

Schlussbericht UMSICHT

Zuweisungsempfänger: UBA - Umweltbundesamt	Förderkennzeichen: 03X0091D
---	--------------------------------

Vorhabensbezeichnung:

„Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“

Laufzeit des Vorhabens:

01. Mai 2010 bis 31. Juli 2013

UMSICHT

Umwelt 
Bundesamt

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Inhaltsverzeichnis

1	Kurzdarstellung	3
1.1	Aufgabenstellung.....	3
1.2	Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde.....	5
1.3	Planung und Ablauf des Vorhabens	7
1.4	Wissenschaftlicher und technischer Stand	7
1.5	Verwendete Fachliteratur	8
1.5.1	Literatur aus AP 2.1.2 und AP 2.1.3	8
1.5.2	Literatur aus AP 2.3.2	8
1.5.3	Literatur aus AP 3.2	12
1.6	Zusammenarbeit mit anderen Stellen.....	17
2	Darstellung des Projektverlaufs	17
2.1	Erzielte Ergebnisse.....	17
2.2	Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit der Ergebnisse	17
2.3	Während der Durchführung bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen	18
2.4	Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse.....	19
3	Verweis auf Anlagen	20

1 Kurzdarstellung

1.1 Aufgabenstellung

Das Gesamtziel des Verbundvorhabens war es, grundlegende Daten zu Verhalten, Verbleib und Wirkung von Silbernanopartikeln (Ag-NP) in Abhängigkeit der Umgebungsbedingungen zu erarbeiten sowie unter Berücksichtigung der Vorgehensweise in der Umweltbewertung von Stoffen eine exemplarische Risikoabschätzung durchzuführen.

Mit den Inhalten des Verbundvorhabens wurden damit die thematischen Schwerpunkte 2 und 3 der Ausschreibung aufgegriffen:

Themenschwerpunkt 2: Auswirkungen synthetischer Nanopartikel und –materialien auf die Umwelt

Themenschwerpunkt 3: Entwicklung von Messmethoden zur Charakterisierung von Nanopartikeln in der Umwelt

In einem interdisziplinären Ansatz sollte im Rahmen des Vorhabens eine Brücke zwischen Grundlagenerarbeitung und Praxisrelevanz geschlagen werden. Dazu wurden parallel freie Ag-NP mit klar definierten Eigenschaften und reale Ag-NP enthaltende Produkte in exemplarischen Nutzungsszenarien untersucht, um in einer Risikoanalyse zusammengeführt zu werden. Im Rahmen des Vorhabens sollten zudem Methoden entwickelt werden, die den Nachweis von Ag-NP sowie die Beurteilung ihres ökotoxikologischen Gefährdungspotenzials in relevanten Umweltmedien bzw. –kompartimenten ermöglichen.

Die gewählte Vorgehensweise in enger Kooperation zwischen Wissenschaft, Industrie und Umweltbehörde sollte eine umfassende praxisrelevante Gefährdungsabschätzung ermöglichen und Erkenntnisse für die Entwicklung neuer, sicherer Produkte mit Ag-NP liefern.

Das Vorhaben war so angelegt, dass das generierte Grundlagenwissen neben Textilien auch auf beliebige andere Produktgruppen angewendet werden kann.

Die Bearbeitung des Themas wurde in drei Teilziele gegliedert, denen verschiedene Teilaufgaben zugeordnet wurden.

Teilziel 1: Identifikation von Zusammenhängen zwischen spezifischen Nanomaterial-eigenschaften und Verhalten sowie Wirkung (Erarbeitung von generellen Aussagen)

Teilaufgabe 1.1 Herstellung und chemische Charakterisierung von Ag-NP mit spezifischen Eigenschaften

Teilaufgabe 1.2 Verhalten und Wirkung von Ag-NP mit spezifischen Eigenschaften

Es sollten gezielt Ag-NP hergestellt werden, die eine breite Palette an unterschiedlichen Eigenschaften (Größe, Kristallstruktur, Oberflächenladung, Hydrophilie, mit oder ohne Trägersubstanz) aufwiesen. Deren Verhalten, Verbleib und Wirkung sollte in Wasser, Sediment und Boden untersucht werden. Dabei sollten Wechselwirkungen zwischen Umgebungsmedium, Partikeleigenschaften und lebenden Organismen im Vordergrund stehen.

- Teilziel 2: Untersuchung des Verbleibs, der Exposition und Wirkung von Silber in Verbrauchsprodukten (produktspezifische Silber-NM)
- Teilaufgabe 2.1 Simulation nutzungsrelevanter Szenarien
 - Teilaufgabe 2.2 Charakterisierung der Exposition
 - Teilaufgabe 2.3 Charakterisierung von biologischen Effekten

An realen Textilprodukten sowie spezifisch hergestellten Textilmustern sollten die antibakterielle Wirkung und die Stabilität der Ag-NP im Produkt während der Nutzung inklusive Reinigung, der daraus resultierende Eintrag in die Umwelt sowie die Wirkung der Eintragsprodukte und der verwendeten Ag-NP in allen relevanten Umweltkompartimenten untersucht werden.

- Teilziel 3: Gefährdungs- und Risikoabschätzung für Silbernanomaterialien.
- Teilaufgabe 3 Gefährdungs- und Risikoabschätzung an spezifischen, idealisierten Szenarien

Basierend auf den Erkenntnissen aus den Teilzielen 1 und 2 sollte eine Gefährdungs- und Risikoabschätzung nach dem Stand der Technik exemplarisch durchgeführt werden.

Die hier vorgestellten Arbeiten des Partners UBA verfolgten vier Ziele (untergebracht in 4 Arbeitspaketen (AP) des Vorhabens UMSICHT) und arbeiteten dabei den Teilaufgaben 2.1 und 2.3 des Teilzieles 2, sowie der Teilaufgabe 3 zu:

Textilien werden mit Ag-NP ausgestattet um damit unter anderem eine keimabtötende Wirkung bei Kontakt mit dem Textilmaterial oder - beispielsweise bei in Räumen genutzten Gardinen - eine Verringerung des Keimgehaltes der Raumluft zu erzielen. Ziel des Arbeitspaketes 2.1.2 war es, die antimikrobielle Wirkung der Textilien zu bestimmen und den Einfluss der verschiedenen Ausrüstungen und Textilhilfsmittel auf die antimikrobielle Wirksamkeit zu untersuchen.

Umfassende Informationen zur Stabilität von repräsentativen, am Markt etablierten Produkten bei Gebrauch und Textilpflege unter simulierten Bedingungen zu erhalten und die Konzentration und Art freigesetzter Ag-NP sowie deren Agglomerate in Staub, Abrieb und Waschwasser zu erfassen, war das Ziel des Arbeitspaketes 2.1.3. UBA hat in diesem Arbeitspaket ergänzend zu den anderen Projektpartnern kommerziell erhältliche Verbraucherprodukte untersucht. An Bekleidungs- und Haushaltstextilien wurden produktspezifische Gebrauchssimulationen sowie Untersuchungen zur Alterung unter realen Tragebedingungen durchgeführt.

Ziel des Arbeitspaketes 2.3.2 war die Erfassung der Wirkung des Nanosilberproduktes NM-300K auf aquatische Organismen verschiedener Trophieebenen. Dabei sollten sowohl akute als auch chronische Standardtests nach Verordnungen (EG) des europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe, OECD Guidelines und Draft-Guidelines sowie DIN ISO-Normen zur Anwendung kommen. Soweit für die Applikation und Exposition von Ag-NP in diesen Testsystemen Modifikationen der Standardtests notwendig waren, sollten diese vorgenommen werden. Zudem sollten die Tests Informationen zum Einfluss der Nährmedien auf die Wirkung und Akkumulation der Ag-NP liefern. Im Verlauf der Durchführung der Tests sollten Proben für die Analytik und Partikelcharakterisierung genommen und in Zusammenarbeit mit Projektpartnern analysiert, charakterisiert und ausgewertet werden.

Schließlich wurde im Arbeitspaket 3.2 auf Grundlage der arbeiteten Daten zur Umweltexposition und zu den Umwelteffekten und unter Federführung des Partners UBA eine exemplarische Risiko- und Gefährdungsabschätzung des in UMSICHT untersuchten Ag-NP NM-300K vorgenommen. Dabei wurde entsprechend der Prinzipien des Stoffvollzugs des UBAs vorgegangen.

1.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das für das Vorhaben gewählte Thema "Silber-Nanopartikel" resultierte aus einer Literaturstudie des Umweltbundesamtes¹. Danach wurden bereits im Jahr 2010 jährlich 1.100 kg Nanosilber in umweltrelevanten Bereichen eingesetzt. Es wurde prognostiziert, dass bis zum Jahr 2015 die Einsatzmenge signifikant steigen wird, wobei die wesentlichen Zuwächse für Anwendungen mit Ag-NP erwartet werden. Die Kenntnisse bezüglich Wirkung, Verhalten und Verbleib von Ag-NP in der Umwelt waren bis zum Zeitpunkt der Antragstellung äußerst gering.

Der Einsatz von Ag-NP in vielfältigen Gebrauchsgegenständen steigt zunehmend und bezeugt damit ein beträchtliches wirtschaftliches Potenzial, wodurch aber auch eine zunehmende Umweltbelastung zu erwarten ist. Ein hoher Anteil fällt dabei auf den Einsatz in der Textilindustrie. Ziel der Ausrüstung mit Ag-NP ist eine antimikrobielle Wirkung sowie die biochemische Inhibition unangenehmer Gerüche. Insbesondere durch den Einsatz bei Sport- und Freizeitbekleidung lässt der Lebenszyklus der Produkte ein Umweltexpositionspotenzial erwarten (Produktion, Abrieb beim Gebrauch, Waschvorgang, Entsorgung).

Zum AP 2.1.2 Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit ausgewählter Textilien und AP 2.1.3 Produktspezifische Gebrauchssimulation, Exposition in Luft, Staub und Abrieb:

Studien zu möglichen Emissionen von Ag-NP in Produkten existierten bis zum Zeitpunkt der Antragstellung nicht; das Vorhaben sollte hier eine bedeutende Wissenslücke schließen. Mit Ag-NP ausgerüstete Textilien werden in den verschiedensten Bereichen eingesetzt. Es ist anzunehmen, dass Ag-NP-haltige ultrafeine Aerosole, die bereits als arbeits-medizinisches Problem beschrieben wurden (Barig 2002), bei Produktionsschritten in das Umweltmedium Luft gelangen können. Die Gebrauchsbeanspruchung von Textilien kann zu einer Beeinträchtigung wie auch zu einem Verlust der Ausrüstung, insbesondere der Ag-NP, führen und hängt vom Anwendungsbereich ab. Gebrauchsdauer, Umwelteinflüsse, mechanische und thermische Einflüsse sowie Feuchtigkeit können zur Alterung der Textilien und auch der verwendeten Fasern und Ausrüstungschemikalien führen. Eine Freisetzung von Partikeln, die Ag-NP-Strukturen enthalten können, in die Luft ist damit bei der Nutzung zu erwarten.

Zum AP 2.3.2 Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme:

Zu ökotoxikologischen Wirkungen von Ag-NP auf Organismen in Gewässern, Sedimenten oder Böden gab es zum Zeitpunkt der Antragstellung nur wenige Untersuchungen, die zumeist auf akute Studien beschränkt war. Bestehende Studien zeigten, dass die durch Ag verursachte Mortalität von Daphnien (Crustacea) bei NP viermal höher ist als bei mikroskaligem Silber, und höhere Konzentrationen zudem eine Reduktion der Größe der Tiere bewirken (Gaiser *et al.* 2009). Embryonen des Zebrafischlings *Danio rerio* nehmen Ag-NP über passive Diffusion auf und zeigen besonders in frühen Stadien mit steigenden

¹ UBA, FKZ 360 04 020; Beurteilung der Gesamtumweltexposition von Silberionen aus Biozid-Produkten.

Konzentrationen zunehmende Deformationsraten. Oberhalb einer Konzentration von 0,19 nM erfolgt eine Zunahme der Mortalitätsrate (Lee *et al.* 2007).

Die toxische Wirkung von Ag-NP beruht - wie auch die Wirkung nicht kolloidalen Silbers - auf die Abgabe von Silberionen. Ag-NP könnten jedoch aufgrund der großen Oberfläche im Verhältnis zur Masse effektiver sein. Ferner könnten die Partikel Zellbarrieren überwinden, so dass die Ionen dort direkt ihre Wirkung entfalten könnten. Durch Aufnahme der Partikel könnte so mehr Silber von den Zellen internalisiert werden als bei vergleichbarer Exposition von Ag⁺. Ein Vergleich der Wirkung von Nanosilber mit der Wirkung freier Silberionen in der Ökotoxikologie ist daher von besonderem Interesse.

Zum AP 3.2 Gefährdungs- und Risikoabschätzung:

Eine Umwelt-Risikobewertung für Ag-NP konnte bis zum Zeitpunkt der Antragstellung nicht erfolgen, da die Expositionspfade nicht untersucht waren und auch die Datenlage zur Ökotoxikologie zu gering war. Verlässliche Messmethoden zur notwendigen Charakterisierung der Expositionssituation von Ag-NP in verschiedenen Umweltmedien fehlten und fehlen nach wie vor. Ansätze zur Modellierung von Umweltkonzentrationen lagen zum Zeitpunkt der Antragstellung kaum vor und sind auch heute noch geprägt von Unsicherheiten bezüglich ihrer Aussagekraft, da notwendige Informationen zu den NP oftmals fehlen. Die zum Zeitpunkt der Antragstellung publizierten Wirkungen von Ag-NP auf Umweltorganismen sind ernst zu nehmen. Eine Beeinträchtigung der Organismen in Boden, Sediment und Wasser durch Ag-NP konnte danach nicht ausgeschlossen werden.

Publizierte Ansätze zur Umweltrisikobewertung von Nanomaterialien erfolgen zurzeit nach dem „Case-by-Case“-Prinzip und sind oft lückenhaft. Dies ist unter anderem dadurch bedingt, dass die zur Gefährdungsbewertung notwendigen Daten aus Standardtestverfahren zumeist nicht vollständig für ein spezifisches Nanomaterial vorliegen und die Charakterisierungsdaten der einzelnen Studien oftmals mangelhaft sind, so dass unklar ist, ob Daten aus verschiedenen Studien für die Umweltrisikobewertung eines Nanomaterials genutzt werden könnten. Durch den umfangreichen Datensatz zum Ag-NP NM-300K wurde dieses Defizit in UMSICHT umgangen.

Zum Partner UBA:

Das Umweltbundesamt (UBA) besteht seit 1974 und versteht sich als wissenschaftliche Behörde. Zentrale Aufgabe des UBAs ist die Beobachtung und Bewertung des Zustandes der Umwelt. Das UBA berät die Politik und arbeitet an Gesetzesvorschlägen mit. Es betreibt eigene Labore, Simulationsanlagen und Messstationen, in denen Umweltdaten erhoben werden. Neben den wissenschaftlichen Arbeiten sind der Vollzug der Umweltgesetze – beispielsweise das Chemikalien- oder das Treibhausgas-Emissionshandelsgesetz – als auch die Information der Bürgerinnen und Bürger in Fragen des Umweltschutzes weitere Arbeitsschwerpunkte.

Der Fachbereich IV (Chemikaliensicherheit) befasst sich mit dem Schutz von Mensch und Umwelt vor gefährlichen Chemikalien. Die Mitarbeiter untersuchen und bewerten umweltbelastende Stoffe und Zubereitungen. Der Fachbereich IV ist Bewertungsstelle für Umweltrisiken von Stoffen. Er ist im Vollzug des Biozidgesetzes, Pflanzenschutzgesetzes, Arzneimittelgesetzes und Infektionsschutzgesetzes involviert.

Die Regelungen zur Chemikaliensicherheit werden überwiegend durch das Recht der Europäischen Union bestimmt. Die Bewertungsmethoden sind aber europäisch abgestimmt und das UBA ist in die Stoffbewertung auf europäischer Ebene involviert. Darüber hinaus wirkt der

FB IV an der Weiterentwicklung von geeigneten Methoden zur Bewertung von Umweltrisiken mit, u. a. auch mit eigenem ökotoxikologischem Labor. Dies beinhaltet auch die Erarbeitung von neuen oder Anpassung von Bewertungsmethoden für neuartige Stoffe wie Nanomaterialien und die Implementierung von Regeln zu diesen in die bestehenden Stoffgesetze.

1.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Der Arbeits- und Zeitplan des UBA konnte im Wesentlichen eingehalten werden. Bedingt durch die Verzögerungen einiger Arbeiten im AP 2 konnten die Arbeiten zur Risiko- und Gefährdungsabschätzung nicht rechtzeitig starten. Daher beantragte das UBA eine 3-monatige Verlängerung der Laufzeit. Die Arbeiten zur Risiko- und Gefährdungsabschätzung wurden in enger Zusammenarbeit mit den Partnern des AP, insbesondere mit Partner IME durchgeführt. Die Ergebnisse der Risiko- und Gefährdungsabschätzung wurden mit den Partnern rückgekoppelt.

Die Ergebnisse zu Umweltverhalten und Ökotoxikologie des Nanosilbers NM-300K wurden zeitgerecht an die OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials geliefert und unterstützten das Dossier zu Nanosilber im OECD Sponsorship Programme on the Testing of Manufactured Nanomaterials.

Zur einheitlichen und ausführlichen Dokumentation der Ergebnisse wurde auf der Internetplattform „NANOhub“ des Instituts für Gesundheits- und Verbraucherschutz (IHCP) des Joint Research Centre (JRC) der Europäischen Kommission eine Projektinstallation für UMSICHT eingerichtet: <http://napira.jrc.ec.europa.eu/>. Hier konnten endpunktbezogen alle Ergebnisse zu NM-300K dokumentiert werden. Über diese Datenbank wurden die Ergebnisse an das OECD Sponsorship Programm zu Nanosilber transferiert.

1.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand

Zu Projektbeginn lagen keine umfassenden, systematischen Studien zur Ökotoxikologie und zum Umweltverhalten von Nanosilber vor. Während der Projektlaufzeit erschienen zahlreiche Arbeiten, die sich mit Umweltverhalten und -wirkung von nanoskaligem Silber befassten. Allerdings waren und sind diese Studien oftmals schwer vergleichbar, da die untersuchten Silbermaterialien in Größe, Form, Funktionalisierung oder verwendeten Dispersionsmittel variieren, die Charakterisierungsdaten nicht ausreichend sind oder die Testmethoden bzw. die Testvorbereitung und Probenapplikation nicht genügend beschrieben sind. Daher hatte das OECD Sponsorship Programm der OECD WPMN den Anspruch für eine Reihe ausgewählter, marktrelevanter Nanomaterialien u. a. für Nanosilber anhand standardisierter Testrichtlinien ein umfangreiches Datenset mit Informationen zu den physikalisch-chemischen Eigenschaften, zu Umweltverhalten und -wirkung, sowie zur Ökotoxikologie zu generieren und in Form von Dossiers zusammenzustellen.

Eines der für das Dossier zu Nanosilber vorgesehenen Nanomaterialien ist NM-300K. Proben dieses Nanosilbers aus einer definierten Charge wurde dem UMSICHT-Konsortium zur Verfügung gestellt. Hiermit wurden vor allem nach OECD Richtlinien standardisierte Untersuchungen zur Umweltwirkung vorgenommen, so dass anhand der Arbeiten im UMSICHT-Projekt ein umfangreicher Datensatz zu NM-300K zur Verfügung steht, mit dem eine Gefährdungsabschätzung vorgenommen werden kann. Da nach wie vor die Ableitung von Umwelt-

expositionswerten von Nanomaterialien nur schwer möglich und mit starken Unsicherheiten verbunden ist, kann keine abschließende Risikobewertung von NM-300K erfolgen. Die Ableitung der Umweltexposition von Nanosilber aus Textilien ist aber untersucht worden und die exemplarische Risikobewertung erfolgte auf dieser Grundlage.

1.5 Verwendete Fachliteratur

1.5.1 Literatur aus AP 2.1.2 und AP 2.1.3

- Barigig, A., Überblick zur Expositionssituation; BIA/BG-Symposium Allgemeiner Staubgrenzwert, 2002
- Arbeitsgruppe „Textilien“ des BfR, Gesundheitliche Bewertung von Textilien und – farbmitteln, 2006
- S. Greßler, M. Simkó, A. Gzásó, U. Fiedeler, M. Nentwich, Nano-Textilien. Nano trust Dossiers Nr.015, Januar 2010
- A. Synytska, C. Bellmann, S. Ripperger, C. Schnitzler, C. Cherif, B. Lehmann, Funktionalisierung von textilen Flächengebilden, ein Verfahren zu ihrer Herstellung und Verwendung. Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V., Aktenzeichen: DE 10 2010 028 662 A1, 2011
- S. A. Blaser, M. Scheringer, M. MacLeod, K. Hungerbühler, Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles: Science of the total environment 390 (2008) 396-409, 2007
- T.M. Benn, P. Westerhoff, Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially Available Sock Fabrics. Environ. Sci. Technol., 4133-4139, 2008
- T.Kuhlbusch, C.Nickel, Emission von Nanopartikeln aus ausgewählten Produkten in ihrem Lebenszyklus, UBA-Texte, FKZ 3708 61 300, 2010
- F. Effenberger, Anwendungsfelder in Textilien, Band Nanotechnologie in Kunststoff, Hessisches Ministerium für Wirtschaft, Verkehr und Landesentwicklung, 2009
- C. Som, B. Nowack, P. Wick, H. Krug, Nanomaterialien in Textilien: Umwelt-, Gesundheits- und Sicherheits-Aspekte, Swiss Textiles, EMPA Materials Science & Technology, 2010
- L. Gail, H.-P. Hortig, Textile Reinraumbekleidung, Reinraumtechnik, VDI-Buch, 319-356, 2004
- S. Löchtefeld, Nanopartikel – Anwendungen und mögliche Risiken, Baden-Württemberg Ministerium für Arbeit und Soziales, 2006
- A. Kolbe, H. Markwitz. "Verwendung eines textilen mikrobioziden Speichers." Application 102006056977, 2006.
- A. Epp, M. Lohmann, J. Thier-Kundke, C. Kneuer, F. Herzberg, M. Götz, A. Luch, Sicherheit von Nanosilber in Verbraucherprodukten: Viele Fragen sind noch offen. UMID, 30.2011

1.5.2 Literatur aus AP 2.3.2

Asghari, S., Johari, S. A., Lee, J. H., Kim, Y., S., Jeon, Y. B., Choi, H., J., Moon, M. C., Yu, I. J.: Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. Journal of Nanobiotechnology 2012, 10:14, <http://www.jnanobiotechnology.com/content/10/1/14>, 2012.

Arbeitsgruppe „Textilien“ des BfR: Gesundheitliche Bewertung von Textilhilfsmitteln und –farbmitteln. 2006.

Barig, A.: Überblick zur Expositionssituation. BIA/BG-Symposium, Allgemeiner Staubgrenzwert. 2002

Schlussbericht UMSICHT

- Baumann, J., Sakka, Y., Bertrand, C., Köser, J., Filser, J.: Adaptation of the *Daphnia* sp. acute toxicity test: miniaturization and prolongation for the testing of nanomaterials. *Environ Sci Pollut Res.*, DOI 10.1007/s11356-013-2094-y. 2013.
- Benn, T.M. & Westerhoff, P.: Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially Available Sock Fabrics. *Environmental Science & Technology*. 42 (11), 4133-4139. 2008.
- Berne, B. J., Pecora, R.: *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. Publisher: Wiley, New York, Dover reprint. 1976, 2000.
- BMU/UBA Umweltpolitik: *Wasserwirtschaft in Deutschland, Teil 2 – Gewässergüte*. 2006.
- DIN 38412-33: *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen (L 33)*
- DIN EN 28692: *Wasserbeschaffenheit; Wachstumshemmtest mit den Süßwasseralgen Scenedesmus subspicatus und Selastrum capricornutum* .
- DIN EN ISO 11348-2: *Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest), Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien (Mai 2009)*
- Fabrega, J., Luoma, S.N., Tyler, C.R., Galloway, T.S., Lead, J.R.: Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ Int.* 2011 Feb;37 (2):517-31. doi: 10.1016/j.envint. 2010.10.012. Epub 2010 Dec 14. 2010.
- Fedotov, P. S., Vanifatova, N. G., Shkinev, V. M., Spivakov, B. Y.: Fractionation and characterization of nano- and microparticles in liquid media. *Anal Bioanal Chem* 400:1787–1804. 2011
- Filser et al.: Antrag zum Verbundvorhaben „UMSICHT“ im Rahmen der Ausschreibung „NanoNature: Nanotechnologien für den Umweltschutz – Auswirkungen synthetischer Nanomaterialien auf die Umwelt“, Januar 2010.
- Gaiser, B. K., Fernandes, T.F., Jepson, M., Lead, J.R., Tyler, C.R., Stone, V.: Assessing exposure, uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles from contaminated environments. *Environ Health* 8:S2. 2009.
- Gaiser et al.: Comparison of nanoparticle toxicity in the invertebrate *Daphnia magna* and a human Cell line, Abstract book, SETAC Europe, 18th Annual Meeting, Warswa, Poland, 2008
- Geranio, L., Heuberger, M., Nowack, B.: The Behavior of Silver Nanotextiles during Washing. *Environ. Sci. Technol.* 43: 8113–8118. 2009.
- Glover, C.N. & Wood, C.M.: Accumulation and elimination of silver in *Daphnia magna* and the effect of natural organic matter. *Aquatic Toxicology*, 73 (4), 406-417. 2005.
- Hagemann, H. J., Gudat, W. and Kunz, C.: Optical constants from the far infrared to the x-ray region. *J. Opt. Soc. Am.*, 65, 742, 1975.
- Harris, A.T. & Bali, R.: On the formation and extent of uptake of silver nanoparticles by live plants. *Journal of Nanoparticle Research*. 10, 691-695. 2008.
- Huang, L., Wang, D., Tang, H., Wang, S.: Separation and purification of nano-Al13 by UF method. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 275: 200–208. 2006.
- Hund-Rinke, K., Schlich, K., Wenzel, A.: TiO₂ nanoparticles – Relationship between dispersion preparation method and ecotoxicity in the algal growth test. *Umweltwissenschaften und Schadstoffforschung*, 22:517–528, DOI 10.1007/s12302-010-0147-0, 2010.

Schlussbericht UMSICHT

Klein, C. L., Comero, S., Stahlmecke, B., Romazanov, J., Kuhlbusch, T. A. J., Van Doren, E., De Temmerman, P.-J., Mast, J., Wick, P., Krug, H., Locoro, G., Hund-Rinke, K., Kördel, W., Friedrichs, S., Maier, G., Werner, J., Linsinger, T., Gawlik, B. M.: NM-300 silver characterisation, stability, homogeneity. EUR—Scientific and Technical Research Reports, JRC Publication No. JRC60709, EUR 24693 EN, Publications Office of the European Union. doi:10.2788/23079. 2011.

