.07.2013
		6. Veröffentlichungsdatum 31.01.2014
		7. Form der Publikation BGR Bericht
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe Stilleweg 2 30655 Hannover		9. Ber. Nr. Durchführende Institution B30222-09
		10. Förderkennzeichen 03X0091H
		11. Seitenzahl 86
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) Heinemannstraße 2 53170 Bonn		13. Literaturangaben 50
		14. Tabellen 10
		15. Abbildungen 30
16. Zusätzliche Angaben		
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)		
18. Kurzfassung <p>Die kolloidale Stabilität von Silbernanopartikeln (Ag ENP) wurde über Batch- und Säulenversuche im Kontakt mit Böden getestet. Die Analytik erfolgte mittels verschiedener Methoden (u. a. ICP-OES, ICP-MS, DLS, REM). Das OECD Standardmaterial (AgNM-300k) eignet sich für Tests in Umweltmedien, weil es im Vergleich zu Citrat stabilisierte Ag ENP eine hohe kolloidale Stabilität aufweist. AgNM-300k bleibt bei 24 h Batchtest mit Proben von ackerbaulich genutzten Böden (n=25) größtenteils kolloidal stabil (n=19), was ein Potential zur Mobilität in Böden anzeigt. Die hohe Retention von AgNM-300k in sechs untersuchten Böden wird auf hohe Tongehalte (>20 %) zurückgeführt. Die Inkubation von zwei mit AgNM-300k beladenen Böden zeigt eine relative geringe Freisetzung aus gestörten Bodensäulen von max. 1 % des zugegebenen Ag_{total} (Elution bei $W/F=1 \text{ L kg}^{-1}$). Dies impliziert eine Akkumulation der Ag ENP in Böden, wobei die Heteroaggregation mit Tonmineralen möglicherweise den steuernden Retentionsmechanismus darstellt.</p>		
19. Schlagwörter Silbernanopartikel, Ag ENP, OECD Standard, AgNM-300k, Boden, Batch- und Säulenversuche, Retention		
20. Verlag		21. Preis

Anhang D: Verantwortung

BGR, im Auftrag



(Dr. Michael Kosinowski)
(Abteilungsleiter B2)
(Grundwasser und Boden)

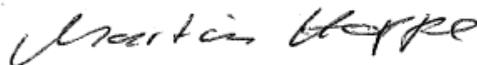


(Prof. Dr. Wilhelmus Duijnsveld)

(Dr. Jens Utermann)

(Prof. Dr. Georg Guggenberger)

(Dr. Robert Mikutta)



(Martin Hoppe)