Köser, J.: Lichtstreuung in trüben Flüssigkeiten. Dissertation / PhD thesis, Universität Bremen. 2007.

Laruelle, S., Nørgaard Sørensen, S., Cupi, D., Engelbrekt, C., Veinot, J., Baun, A.: Understanding Toxicity of Silver Nanoparticles to Green Algae - Towards a Biotic Ligand . Posterbeitrag SETAC Europe 2013, Glasgow, UK. 2013.

Lesser MP (2006) Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annu Rev Physiol* 68:253–278

Liu, J., Sonshine, D. A., Shervani, S., Hurt, R. H.: Controlled Release of Biologically Active Silver from Nanosilver Surfaces. *ACS Nano*, 2010, 4 (11), pp 6903–6913, DOI: 10.1021/nn102272n. 2010

Maletzki, D., Hünken, A., Hübner, I., Kussatz, C.: *Myriophyllum spicatum* als ökotoxikologischer Testorganismus: Methodenentwicklung eines sedimentfreien Testsystems und erste Ergebnisse mit 3,5-Dichlorphenol. *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung*, Volume 22, Issue 6, pp 702-710. 2010.

Mohanraj, V. J., Chen, Y.: Nanoparticles – A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, June 2006; 5 (1): 561-573. 2006.

Morones, J.R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K. Kouri, J. B., Ramírez, J. T., Yacaman, M. J.: The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346-2353. 2005.

Morones-Ramirez, J.R., Winkler, J. A., Spina, C. S., Collins, J.J.: Silverenhances antibiotic activity against gram-negative bacteria. *Sci Transl Med.*;5(190):190ra81. doi: 10.1126/scitranslmed.3006276. 2013.

Muth-Köhne, E., Sonnack, L., Schlich, K., Hischen, F., Baumgartner, W., Hund-Rinke, K., Schäfers, C., Fenske, M.: The toxicity of silver nanoparticles to zebrafish embryos increases through sewage treatment processes. *Ecotoxicology*. DOI 10.1007/s10646-013-1114-5. 2013.

Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Niksa, O., Sigg, L., Behra, R.: Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Sci. Technol.* 42: 8959–8964. 2008.

Neter, J., Wasserman, W., Kutner, M. H.: *Applied Linear Statistical Models*. 3rd ed. Irwin, Boston, MA. 1184 pp. 1990.

Nichols, J.W. , Brown, S., Wood, C. M., Walsh, P. J., Playle, R.: Influence of salinity and organic matter on silver accumulation in Gulf toadfish (*Opsanus beta*). *Aquatic Toxicology*, 78(3), 253-261. 2006.

OECD Guideline Draft “Fish Embryo Toxicity (FET) Test” (2006).

OECD Guideline Draft “Protozoa Activated Sludge Phagocytosis Inhibition Test” (2009).

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 201 (2006): “Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test”.

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 204 (2004): „Daphnia sp. Acute Immobilisation Test“.

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 211 (1998): „Daphnia magna Reproduction Test“.

Schlussbericht UMSICHT

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 221 (2006): "Lemna sp. Growth Inhibition Test".

OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials, WPNM. 2008.

Oromieh, A. G.: Evaluating solubility, aggregation and sorption of nanosilver particles and silver ions in soils. Master's Thesis in Environmental Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Soil and Environment. 2011.

Pavlostathis, S.G. & Maeng, S.K.: Aerobic biodegradation of a silver-bearing photoprocessing wastewater. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(4), 617-624, 1998.

Pavlostathis, S.G. & Maeng, S.K.: Fate and effect of silver on the anaerobic digestion process. *Water Research*, 34(16), 3957-3966. 2000.

Posthuma, L., Suter II, G. W., Traas, T. P.: *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. 587 pp. 2002.

Ratte, H.T.: *Silberverbindungen: Umweltverhalten, Bioakkumulation, Toxizität*. Verlagsgruppe Hüthig, Jehle und Rehm, Landsberg. 1998.

Ribeiro, F., Gallego-Urrea, J. A., Jurkschat, K., Crossley, A., Hassellöv, M., Taylor, C., Soares, A. M. V. M., Loureiro, S.: Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Science of the Total Environment* 466–467 (2014) 232–241. 2013 (online).

Römer, I., White, T.A., Baalousha, M., Chipman, K., Viant, M.R., Lead, J.R.: Aggregation and dispersion of silver nanoparticles in exposure media for aquatic toxicity tests. *Journal of Chromatography A*. 1218 (2011) 4226–4233. 2011

Schlich, K., Klawonn, T., Terytze, K., Hund-Rinke, K.: Hazard assessment of a silver nanoparticle in soil applied via sewage sludge. *Environmental Sciences Europe*, 25:17, 2013.

Simon, H. U., Haj-Yehia, A., Levi-Schaffer, F.: Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis* 5:415–418. 2000)

Stieß, M.: *Mechanische Verfahrenstechnik*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1995.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA): *Methods/indicators for determining when metals are the cause of biological impairments of rivers and streams: species sensitivity distributions and chronic exposure-response relationships from laboratory data*. Cincinnati, Ohio, U.S. EPA, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment. 2005.

Verordnung (EG) Nr. 761/2009 der Kommission vom 23. Juli 2009 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) zwecks Anpassung an den technischen Fortschritt, Anhang IV, C.3. „Süßwasseralgen und Cyanobakterien: Wachstumsinhibitionstest“.

Verordnung (EG) Nr. 761/2009 der Kommission vom 23. Juli 2009 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) zwecks Anpassung an den technischen Fortschritt, Anhang IV, C.26. „Lemna sp. – Wachstumsinhibitionstest“.

Verordnung (EG) Nr. 440/2008 der Kommission vom 30. Mai 2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung,

Schlussbericht UMSICHT

Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), C.2. "Daphnia sp.- Test auf akute Schwimmfähigkeit".

Verordnung (EG) Nr. 440/2008 der Kommission vom 30. Mai 2008 zur Festlegung von Prüfmethoden gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), C.20. „Daphnia magna, Reproduktionstest“.

Völker, C., Boedicker, C., Daubenthaler, J., Oetken, M., Oehlmann, J.: Comparative Toxicity Assessment of Nanosilver on Three Daphnia Species in Acute, Chronic and Multi-Generation Experiments. PLOS ONE, October 2013 | Volume 8 | Issue 10 | e75026. 2013.

Völker, C., Oetken, M., Oehlmann, J.: The biological effects and possible modes of action of nanosilver. Rev Environ Contam Toxicol 223: 81–106. 2013.

Wang, Z., Chen, J., Li, X., Shao, J., Peijnenburg, W.J.G.M.: Aquatic toxicity of nanosilver colloids to different trophic organisms: Contributions of particles and free silver ion. Environ Toxicol Chem 31: 2408–2413. 2012.

Wood, C.M., Grosell, M., Hogstrand, C., Hansen, H.: Kinetics of radiolabelled silver uptake and depuration in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European eel (*Anguilla anguilla*): the influence of silver speciation. Aquatic Toxicology. 56(3), 197-213. 2002.

Zhao, C.M., Wang, W.X.: Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. Environ Toxicol Chem ;30:885–92, 2011

1.5.3 Literatur aus AP 3.2

Ahamed, M., Alsalmi, M.S., Siddiqui, M.K., 2010. Silver nanoparticle applications and human health. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 411, 1841-1848.

Allen, H.J., Impellitteri, C.A., Macke, D.A., Heckmann, J.L., Poynton, H.C., Lazorchack, J.M., Govindaswamy, S., Roose, D.L., Nadagouda, M.N., 2010. Effects from Filtration, Capping Agents, and Presence/Absence of Food on the Toxicity of silver nanoparticles to *Daphnia magna*. Environ Toxicol Chem 29, 2742 - 2750.

Annear, D.I., Mee, B.J., Bailey, M., 1976. Instability and linkage of silver resistance, lactose fermentation, and colony structure in *Enterobacter cloacae* from burn wounds. Journal of clinical pathology 29, 441-443.

Arora, S., Jain, J., Rajwade, J.M., Paknikar, K.M., 2009. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. Toxicology and applied pharmacology 236, 310-318.

Asghari, S., Johari, S.A., Lee, J.H., Kim, Y.S., Jeon, Y.B., Choi, H.J., Moon, M.C., Yu, I.J., 2012. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. Journal of nanobiotechnology 10, 14.

AshaRani, P.V., Low Kah Mun, G., Hande, M.P., Valiyaveetil, S., 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. ACS nano 3, 279-290.

Baun, A., Hartmann, N.B., Grieger, K.D., Hansen, S.F., 2009. Setting the limits for engineered nanoparticles in European surface waters - are current approaches appropriate? Journal of environmental monitoring : JEM 11, 1774-1781.

Benn, T.M., Westerhoff, P., 2008. Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially available Sock Fabrics. Environ Sci Technol 42, 4133-4139.

Bilberg, K., Hovgaard, M.B., Besenbacher, F., Baatrup, E., 2012. In Vivo Toxicity of Silver Nanoparticles and Silver Ions in Zebrafish (*Danio rerio*). Journal of toxicology 2012, 293784.

Schlussbericht UMSICHT

- Blaser, S.A., Scheringer, M., Macleod, M., Hungerbühler, K., 2008. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *The Science of the total environment* 390, 396-409.
- Boxall, A.B., Tiede, K., Chaudhry, Q., 2007. Engineered nanomaterials in soils and water: how do they behave and could they pose a risk to human health? *Nanomedicine* 2, 919-927.
- Bundesanstalt für Risikobewertung, 2010. BfR rät von Nanosilber in Lebensmitteln und Produkten des täglichen Bedarfs ab. Stellungnahme Nr. 024/2010 des BfR vom 28. Dezember 2009.
- Bundesministerium für Umwelt, N.u.R., 2006. Entsorgung von Siedlungs- und Gewerbeabfällen, in: Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Reaktorsicherheit (Eds.).
- Burkhardt, M., Englert, A., Iten, R., Schärer, S., 2011. Entsorgung nanosilberhaltiger Abfälle in der Textilindustrie - Massenflüsse und Behandlungsverfahren. Forschungsbericht, HSR Hochschule für Technik, Rapperswil, Schweiz.
- Carlson, C., Hussain, S.M., Schrand, A.M., Braydich-Stolle, L.K., Hess, K.L., Jones, R.L., Schlager, J.J., 2008. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *The journal of physical chemistry. B* 112, 13608-13619.
- Chae, Y.J., Pham, C.H., Lee, J., Bae, E., Yi, J., Gu, M.B., 2009. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic toxicology* 94, 320-327.
- Chaloupka, K., Malam, Y., Seifalian, A.M., 2010. Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. *Trends in biotechnology* 28, 580-588.
- Choi, O., Clevenger, T.E., Deng, B., Surampalli, R.Y., Ross, L., Jr., Hu, Z., 2009. Role of sulfide and ligand strength in controlling nanosilver toxicity. *Water research* 43, 1879-1886.
- Chopra, I., 2007. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 59, 587-590.
- Cong, Y., Banta, G.T., Selck, H., Berhanu, D., Valsami-Jones, E., Forbes, V.E., 2011. Toxic effects and bioaccumulation of nano-, micron- and ionic-Ag in the polychaete, *Nereis diversicolor*. *Aquatic toxicology* 105, 403-411.
- Cowart, D.A., Guida, S.M., Shah, S.I., Marsh, A.G., 2011. Effects of Ag nanoparticles on survival and oxygen consumption of zebra fish embryos, *Danio rerio*. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering* 46, 1122-1128.
- Danish Ministry of the Environment, 2012. Assessment of nanosilver in the textiles on the Danish market. Environmental Project No. 1432.
- Deutsche Krankenhausgesellschaft, 2007. Zahlen, Daten, Fakten.
- Deutschland, B., 1993. TA-Siedlungsabfall - Technische Anleitung zur Verwertung, Behandlung und sonstigen Entsorgung von Siedlungsabfällen.
- Ellegaard-Jensen, L., Jensen, K.A., Johansen, A., 2012. Nano-silver induces dose-response effects on the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and environmental safety* 80, 216-223.
- Fabrega, J., Luoma, S.N., Tyler, C.R., Galloway, T.S., Lead, J.R., 2011. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ.Int.* 37, 517-531.
- Franke, S., 2007. Microbiology of the Toxic Noble Metal Silver, in: Nies, D., Silver, S. (Eds.), *Molecular Microbiology of Heavy Metals*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 343-355.

Schlussbericht UMSICHT

- Geranio, L., Heuberger, M., Nowack, B., 2009. The Behaviour of Silver Nanotextiles during Washing. *Environ Sci Technol* 43, 8113-8118.
- Gomes, S.I., Novais, S.C., Scott-Fordsmand, J.J., De Coen, W., Soares, A.M., Amorim, M.J., 2012. Effect of Cu-nanoparticles versus Cu-salt in *Enchytraeus albidus* (Oligochaeta): differential gene expression through microarray analysis. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP* 155, 219-227.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B., 2009. Modeled Environmental Concentrations of Engineered Nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for Different Regions. *Environ Sci Technol* 43, 9216 - 9222.
- Griffitt, R.J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J.-C., Barber, D.S., 2008. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 1972-1978.
- Gubbins, E.J., Batty, L.C., Lead, J.R., 2011. Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environmental pollution* 159, 1551-1559.
- Gupta, A., Matsui, K., Lo, J.F., Silver, S., 1999. Molecular basis for resistance to silver cations in *Salmonella*. *Nature medicine* 5, 183-188.
- Hänsch, M., Emmerling, C., 2010. Effects of silver nanoparticles on the microbiota and enzyme activity in soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173, 554-558.
- Heidkamp, A., 2005. Pedotransfer-Funktionen zur Sorption von Schwermetallen in Waldböden. Dissertation, Institut für Bodenkunde der Universität Hannover, 169.
- Hund-Rinke, K., Klawonn, T., 2012. Investigation of widely used nanomaterials (TiO₂, Ag) and gold nanoparticles in standardized ecotoxicological tests, Final Report, Federal Environment Agency Germany.
- Impellitteri, C.A., Harmon, S., Silva, R.G., Miller, B.W., Scheckel, K.G., Luxton, T.P., Schupp, D., Panguluri, S., 2013. Transformation of silver nanoparticles in fresh, aged, and incinerated biosolids. *Water research*.
- Kaegi, R., Voegelin, A., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Burkhardt, M., Siegrist, H., 2011. Behavior of metallic silver nanoparticles in a pilot wastewater treatment plant. *Environ Sci Technol* 45, 3902-3908.
- KEMI, S.C.A., 2012. Antibacterial substances leaking out with the washing water –analyses of silver, triclosan and triclocarban in textiles before and after washing.
- Kennedy, A.J., Hull, M.S., Bednar, A.J., Goss, J.D., Gunter, J.C., Bouldin, J.L., Vikesland, P.J., Steevens, J.A., 2010. Fractionating nanosilver: importance for determining toxicity to aquatic test organisms. *Environ.Sci.Technol.* 44, 9571-9577.
- Kim, B., Park, C.-S., Murayama, M., Hochella, M.F., 2010a. Discovery and Characterization of Silver Sulfide Nanoparticles in Final Sewage Sludge Products. *Environ Sci Technol* 44, 7509 - 7514.
- Kim, B., Park, C.S., Murayama, M., Hochella, M.F., 2010b. Discovery and Characterization of Silver Sulfide Nanoparticles in Final Sewage Sludge Products. *Environmental Science & Technology* 44, 7509-7514.
- Kim, J., Kim, S., Lee, S., 2011. Differentiation of the toxicities of silver nanoparticles and silver ions to the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and the cladoceran *Daphnia magna*. *Nanotoxicology* 5, 208-214.
- Laban, G., Nies, L., Turco, R., Bickham, J., Sepúlveda, M., 2010. The effects of silver nanoparticles on fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology* 19, 185-195.

Schlussbericht UMSICHT

- Lee, Y.J., Kim, J., Oh, J., Bae, S., Lee, S., Hong, I.S., Kim, S.H., 2012. Ion-release kinetics and ecotoxicity effects of silver nanoparticles. *Environ Toxicol Chem* 31, 155-159.
- Levard, C., Reinsch, B.C., Michel, F.M., Oumahi, C., Lowry, G.V., Brown, G.E., 2011. Sulfidation processes of PVP-coated silver nanoparticles in aqueous solution: impact on dissolution rate. *Environ Sci Technol* 45, 5260-5266.
- Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P.-H., Chiu, J.-F., Che, C.-M., 2007. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem* 12, 527-534.
- Lorenz, C., Windler, L., von Goetz, N., Lehmann, R.P., Schuppler, M., Hungerbuhler, K., Heuberger, M., Nowack, B., 2012. Characterization of silver release from commercially available functional (nano)textiles. *Chemosphere* 89, 817-824.
- Lowry, G.V., Espinasse, B.P., Badireddy, A.R., Richardson, C.J., Reinsch, B.C., Bryant, L.D., Bone, A.J., Deonaraine, A., Chae, S., Therezien, M., Colman, B.P., Hsu-Kim, H., Bernhardt, E.S., Matson, C.W., Wiesner, M.R., 2012a. Long-term transformation and fate of manufactured ag nanoparticles in a simulated large scale freshwater emergent wetland. *Environ Sci Technol* 46, 7027-7036.
- Lowry, G.V., Gregory, K.B., Apte, S.C., Lead, J.R., 2012b. Transformations of nanomaterials in the environment. *Environ Sci Technol* 46, 6893-6899.
- Ma, R., Levard, C., Marinakos, S.M., Cheng, Y., Liu, J., Michel, F.M., Brown, G.E., Lowry, G.V., 2012. Size-controlled dissolution of organic-coated silver nanoparticles. *Environ Sci Technol* 46, 752-759.
- Mikkelsen, S.H., Hansen, E., Christensen, T.B., Baun, A., S.F., H., Binderup, M.-L., 2011. Survey on basic knowledge about exposure and potential environmental and health risks for selected nanomaterials.
- Moon, K.-S., Maric, R., Dong, H., Pothukuchi, S., Hunt, A., Li, Y., Wong, C.P., 2005. Thermal Behavior of Silver Nanoparticles for Low-Temperature Interconnect Applications. *Journal of Electronic Materials* 34.
- Mueller, N.C., Nowack, B., 2008. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ.Sci.Technol.* 42, 4447-4453.
- Navarro, E., Picciapetra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., Behra, R., 2008. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ Sci.Technol.* 42, 8959-8964.
- Nowack, B., 2010. Chemistry. Nanosilver revisited downstream. *Science* 330, 1054-1055.
- Percival, S.L., Bowler, P.G., Russell, D., 2005. Bacterial resistance to silver in wound care. *The Journal of hospital infection* 60, 1-7.
- Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S., Nowack, B., 2012. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research* 14.
- Ratte, H.T., 1999. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 89-108.
- Schäfers, C., Weil, M., 2012. Investigation of widely used nanomaterials (TiO₂, Ag) and gold nanoparticles in standardized ecotoxicological tests, Final Report, Federal Environment Agency Germany.
- Schlich, K., 2013. Untersuchungen zur ökotoxikologischen Wirkung von Silbernanopartikeln – Der Weg von der Kläranlage bis zum Eintrag in landwirtschaftliche Flächen, Fachbereich Geowissenschaften. FU Berlin, Berlin.
- Shafer, M.M., Armstrong, D.E., Overdier, J.T., Walker, M.T., 1998. Removal, partitioning and fate of silver and other metals in wastewater treatment plants and effluent-receiving streams. *Environ Toxicol Chem* 17, 630 - 641.

Schlussbericht UMSICHT

- Shoultz-Wilson, W.A., Reinsch, B.C., Tsyusko, O.V., Bertsch, P.M., Lowry, G.V., Unrine, J.M., 2011a. Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (*Eisenia fetida*). *Nanotoxicology* 5, 432-444.
- Shoultz-Wilson, W.A., Reinsch, B.C., Tsyusko, O.V., Bertsch, P.M., Lowry, G.V., Unrine, J.M., 2011b. Role of Particle Size and Soil Type in Toxicity of Silver Nanoparticles to Earthworms. *Soil Science Society of America Journal* 75, 365.
- Stone, V., Hankin, S., Aitken, R., Aschberger, K., Baun, A., Christensen, F.M., Fernandes, T.F., Hansen, S.F., Bloch Hartmann, N., Hutchison, G.R., Johnston, H.J., Micheletti, C., Peters, S., Ross, B., Sokull Kluettgen, B., Stark, D., Tran, L., 2010. Engineered nanoparticles: Review of Health and Environmental safety - ENRHES.
- TGD, 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market, Part II updated as ECHA guidance documents on Information Requirements and Chemical Safety Assessment: <http://echa.europa.eu/web/guest/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- Thomé-Kozmiensky, K.J., 2005. Problemfelder in der Abfallwirtschaft bis 2020. *Müll-Magazin* 18, 8 - 23.
- Tiede, K., Boxall, A.B.A., Wang, X., Gore, D., Tiede, D., Baxter, M., David, H., Tear, S.P., Lewis, J., 2010. Application of hydrodynamic chromatography-ICP-MS to investigate the fate of silver nanoparticles in activated sludge. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25, 1149.
- UBA, 2007. Beurteilung der Gesamtumweltexposition von Silberionen aus Biozid-Produkten, FKZ 36004020, in: Umweltbundesamt (Ed.), Berlin, Deutschland.
- UBA, 2013. Einsatz von Nanomaterialien in Textilien - Datenblatt Nanoprodukte, Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau.
- United States Environmental Protection Agency, 2009. Targeted National Sewage Sludge Survey Statistical Analysis Report in: Veröffentlicht auf http://water.epa.gov/scitech/wastetech/biosolids/upload/TNSSS_stat_appendix-A-Apr-2009.pdf (Ed.).
- Utermann, J., Meyenburg, G., Altfelder, S., Gäbler, H.-E., Duijnsveld, W., Bahr, A., Streck, T., 2005. Entwicklung eines Verfahrens zur Quantifizierung von Stoffkonzentrationen im Sickerwasser auf der Grundlage chemischer und physikalischer Pedotransferfunktionen. BMBF-Forschungsvorhaben 02WP0206, 169.
- von der Kammer, F., Ferguson, P.L., Holden, P.A., Masion, A., Rogers, K.R., Klaine, S.J., Koelmans, A.A., Horne, N., Unrine, J.M., 2012. Analysis of engineered nanomaterials in complex matrices (environment and biota): general considerations and conceptual case studies. *Environ Toxicol Chem* 31, 32-49.
- Wei, L., Tang, J., Zhang, Z., Chen, Y., Zhou, G., Xi, T., 2010. Investigation of the cytotoxicity mechanism of silver nanoparticles in vitro. *Biomedical materials* 5, 044103.
- Windler, L., Height, M., Nowack, B., 2013. Comparative evaluation of antimicrobials for textile applications. *Environment international* 53, 62-73.
- Woodrow Wilson International Center for Scholars, 2011. Project on Emerging Nanotechnologies. Consumer Products Inventory of Nanotechnology Products. www.nanotechproject.org/inventories/consumer.
- Woods, E.J., Cochrane, C.A., Percival, S.L., 2009. Prevalence of silver resistance genes in bacteria isolated from human and horse wounds. *Veterinary microbiology* 138, 325-329.

Yuan, G., Cranston, R., 2008. Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles. *Textile Research Journal* 78, 60-72.

Zhao, C.M., Wang, W.X., 2011. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. *Environ.Toxicol.Chem.* 30, 885-892.

1.6 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Arbeiten dieses Teilprojektes wurden am UBA innerhalb der Fachgebiete IV 2.4, II 1.3 und IV 2.2 durchgeführt. Die direkt beteiligten Mitarbeiter waren Christian Polleichtner, Carola Kussatz, Anja Lüdecke, Ana Maria Scutaru, Heinz-Jörn Moriske, Doris Völker und Christoph Schlüter. Zur Untersuchung bestimmter Fragestellungen wurden Kooperationen mit verschiedenen Einrichtungen innerhalb und außerhalb des UMSICHT-Konsortiums eingegangen: Universität Bremen, Fraunhofer IME und TU Dresden zur Silberanalytik und Partikelcharakterisierung, CAN GmbH (Centrum für angewandte Nanotechnologie) zur Silberanalytik, BPI Hohenstein e.V. für die Bereitstellung der Wischtücher, sowie die Ostthüringische Materialprüfungsgesellschaft für Textil- und Kunststoffe mbH (OMPG).

Eine enge Kooperation erfolgte weiterhin mit den „Leadspansoren“ des OECD Sponsorship Programm zu Nanosilber (Vertreter der Delegationen von USA und Südkorea in der OECD *Working Party on Manufactured Nanomaterials*), sowie zu Vertreter der *Nanobiosciences Unit* des JRC zur Nutzung der NANOhub Projektdatenbank.

2 Darstellung des Projektverlaufs

2.1 Erzielte Ergebnisse

Zur besseren Übersicht werden die Ergebnisse der Beiträge des Partners UBA am UMSICHT-Projekt sortiert nach Arbeitspaketen als Anlage 1 –3 dargestellt. Das UBA beteiligte sich an folgenden Arbeitspaketen:

- AP 2.1.2: Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit ausgewählter Textilien (Anlage 1)
- AP 2.1.3: Produktspezifische Gebrauchssimulation, Exposition in Luft, Staub und Abrieb (Anlage 1)
- AP 2.3.2: Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme (Anlage 2)
- AP 3.2: Gefährdungs- und Risikoabschätzung (Anlage 3)

2.2 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Daten zur Ökotoxikologie und Umweltverhalten des untersuchten Nanosilbers NM-300K inklusive der physikalisch-chemischen Beschreibung während der Testversuche wurden vom Partner UBA in die Projektinstallation für UMSICHT der Datenbank NANOhub des JRC eingegeben. Alle Daten aus der Projektinstallation UMSICHT wurden auf die Projektinstallation zu Nanosilber im Sponsorship Programm der OECD WPMN übertragen, so dass diese termingerecht für die Erstellung des Dossiers zu Nanosilber genutzt werden können. Die Beiträge des UMSICHT Projektes stellen im Dossier einen wesentlichen Beitrag zu den Endpunkten zur Ökotoxikologie und Umweltverhalten von Nanosilber dar.

Die im Rahmen des AP 2.3.2 erzielten Ergebnisse zum ökotoxikologischen Potential des untersuchten Nanosilbers bildeten die Datengrundlage für die anschließende Gefahren- und Risikoabschätzung (vergleiche dazu AP 3.2). Mit Hilfe von Kooperationspartnern innerhalb des UMSICHT-Projektes wurden die eingesetzten Nanopartikel vor dem Hintergrund der speziellen Bedingungen ökotoxikologischer Testverfahren beschrieben und charakterisiert. Eine Versuchsbegleitende Analytik ermöglichte die Bestimmung von Effektivkonzentrationen.

Die Durchführung der exemplarischen Umweltgefährdungs- und risikobewertung des Ag-NP NM-300K in Textilien erlaubte die Identifizierung von Möglichkeiten und Limitationen bei der Risikobewertung von Nanomaterialien gemäß den gängigen Vorgaben im Stoffvollzug als auch Aussagen zur Relevanz der erhaltenen Ergebnisse und Grenzen der Aussagekraft der selbigen.

2.3 Während der Durchführung bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Während der Projektlaufzeit wurde international eine Vielzahl von Studien publiziert, die sich mit (öko-) toxikologischen Effekten von Nanopartikeln im Allgemeinen und Nanosilber im Speziellen befassen (zum Beispiel Zhao & Wang 2011, Völker *et al.* 2013, Völker, Oetken & Oehlmann 2013, Ribeiro *et al.*, 2013, Römer *et al.* 2011, Schlich *et al.* 2013). Der allgemeine Erkenntnisstand zur Toxizität von nanopartikulären Materialien hat während der Projektlaufzeit deutlich zugenommen, wenn gleich noch längst nicht alle Fragen abschließend beantwortet worden sind. Siehe dazu auch Literaturliste des Abschlussberichtes zu AP 2.3.2 (Anlage 2 und Kapitel 1.5.2).

Des Weiteren wurden während der Projektlaufzeit einige Studien zu Expositions-, Gefährdungs- oder Risikoabschätzung von Nanosilber veröffentlicht.

Im Kontext zu UMSICHT ist hier vor allem die Studie des Dänischen Umweltministeriums zu nennen (Danish Ministry of the Environment, 2012), in der auch eine Bewertung von Nanosilber aus Textilien vorgenommen wird. Diese Studie geht ebenso von einem ausschließlichen Eintrag von Nanosilber in die Umwelt über den Kläranlagenpfad aus. Die allgemeinen Annahmen zur Freisetzung von Nanosilber aus Textilien während des Waschvorgangs sind dem dieser Studie auf qualitativer Ebene ähnlich, die einzelne Parameter sind aber konservativer gewählt. Es wurden darüber hinaus für die Bestimmung der ökotoxikologischen Effekte nur Literatur-basierten Daten berücksichtigt. Ableitungen von PNECs (predicted no effect concentrations) entsprechend der vorliegenden Studie erfolgen nicht. Ebenso erfolgt auch keine Bewertung des Risikos für mit Klärschlamm versorgte Böden.

Die schwedische Chemikalienagentur hat im Berichtszeitraum eine Studie veröffentlicht, in der das Auswaschungspotential antibakterieller Substanzen, darunter auch Silber bzw. Nanosilber, in Textilien mit dem Waschwasser untersucht wurde (KEMI 2012). Bei den untersuchten Textilien handelte es sich um real auf dem Markt existierende Produkte. Es wurden hohe Auswaschungsraten nach zum Teil nur sehr wenigen Waschgängen festgestellt. KEMI verdeutlicht in ihrer Studie auch, dass – wahrscheinlich aufgrund der heute verbreiteten Nutzung von (Nano-)Silber in Alltagsanwendungen – mit einer Stagnation des Rückgangs der Silberkonzentrationen in der Umwelt gerechnet werden muss, was der Fall mit abnehmender Nutzung der traditionellen Fotografie war.

Einige Veröffentlichungen zur Abschätzung der Emissionen von (Nano-)Silber aus Textilien in die Umwelt erfolgten. Beispiele, die Berücksichtigung in diesem Bericht fanden sind Lorenz et al., 2012 und Windler et al., 2013.

2.4 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Die im AP 2.1.2 und 2.1.3 generierten Ergebnisse wurden bislang wie folgt präsentiert:

- „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, WaBoLu- Innenraumtage, 2012
- „Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Ag-dotierten Gardinen und deren potenzielle Partikelfreisetzung unter Realraumbedingungen“, A. Lüdecke, A.M. Scutaru, S. Bach, A. Pietsch, J. Kura, H.-J. Moriske, Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, Mai 2011
- „Untersuchung der Freisetzung von Silber-Nanopartikeln (Ag-NP) aus Wischtüchern“, A. Lüdecke, A.M. Scutaru, A. Pietsch, J. Kura, H.-J. Moriske, Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, März 2012

Die generierten Ergebnisse des AP 2.3.2 wurden bislang in Form von Posterbeiträgen und Vorträgen auf nationalen und internationalen Konferenzen präsentiert:

Vorträge:

- „Silber-Nanomaterialien in Standardtests zur Risikobewertung für aquatische Lebensräume“, 16. SETAC GLB Jahrestagung, Universität Koblenz-Landau, September 2011
- „Projekt UMSICHT - Sachstand und Planungen zur Ökotoxikologie von Nanosilber“, Fachtagung Nanotechnologie und Wasserwirtschaft, Düsseldorf, November 2011

Poster:

- „Silver nanoparticles in aquatic environments: Tiny element –huge impact?“, Christian Polleichtner & Andreas Hünken, NORMAN-Workshop, Koblenz, Oktober 2010
- „Silber-Nanopartikel in aquatischen Lebensräumen: Kleine Partikel mit großer Wirkung?“, A. Hünken, C. Polleichtner & C. Kussatz, 1. Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, Mai 2011
- „Silber-Nanopartikel in Standardtests zur Risikobewertung für aquatische Lebensräume“, A. Hünken, C. Polleichtner & C. Kussatz, SETAC GLB, Landau, September 2011
- „Effekte von Silber-Nanopartikeln auf aquatische Modellorganismen“, C. Polleichtner, A. Hünken & C. Kussatz, 2. Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, März 2012
- „Impact, behaviour and fate of silver nanoparticles in aquatic environments“, C. Polleichtner, A. Hünken, R. Lehmann, SETAC World, Berlin, Mai 2012

Schlussbericht UMSICHT

- „Ökotoxikologie von Silber- Nanopartikeln: Effekte und Verhalten in aquatischen Modellsystemen“, A. Hünken, C. Polleichtner, J. Köser, SETAC GLB, Leipzig, September 2012
- „Ökotoxikologie von Silber-Nanopartikeln: Effekte und Verhalten in aquatischen Modellsystemen“, C. Polleichtner, A. Hünken, J. Köser, C. Kussatz, 3. Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, Januar 2013
- „The ecotoxic potential of silver nanoparticles: Effects and behaviour in aquatic model systems.“, C. Polleichtner, J. Köser & C. Kussatz, SETAC Europe, Glasgow, Mai 2013

Die im AP 3.2 generierten Ergebnisse wurden bislang wie folgt präsentiert:

- „Umweltrisikobewertung von Nanosilber in Textilien aus Sicht des Umweltbundesamtes - Fallstudie auf Basis der UMSICHT-Ergebnisse“, D. Völker, NanoForum 2013, Hohenstein Institute, Dezember 2013

Geplant ist darüber hinaus bislang folgende Präsentation:

- “Environmental Implications of Nanosilver – Case study to quantify the potential environmental risk associated with the exposure from nanosilver from textiles”, K. Schlich, D. Voelker, L. Hohndorf, W. Koch, U. Kuehnen, K. Hund-Rinke, SETAC Europe, Basel, Mai 2014

Des Weiteren ist eine Publikation in einem Peer Review Journal anvisiert.

3 Verweis auf Anlagen

Der Bericht enthält die folgenden Anlagen:

Anlage 1: Abschlussbericht zum AP 2.1.2 Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit ausgewählter Textilien und AP 2.1.3 Produktspezifische Gebrauchssimulation, Exposition in Luft, Staub und Abrieb

Anlage 2: Abschlussbericht zum AP 2.3.2 Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme

Anlage 3: Abschlussbericht zum AP 3.2 Gefährdungs- und Risikoabschätzung

Anlage 1 zum Schlussbericht UMSICHT

Abschlussbericht zu den Arbeitspaketen 2.1.2 und 2.1.3

Ausführende Stelle: Umweltbundesamt, FG II 1.3
Innenraumhygiene, gesundheitsbezogene
Umweltbelastung

Zuweisungsempfänger: UBA - Umweltbundesamt	Förderkennzeichen: 03X0091D
Vorhabensbezeichnung: „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien - vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt - UMSICHT“	
Laufzeit des Vorhabens: 01. Mai 2010 bis 31. Juli 2013	

UMSICHT



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Verbundvorhaben

UMSICHT

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

im Rahmen der Ausschreibung „**NanoNature**“:

„Nanotechnologien für den Umweltschutz - Auswirkungen synthetischer
Nanomaterialien auf die Umwelt“

Abschlussbericht der ausführenden Stelle:

Umweltbundesamt

FG II 1.3 – Innenraumhygiene, gesundheitsbezogene Innenraumbelastung

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) unter dem Förderkennzeichen 03X0091D gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Verfasser dieses Abschlussberichtes:

Anja Lüdecke

Umweltbundesamt

FG II 1.3

Corrensplatz 1

14195 Berlin

Telefon: 030 / 8903-1341

Email: Anja.Luedecke@uba.de

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Berlin, Januar 2014

Inhaltsverzeichnis

1	Ziele	9
1.1	Gesamtziel des Vorhabens.....	9
1.2	Bezug des Vorhabens zu förderpolitischen Zielen	9
1.3	Wissenschaftliche und technische Arbeitsziele des Vorhabens.....	10
2	Stand von Wissenschaft und Technik.....	10
2.1	Emissionen aus realen Produkten	10
3	Arbeitspakete	10
3.1	Geplante Arbeiten	10
3.2	Material und Methoden der durchgeführten Arbeiten	12
4	Ergebnisse	18
4.1	Ergebnisse Gardinenversuche	18
4.2	Ergebnisse Alterungs- und Gebrauchsversuche	22
4.3	Ergebnisse Wischtücher	22
4.4	Ergebnisse Socken	30
5	Diskussion.....	35
5.1	Diskussion Gardinenversuche	35
5.2	Diskussion Socken.....	35
5.3	Diskussion Wischtücher.....	35
6	Literaturverzeichnis.....	VI
7	Veröffentlichungen.....	VII

Zusammenfassung

Im Rahmen des BMBF-geförderten Verbundvorhabens „UMSICHT - Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien: Vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt.“ wurden durch das Fachgebiet II 1.3 des Umweltbundesamtes unter der Teilaufgabe 2 „Verbleib, Exposition und Wirkung von Silber in Verbrauchsprodukten (produktspezifische Ag-NP)“ die Arbeitspakete 2.1.2 „Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit ausgewählter Textilien“ und 2.1.3 „Produktspezifische Gebrauchssimulation“ unter der Federführung von BPI Hohenstein e.V. bearbeitet.

Während der Laufzeit des Forschungsvorhabens von Mai 2010 bis Dezember 2013 wurde zum einen die mikrobizide Wirkung von Ag-NP dotierten Textilmustern auf die Luftkeimkonzentration im Innenraum untersucht und zum anderen die Partikelfreisetzung aus textilen Produkten wie Wischtücher und mit Ag-NP dotierte Socken untersucht.

Die Ergebnisse aus dem Arbeitspaket 2.1.2 geben einen Hinweis auf eine Reduzierung der Luftkeimzahl im Raum durch das Vorhandensein der Ag-NP-haltigen Gardine. Dies konnte insbesondere bei den Messungen während der kälteren Jahreszeit ermittelt werden.

Die Ergebnisse der produktspezifischen Gebrauchssimulation mit Wischtüchern auf verschiedenen Oberflächen (Marmor, Glas, Holz) zeigten, dass im Bereich 30-60 nm nur wenig, im Bereich von 100 nm und größer so gut wie keine Partikelfreisetzung erfolgte. Die Ermittlung des Silbergehaltes mittels ICP-OES bei den Wischtüchern ergab eine nahezu konstante, gleichmäßig über die Fläche des Wischtuchs verteilte, Konzentration an Silber, unabhängig ob das Wischtuch unbenutzt oder beansprucht war. Somit war auch kein Unterschied bezüglich der Art der Beanspruchung (Benutzung auf unterschiedlichen Oberflächen) nachweisbar.

Die Ergebnisse der Untersuchung der real getragenen Textilien (Socken) zeigten eine ungleichmäßige Verteilung des Silbers über die Socke: während am Bündchen nur sehr wenig Silber eingearbeitet wurde, waren die Konzentrationen im Fersen- und Zehenbereich deutlich höher. Darüber hinaus zeigte sich, dass durch die Beanspruchung der Socken, die anfängliche Silberkonzentration um ca. 80% abnimmt, wobei nicht klar war, ob die Abgabe von Silber beim Tragen oder beim anschließenden Waschen erfolgte. Der Restgehalt an Silber könnte fertigungsbedingt im Gewebe verbleiben oder durch erneute Beanspruchung weiter reduziert werden.

Dieser Abschlussbericht gibt einen Überblick über die im Rahmen des UMSICHT-Projektes durchgeführten Arbeiten. Es werden die erzielten Ergebnisse vorgestellt und diskutiert.

1 Ziele

1.1 Gesamtziel des Vorhabens

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

1.2 Bezug des Vorhabens zu förderpolitischen Zielen

Ein Ziel der Bekanntmachung war es, den Eintrag, die Verteilung, den Verbleib und die Wirkung von synthetischen Nanopartikeln (NP) und Nanomaterialien (NM) in der Umwelt zu erforschen. Der in diesem Vorhaben verfolgte Ansatz zielte darauf ab, die Wettbewerbsfähigkeit wichtiger deutscher Industriebranchen (hier: Ag-NP enthaltende Produkte, v.a. Textilien) auszubauen sowie die Bedingungen für Gesundheit und Umwelt der Menschen zu verbessern.

Folgende Fragen wurden in den Themenschwerpunkten 2 und 3 bearbeitet:

Themenschwerpunkt 2: Auswirkungen synthetischer Nanopartikel und –materialien auf die Umwelt

1. Charakterisierung von Partikeln und Agglomeraten und deren Mobilität und Transformation,
2. Adaptation und Anwendung ökotoxikologischer Standardtestverfahren für Wasser, Sediment und Boden,
3. Untersuchungen zur Stabilität der Funktionalität und zum Eintrag der Partikel in die Umwelt,
4. Risikoabschätzung an realen Matrizes.

Themenschwerpunkt 3: Entwicklung von messmethoden zur Charakterisierung von Nanopartikeln in der Umwelt

1. größenselektive Erfassung des Silbergehalts im Abrieb beim Produktgebrauch,
2. Analyse von Größe, Form, Oberflächenbeschaffenheit und Art der Partikel in den relevanten Umweltmatrizes (Luft, Staub, Wasser, Sediment),
3. Entwicklung eines robusten, spezifisch auf die Charakterisierung von Silber unter realen Umweltbedingungen ausgelegten Messgeräts,
4. Anpassung von ökotoxikologischen Standardtestverfahren an die Anforderungen bei der Anwendung mit Nanopartikeln.

1.3 Wissenschaftliche und technische Arbeitsziele des Vorhabens

Teilziel 2: Untersuchung des Verbleibs, der Exposition und Wirkung von Silber in Verbrauchsprodukten (produktspezifischen Silbernanomaterialien).

An realen Textilprodukten sowie spezifisch hergestellten Textilmustern wurde die antibakterielle Wirkung, die Stabilität der Ag-NP im Produkt während der Nutzung incl. der Reinigung, der daraus resultierende Eintrag in die Umwelt sowie die Wirkung der Eintragsprodukte und der verwendeten Ag-NP in allen relevanten Umweltkompartimenten untersucht.

2 Stand von Wissenschaft und Technik

Nanomaterialien finden sich heute schon in zahlreichen Verbraucherprodukten, wobei über mögliche Wirkungen auf die Umwelt noch relativ wenig bekannt ist. Das Fehlen von Daten für Ag-NP ist besonders problematisch, da die bekannte antimikrobielle Wirkung von Silber in Umweltmedien essenzielle Abbauprozesse erheblich stören könnte.

2.1 Emissionen aus realen Produkten

Mit Ag-NP ausgerüstete Textilien werden in den verschiedensten Bereichen eingesetzt (Bekleidung, Arbeitskleidung, Heimtextilien, Medizin- und technische Textilien). Es ist anzunehmen, dass Ag-NP-haltige ultrafeine Aerosole, die bereits als arbeitsmedizinisches Problem beschrieben werden¹, bei Produktionsschritten in das Umweltmedium Luft gelangen können. Die Gebrauchsbeanspruchung von Textilien kann zu einer Beeinträchtigung wie auch zu einem Verlust der Ausrüstung, insbesondere der Ag-NP, führen und hängt vom Anwendungsbereich ab. Gebrauchsdauer, Umwelteinflüsse, mechanische und thermische Einflüsse sowie Feuchtigkeit können zur Alterung der Textilien und auch der verwendeten Fasern und Ausrüstungschemikalien führen. Eine Freisetzung von Partikeln, die Nanosilberstrukturen enthalten können, in die Luft, ist damit bei der Nutzung zu erwarten. Nähere Informationen liegen hier jedoch nicht vor².

3 Arbeitspakete

Das Innenraumhygienelabor des UBA FG II 1.3 hat im Rahmen des UMSICHT-Projektes unter dem Teilziel 2 „Untersuchung des Verbleibs, der Exposition und Wirkung von Silber in Verbrauchsprodukten (produktspezifische Silber-NM)“ Untersuchungen zu den Teilaufgaben 2.1.2 „Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit ausgewählter Textilien“ sowie dem Arbeitspaket 2.1.3 „Produktspezifische Gebrauchssimulation“ durchgeführt. Die Federführung beider Arbeitspakete lag beim BPI Hohenstein e.V..

3.1 Geplante Arbeiten

Arbeitspaket 2.1.2 „Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit ausgewählter Textilien“

Hersteller wie BASF oder Trevira stellen Wandbehänge wie Gardinen, Zelte, Schirme und Markisen mit Nanotechnik aus. Bei der Imprägnierung von Heimtextilien wie Gardinen soll die Ausrüstung mit Ag-NP dazu führen, dass aus der Luft abgeschiedene Mikroorganismen (Schimmelpilze, Bakterien) an der Textiloberfläche abgetötet bzw. in ihrem Wachstum gehemmt werden.

In Ergänzung zu den Versuchen des Partner BPI Hohenstein e.V. werden Textilmuster (imprägnierte Gardinen ohne und mit NP-Imprägnierung) bereitgestellt und unter realen Bedingungen in „normal“ genutzten Räumen eingesetzt. Die Textilien „hängen“ in den Räumen ca. 1-2 Wochen. Danach werden der

¹ Barigig, A., Überblick zur Expositionssituation; BIA/BG-Symposium Allgemeiner Staubgrenzwert, 2002

² Arbeitsgruppe „Textilien“ des BfR, Gesundheitliche Bewertung von Textilien und – farbmittel, 2006

mikrobielle Keimgehalt an der Oberfläche der Materialien und die Reduktion des Keimgehaltes in der Raumumgebung untersucht. Die Versuche werden mehrfach wiederholt bei unterschiedlicher Temperatur und Feuchte in den Räumen. In einer weiteren Versuchsreihe werden die Textilien gezielt mit Keimen kontaminiert und deren Freisetzung in die Raumumgebung gemessen. Auch diese Versuche müssen mehrfach wiederholt werden.

Arbeitspaket 2.1.3 „Produktspezifische Gebrauchssimulation“

UBA FG II 1.3 wird in diesem Arbeitspaket ergänzend zu den anderen Projektpartnern kommerziell erhältliche Verbraucherprodukte untersuchen. An Bekleidungs- und Haushaltstextilien werden folgende Untersuchungen durchgeführt:

A) Produktspezifische Gebrauchssimulation:

Unter unterschiedlichen Umgebungsbedingungen (Temperatur und Feuchte) werden die Textilproben unter Nutzungsbedingungen auf Partikelfreisetzung untersucht. Die Versuche dienen der Vervollständigung der Partikelfreisetzungversuche aus den Kammerversuchen des Bremer Umweltinstituts (BUI). Der Schwerpunkt des Partners UBA liegt in der Erfassung der realen Gebrauchssimulation. Diese ergänzenden Versuche sind zudem nötig, um eine valide und gesicherte Aussage über die Freisetzung von Ag-NP unter verschiedenen Gebrauchssituationen zu erhalten.

B) Alterung unter realen Tragebedingungen:

Es soll die Freisetzung von Ag-NP bei "neuen" und gealterten Kleidungsstücken geprüft werden. Bezüglich der Alterung der untersuchten Produkte sollen die Grundlagen der VDI-Richtlinie (3958 Blatt 1) berücksichtigt werden. Die Alterungsversuche werden vom UBA durchgeführt, in Anlehnung an Vorgehensweisen zur simulierten und beschleunigten Alterung der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM).

C) Freisetzung aus imprägnierten Gardinen:

In Ergänzung zum AP 2.1.2 untersucht UBA die Freisetzung von Ag-NP aus Gardinen in die Umwelt.

D) Freisetzung aus Wischtüchern:

Auch Wischtücher werden zunehmend mit Ag-NP ausgestattet (u.a. zur besseren Lagerfähigkeit gebrauchter Tücher). Es werden Antistatikvorteile, bessere Reinigungseigenschaften etc. für solche mit Nanotechnik präparierte Wischtücher als positiv hervorgehoben. Die Freisetzung von Ag-NP aus solchen Produkten soll untersucht werden. Der Umfang dieser Untersuchungen richtet sich nach der Verfügbarkeit der am Markt erhältlichen präparierten Wischtücher. Als Ansatz werden ca. 10-12 Versuche eingeplant. Die Versuche sollen unter Realnutzungsbedingungen durchgeführt werden. Zusätzlich sind Versuche in der Prüfkammer vorgesehen, bei denen das Abwischen verschieden rauer Materialoberflächen simuliert wird (Holz, Metall, Glas etc.). Die Versuche werden mit unterschiedlich stark genutzten Wischtüchern durchgeführt.

E) Analyse der Proben mittels REM:

Alle Proben werden mittels REM auf ihre Partikelzusammensetzung und -freisetzung hin untersucht.

F) Auswertung aller Versuchs- und Messdaten:

Alle Versuchs- und Messdaten werden mittels statistischer, qualitätsgeprüfter Methoden, IT-mäßige Datenaufbereitung aller Nanomessungen umfangreich ausgewertet.

3.2 Material und Methoden der durchgeführten Arbeiten

3.2.1 Gardinenversuche (AP 2.1.2 und AP 2.1.3c)

Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Ag-dotierten Gardinen (AP 2.1.2)

Für diese Versuche war es erforderlich, standardisierte Probenahmebedingungen zu schaffen. Im UBA Dienstgebäude am Corrensplatz in Berlin wurden für diese Untersuchungen zwei Räume ausgewählt und als Messräume präpariert. Raum 029 befindet sich im Untergeschoß. Er wurde komplett leer geräumt. In Raum 32, welcher im Obergeschoß liegt, wurden darin befindliche Gegenstände, die nicht aus dem Raum entfernt werden konnten, abgeklebt. Dadurch sollte gewährleistet werden, dass keine Keimkontamination aus dem Raum heraus erfolgt. Beide Räume wurden verschlossen.

Für beide Messräume wurde die Luftkeimzahl pro m³ (Gesamt-KBE für Bakterien, Schimmelpilze und thermophile Schimmelpilze, KBE = koloniebildende Einheit) an zwei definierten Wochentagen über einen Zeitraum von 4 Wochen, gemäß VDI 4300, Blatt 10 und weiteren etablierten Verfahren im UBA, bestimmt. Gesammelt wurden die Luftkeime mit MAS 100-Sammlern und auf MAE-, Caso- und DG18-Agar bestimmt. Diese Messungen dienten dazu, Aussagen über das „Keim-Niveau“ der Räume treffen zu können, um als spätere Referenzwerte für die Auswertung herangezogen werden zu können. Zusätzlich zu diesen Grundkeimmessungen wurden die Lufttemperatur und Luftfeuchte der beiden Räume registriert.

Um auch saisonale Unterschiede erfassen zu können, erfolgten Wiederholungsmessungen.

Im Februar 2011 wurden Vorhänge mit Nano Silber in den Messräumen aufgehängt. Hierzu wurden Bioaktiv-Trevira CS Vorhänge (aus 100% Polyester TCS) bestellt und bezogen.

Die Vorhänge wurden an einer speziellen Vorrichtung aufgehängt (siehe Abbildung 1). Nach 24 Stunden wurde die erste Luftkeimzahl bestimmt. Danach wurde, wie bei den Grundkeimmessungen, an zwei Wochentagen über einen Zeitraum von 3-4 Wochen die Gesamt KBE bestimmt. Es wurden insgesamt 2 Messungsserien durchgeführt. Ergänzend zu den Keimmessungen im Innenraum wurden Außenluftmessungen vorgenommen (Abbildung 2).



a) Raum 029 (Untergeschoß)



b) Raum 32 (Erdgeschoß)

Abbildung 1: Messaufbau für die Untersuchung der Partikelfreisetzung von Ag-dotierten Gardinen.



Abbildung 2: Außenluftmessung vor Raum 029.

Prüfung der Partikelfreisetzung von Ag-dotierten Gardinen (AP 2.1.3 c)

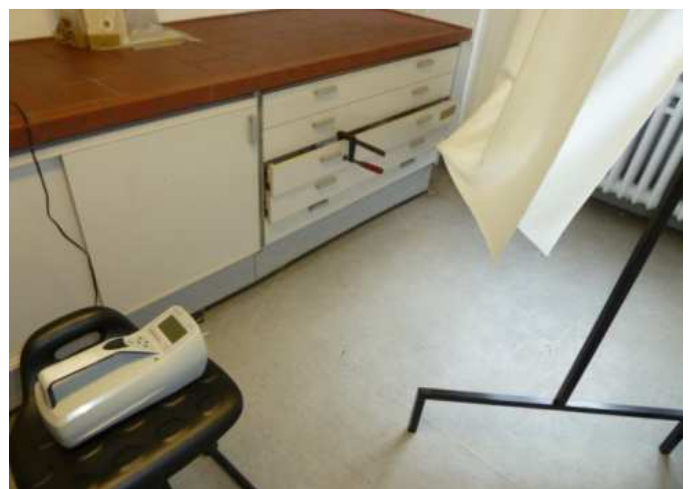
Die Untersuchung der Partikelfreisetzung erfolgte für zwei Zustände der Gardine, zum einen im „Ruhezustand“ und zum anderen im „bewegten Zustand“. Für die Untersuchung der Partikelfreisetzung im bewegten Zustand wurden die Gardinen auf der Hängevorrichtung mit Hilfe einer Kunststoffsehne von außen in Bewegung gebracht (Abbildung 3).

Es wurde zunächst eine Messung ohne Gardinenbewegung über 1 Stunde durchgeführt. Anschließend wurde die Gardine ca. 1 Minute mittels einer Kunststoffsehne bewegt und so eine „Luftzugbewegung“ simuliert. Nach einer weiteren halben Stunde wurde die Bewegung der Gardine wiederholt (insgesamt 3x Bewegung mit anschließender halbstündiger Messung ohne Bewegung).

Messtechnik: Zur Erfassung der freigesetzten Partikel wurde ein Kondensationspartikelzähler (CPC) der Fa. TSI, der die Anzahl der Partikel über den Korngrößenbereich von 10 nm bis 1000 nm messen kann, eingesetzt.



Raum 029



Raum 032

Abbildung 3: Messaufbau für die Untersuchung der Partikelfreisetzung von Ag-dotierten Gardinen.

3.2.2 Alterungs- und Gebrauchsversuche (AP 2.1.3)

Für die Alterungs- und Gebrauchsversuche wurde die Versuchsapparatur mit einem Probetextil bestückt. Die mit Nano-Ag dotierte Tücher (Textilproben: 100% Baumwolle, Popeline 116g/m², 2% Nano-Ag; 33,33 g/l AgPURE W-10) wurden in das Alterungsgerät (Fa. Taber Industries, Modell Linear Abraser Tester 5750) gelegt und die Freisetzung von ultrafeinen Partikeln (UFP) beim simuliertem Gebrauch gemessen.

Hierzu musste ein geeignetes und sehr aufwendiges Messsystem aufgebaut werden. Um die Versuche gegen Störeinflüsse abzuschotten, wurden alle Versuche in einer Glovebox (ca. 300 l) durchgeführt. Zu Beginn des Versuchs wurde die Partikelfreiheit der Glovebox und aller Messstreckeneinheiten gesichert.

Messtechnik: Die Partikelfreisetzung wurde mittels Differential Mobility Analyzer (DMA) gemessen. Die DMA-Technologie erlaubt die korngößenklassifizierte Erfassung (KG) der Partikel. Daran angekoppelt wurde eine CPC-Technik (Condensation Particle Counter) (Fa. Grimm SMPS+C) mit der anschließend die Anzahl der Partikel bestimmt wurde (Abbildung 4).

Die SMPS+C Technik erlaubt zwar die Anzahlmessung von UFP, aufgeteilt in verschiedene Korngrößen-Klassen, sagt aber nichts über die Zusammensetzung der Nanopartikel aus. Um zu unterscheiden ob es sich um Ag-NP oder Zelluloseabrieb handelt, sollten Messungen mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) weiteren Aufschluss geben.



Abbildung 4: Messaufbau für die Alterungssimulation.

3.2.3 Untersuchung von Wischtüchern (AP 2.1.3)

Durch BPI Hohenstein e.V. wurden 40 RAS-Wischtücher für diesen Untersuchungsteil bereit gestellt. Die Ag-Dotierung erfolgte durch RAS (rent a scientist GmbH), speziell für diese Versuche, in Analogie der Ag-Konzentrationen, wie sie auch in den am Markt erhältlichen Tüchern üblich sind. Laut RAS wurden die Wischtücher mit AG-NP bis 20 nm dotiert. Die Tücher bestehen aus PET und PA. Das Nanosilber ist fest und homogen in die PET-Komponente eingebunden.

Die Wischtücher wurden auf verschiedenen Oberflächen a) Glas, b) Marmorplatte und c) Naturholzplatte mehrfach gewischt. Die Versuche erfolgten in der Glovebox (ca. 300 l), in welcher die eingesetzten Oberflächen fast komplett auf dem ganzen Boden der Glovebox eingebaut wurden (Abbildung 6). Es wurden drei Versuchsreihen mit 9 Wiederholungen durchgeführt. Die restlichen Tücher blieben zunächst als – ungenutzte – Referenztücher zurück. Einzelne wurden vorab für Probeversuche benötigt. Alle Kammerversuche wurden in partikelarmer Luft vorgenommen. Temperatur und Luftfeuchtebedingungen konnten gezielt verändert werden. Alle Versuche wurden mehrfach wiederholt.

Messtechnik: Die Partikelfreisetzung wurde mit einem Grimm SMPS+C System gemessen. Dieses System beinhaltet einen Kondensationspartikelzähler (CPC) und einen Differentiellen Mobilitäts-Analysator (DMA). Das System erlaubt die Erfassung von Partikeln im Korngrößenbereich von 5 nm bis 350 nm. Zusätzlich wurde ein TSI CPC (3007), der die Anzahl der Partikel im Korngrößenbereich von 10 nm bis 1000 nm messen kann, angeschlossen.

Probeversuche: Laut RAS wurden die Wischtücher mit Ag-NP bis 20 nm dotiert. Während der Probeversuche wurde die Partikelfreisetzung aus den Wischtüchern auf den 3 Oberflächen in verschiedenen Korngrößenbereichen gemessen (6-20, 6-30, 20-50, 30-60 nm usw.). Es wurden verschiedene Szenarien für das „Wischen“ ausprobiert. Es wurde die Dauer nach dem Wischen bis Erreichen der Grundpartikelbelastung gemessen und notiert. Diese Probeversuche wurden ebenfalls genutzt um die Einsatzfähigkeit verschiedener Partikelmessgeräte (Grimm SMPS+C System, TSI CPC (10-1000 nm)) zu prüfen.

Vorprogramm: In diesem Untersuchungsteil fand eine Grundpartikelmessung statt. Die erste Oberfläche wurde in die Glovebox eingebaut. Es wurden die Wischbewegungen mit Kontakt zur Oberfläche aber ohne Wischtuch simuliert: 5-mal/Oberfläche. 1-mal Wischen heißt so viele Wischbewegungen (Wischverlauf 1 + Wischverlauf 2) hintereinander, wie in der Abbildung 5 skizziert, bis zum Ablauf eines Scans von etwa 90 Sekunden.

Zwischen den einzelnen Wischvorgängen wurde die Kammer mit Reinluft gespült (ca. 7 Min). Nach Ende dieser Reihe von Versuchen wurde die erste Oberfläche ausgebaut und gereinigt. Die Glovebox wurde ebenfalls mit einem feuchten, faserarmen Tuch gewischt. Anschließend wurde die zweite Oberfläche eingebaut usw.

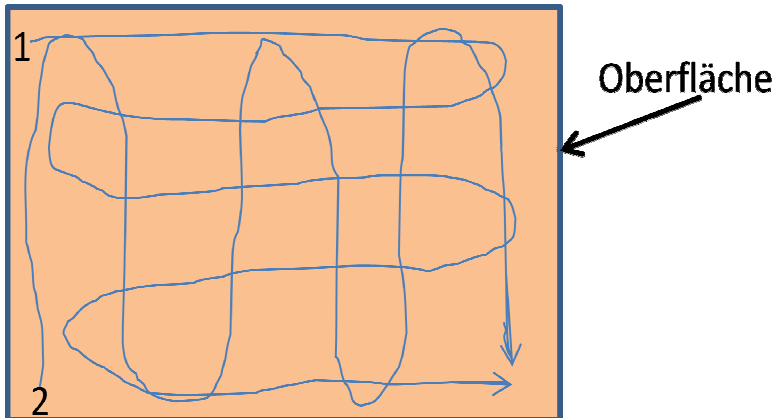


Abbildung 5: Wischverlauf

Versuchsablauf: Pro Oberfläche wurden 9 Wischtücher für die Versuchsreihe eingesetzt. Vor jedem Versuch wurde die Glovebox mit Reinluft gespült bis eine Grundpartikelbelastung von ca. 0-10 Partikel/cm³ erreicht werden konnte. Nach dem fünften Scan wurde angefangen, mit dem Wischtuch auf der jeweiligen Oberfläche zu wischen. Das Wischtuch wurde zweimal gefaltet und genau wie im Vorprogramm 5-mal gewischt. Zwischen den einzelnen Wischvorgängen wurde 30 Minuten mit Reinluft gespült. Am Ende einer Versuchsreihe (= Versuche mit einer Oberfläche) wurde die Glovebox und die Oberfläche gereinigt, das Wischtuch in Alufolie verpackt, gekennzeichnet (Nummer und Oberfläche) und in einem separaten Kubus gelagert.



Abbildung 6: Versuchsaufbau für die Untersuchungen zur Partikelfreisetzung von Ag-NP aus Wischtüchern (eingebaute Oberfläche: Naturholzplatte).

Anschließend wurden die Wischtücher mittels REM untersucht (siehe Abschnitt 3.2.5) und der Silbergehalt an verschiedenen beanspruchten Stellen auf dem Wischtuch bestimmt.

Nachweis von Silber in Ag-dotierten Wischtüchern

Die Wischtuchproben wurden in 1 bis 4 cm² (1x1 cm² bis 2x2 cm²) großen Stücke mit einer Schere zugeschnitten. Die Blindproben aus einem unbenutzten Wischtuch wurden verteilt über die gesamte Fläche des Tuches entnommen.

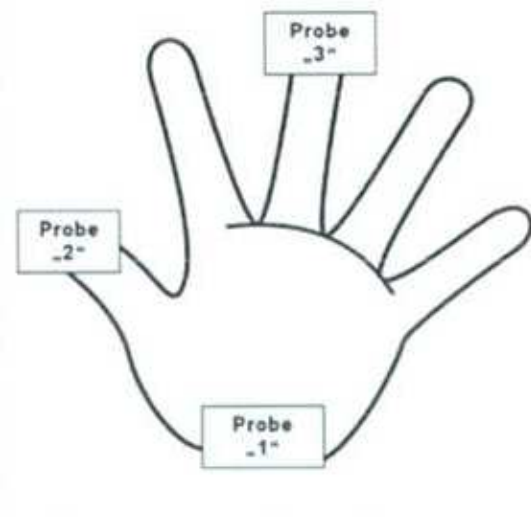


Abbildung 7: Skizze zur Probenentnahme aus den Wischtüchern. Die Proben wurden aus der Unterseite des Wischtuches entnommen.

Diese Proben wurden durch einen Königswasser-Auflschluss in Lösung gebracht und anschließend verdünnt, sodass sie mittels ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) mit induktiv gekoppelten Argonplasma auf Silber analysiert werden konnten.

3.2.4 Untersuchung von Socken (AP 2.1.3)

Die Firma OMPG hat Ende 2011 15 Paar Socken für die Versuche in diesem Arbeitspaket zur Verfügung gestellt. Für die Herstellung der Socken wurden Ionenaustauscherfasern ersponnen und anschließend mit

AgNO₃ beladen. Der Silbergehalt dieser Fasern lag bei ca. 8%. Diese Fasern wurden mit Baumwolle im Verhältnis 10/90 abgemischt und von der Fa. Lindner zu Garn verarbeitet. Mit Hilfe von Strickmaschinen wurden daraus Socken hergestellt.

Von den 15 Paar Socken wurden 14 Paar getragen. Ein Paar wurde nicht getragen. Hiervon wurde eine Socke gewaschen und die andere als Referenzobjekt für eine analytische Vergleichsbestimmung erhalten.

Die 14 Paar Socken wurden von 2 Testpersonen unterschiedlich lang getragen:

- 2 Paar Socken wurden 7mal getragen und dabei normal strapaziert.
- 8 Paar Socken wurden 10mal getragen:
 - davon wurden 2 Paar normal getragen
 - 6 Paar durch Bautätigkeit und Sport stark strapaziert und
- 2 Paar wurden 5mal getragen.

Jedes Sockenpaar wurde 1 Tag lang (ca. 14 Stunden) getragen, nach dem Tragen in Alufolie eingewickelt und beschriftet. Die getragenen Socken wurden 7 „Tragetage“ lang gesammelt und einer vom UBA beauftragte Wäscherei übergeben und gereinigt. Die Reinigung erfolgte separat für die Socken, d.h. in der Wäschetrommel waren keine weiteren Textilstücke zum Waschen enthalten. Die Trommel war zuvor gründlich gesäubert worden. Nach Rückerhalt der Socken aus der Wäscherei wurden diese erneut getragen und die Trageprozedur wiederholt.

Die Socken wurden anschließend mittels REM untersucht (siehe Abschnitt 3.2.5) und der Silbergehalt an verschiedenen Stellen der Socke bestimmt.

Nachweis von Silber in Ag-dotierten Socken

Untersucht wurden eine unbenutzte Socke, je zwei 5mal getragene, 7mal getragene, 10mal normal getragene Socken sowie zwei 10mal stark beanspruchte getragene Socken.

Die Socken wurden in 1 bis 4 cm² (1x1 cm² bis 2x2 cm²) große Stücke zugeschnitten. Zur Ermittlung der Blindwerte wurden fünf Proben aus der unbenutzten Socke im Verlauf Bündchen/Saum bis Zehen geschnitten und analysiert.

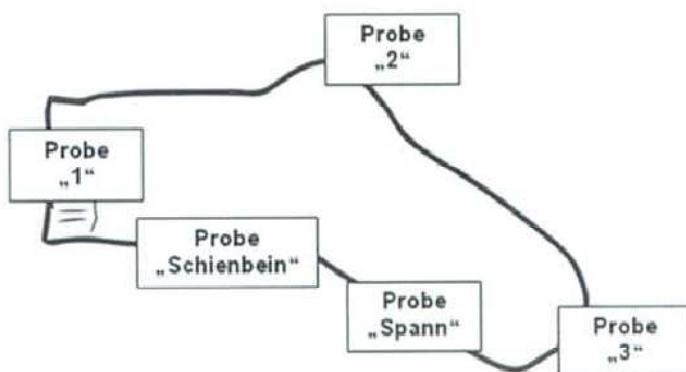


Abbildung 8: Skizze zur Probenentnahme aus den Socken. Die Probenentnahme „Schienbein“ und „Spann“ erfolgte nur für die Bestimmung der Blindwerte.

Aus dem Bündchen-, Fersen-, und Zehenbereich der getragenen Socken wurden jeweils drei Proben entnommen. Diese wurden durch einen Königswasser-Aufschluss in Lösung gebracht und anschließend verdünnt, sodass sie mittels ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) mit induktiv gekoppelten Argonplasma auf Silber analysiert werden konnten.

3.2.5 REM Analytik für Wischtücher und Socken

Die Untersuchung der Oberflächenbeschaffenheit, sowie die Bestimmung etwaiger Silberpartikel erfolgten mittels Rasterelektronenmikroskop (REM). Die REM-Untersuchungen sollten zeigen, dass etwaige Silberpartikelanhaftungen durch den Gebrauch der Textilien verringert wurden und nach Möglichkeit statistisch erfasst werden konnten. Alle Messungen wurden bei einer Beschleunigungsspannung von 2 kV und 3 mm Arbeitsabstand aufgenommen. Es wurden Bilder bei unterschiedlichen Vergrößerungen sowohl mit Sekundärelektronen (SE = Secondary Electrons) als auch mit Rückstreuelektronen (ESB = Energy Selective Backscatter Electrons) aufgenommen. Die ESB-Bilder liefern einen Materialkontrast, wie er bei unterschiedlichen Materialien (hier Silber auf Kunststofffasern) zu erwarten wäre.

Zum Vergleich wurden Proben von einer unbenutzten und einer stark beanspruchten Socke, sowie von einem unbenutzten und einem auf Holz stark beanspruchten Wischtuch untersucht.

Es wurden einzelne Faserbündel aus den vorgegebenen Bereichen entnommen und auf Standardprobenhalter mittels Klebepads fixiert.

Die Proben wurden nicht besputtert, um etwaige Nanopartikel (<20 nm) nicht zu überdecken.

Da es sich um nicht leitfähige Proben handelte, können Aufladungen (Ladungskontraste führen zu helleren und dunkleren Bereichen in den Aufnahmen) nicht vermieden werden, welche allerdings unter den gewählten Bedingungen die Aufnahmen nur geringfügig beeinflussen. Eine aussagekräftige analytische Untersuchung mittels energiedispersiver Röntgen fluoreszenzanalyse (EDX) war allerdings unter diesen Bedingungen nicht möglich.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse Gardinenversuche

Die Ergebnisse der ersten Untersuchungen (1. Grundkeimmessung ohne Gardine), welche im Sommer 2010 durchgeführt wurden, zeigen, dass die gemessenen Luftkeimzahlen über den Messzeitraum innerhalb der verschiedenen Nährböden zum Teil variierten (Abbildung 9). Auf dem thermophilen Malz-Agar lagen die Keimzahlen (gemessen als KBE pro m³ Luft) zwischen 13 und 73 KBE/m³. Auf Caso-Agar wurden Keimzahlen zwischen 30 und 283 KBE/m³ gefunden. Die Luftkeimzahlen auf dem Malz- und DG18-Agar streuten sehr. Auf dem Malz-Agar waren Werte zwischen 257 und 1397 KBE/m³ zu finden und auf dem DG18-Agar lagen die Werte zwischen 280 und 1207 KBE/m³ (Abbildung 9). Die hohen Werte auf dem Malz und DG18 Agar am Messtag 12.7.2010 in Raum 029 lassen einen Eintrag aus der Außenluft vermuten.

Die Temperaturen in den Messräumen lagen während des Messzeitraums zwischen 24,7 und 32,3 °C, die relative Luftfeuchte zwischen 32,5 und 69,8%.

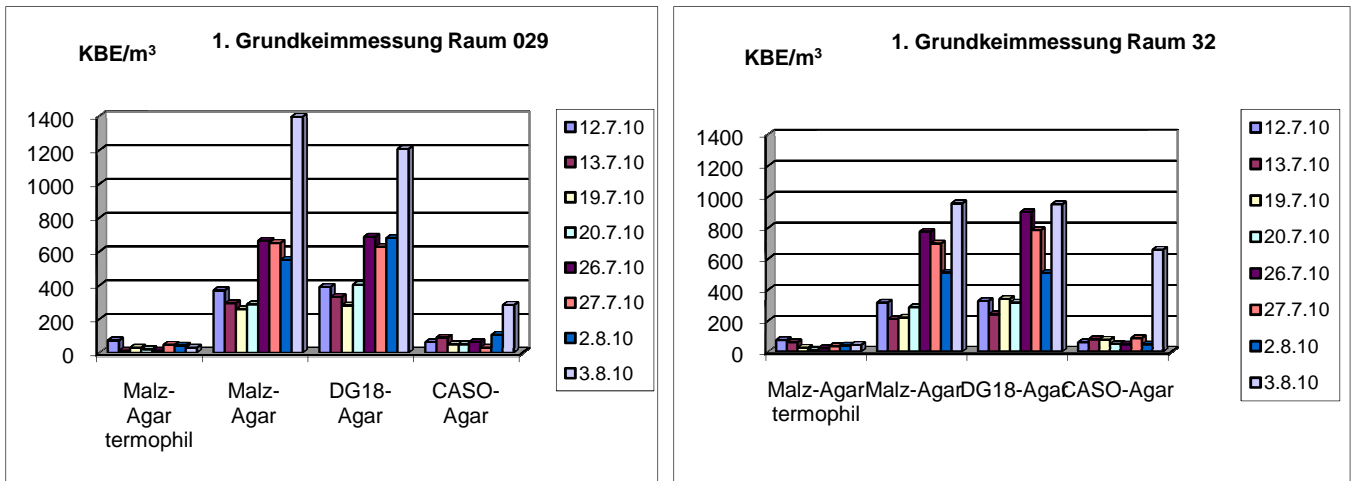


Abbildung 9: Ergebnisse der ersten Grundkeimmessung; Luftkeimzahlen auf verschiedenen Nährböden in Raum 029 im Untergeschoß und Raum 32 im Erdgeschoß.

Die Ergebnisse der ersten Messreihe mit Gardinen zeigten sich bezogen auf die beiden Räume unterschiedlich stark variierend. In Raum 32 streuten die Werte innerhalb eines Agar weniger stark. So konnten auf dem thermophilen Malz-Agar Keimzahlen zwischen 2 und 17 KBE/m³ bestimmt werden. Auf dem Malz-Agar wurden Keimzahlen zwischen 3 und 63 KBE/m³ gemessen und auf dem auf DG18-Agar Keimzahlen zwischen 27 und 67 KBE/m³. Auf dem CASO-Agar waren Werte zwischen 80 und 273 KBE/m³ zu finden. Im Gegensatz zu den Messwerten aus Raum 32 streuten die Ergebnisse aus Raum 029 über den zweiten Messzeitraum stärker. So konnten auf dem thermophilen Malz-Agar Werte zwischen 2 und 15 KBE/m³, auf dem Malz-Agar Werte zwischen 23 und 83 KBE/m³, auf dem DG18-Agar Werte zwischen 27 und 123 KBE/m³ und auf dem CASO Agar Werte zwischen 43 und 130 KBE/m³ bestimmt werden (Abbildung 10).

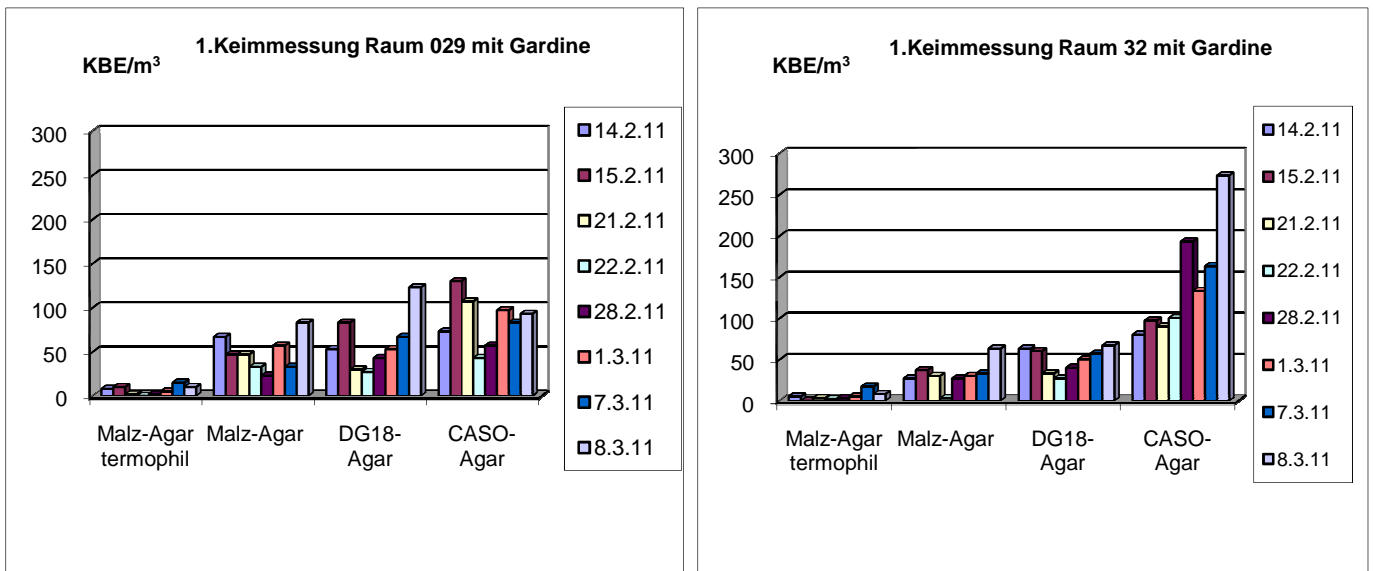


Abbildung 10: Ergebnisse der ersten Luftkeimmessung mit Gardine; Luftkeimzahlen auf verschiedenen Nährböden in Raum 029 im Untergeschoß und Raum 32 im Erdgeschoß.

Die zweite Grundkeimmessung ohne Gardine fand im Januar/Februar 2011 statt. Die Ergebnisse variierten in beiden Räumen stark. Auf dem thermophilen Malz-Agar konnten in Raum 029 Keimzahlen zwischen 3 und 18 KBE/m³ und in Raum 32 Werte zwischen 2 und 7 KBE/m³ bestimmt werden. Auf Malz-Agar wurden in Raum 029 Keimzahlen zwischen 13 und 177 KBE/m³ und in Raum 32 Werte zwischen 13 und 250 KBE/m³ gemessen werden. Auf dem DG18-Agar wurden in Raum 029 Keimzahlen zwischen 20 und 207

KBE/m³ gemessen und in Raum 32 Werte zwischen 23 und 177 KBE/m³. Auf dem CASO-Agar waren in Raum 029 Werte zwischen 27 und 163 KBE/m³ bestimmt worden und in Raum 32 Werte zwischen 57 und 290 KBE/m³ (Abbildung 11).

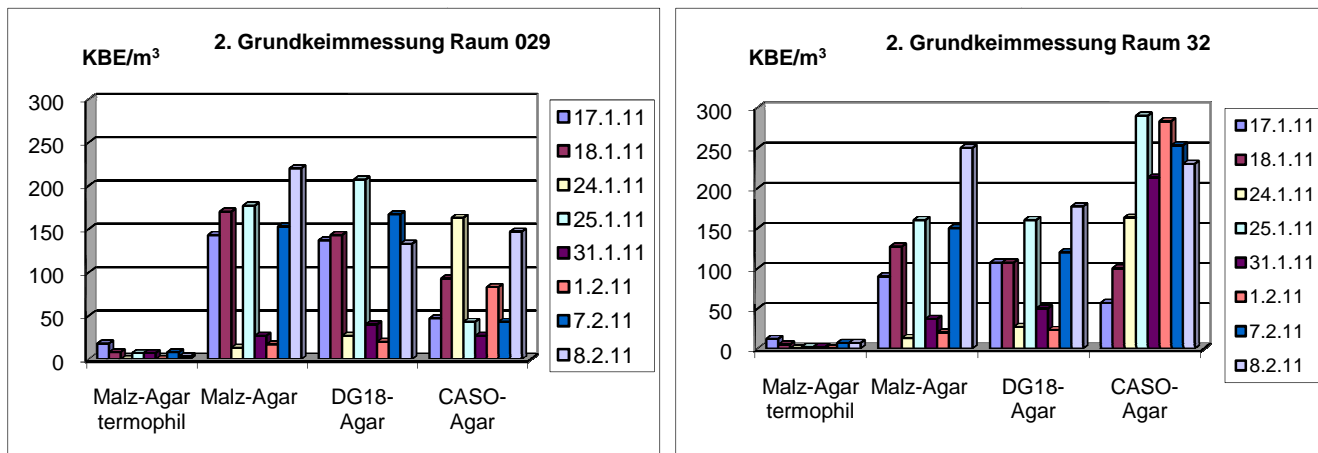


Abbildung 11: Ergebnisse der zweiten Luftkeimmessung ohne Gardine; Luftkeimzahlen auf verschiedenen Nährböden in Raum 029 im Untergeschoß und Raum 32 im Erdgeschoß.

Die zweite Messreihe mit Gardinen fand im April/Mai 2011 statt. Bei dieser Messreihe konnte auch der Außenluftbereich vor Raum 029 beprobt werden. Beim Vergleich der Messergebnisse in beiden Räumen konnten unterschiedlich stark streuende Werte festgestellt werden. So konnten im Raum 029 Keimzahlen für den thermophilen Malz Agar zwischen 13 und 37 KBE/m³ bestimmt werden. Im Raum 32 lagen die Keimzahlen zwischen 5 und 20 KBE/m³. Im Außenluftbereich vor dem Raum 029 konnten Keimzahlen auf dem thermophilen Malz Agar zwischen 5 und 23 KBE/m³ gemessen werden. Auf dem Malz-Agar wurden Keimzahlen im Raum 029 zwischen 133 und 340 KBE/m³ sowie für Raum 32 Keimzahlen zwischen 80 und 237 KBE/m³ gemessen. Im Außenluftbereich konnten Werte zwischen 420 und 747 KBE/m³ bestimmt werden. Auf dem DG18-Agar wurden in Raum 029 Werte zwischen 123 und 347 KBE/m³ und in Raum 32 Werte zwischen 120 und 317 KBE/m³ bestimmt. Im Außenluftbereich lagen die Werte zwischen 350 und 700 KBE/m³. Auf dem CASO-Agar wurden in Raum 029 Keimzahlen zwischen 33 und 117 KBE/m³ und in Raum 32 zwischen 70 und 320 KBE/m³ gemessen. Im Außenluftbereich lagen die Werte zwischen 187 und 793 KBE/m³ (Abbildung 12 und 13).

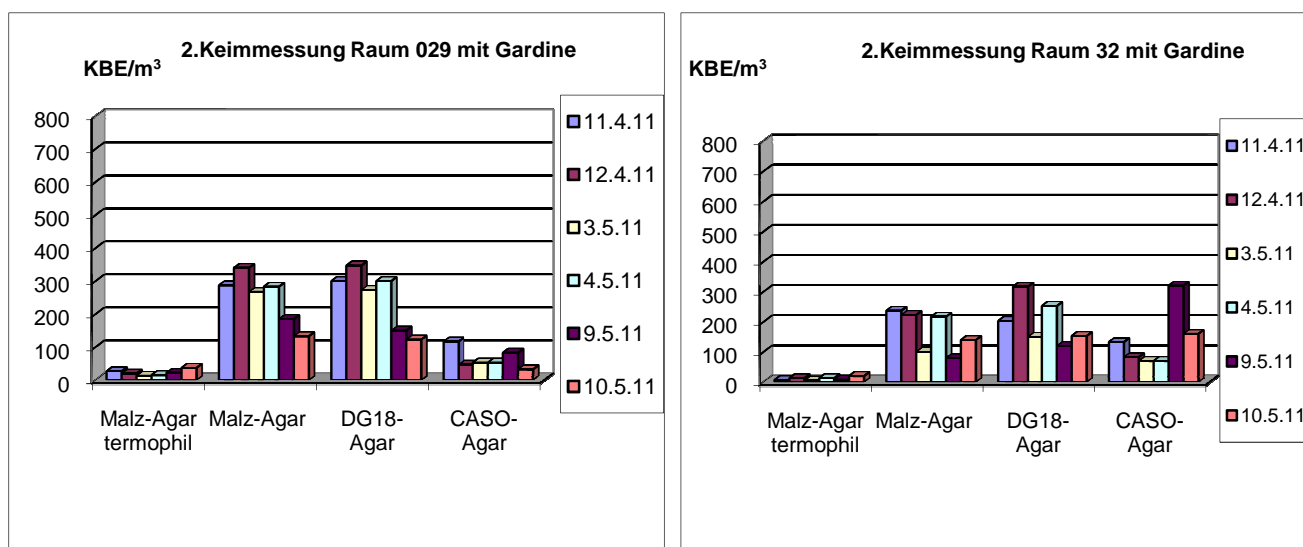


Abbildung 12: Ergebnisse der zweiten Luftkeimmessung mit Gardine; Luftkeimzahlen auf verschiedenen Nährböden in Raum 029 im Untergeschoß und Raum 32 im Erdgeschoß.

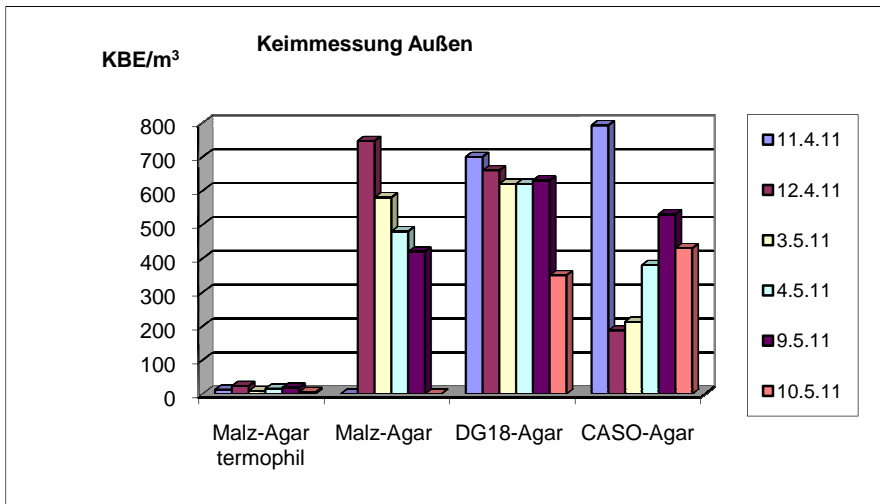


Abbildung 13: Ergebnisse der zweiten Luftkeimmessung mit Gardine; Luftkeimzahlen auf verschiedenen Nährböden im Außenluftbereich vor Raum 029.

Die Ergebnisse geben einen Hinweis auf eine Reduzierung der Luftkeimzahl im Raum durch das Vorhandensein der Gardine. Dies konnte insbesondere bei den Messungen während der kälteren Jahreszeit ermittelt werden. Laut Hersteller basiert die antimikrobielle Wirkung bei der verwendeten Gardine auf Silberionen, die im Faserpolymer fest verankert sind.

Ergebnisse der Partikelfreisetzung von Ag-dotierten Gardinen (AP 2.1.3 c)

Für die Prüfung der Partikelfreisetzung wurde zunächst eine Messung ohne Gardinenbewegung über eine Stunde durchgeführt. Anschließend wurde eine leichte Luftzugbewegung simuliert (1 Minute mittels einer Kunststoffsehne von außen bewegt). Nach einer weiteren halben Stunde wurde die Bewegung der Gardine wiederholt (insgesamt 3mal Bewegung mit anschließender halbstündiger Messung ohne Bewegung).

Es wurde keine Freisetzung von Partikeln (zwischen 10 und 1000 nm) der Gardine durch die Bewegung im Realraum registriert (Abbildung 14).

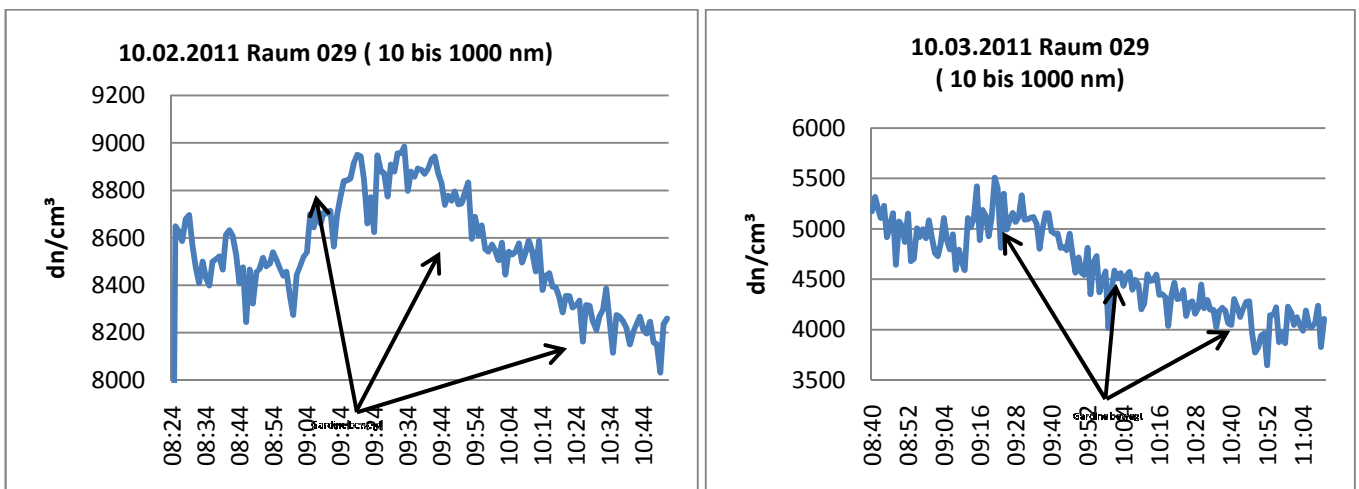


Abbildung 14: Ergebnisse der Partikelfreisetzung von Ag-dotierten Gardinen nach deren Bewegung in Raum 029; Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der Bewegung der Gardinen.

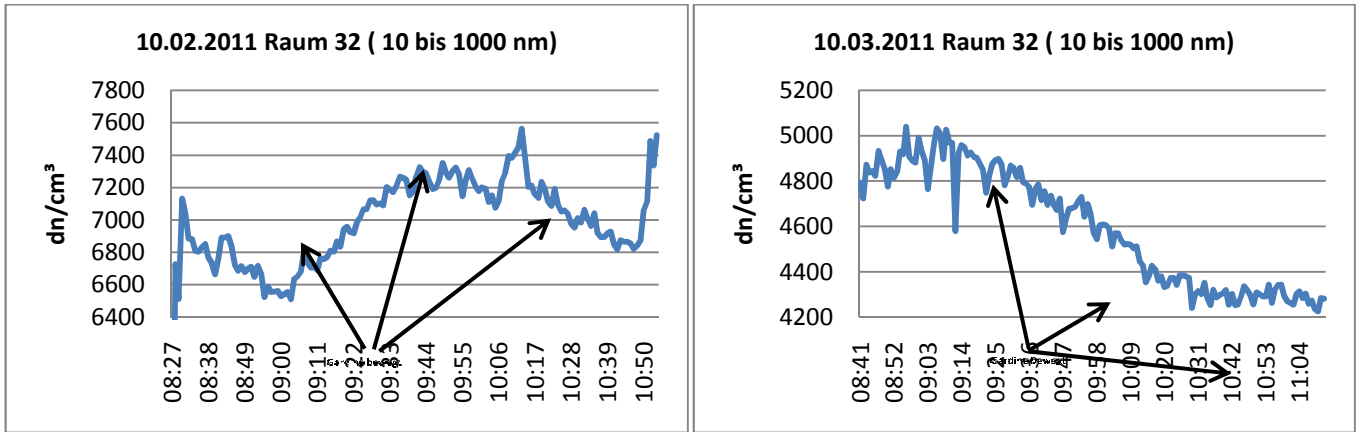


Abbildung 15: Ergebnisse der Partikelfreisetzung von Ag-dotierten Gardinen nach deren Bewegung in Raum 32; Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der Bewegung der Gardinen.

4.2 Ergebnisse Alterungs- und Gebrauchsversuche

Im Korngrößen-Bereich bis 500 nm wurden keine erhöhten Partikelfreisetzungen gefunden.

4.3 Ergebnisse Wischtücher

Probeversuche: Die Probeversuche haben gezeigt, dass für die Erfassung der für uns relevanten NP der Korngrößenbereich von 6 bis 30 nm ausreichend ist (Abbildung 16).

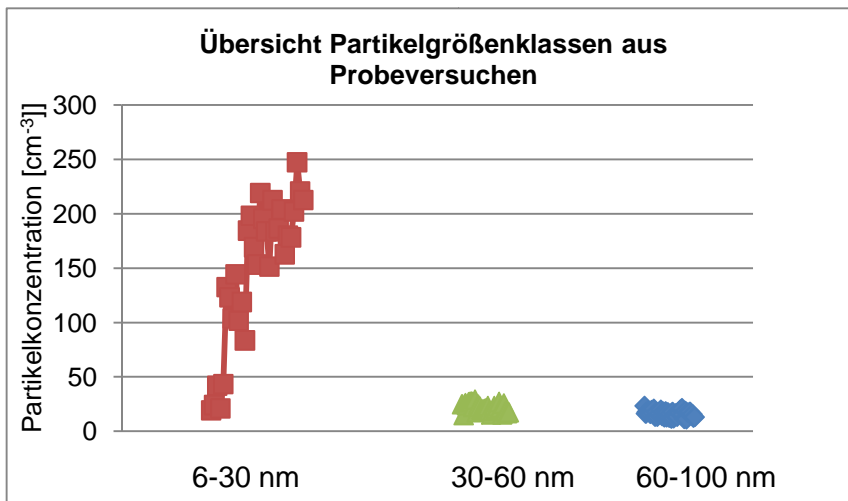


Abbildung 16: Partikelfreisetzung im Probeversuch

Im Bereich 30-60 nm wurde wenig, im Bereich von 100 nm und größer wurde so gut wie keine Partikelfreisetzung gefunden. Laut RAS wurden die Wischtücher mit Ag-NP bis ca. 20 nm Größe dotiert.

Vorprogramm: Bei den Simulationsversuchen konnte keine Freisetzung von Partikeln im Bereich 6-30 nm festgestellt werden.

Ergebnisse Messprogramm: Eine Partikelfreisetzung wurde vor allem bei der Naturholzplatte gefunden, nicht bei Glas und kaum bei der Marmorplatte (vgl. Abbildung 17 und 18).

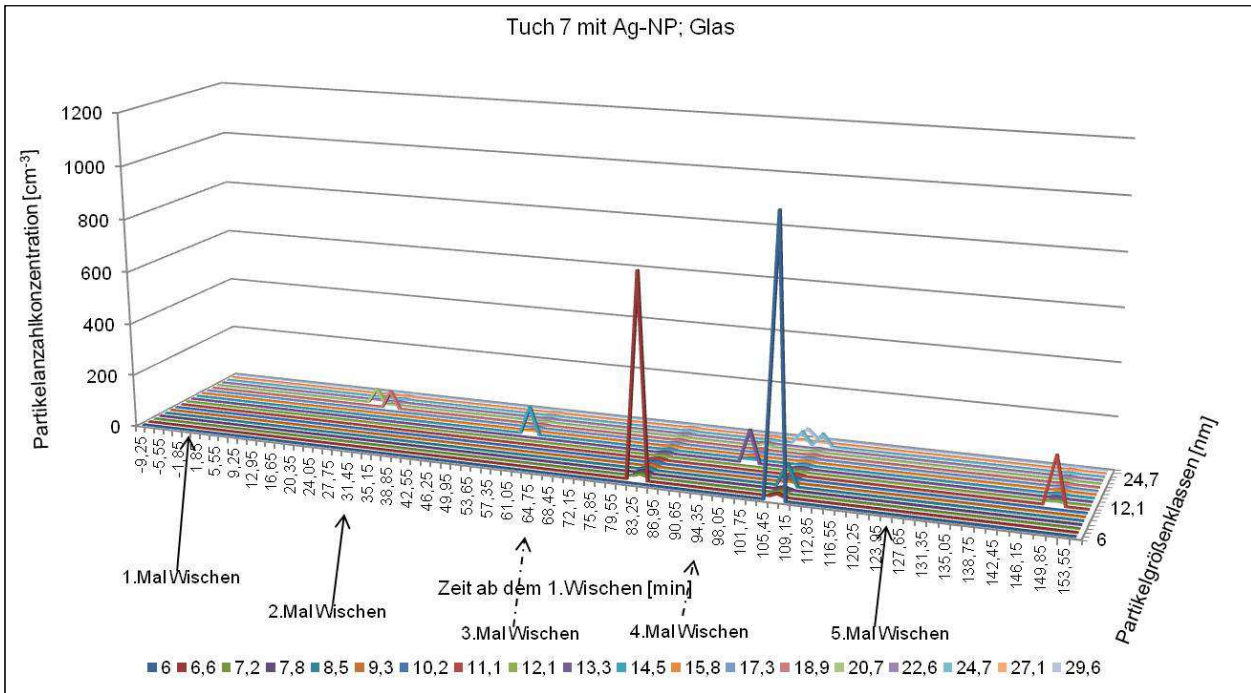


Abbildung 17: Partikelfreisetzung aus einem ausgewählten Wischtuch mit Ag-NP auf der Glasoberfläche: Ergebnisse der Untersuchungen mit dem Grimm SMPS+C System (6-30 nm).

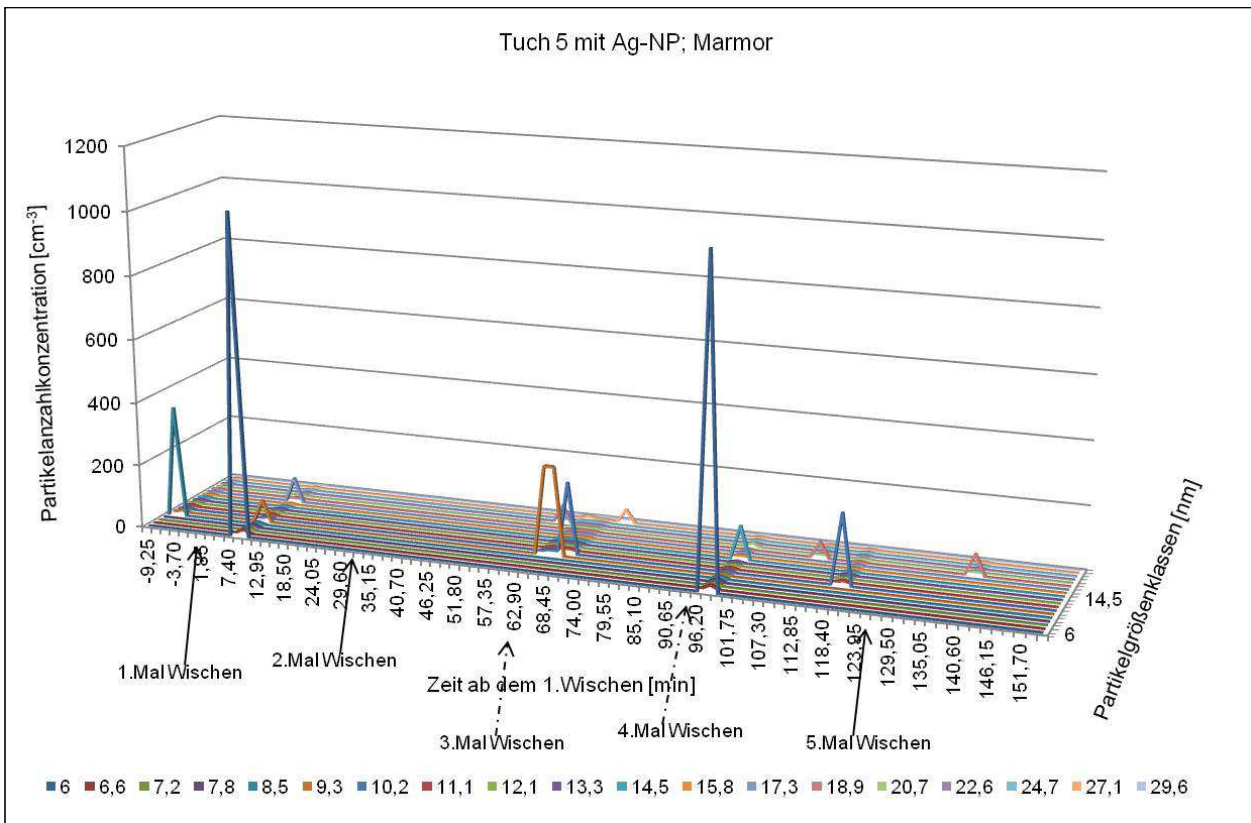


Abbildung 18: Partikelfreisetzung aus einem ausgewählten Wischtuch mit Ag-NP auf der Marmorplatte: Ergebnisse der Untersuchungen mit dem Grimm SMPS+C System (6-30 nm).

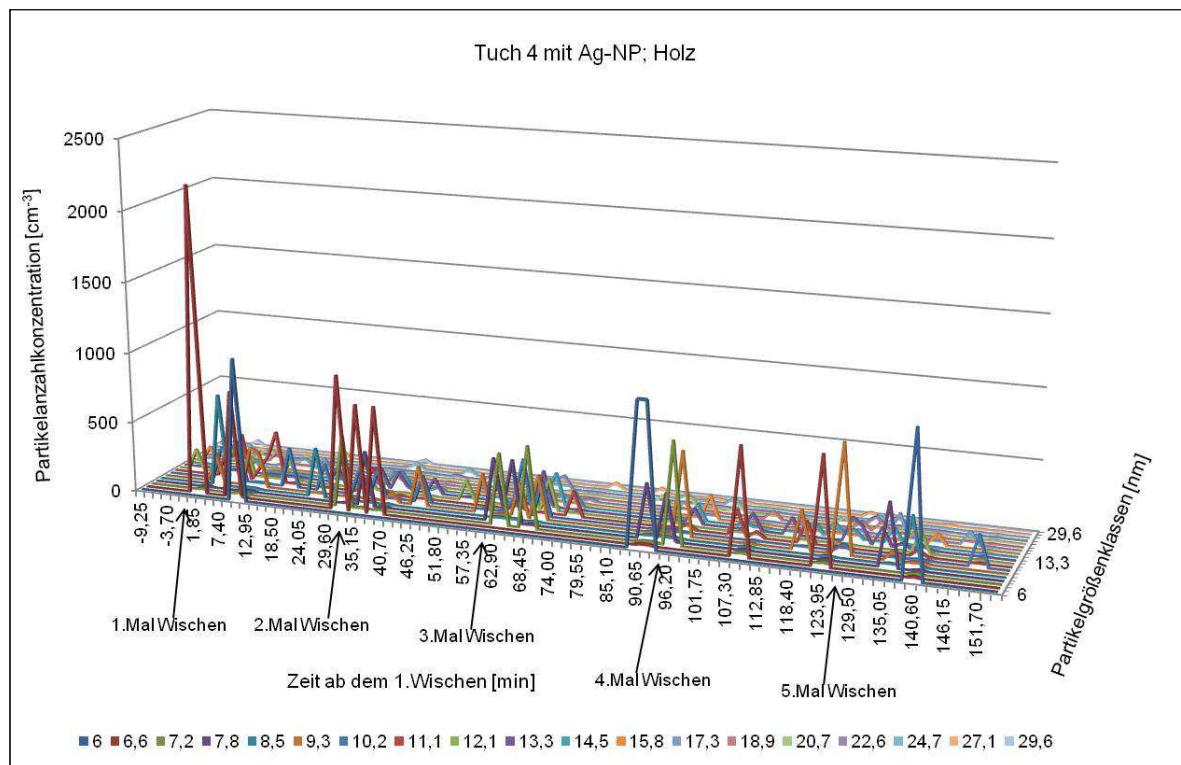


Abbildung 19: Partikelfreisetzung aus einem ausgewählten Wischtuch mit Ag-NP auf der Naturholzplatte: Ergebnisse der Untersuchungen mit dem Grimm SMPS+C System (6-30 nm).

Zur Absicherung, ob es sich bei den freigesetzten Partikeln – besonders bei Holz – um Nano-Ag oder um „bloßen“ Holz- und/oder Zelluloseabrieb des Wischtuches handelte, wurden weitere Versuche durchgeführt. Dazu sollten die gleichen Wischtücher ohne Ag-NP untersucht werden. Allerdings werden derartige Wischtücher nicht hergestellt und es konnten lediglich ähnliche Wischtücher ohne Ag-NP beschafft werden („Economy“ Mikrofaserstoff Frottee). Die Untersuchungen zur Partikelfreisetzung wurden auf der Naturholzplatte unter den gleichen Bedingungen wie bei den Wischtüchern mit Ag-NP durchgeführt.

Wie Abbildung 20 zeigt, wurde auch bei den Tüchern ohne Nano-Ag (insgesamt wurden 4 Tücher untersucht) eine Partikelfreisetzung gefunden. Daher ist mit großer Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass nicht das Nano-Ag selbst freigesetzt wurde, sondern beim Wischen Zellulosepartikel und/oder Abriebpartikel der Oberfläche registriert wurden.

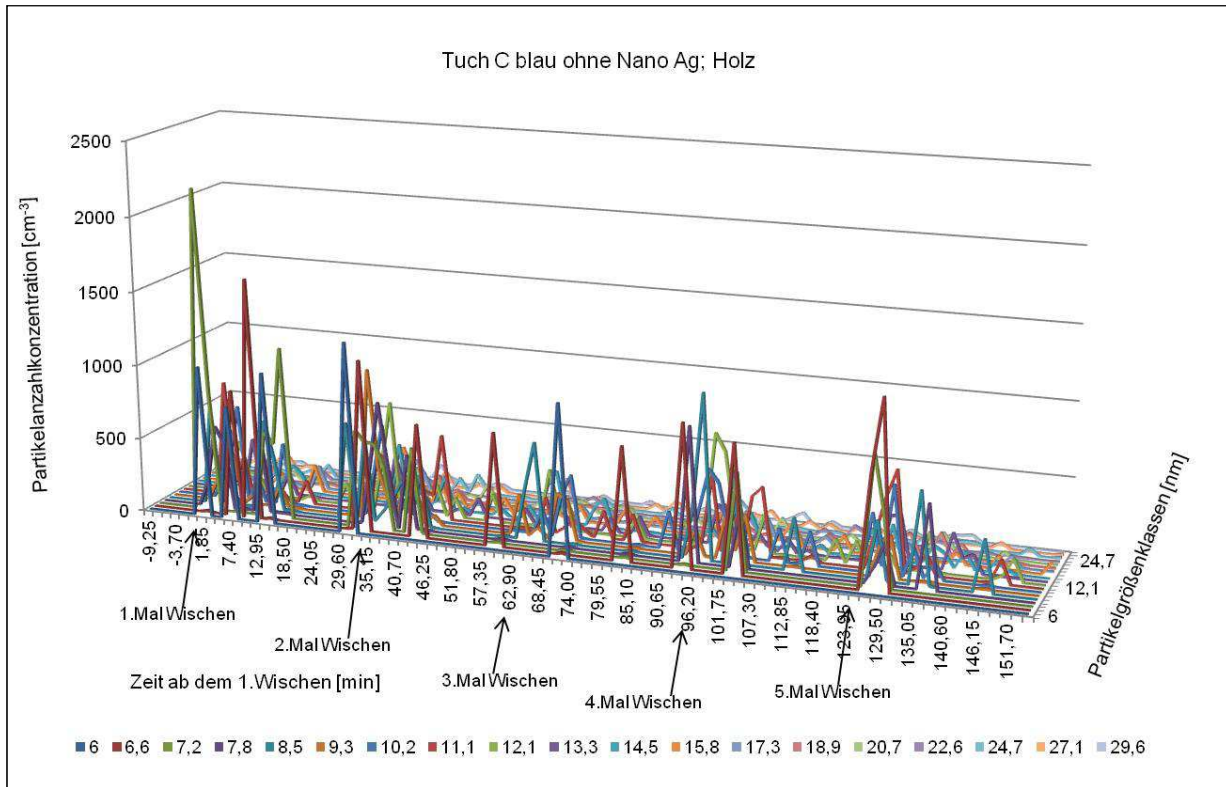


Abbildung 20: Partikelfreisetzung aus einem ausgewählten Wischtuch ohne Nano-Ag auf der Naturholzplatte: Ergebnisse der Untersuchungen mit dem Grimm SMPS+C System (6-30 nm).

Ergebnisse der Silberanalytik

Die Silberanalytik wurde mit Hilfe der ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) mit induktiv gekoppelten Argonplasma durchgeführt. Um eine Reduktion des Silbergehaltes gebrauchter Wischtüchern feststellen zu können, musste zunächst der Silbergehalt im unbenutzten Wischtuch bestimmt werden. Hierzu wurden 5 Proben eines Wischtuchs untersucht.

Probenbezeichnung	Wischtuch Probe 1	Wischtuch Probe 2	Wischtuch Probe 3	Wischtuch Probe 4	Wischtuch Probe 5	Durchschnittswert
Silbergehalt [mg/kg]	32,4	34,1	36,7	34,9	32,7	34,16

Tabelle 1: Blindwerte der Wischtuchproben

Die gemessenen Werte zeigten, dass das Wischtuch relativ homogen (Schwankungsbreite <10% um den Mittelwert) mit durchschnittlich 34,16 mg/kg Silber beladen wurde (Tabelle 1).

Ausgehend vom gemittelten Blindwert von 34,16 mg/kg am unbenutzten Wischtuch wird aus den in Tabelle 2 aufgeführten Werten ersichtlich, dass durch die mechanische Beanspruchung des Wischtuchs keine nennenswerte Verringerung der Silberkonzentration festzustellen war.

Beanspruchte Oberfläche	Probenahme (je 2x)	Silbergehalt [mg/kg]
Glas	Probe 1	36,9
		41,0
	Probe 2	33,3
		35,4
	Probe 3	36,2
		34,5
Marmor	Probe 1	35,3
		35,6
	Probe 2	36,3
		34,8
	Probe 3	35,9
		33,5
Holz	Probe 1	34,5
		34,4
	Probe 2	35,9
		33,4
	Probe 3	33,4
		34,8

Tabelle 2: Übersicht der gemessenen Silberkonzentration in den jeweiligen, auf unterschiedlichen Oberflächen beanspruchten Proben

REM Analyse unbenutztes Wischtuch

Wie in Abbildung 21 zu sehen, waren die herausgezupften Fasern lose miteinander verdrillt. Eine Unterscheidung zwischen den mit Nanopartikeln versetzten PET-Fasern und den Fasern aus PA war im Rasterelektronenmikroskop aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Zusammensetzung auf Kohlenstoffbasis nicht möglich, daher wurden drei verschiedene Positionen auf unterschiedlichen Fasern ausgewählt (siehe Positionsrahmen 1 bis 3), um an unterschiedlichen Stellen etwaige Anhaftungen und Materialunterschiede - soweit mittels REM zugänglich - zu untersuchen. Die im weiteren Verlauf gezeigten Bilder spiegeln daher die Versetzung der Fasern mit Silber exemplarisch bei zunehmender Vergrößerung wider.

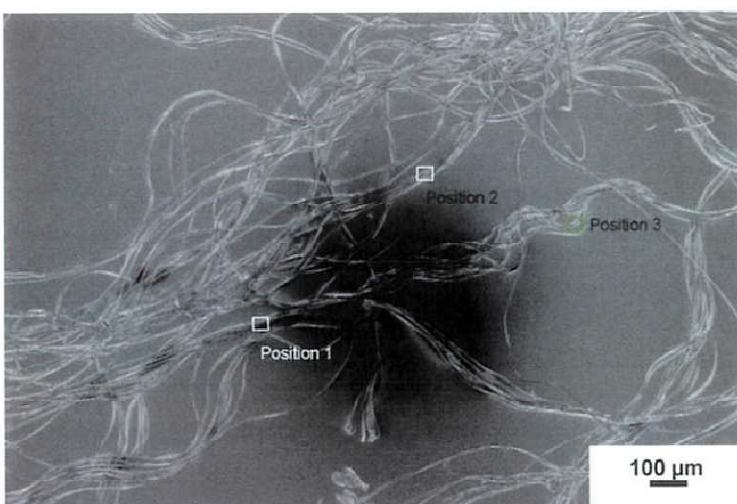


Abbildung 21: Übersichtsaufnahme der herausgezupften Fasern eines unbenutzten Wischtuchs.

Bei dieser Probe ergab sich wie später bei den Socken auch, die Problematik bezüglich der Identifikation der Anhaftungen zusätzlich die Schwierigkeit, dass die Nanopartikel herstellungsbedingt ungleichmäßig über die gesamte Länge und zusätzlich über den gesamten Querschnitt der Fasern verteilt sein sollten (siehe Abbildung 23).

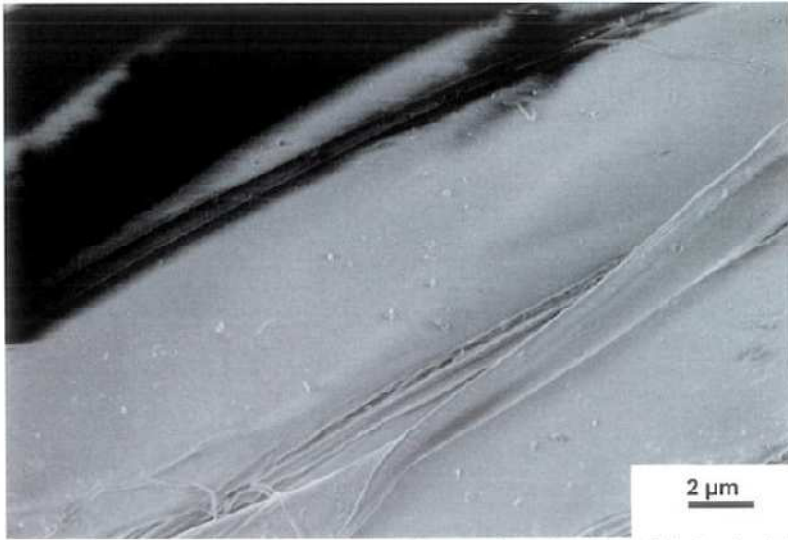


Abbildung 22: Aufsicht auf eine Faser mit Anhaftungen des unbenutzten Wischtuchs bei 5000x Vergrößerung.

Ab einer 5000x Vergrößerung waren nanometergroße Anhaftungen mit einer ungleichmäßigen Verteilung auf den einzelnen Fasern zu erkennen (siehe Abbildung 22).

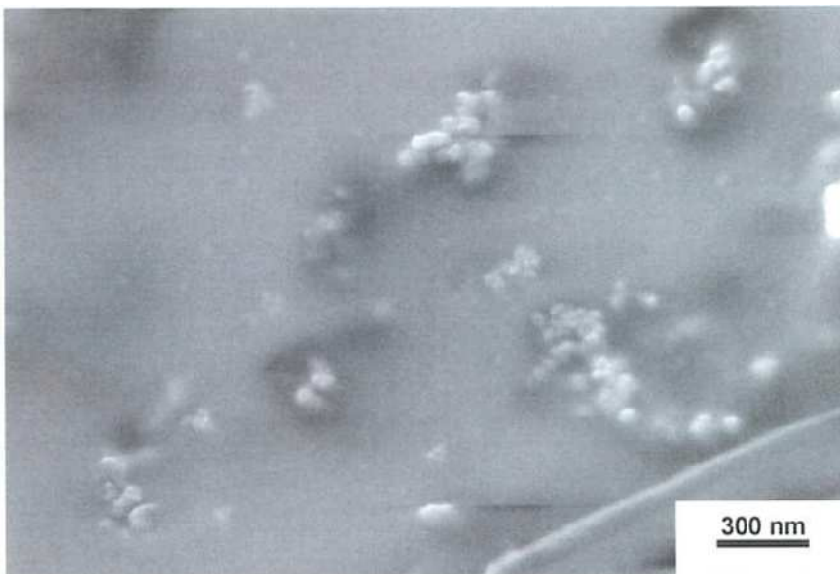


Abbildung 23: Bei einer 40000x Vergrößerung der Wischtuchfaser sind nanometergroße Strukturen zu erkennen.

Bei weiteren Vergrößerungen fanden sich unter anderem auch die in Abbildung 23 gezeigten Strukturen. Hier sind agglomerierte, partikuläre Strukturen zu sehen, welche wiederum ungleichmäßig verteilt vorliegen. Es entsteht der Eindruck, dass diese Partikel sich nahe der Faseroberfläche oder darunter befinden.

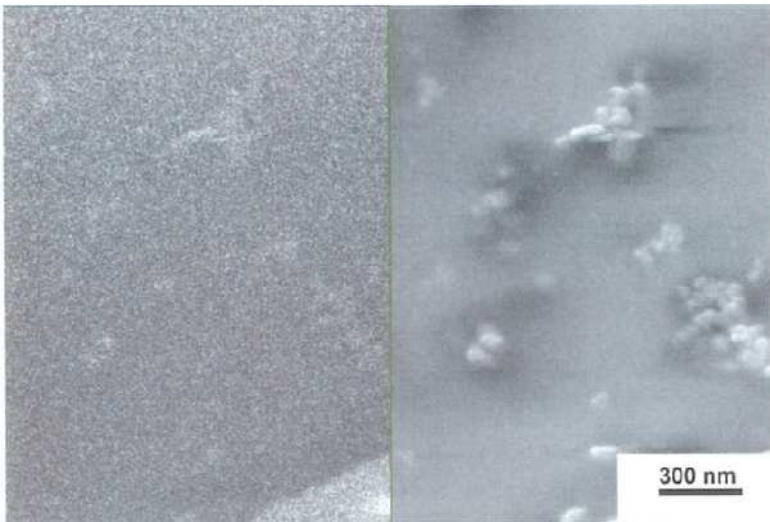


Abbildung 24: Split screen-Darstellung der in Abbildung 23 gezeigten Aufnahme.

Die in Abbildung 24 gezeigte Aufnahme unter Zuhilfenahme des ESB-Detektors macht deutlich, dass sich die mittels Sekundärelektronen darstellbaren Strukturen auch nach Optimierung der Bildeinstellungen nur wenig im Kontrast vom Fasermaterial abheben. Es ist daher zu vermuten, dass die Strukturen oberflächennah, aber höchstwahrscheinlich von einer dünnen Schicht Polymer bedeckt, vorliegen.

REM Analyse beanspruchtes Wischtuch

Für diesen Teil der Analytik wurde ein Wischtuch gewählt, mit dem auf Holz gewischt wurde, da hier nach Inaugenscheinnahme der Probe die größte Beanspruchung des Gewebes stattgefunden hatte und somit die Abgabe von Anhaftungen an die Umwelt am höchsten sein sollte. Auf Basis der beschriebenen Probennahme wurden an entsprechender Stelle Fasern aus der Probe gezupft und untersucht. Wie in Abbildung 25 zu sehen, lagen auch hier die Fasern verknäult vor. Eine Unterscheidung zwischen den mit Nanopartikeln versetzten PET-Fasern und den Fasern aus PA war im Rasterelektronenmikroskop aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Zusammensetzung auf Kohlenstoffbasis nicht möglich.

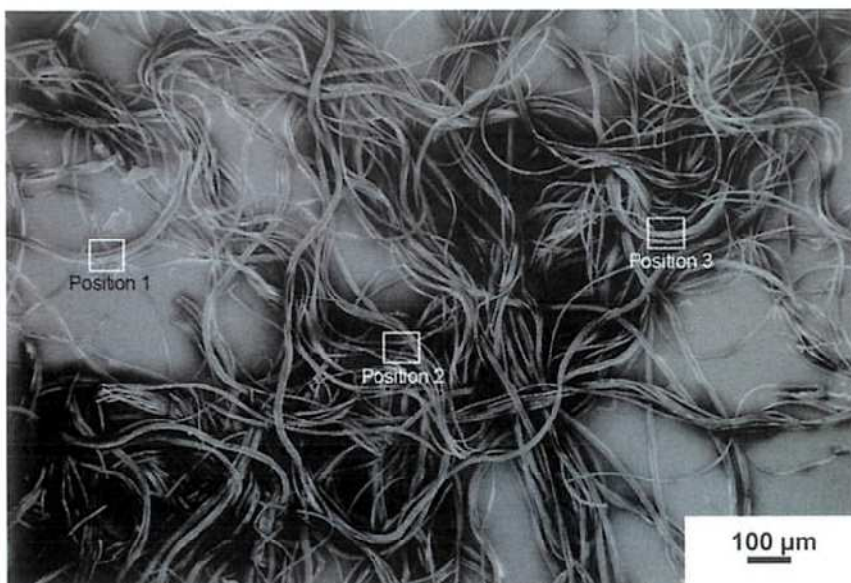


Abbildung 25: Übersichtsaufnahme der heraus gezupften Fasern aus einem beanspruchten Wischtuch.

An drei ausgewählten Positionen (siehe Abbildung 25) wurden die weiteren Untersuchungen mittels REM durchgeführt. Bei höheren Vergrößerungen wurden auch hier Anhaftungen sichtbar (siehe Abbildung 26).

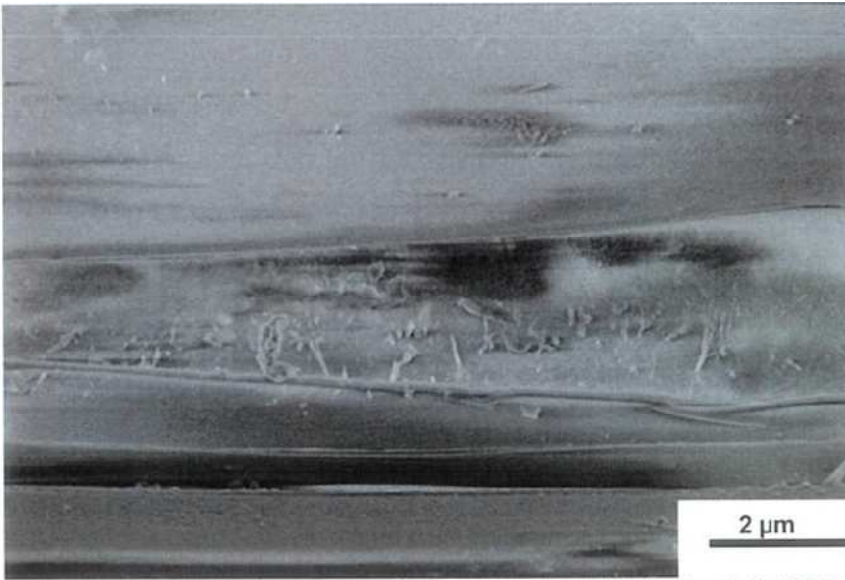


Abbildung 26: Aufnahme einer Faser des strapazierten Wischtuchs bei 10000x Vergrößerung. Es sind deutliche Anhaftungen im Nanometerbereich zu erkennen.

Neben der Art der Verarbeitung der Silberpartikel in diesem Gewebe kam als weitere Erschwernis für die Charakterisierung hinzu, dass sich aufgrund der Beanspruchung auch Holzfaserreste auf den Fasern angelagert haben könnten, welche sich mittels Elektronenmikroskopie ebenfalls nur schwer vom Matrixmaterial der Faser und von möglichen Silbernanopartikeln auf der Oberfläche unterscheiden lassen würden.

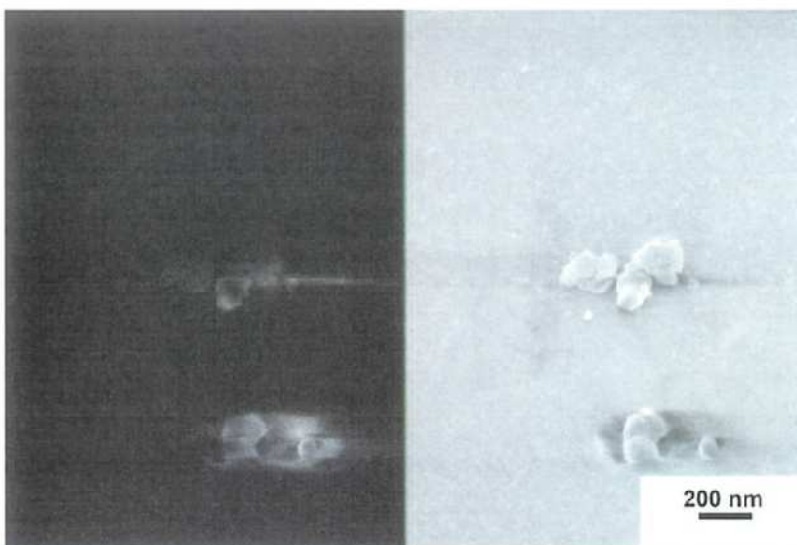


Abbildung 27: Detailaufnahme einer Anlagerung bei 40000x Vergrößerung in der Split screen Darstellung

Bei einer 40000x Vergrößerung waren auch hier oberflächennahe Strukturen und Anhaftungen zu erkennen (siehe Abbildung 27).

Die Frage, um was es sich bei diesen Strukturen handelte, und ob sie auf oder unter der Oberfläche liegen, kann vor diesem Hintergrund nicht beantwortet werden.

4.4 Ergebnisse Socken

Der errechnete Ausgangswert an Silber, mit denen die Socke beladen wurde, ergab sich rechnerisch zu 584,25 mg/kg Socke. Die einzelnen Werte der genommenen Proben – ohne Berücksichtigung des Wertes im Saum – schwankten bis zu 15% um diesen Mittelwert. Der Messwert der Probe am Bündchen war äußerst niedrig (nahe der Erfassungsgrenze) und wurde daher nicht für die Berechnung berücksichtigt.

Probenbezeichnung	Socke (Bund)	Socke „Schienbein“	Socke (Ferse)	Socke „Ballen“	Socke (Zehen)	Durchschnittswert
Silbergehalt [mg/kg]	10	624	533	499	681	584,25

Tabelle 3: Messwerte der ungetragenen Socke.

Aus je einer Socke wurden Proben entnommen und analysiert. Die ermittelten Werte sind in untenstehender Tabelle 4 aufgeführt.

Beanspruchung	Wie oft getragen?	Probenahme (je 2x)	Silbergehalt [mg/kg]
Normal	5x	Bündchen	10
			9
		Ferse	330
			302
		Zehen	243
			324
	7x	Bündchen	6
			6
		Ferse	168
			178
		Zehen	114
			122
	10x	Bündchen	15
			10
Ferse		288	
		293	
Zehen		170	
		226	
Stark	10x	Bündchen	7
			7
		Ferse	117
			178
		Zehen	156
			131

Tabelle 4: Übersicht der gemessenen Silberkonzentrationen der unterschiedlich stark beanspruchten Proben.

Die Werte der genommenen Proben am Bündchen (Probe 1) veränderten sich kaum im Verlauf des Gebrauchs und lagen nahezu konstant bei 10 mg/kg. Die Konzentrationen in den Proben von Ferse (Probe 2) und Zehen (Probe 3) fielen besonders stark zu Anfang der Messreihe ab. Zwischen dem Ausgangswert und der ersten Probe (5x getragen) ergibt sich eine Reduktion von ca. 50% (Probe 2) bzw. 60% (Probe 3).

Ein ähnlich starker Abfall der Konzentration ist erneut zwischen den Werten der nächsten beiden Proben (Socke. 5x getragen im Vergleich zu Socke. 7x getragen) zu erkennen.

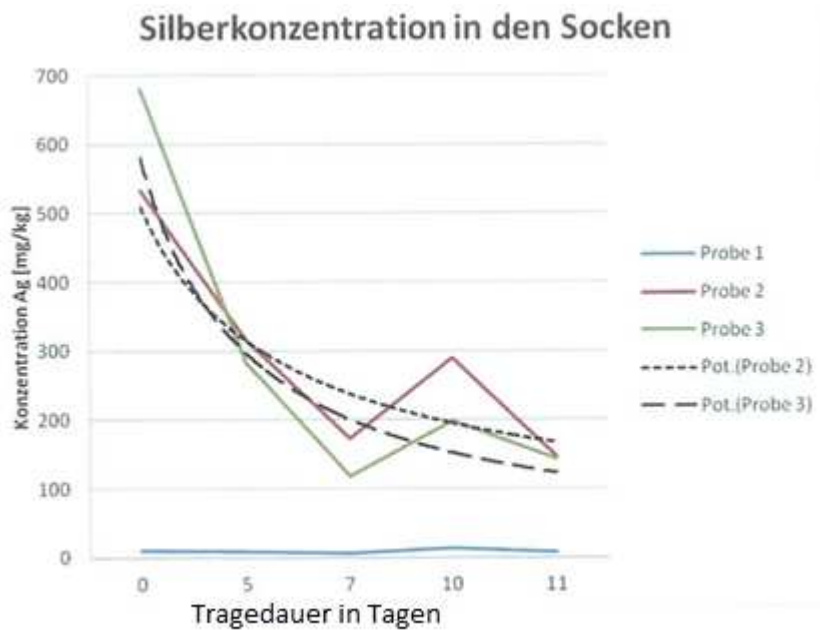


Abbildung 28: Grafische Darstellung der Silberkonzentration in den Sockenproben mit zunehmender Beanspruchung (0: Blindwert, 5: 5x getragen, 7x getragen, 10: 10x getragen, 11: 10x getragen, stark beansprucht)

Wird über die ermittelten Konzentrationen eine Trendlinie gelegt (gestrichelte Linie), ergibt sich eine exponentielle Abnahme der Silberkonzentration über den betrachteten Zeitraum hinweg, welche für eine Desorption von Oberflächen durchaus typisch ist. Auffallend war hier der Anstieg der Silberkonzentration bei den 10x getragenen Socken gegenüber den nur 7x getragenen. Als mögliche Fehlerquellen kommen hier die nicht bekannte Ausgangskonzentration für genau diese Probe (für jede Beanspruchung wurden individuelle Socken verwendet) und/oder eine Verwechslung der Proben bei ihrer Handhabung (z.B. Probenbeschriftung, Probennahme usw.) in Betracht.

In Hinblick auf die Fragestellung wurde gezeigt, dass durch die Beanspruchung der Socken die anfängliche Silberkonzentration um ca. 80% abnimmt, wobei nicht klar ist ob die Abgabe von Silber beim Tragen oder beim anschließenden Waschen erfolgte. Der Restgehalt an Silber könnte fertigungsbedingt im Gewebe verbleiben (z.B. nicht über die Faseroberfläche zugänglich) oder durch erneute Beanspruchung weiter reduziert werden.

REM Analyse unbenutzte Socke

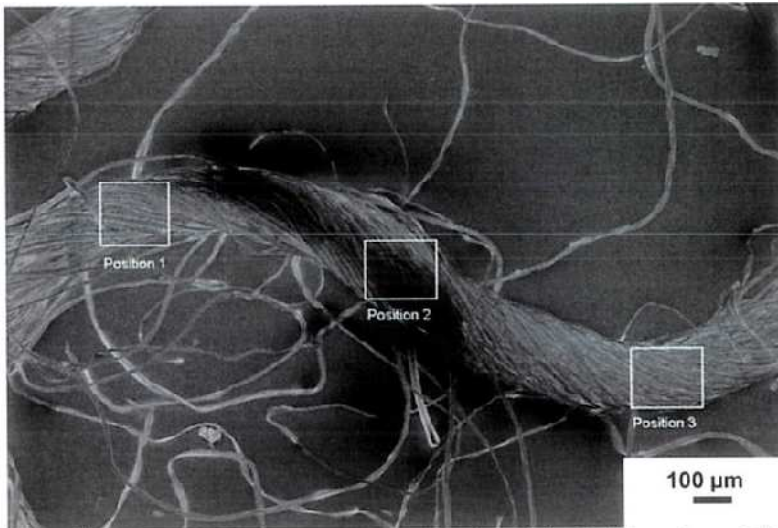


Abbildung 29: Übersichtsaufnahme der unbenutzten Socke und den Positionsrahmen 1 bis 3.

Wie in Abbildung 29 zu sehen, waren die herausgezupften Fasern zu einem Bündel verdreht. Aus diesem Bündel wurden drei verschiedene Positionen entlang des Faserbündels ausgewählt und jeweils Bilder mit unterschiedlichen Vergrößerungen aufgenommen, um etwaige Anhaftungen an den Faseroberflächen abzubilden.



Abbildung 30: REM Aufnahme der Faseroberfläche. Bei dieser Vergrößerung wurden ungleichmäßig verteilte Anhaftungen sichtbar.

Mit steigender Vergrößerung traten Aufladungseffekte zu Tage. Dies äußerte sich in der unterschiedlich hellen Darstellung der Probe (siehe Abbildung 30). Um mögliche Materialunterschiede zu verdeutlichen werden im Folgenden einige der gemachten Aufnahmen als sogenannte Split screen-Darstellung unter Verwendung energiselektierter Rückstreuungselektronen (linke Bildhälfte) und Sekundärelektronen (rechte Bildhälfte) geteilt, gezeigt. So lässt die Abbildung 31 den Schluss zu, dass die Anhaftungen aus einem anderen Material bestanden, als die Faser selbst. Vergleichbare Aufnahmen mit ähnlichen Ergebnissen liegen zu den verschiedenen Positionen der genommenen Proben vor.

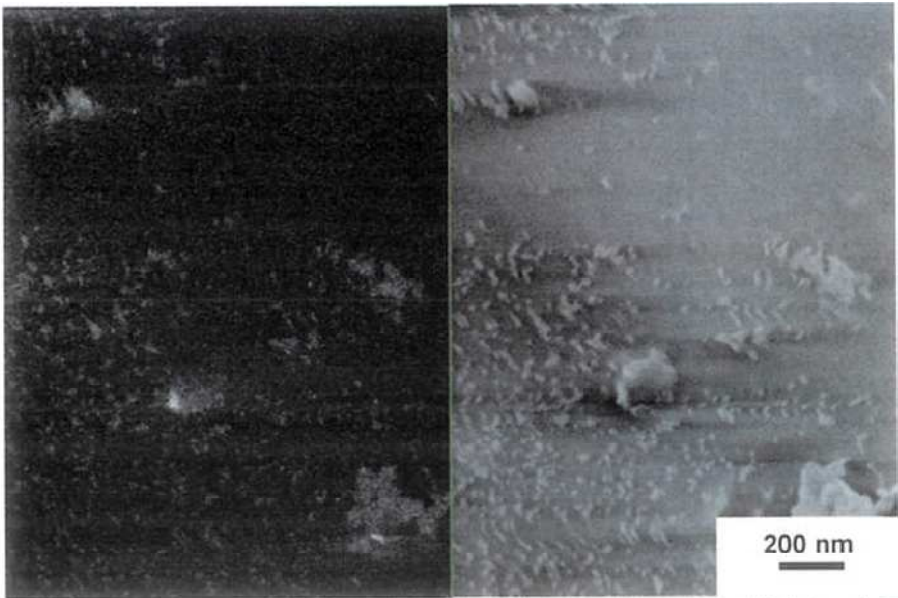


Abbildung 31: Split screen-Darstellung der Probe mittels ESB-Detektor (links) und SE-Detektor (rechts). Die unterschiedlich hellen Flächen im linken Bild lassen auf Materialunterschiede zwischen der Faser (dunkler) und den Anhaftungen (heller) schließen.

REM Analyse beanspruchte Socken

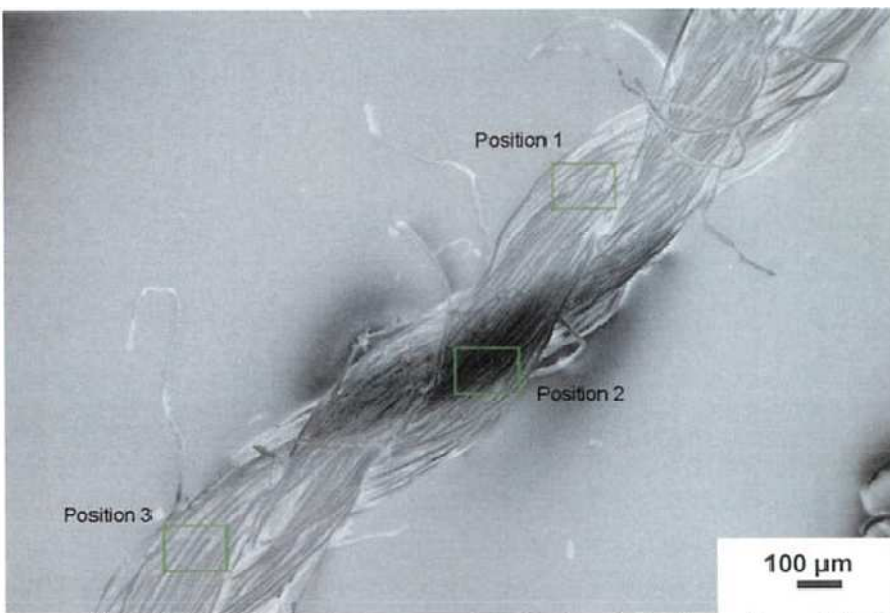


Abbildung 32: Übersichtsaufnahme der beanspruchten Socke mit Positionsrahmen 1 bis 3.

Die herausgezupften Fasern waren zu einem Bündel verdrillt, woraus wiederum Einzelfasern an den Positionen 1 bis 3 (siehe Abbildung 6) exemplarisch näher betrachtet wurden. Die gezeigten Bilder spiegeln die gefundenen Anhaftungen auf den Fasern exemplarisch wider.

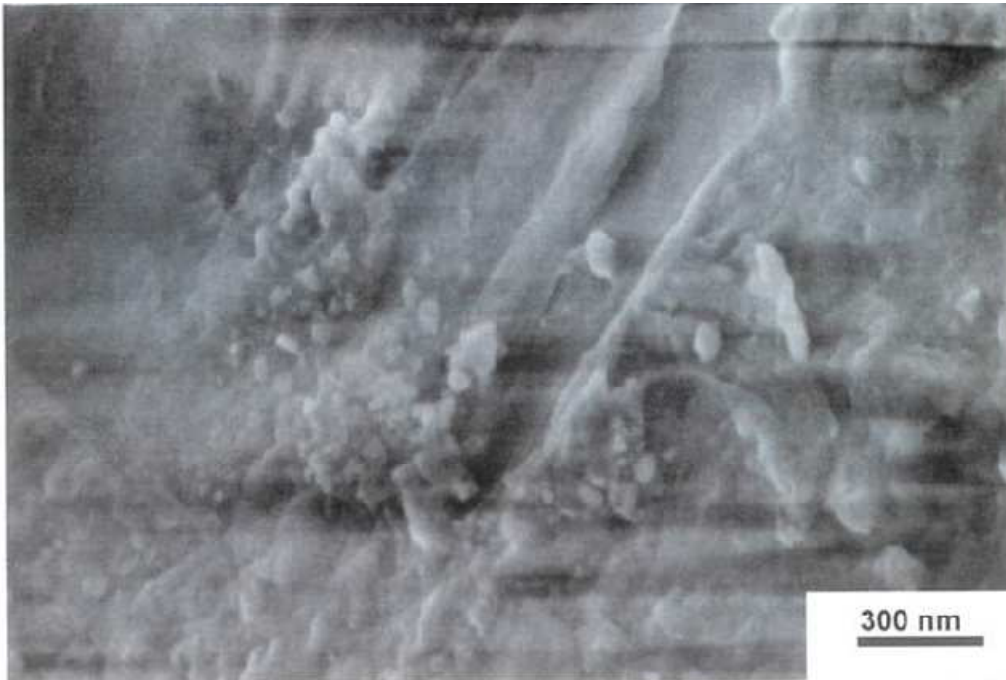


Abbildung 33: Detaildarstellung der Faseroberfläche mit den Anhaftungen und die auftretenden Aufladungserscheinungen.

Auch hier zeigte sich bei höheren Vergrößerungen eine ungleichmäßige Verteilung von Aggregaten auf der Oberfläche der Fasern. Mit steigender Vergrößerung wurden außerdem Aufladungseffekte der Probe sichtbar. Dies äußerte sich in der unterschiedlich hellen Darstellung der Probe (siehe Abbildung 33).

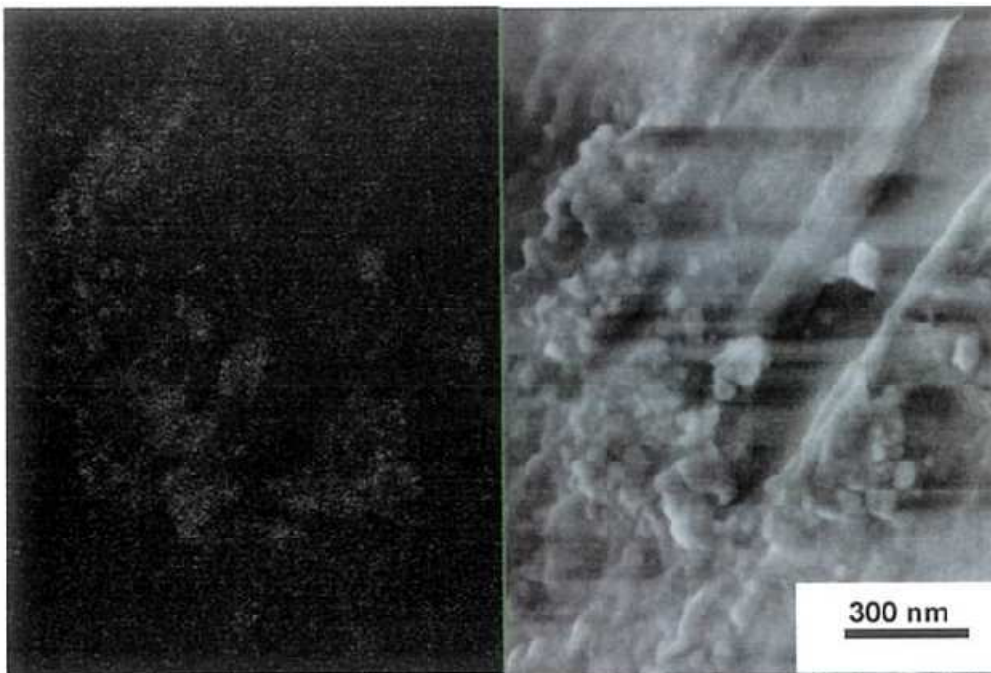


Abbildung 34: Split screen-Darstellung zur Untersuchung von Materialunterschieden zwischen Faser und den sichtbaren Anhaftungen.

Um die Anhaftungen näher zu untersuchen, wurde wiederum der ESB-Detektor für die Darstellung der Probe hinzugezogen (siehe Abbildung 34). Vergleichbare Aufnahmen mit ähnlichen Ergebnissen liegen für diese verschiedenen Positionen auf der genommenen Probe vor.

Die Aufnahmen lassen den Schluss zu, dass das etwaig vorhandene Silber sehr ungleichmäßig auf der Faseroberfläche verteilt vorliegt.

5 Diskussion

5.1 Diskussion Gardinenversuche

Die Ergebnisse geben einen Hinweis auf eine Reduzierung der Luftkeimzahl im Raum durch das Vorhandensein der Gardine. Dies konnte insbesondere bei den Messungen während der kälteren Jahreszeit ermittelt werden. Wirklich nachgewiesen konnte dieser Effekt in diesem kleinen Studienumfang jedoch nicht.

5.2 Diskussion Socken

Die Ermittlung des Silbergehalts innerhalb der verschiedenen Proben ergab für die Socken eine ungleichmäßige Verteilung des Silbers über die Socke: während am Bündchen nur sehr wenig Silber eingearbeitet wurde, sind die Konzentrationen im Fersen- und Zehenbereich deutlich höher.

Die ermittelten Konzentrationen über die Dauer der Beanspruchung/dem Tragen der Socken ergaben eine kontinuierliche Abnahme des Silbergehaltes mit exponentiellem Verlauf und zeigen für die Messungen an Ferse und Zehen einen ähnlichen Verlauf mit vergleichbaren Konzentrationen.

Über den betrachteten Verlauf der Beanspruchung nahm der Silbergehalt um ca. 80% ab, wobei keine Aussage getroffen werden kann, ob die Silberabgabe beim Tragen oder beim Waschen erfolgt. Auch in welcher Form das Silber abgegeben wird, ist nicht eindeutig.

Es ist anzumerken, dass für eine genauere Beschreibung durch eine Modellfunktion die Anzahl der Messwerte zu gering war und die Probenahme und Analyse beginnend mit Bestimmung eines individuellen Blindwertes für jede Socke noch systematischer hätte erfolgen müssen.

Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen ergaben diesbezüglich kein genaues Bild. Es konnten zwar Partikelanhaftungen an einigen Fasern nachgewiesen werden, welche eindeutig einen stärkeren Materialkontrast zeigten (wie es für Silberpartikel zu erwarten wäre) und in einem Größenbereich von ca. 10-100 nm lagen. Aber auf Grund der Probenbeschaffenheit und den daraus resultierenden Messbedingungen konnte kein analytischer Nachweis mit EDX erbracht werden, dass es sich bei diesen Partikeln tatsächlich um Silber handelt. Unter Einbeziehung der vorhandenen Informationen zur Herstellung der Fasern (Beladung mit Silbernitrat) besteht allerdings die Möglichkeit zur Bildung von elementarem Silber, da sich Silbernitrat durch z. B. Bestrahlung mit Licht zu Silber reduzieren lässt.

Über eine systematische Abnahme dieser Anhaftungen in Bezug zur Beanspruchung lässt sich keine Aussage treffen, da es sich nicht um eine homogene Beschichtung der Fasern handelt und nur ein geringer Anteil der Fasern mit Silbernitrat versetzt wurde (lt. Hersteller 10% der Fasern). Messungen entlang einer einzelnen Faser zeigen Bereiche mit vielen, wenigen und keinen Partikelanhaftungen.

5.3 Diskussion Wischtücher

Die Ermittlung des Silbergehaltes mittels ICP-OES bei den Wischtüchern ergab eine nahezu Konstante, gleichmäßig über die Fläche des Wischtuchs verteilte, Konzentration an Silber, unabhängig ob das Wischtuch unbenutzt oder beansprucht war. Somit ist auch kein Unterschied bezüglich der Art der Beanspruchung (Benutzung auf unterschiedlichen Oberflächen) nachweisbar.

Bei der Herstellung wurden Silbernanopartikel in die PET - Schmelze gegeben, bevor aus dieser die Fasern/Fäden gesponnen wurden. Hier befanden sich die Partikel über das gesamte Volumen der Faser

verteilt. Der Anteil an Partikeln, welche sich oberflächennah und damit für eine Charakterisierung mittels REM zugänglich befinden, wäre dadurch stark verringert.

An einigen Stellen der Fasern wurden oberflächennahe Partikel gefunden, die einen stärkeren Materialkontrast zeigten, als das umgebene Material (Polymer). Auch hier kann kein analytischer Nachweis auf Silber mit EDX aufgrund der Probenbeschaffenheit und den Messbedingungen erbracht werden. Die oberflächennahen Partikel waren in Form und Verteilung sehr uneinheitlich.

Abschließend lässt sich sagen, dass bei den hier analysierten Proben und deren Art der Beanspruchung keine signifikante Verringerung des Silbergehaltes festgestellt werden konnte.

6 Literaturverzeichnis

Arbeitsgruppe „Textilien“ des BfR, Gesundheitliche Bewertung von Textilien und – farbmittel, 2006

Barigig, A., Überblick zur Expositionssituation; BIA/BG-Symposium Allgemeiner Staubgrenzwert, 2002

T.M. Benn, P. Westerhoff, Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially Available Sock Fabrics. Environ. Sci. Technol., 4133-4139, 2008

S. A. Blaser, M. Scheringer, M. MacLeod, K. Hungerbühler, Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles: Science of the total environment 390 (2008) 396-409, 2007

F. Effenberger, Anwendungsfelder in Textilien, Band Nanotechnologie in Kunststoff, Hessisches Ministerium für Wirtschaft, Verkehr und Landesentwicklung, 2009

A. Epp, M. Lohmann, J. Thier-Kundke, C. Kneuer, F. Herzberg, M. Götz, A. Luch, Sicherheit von Nanosilber in Verbraucherprodukten: Viele Fragen sind noch offen. UMID, 30.2011

L. Gail, H.-P. Hortig, Textile Reinraumbekleidung, Reinraumtechnik, VDI-Buch, 319-356, 2004

S. Greßler, M. Simkó, A. Gazsó, U. Fiedeler, M. Nentwich, Nano-Textilien. Nano trust Dossiers Nr.015, Januar 2010

A. Kolbe, H. Markwitz. "Verwendung eines textilen mikrobioziden Speichers." Application 102006056977, 2006.

T.Kuhlbusch, C.Nickel, Emission von Nanopartikeln aus ausgewählten Produkten in ihrem Lebenszyklus, UBA-Texte, FKZ 3708 61 300, 2010

S. Löchtfeld, Nanopartikel – Anwendungen und mögliche Risiken, Baden-Württemberg Ministerium für Arbeit und Soziales, 2006

C. Som, B. Nowack, P. Wick, H. Krug, Nanomaterialien in Textilien: Umwelt-, Gesundheits- und Sicherheits-Aspekte , Swiss Textiles, EMPA Materials Science & Technology, 2010

A. Synytska, C. Bellmann, S. Ripperger, C. Schnitzler, C. Cherif, B. Lehmann, Funktionalisierung von textilen Flächengebilden, ein Verfahren zu ihrer Herstellung und Verwendung. Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V., Aktenzeichen: DE 10 2010 028 662 A1, 2011

7 Veröffentlichungen

Vorträge:

- „Zwischenbericht: Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt- UMSICHT“, UMSICHT-Projekttreffen, Marburg, Februar 2011
- „Ergebnisse AP 2.1.2 Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit ausgewählter Textilien und AP 2.1.3 Produktspezifische Gebrauchssimulation, Exposition in Luft, Staub und Abrieb“, UMSICHT-Industriepartnertreffen, Tübingen, September 2011
- „Projekt UMSICHT - Sachstand und Planungen zur Ökotoxikologie von Nanosilber“, Fachtagung Nanotechnologie und Wasserwirtschaft, Düsseldorf, November 2011
- „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, WaBoLu- Innenraumtage, 2012

Veröffentlichungen:

- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Dezember 2010
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Juli 2011
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Januar 2012
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Juli 2012
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Januar 2013
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Juli 2013
- Abschlussbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Januar 2014

Poster:

- „Prüfung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Ag-dotierten Gardinen und deren potenzielle Partikelfreisetzung unter Realraumbedingungen“, A. Lüdecke, A.M. Scutaru, S. Bach, A. Pietsch, J. Kura, H.-J. Moriske, Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, Mai 2011
- „Untersuchung der Freisetzung von Silber-Nanopartikeln (Ag-NP) aus Wischtüchern“, A. Lüdecke, A.M. Scutaru, A. Pietsch, J. Kura, H.-J. Moriske, Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, März 2012

Anlage 2 zum Schlussbericht UMSICHT

Abschlussbericht zum Arbeitspaket 2.3.2

Ausführende Stelle: Umweltbundesamt, FG IV 2.4
Wassergefährdende Stoffe, Ökotoxikologielabor

Zuweisungsempfänger: UBA - Umweltbundesamt	Förderkennzeichen: 03X0091D
Vorhabensbezeichnung: „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien - vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt - UMSICHT“	
Laufzeit des Vorhabens: 01. Mai 2010 bis 31. Juli 2013	

UMSICHT



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Verbundvorhaben

UMSICHT

„Abschätzung der **Umweltgefährdung** durch **Silber-Nanomaterialien**:
Vom **chemischen Partikel** bis zum **technischen Produkt**.“

im Rahmen der Ausschreibung „**NanoNature**“:

„Nanotechnologien für den Umweltschutz - Auswirkungen synthetischer
Nanomaterialien auf die Umwelt“

Abschlussbericht der ausführenden Stelle:

Umweltbundesamt

FG IV 2.4 – Wassergefährdende Stoffe, Ökotoxikologielabor

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) unter dem Förderkennzeichen 03X0091D gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Verfasser dieses Abschlussberichtes:

Christian Polleichtner

Umweltbundesamt

FG IV 2.4

Schichauweg 58

12307 Berlin

Telefon: 030 / 8903-4245

Email: christian.polleichtner@uba.de

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Berlin, Dezember 2013

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	II
2	Stand von Wissenschaft und Technik	1
2.1	(Öko-) Toxikologische Wirkung und Einfluss der Umgebungsbedingungen	1
3	Arbeitspaket 2.3.2.....	2
3.1	Geplante Arbeiten.....	2
3.2	Durchgeführte Arbeiten	3
4	Material & Methoden	9
4.1	Substanzen.....	9
4.2	Ökotoxikologie	10
4.3	Analytik & Partikelcharakterisierung.....	13
5	Ergebnisse.....	22
5.1	Ergebnisse der Partikelcharakterisierung mittels DLS, ELS und UV/VIS-Spektroskopie	22
5.2	Ergebnisse der Konzentrationsbestimmungen mittels ICP-MS und ICP-OES	50
5.3	Ergebnisse der Partikelcharakterisierung mit Hilfe von Transmissionsprofilen aus der UV/VIS-Spektroskopie	63
5.4	EC _x -Werte, berechnet auf Basis der Nominal-Konzentrationen.....	93
5.5	EC _x -Werte, berechnet auf Basis der chemisch-analytisch bestimmten Effektiv-Konzentrationen des Projektpartners IME	106
5.6	EC _x -Werte, berechnet auf Basis der theoretisch aus den Transmissionsprofilen bestimmten Effektiv-Konzentrationen des Projektpartners MVT, TU Dresden	115
6	Diskussion	120
6.1	Analytik & Partikelcharakterisierung.....	120
6.2	Ökotoxikologie	127
6.3	Fazit.....	138
7	Quellenangaben	III
8	Veröffentlichungen.....	VI

Zusammenfassung

1 Zusammenfassung

Im Rahmen des BMBF-geförderten Verbundvorhabens „UMSICHT - Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien: Vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt.“ wurde durch das Fachgebiet IV 2.4 des Umweltbundesamtes das Arbeitspaket 2.3.2 „Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme“ federführend betreut und bearbeitet.

In der Zeit von Mai 2010 bis Dezember 2013 wurden ökotoxikologische Untersuchungen mit einer Vielzahl repräsentativer Testorganismen verschiedener Trophieebenen aquatischer Nahrungsnetze durchgeführt. Untersucht wurde das ökotoxische Potential des nanopartikulären Silber-Referenzmaterials NM-300K. Zusätzlich wurden Versuche mit dem Dispersens NM-300K DIS sowie Silbernitrat durchgeführt, um die toxische Wirkung der Silbernanopartikel bewerten zu können.

Durchführung und Auswertung der ökotoxikologischen Untersuchungen erfolgten nach international standardisierten Testverfahren sowie nach den Vorgaben des Qualitätssicherungssystems GLP.

In Kooperation mit verschiedenen Projektpartnern wurden zusätzlich mit ausgewählten Methoden die eingesetzten Effektiv-Konzentrationen bestimmt sowie eine umfangreiche Charakterisierung der untersuchten Nanopartikel durchgeführt.

Auf Basis der im Arbeitspaket 2.3.2 ermittelten Dosis-Wirkungsbeziehungen sowie der berechneten Effekt-Konzentrationen (EC_x) wurde im UBA Fachgebiet IV 2.2 eine Risikobewertung des untersuchten Silbernanomaterials vorgenommen (vgl. Arbeitspaket 3.2).

Ebenfalls als Mittel zur Abschätzung des Gefährdungspotentials wurden für NM-300K und Silbernitrat Spezies-Sensitivitäts-Verteilungen modelliert.

Dieser Abschlussbericht gibt einen Überblick über die im Rahmen des UMSICHT-Projektes durchgeführten Arbeiten. Die erzielten Ergebnisse werden vorgestellt und im Vergleich mit Literaturdaten diskutiert.

2 Stand von Wissenschaft und Technik

NM finden sich heute schon in zahlreichen Verbraucherprodukten, wobei über mögliche Wirkungen auf die Umwelt noch relativ wenig bekannt ist. Das Fehlen von Daten für Ag-NP ist besonders problematisch, da die bekannte anti-mikrobielle Wirkung von Silber in Umweltmedien essenzielle Abbauprozesse erheblich stören könnte.

2.1 (Öko-) Toxikologische Wirkung und Einfluss der Umgebungsbedingungen

Die Wirkung von Ag-NP beruht wie auch die Wirkung nicht kolloidalen Silbers auf der drastischen toxischen Wirkung auf Mikroorganismen, verursacht durch Silberionen. Ag-NP sind jedoch aufgrund der großen Oberfläche im Verhältnis zur Masse ungleich effektiver. Ferner können die Partikel direkt die Zellwände angreifen, so dass die Ionen leichter in die Zellen gelangen und dort ihre Wirkung entfalten können. Durch Aufnahme der Partikel kann mehr Silber von den Zellen internalisiert werden als bei vergleichbarer Exposition von Ag⁺. Neben der Größe beeinflussen auch die Ladung und Form der Partikel wie auch die Art der verwendeten Stabilisatoren die antibakterielle Wirkung. Diese Erkenntnisse basieren im Wesentlichen auf *in vitro* Studien aus dem Bereich der medizinischen Hygiene und Toxikologie und haben daher wenig Umweltrelevanz.

Zu ökotoxikologischen Wirkungen von Ag-NP auf Organismen in Gewässern, Sedimenten oder Böden gab es zum Zeitpunkt der Antragstellung nur wenige Untersuchungen. Die durch Ag verursachte Mortalität von Daphnien (Crustacea) ist bei NP viermal höher als bei mikroskaligem Silber, und höhere Konzentrationen bewirken zudem eine Reduktion der Größe der Tiere (Gaiser *et al.* 2009). Embryonen des Zebrafisches *Danio rerio* nehmen Ag-NP über passive Diffusion auf und zeigen besonders in frühen Stadien mit steigenden Konzentrationen zunehmende Deformationsraten. Oberhalb einer Konzentration von 0,19 nM erfolgt eine Zunahme der Mortalitätsrate (Lee *et al.* 2007).

Untersuchungen mit verschiedenen Fischarten und Daphnien belegen, dass verschiedene Silberverbindungen akkumulieren können, wobei das Ausmaß vom Organismus und den Umgebungsbedingungen (z.B. Konzentration an Salz, NOM, Huminsäuren) abhängt (Glover & Wood 2005, Nichols *et al.* 2006, Wood *et al.* 2002). Bestimmte Pflanzen können als Hyperakkumulatoren von Silber agieren und speichern dabei das Metall im eigenen Gewebe in Form von Nanopartikeln (Harris & Bali 2008). Die Bioakkumulation von Ag-NP und ihre Anreicherung über die Nahrungskette wurden dagegen bislang noch nicht untersucht.

3 Arbeitspaket 2.3.2

Im Rahmen des UMSICHT-Projektes war das Ökotoxikologielabor des UBA FG IV 2.4 dem Teilziel 2 „Untersuchung des Verbleibs, der Exposition und Wirkung von Silber in Verbrauchsprodukten (produktspezifische Silber-NM)“ mit der Teilaufgabe 2.3 „Charakterisierung von biologischen Effekten“ zugeordnet. Konkret wurde vom Ökotoxikologielabor des UBA FG IV 2.4 das Arbeitspaket (AP) 2.3.2 „Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme“ bearbeitet, wobei das UBA FG IV 2.4 für dieses AP federführend war.

3.1 Geplante Arbeiten

Ziel des Arbeitspaketes 2.3.2 war die Erfassung der Wirkung von Ag-NP auf aquatische Organismen verschiedener Trophieebenen. Dabei sollten sowohl akute als auch chronische Standardtests nach Verordnungen (EG) des europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe, OECD *Guidelines* und *Draft-Guidelines* sowie DIN ISO-Normen zur Anwendung kommen. Soweit für die Applikation und Exposition von Ag-NP in diesen Testsystemen Modifikationen der Standardtests notwendig waren, sollten diese vorgenommen werden. Zudem sollten die Tests Informationen zum Einfluss der Nährmedien auf die Wirkung und Akkumulation der Ag-NP liefern. Im Verlauf der Durchführung der Tests sollten Proben für die Analytik und Partikelcharakterisierung genommen und in Zusammenarbeit mit den Projektpartnern IME¹, VdW² und TuDr³ analysiert und ausgewertet werden.

Die ursprüngliche Planung sah vor, dass das Ökotoxikologielabor des UBA FG IV 2.4 charakterisierte und standardisierte Ag-NP vom JRC⁴, verteilt über die Mercator GmbH, Deutschland, erhalten und damit zur Ermittlung von Dosis-Wirkungsbeziehungen und Effekt-Konzentrationen Untersuchungen mit folgenden Testsystemen durchführen sollte:

A) Marines Leuchtbakterium *Aliivibrio fischeri*⁵

Akuter Test nach EN ISO 11348-1 L3.

Der Leuchtbakterientest ist ein Kurzzeittest, bei dem die Hemmung der Lichtemission der Testorganismen ermittelt wird. Bei dem Testorganismus *A. fischeri* handelt es sich um ein fakultativ anaerobes, gramnegatives Stäbchenbakterium mit polarer Begeißelung. Das Messkriterium ist die bakterielle Leuchtintensität, die mit einem Luminometer erfasst wird.

B) Limnische Grünalge *Desmodesmus subspicatus* und Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae*

Akuter Test nach *OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 201 (2006)*.

Bei diesem Test wird die Hemmung des Wachstums von exponentiell wachsenden einzelligen

¹ Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie

² Verfahrenstechnik und Werkstoffrückgewinnung, FB 4, Zentrum für Umweltforschung und nachhaltige Technologien (UFT), Universität Bremen

³ Institut für Verfahrenstechnik und Umwelttechnik, TU Dresden

⁴ *Joint Research Centre* der Europäischen Kommission, *Institute for Health & Consumer Protection*, Ispra, Italy

⁵ vor 2007: *Vibrio fischeri*

Arbeitspaket

Süßwassergrünalgen und Cyanobakterien über 72 h bestimmt. Die Erfassung des Wachstums erfolgt über die Änderung der Zellzahl, welche photometrisch bestimmt wird.

C) Wasserlinse *Lemna minor*

Akuter Test nach *OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 221 (2006)*.

Als Testorganismus dient die Wasserlinse *L. minor*. Im Rahmen des Tests wird die Toxizität von Ag-NP in Form einer Dosis-Wirkungs-bezogenen Wachstumshemmung bestimmt, wobei zur Auswertung das Trockengewicht als Parameter für die Biomasse sowie die Anzahl der während des Testes gebildeten Ableger herangezogen werden. Als weitere Parameter werden auffällige qualitative Veränderungen an den Prüforganismen wie Deformierung, Chlorose und Nekrose aufgenommen.

D) Großer Wasserfloh *Daphnia magna* - akut

Akuter Test nach *OECD Guideline for Testing of Chemicals, No. 202 (2004)*.

Der Test basiert auf der Exposition der Organismen gegenüber unterschiedlichen Konzentrationen von Ag-NP und der Erfassung des Anteils von schwimmunfähigen Tieren (Immobilisierung) in Abhängigkeit der eingesetzten Konzentration nach 24 h und 48 h.

Großer Wasserfloh *Daphnia magna* - chronisch

Reproduktionstest nach *OECD Guideline for Testing of Chemicals, No. 211 (2012)*.

Der Test beruht auf der Erfassung der Wirkung von Chemikalien auf die Reproduktionsleistung von *Daphnia magna* über einen Zeitraum von 21 Tagen.

E) Fischembryotoxizitäts-Test mit Embryonen des Zebraäbrblings *Danio rerio*

Akuter Test nach *OECD Guideline Draft "Fish Embryo Toxicity (FET) Test" (2006)*.

Der Test basiert auf der Beobachtung, bei welcher Konzentration ein bestimmter Anteil an Embryonen über einen Zeitraum von 48 h definierte toxikologische Endpunkte (potentiell letale Entwicklungsstörungen) aufweist.

F) Freisetzung von Partikeln in wässriges Medium und Analyse aller Proben aus wässrigem Milieu mittels REM durch das UBA FG II 1.3.

Durch Untersuchung von Proben mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) im UBA FG II 1.3 sollte Aufschluss über die Agglomeratgrößenverteilung der Ag-NP sowie deren Änderung im Versuchsverlauf gewonnen werden.

Die vom Ökotoxikologielabor des UBA FG IV 2.4 im Rahmen des AP 2.3.2 generierten Daten zum ökotoxikologischen Potential der untersuchten Ag-NP sollten innerhalb AP 3.2 „Gefährdungs- und Risikoabschätzung“ von weiteren Projektpartnern als Datenbasis für die abschließende Risikobewertung herangezogen werden.

3.2 Durchgeführte Arbeiten

Anders als ursprünglich geplant konnten im Rahmen des AP 2.3.2 keine rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen (REM) im UBA FG II 1.3 durchgeführt werden. Mit Hilfe der REM-Aufnahmen sollten Aussagen zur Partikelfreisetzung in wässrigen

Arbeitspaket

Medien, zur Agglomeratgrößenverteilung der Ag-NP sowie deren Änderung im zeitlichen Verlauf getroffen werden. Zusätzlich war geplant, durch REM-Aufnahmen optische Belege für Anlagerung und/oder Aufnahme der Ag-NP an bzw. in die Testorganismen zu schaffen. Obwohl wiederholt zugesagt, standen letztlich weder das REM noch das entsprechende Personal zu dessen Bedienung zur Verfügung.

Anstelle der REM-Untersuchungen wurde zusätzlich zu der geplanten chemisch-analytischen Bestimmung der Gesamtsilber- und Silberionen-Konzentrationen (Projektpartner IME) umfangreiche Untersuchungen zur Charakterisierung der Ag-NP und ihrem Verhalten in den verschiedenen Testmedien initiiert (Projektpartner VdW und TuDr).

Der Umfang der ökotoxikologischen Untersuchungen wurde von geplanten 7 Testsystemen auf 9 Testsysteme erweitert. Zusätzlich wurde zu jedem Testsystem mindestens eine Untersuchung nach den strengen Vorgaben des internationalen Qualitätssicherungssystems GLP⁶ durchgeführt.

Es wurden lichtmikroskopische Arbeiten durchgeführt, um optisch eine Anlagerung und/oder Aufnahme der Ag-NP an bzw. in die Testorganismen nachzuweisen.

Und letztlich wurden zusätzlich zum AgNM NM-300K und dem silberfreien Dispergens NM-300K DIS (Lösungsmittelkontrolle) mit jedem Testsystem Untersuchungen mit Silbernitrat durchgeführt, um die toxischen Effekte der Ag-NP von den toxischen Effekten der Silberionen trennen zu können.

3.2.1 Ökotoxikologische Tests

Mit dem Ziel, Vertreter verschiedenster Trophieebenen aquatischer Nahrungsnetzte ökotoxikologisch zu erfassen, wurden folgende Testsysteme im Rahmen des AP 2.3.2 des UMSICHT-Projektes für Untersuchungen eingesetzt:

- **Leuchtbakterium *Aliivibrio fischeri***⁵

nach DIN EN ISO 11348-2 "Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest)", Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien (Mai 2009).

- **Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae***

nach Verordnung (EG) Nr. 761/2009 der Kommission vom 23. Juli 2009 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) zwecks Anpassung an den technischen Fortschritt, Anhang IV, C.3. „Süßwasseralgen und Cyanobakterien: Wachstumsinhibitionstest“ und

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 201 (2006): "Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test".

⁶ International anerkanntes Qualitätssicherungssystem *Good Laboratory Practice*

Arbeitspaket

- **Limmische Grünalge *Desmodesmus subspicatus***

nach Verordnung (EG) Nr. 761/2009 der Kommission vom 23. Juli 2009 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethoden gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) zwecks Anpassung an den technischen Fortschritt, Anhang IV, C.3. „Süßwasseralgen und Cyanobakterien: Wachstumsinhibitionstest“ und

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 201 (2006): “Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test”, modifiziert entsprechend DIN EN 28 692 und DIN 38 412 Teil 33.

- **Protozoen**

nach OECD Guideline Draft “Protozoa Activated Sludge Phagocytosis Inhibition Test” (2009)

- **Wasserlinse *Lemna minor***

nach Verordnung (EG) Nr. 761/2009 der Kommission vom 23. Juli 2009 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethoden gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) zwecks Anpassung an den technischen Fortschritt, Anhang IV, C.26. „*Lemna sp.* – Wachstumsinhibitionstest“ und

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 221 (2006): “*Lemna sp.* Growth Inhibition Test“.

- **Ähriges Tausendblatt *Myriophyllum spicatum***

nach Maletzki, D., Hünken, A., Hübner, I., Kussatz, C. 2010. *Myriophyllum spicatum* als ökotoxikologischer Testorganismus: Methodenentwicklung eines sedimentfreien Testsystems und erste Ergebnisse mit 3,5-Dichlorphenol. Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung, Volume 22, Issue 6, pp 702-710.

- **Großer Wasserfloh *Daphnia magna* – Bestimmung der akuten Toxizität**

nach Verordnung (EG) Nr. 440/2008 der Kommission vom 30. Mai 2008 zur Festlegung von Prüfmethoden gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), C.2. “*Daphnia sp.* - Test auf akute Schwimmunfähigkeit“ und

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 204 (2004): „*Daphnia sp.* Acute Immobilisation Test“

Arbeitspaket

- **Großer Wasserfloh *Daphnia magna*** – Bestimmung der chronischen Toxizität

Verordnung (EG) Nr. 440/2008 der Kommission vom 30. Mai 2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), C.20. „*Daphnia magna*, Reproduktionstest“ und

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 211 (1998): „*Daphnia magna* Reproduction Test“

- **Embryonen des Zebraärbblings *Danio rerio***

nach OECD Guideline Draft “*Fish Embryo Toxicity (FET) Test*” (2006).

3.2.2 Untersuchte Substanzen

Silbernanomaterial NM-300K

Im Rahmen des UMSICHT-Projektes wurde das Silbernanomaterial NM-300K, welches als Referenzmaterial des *OECD Sponsorship Programmes* im Rahmen der *OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials* (WPNM) eingesetzt wird, auf sein ökotoxikologisches Potential untersucht. Die Handhabung des AgNM NM-300K erfolgte nach den Vorgaben einer Standardarbeitsanweisung (SOP⁷) des JRC von Klein *et al.* (2011).

Die Gebinde mit NM-300K wurden über die Mercator GmbH Handelsgesellschaft bezogen.

Dispergens NM-300K DIS

Ebenfalls über die Mercator GmbH Handelsgesellschaft konnten alle Projektpartner das Ag-freie Stabilisierungsdispergens NM-300K DIS des JRC beziehen. Dieses Dispergens wurde als Lösungsmittelkontrolle eingesetzt, um zu testen, ob und in welchem Maße auch das Dispergens bereits toxisch auf die untersuchten Organismen wirkt.

Silbernitrat

Für einen Vergleich der toxischen Wirkungen der untersuchten Ag-NP mit der seit langem bekannten toxischen Wirkung von Silberionen (Ag⁺) wurden alle Tests auch mit Silbernitrat (AgNO₃, CAS-Nr. 7761-88-8) durchgeführt. Das Silbernitrat wurde vom Hersteller Merck bezogen und hatte den Reinheitsgrad „zur Analyse“.

3.2.3 GLP

Das Ökotoxikologielabor des UBA FG IV 2.4 erhielt im Jahr 2006 die offizielle GLP-Bescheinigung. Das GLP-System dient der Qualitätssicherung und Nachvollziehbarkeit und bildet generell einen formalen Rahmen für die Durchführung von Sicherheitsprüfungen an chemischen Produkten. In vielen Ländern, zum Beispiel in Deutschland, ist die GLP gesetzlich vorgeschrieben.

⁷ *standard operation procedure*

GLP ermöglicht die Vergleichbarkeit von Prüfungsergebnissen unabhängig vom Standort der Prüfeinrichtung. Ergebnisse, die unter GLP-Bedingungen generiert wurden, sind belastbarer als Ergebnisse aus Prüfungseinrichtungen ohne entsprechendes Qualitätssicherungssystem.

Um die Aussagekraft und Qualität der im Rahmen des UMISCHT-Projektes ermittelten Ergebnisse zu steigern, wurden viele Untersuchungen als GLP-Prüfungen durchgeführt. Mindestens eine Untersuchung je Testsystem und Prüfgegenstand (Testsubstanz) wurde als GLP-Prüfung durchgeführt. Die übrigen Untersuchungen wurden zwar als *non-GLP*-Prüfungen durchgeführt, allerdings wurden bei diesen Untersuchungen dieselben strengen Vorgaben zur Qualitätssicherung und Nachvollziehbarkeit angelegt wie bei GLP-Prüfungen.

3.2.4 Lichtmikroskopie

Mit Hilfe lichtmikroskopischer Aufnahmen wurde versucht, eine Anreicherung oder Agglomeration der Ag-NP in oder an den Testorganismen sichtbar zu machen. Durch Immersionsmikroskopie konnte maximal eine 1000-fache Vergrößerung erreicht werden. Der Einsatz des Immersionsöls sollte zusätzlich die maximale Auflösung steigern. Die Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchungen wurden fotografisch dokumentiert.

3.2.5 Analytische Begleituntersuchungen

Chemisch-analytische Bestimmungen der Gesamtsilber- und Silberionen-Konzentration

Nach Vorgaben des Projektpartners IME wurden Proben der Testansätze und Stammlösungen im Ökotoxikologielabor des UBA aufbereitet, zum Teil filtriert und zentrifugalfiltriert (nur Silberionenbestimmung), mit Salpetersäure fixiert, eingefroren und in gefrorenem Zustand auf Trockeneis an das IME in Schmallenberg versandt. Dort wurden mittels Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS⁸) und optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES⁹) die Gesamtsilber- und Silberionen-Konzentrationen in den Lösungen bestimmt.

Berechnung der Ag-NP-Konzentrationen aus UV/VIS-Spektren

Parallel zu den chemisch-analytischen Konzentrationsbestimmungen des Projektpartners IME wurden in Kooperation mit Herrn Nogowski vom Projektpartner Institut für Verfahrenstechnik und Umwelttechnik der TU Dresden die Ag-NP-Konzentrationen in Testansätzen und Stammlösungen berechnet. Dazu wurden von allen Testmedien zu verschiedenen Testzeitpunkten (in der Regel Beginn und Ende der Exposition) sowie zum Teil von den Ag-NP-haltigen Stammlösungen im Ökotoxikologielabor des UBA UV/VIS-Spektren aufgezeichnet und an Herrn Nogowski übermittelt. Durch Auswertung der Spektren konnten theoretische Ag-NP-Konzentrationen für die Ansätze und Stammlösungen berechnet werden.

⁸ *inductively coupled plasma mass spectrometry*

⁹ *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*

3.2.6 Partikelcharakterisierungen

Bestimmung von Partikelgrößenverteilungen und Zetapotentialen mittels DLS und ELS

In Rahmen der Bearbeitung des AP 2.3.2 des UMSICHT-Projektes wurde vom Projektpartner VdW der Universität Bremen die Charakterisierung der verwendeten Silbernanopartikel in den Testmedien für die ökotoxikologischen Tests mit Wasserlinsen (*Lemna minor*, OECD TG¹⁰ 221, Steinberg-Medium), Cyanobakterien (*Anabaena flos-aquae*, OECD TG 201, US EPA AAP-Medium), Ähriges Tausendblatt (*Myriophyllum spicatum*, Maletzki *et al.* 2010), große Wasserflöhe (*Daphnia magna*, akut & chronisch, OECD TG 211 & TG 202, Elendt M4), limnische Grünalgen (*Desmodesmus subspicatus* und *Pseudokirchnariella subcapitata*, OECD TG 201, für *D. subspicatus* modifiziert entsprechend DIN EN 28 692 und DIN 38 412 Teil 33) und Embryonen des Zebrahärlings *Danio rerio* (OECD Draft Guideline, synthetisches Süßwasser) durchgeführt.

Die Methoden dynamische Lichtstreuung (DLS) und elektrophoretische Lichtstreuung (ELS) wurden zur Bestimmung der Partikelgrößenverteilungen und Zetapotentiale verwendet. Auch eine Abschätzung des Agglomerationsverhaltens der Ag-NP in den verschiedenen Testmedien war dadurch möglich.

Zusätzlich wurden die pH-Werte der Proben und die UV/VIS-Spektren gemessen. Für die Proben wurde die Konzentration von 10 mg Ag L⁻¹ vereinbart, welche noch gut mit den verfügbaren Lichtstremethoden messbar war. An drei Zeitpunkten über die jeweilige Laufzeit der einzelnen Tests wurde die Charakterisierung mit den genannten Methoden durchgeführt.

Bestimmung der Partikelgrößenverteilung durch Auswertung von UV/VIS-Spektren

Parallel zu den Arbeiten des Projektpartners VdW wurden wieder in Kooperation mit Herrn Nogowski vom Projektpartner Institut für Verfahrenstechnik und Umwelttechnik der TU Dresden die eingesetzten Ag-NP in verschiedenen Testmedien und zu verschiedenen Testzeitpunkten (in der Regel Beginn und Ende der Exposition) sowie zum Teil in den Ag-NP-haltigen Stammlösungen charakterisiert. Dazu wurden im Ökotoxikologielabor des UBA aufgezeichnete UV/VIS-Spektren in Dresden ausgewertet und Kenngrößen wie mittlerer Partikeldurchmesser, volumenspezifische Oberfläche, Verteilungsbreite und Ag-NP-Konzentrationen an der TU Dresden berechnet.

¹⁰ test guideline

4 Material & Methoden

4.1 Substanzen

Wie bereits in Kapitel 3.2.2 beschrieben, wurden im Rahmen der Bearbeitung des AP 2.3.2 neben den Untersuchungen mit den Ag-NP NM-300K auch Versuche mit dem Ag-freien Dispergens NM-300K und Silbernitrat durchgeführt. Das Dispergens NM-300K DIS diente dabei als Lösungsmittelkontrolle. Silbernitrat sollte dem Vergleich der toxischen Wirkungen von Silberionen und elementarem, nanopartikulärem Silber dienen.

4.1.1 Silberrnanomaterial NM-300K

Im Rahmen des UMSICHT-Projektes wurde das OECD-Referenzmaterial NM-300K eingesetzt und auf sein ökotoxikologisches Potential untersucht.

Über die Mercator GmbH Handelsgesellschaft konnten alle Projektpartner NM-300K vom JRC beziehen.

Die gelieferten Gebinde besaßen weder CAS- noch Chargennummern. Jedes Probefläschchen sollte 2000 mg (+25 mg) NM-300K mit folgender Zusammensetzung enthalten: 10,16 % Ag-NP (w/w) in Stabilisierungsdispergens (4 % Polyoxyethylen Glycerol Trioleate und 4 % Polyoxyethylen (20) Sorbitan mono-Laurat (Tween 20)). Den Herstellerangaben folgend sollten die Suspensionen kolloidale Ag NP enthalten, wobei 90 % der NP eine Größe von < 20 nm haben sollten. Die mittlere Partikelgröße wurde mit 15 nm angegeben.

Sicherheitsdatenblätter waren nicht verfügbar.

4.1.2 Dispergens NM-300K DIS

Ebenfalls über die Mercator GmbH Handelsgesellschaft konnten alle Projektpartner das Ag-freie Stabilisierungsdispergens NM-300K DIS beziehen. Dieses Dispergens wurde als Lösungsmittelkontrolle eingesetzt. Auch die gelieferten Proben von NM-300K DIS besaßen weder CAS- noch Chargennummern.

Die gelieferten Gebinde besaßen weder CAS- noch Chargennummern. Die einzelnen Fläschchen mit NM-300K DIS enthielten laut Hersteller jeweils 1000 mg (+ 10 mg) Dispersion mit folgenden stabilisierenden Zusätzen: 4% Polyoxyethylen Glycerol Trioleate und 4% Polyoxyethylen (20) Sorbitan mono-Laurat (Tween 20). Die Zusammensetzung von NM-300K DIS entsprach damit bis auf den Silberanteil der Komposition von NM-300K.

Sicherheitsdatenblätter waren nicht verfügbar.

4.1.3 Silbernitrat

Für einen Vergleich der toxischen Wirkungen der untersuchten Ag-NP mit der Wirkung von freien Silberionen (Ag^+) wurden alle Tests auch mit Silbernitrat (AgNO_3 , CAS-Nr. 7761-88-8) durchgeführt. Das Silbernitrat wurde vom Hersteller Merck bezogen und hatte den Reinheitsgrad „zur Analyse“. Die Chargen-Nr. lautete K41210712. Ein Sicherheitsdatenblatt war verfügbar.


4.1.4 Herstellung der Stammlösungen

Die Stammlösungen mit NM-300K und NM-300K DIS wurden nach den Vorgaben einer SOP des JRC von Klein *et al.* (2010) hergestellt.

Das ungeöffnete Gebinde mit der NM-300K Suspension mit 10,16 % Ag-NP wurde geöffnet und 8160 mg Reinstwasser wurden vorsichtig dazu gegeben. Das Gefäß wurde verschlossen, kräftig von Hand geschüttelt und anschließend für 15 min in einem Ultraschallbad mit Ultraschall behandelt. Die erhaltene Suspension sollte homogen und blasenfrei sein und einen Ag-NP-Gehalt von 2 % (20 mg/g) haben. Die durch diesen ersten Verdünnungsschritt hergestellte Suspension wurde als NM-300K Stammlösung I bezeichnet. Sie wurde anschließend mit Reinstwasser weiter verdünnt, wobei Schütteln, Ultraschallbehandlung und Rühren auf einem Magnetrührer vor jeder Benutzung erfolgten. Die hergestellten Stammlösungen wurden für alle Untersuchungen jeweils frisch hergestellt und nur für kurze Zeit lichtgeschützt und kühl aufbewahrt.

Für die Herstellung der Stammlösungen mit dem Dispergens NM-300K DIS wurden die ungeöffneten Gebinde zunächst ebenfalls kräftig von Hand aufgeschüttelt und anschließend für 15 min in einem Ultraschallbad mit Ultraschall behandelt. Aus der homogenisierten Suspension wurde eine definierte Menge NM-300K DIS entnommen und in Reinstwasser aufgenommen. Die erhaltende Suspension wurde als NM-300K DIS Stammlösung I bezeichnet. Auch diese Stammlösungen wurden für die jeweiligen Untersuchungen frisch angesetzt, nur für die Dauer des Versuches eingesetzt und in dieser Zeit lichtgeschützt und kühl aufbewahrt.

4.2 Ökotoxikologie

Ökotoxikologische Untersuchungen	Umweltbundesamt, FG IV 2.4	
----------------------------------	----------------------------	--

4.2.1 Allgemein

Ökotoxikologische Tests mit aquatischen Organismen basieren immer auf einem einheitlichen Prinzip: Um die Toxizität einer Substanz oder Verbindung auf einen bestimmten aquatische Organismus zu untersuchen, werden mehrere Konzentrationen der Substanz bzw. Verbindung hergestellt und die Organismen über einen definierten Zeitraum und unter definierten Bedingungen diesen Konzentrationen ausgesetzt. Zu festgelegten Zeitpunkten werden die Organismen untersucht und es wird erfasst, welche Effekte die Exposition verursacht hat. Zu diesem Zweck sind für jedes Testsystem eine Reihe eindeutig beschriebener Merkmale, sogenannte toxikologische Endpunkte, definiert. Diese Endpunkte sind je nach Prüfsystem verschieden und können zum Beispiel Mortalität, Bewegungshemmung, Hemmung der Reproduktion oder Wachstumshemmung sein. Mit Hilfe der Endpunkte kann zu festgelegten Zeitpunkten in Abhängigkeit von der Konzentration erfasst werden, welcher Anteil der untersuchten Organismen durch die getestete Substanz oder Verbindung beeinträchtigt wird. Nach Ablauf des Testes werden mit den erhobenen Daten Dosis-Wirkungsbeziehungen erstellt. Ein Beispiel für die graphische Darstellung einer klassischen Dosis-Wirkungsbeziehung ist in Abbildung 1 gezeigt.

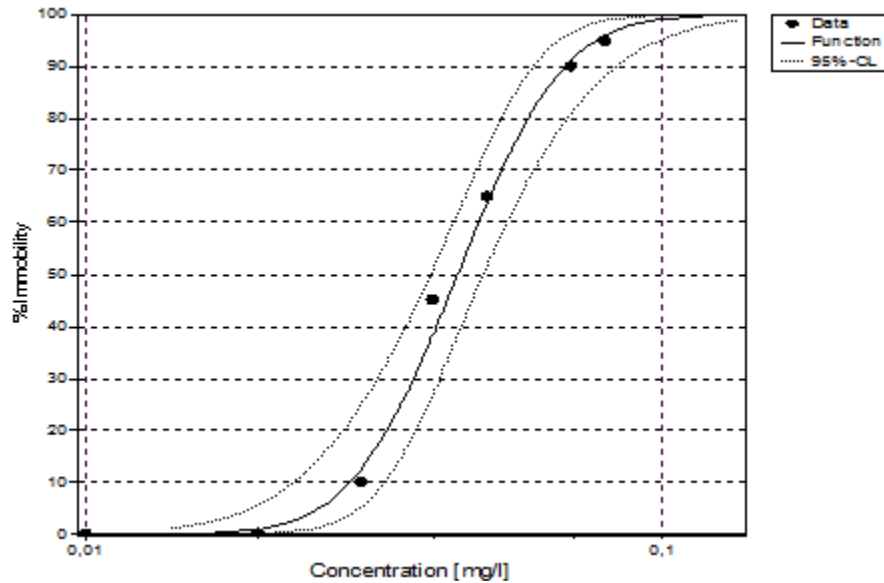


Abbildung 1: Graphische Darstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung. Aufgetragen sind die Parameter relativer Anteil immobilisierter Testorganismen (*Daphnia magna*) nach 48-stündiger Exposition gegen die logarithmierten Konzentrationen der Tests substanz (NM-300K).

Dazu werden die beobachteten Effekte den jeweiligen Konzentrationen gegenüber gestellt. Mit Hilfe dieses Modells können im Anschluss sogenannte Effekt-Konzentrationen (EC_x) berechnet werden. Die Methoden zur Berechnung der EC_x -Werte sind detailliert in den Methodenvorschriften vorgegeben. Die EC_x -Werte erlauben Aussagen darüber, bei welcher Konzentrationen einer Substanz oder Verbindung ein bestimmter Anteil der Organismen definierte toxikologische Effekte aufweist. Zum Beispiel gibt der EC_{50} -Wert im Prüfsystem Fischembryotoxizitäts-Test an, bei welcher Konzentration einer Substanz oder Verbindung 50 % der Fischembryonen tot bzw. nicht überlebensfähig sind.

Die EC_x -Werte, zu denen auch $LOEC$ ¹¹ und $NOEC$ ¹² gehören, bilden die Basis für die Risikobewertung zum Beispiel bei der Stoffbewertung im Rahmen des Vollzuges des Chemikaliengesetzes.

4.2.2 Ökotoxikologische Testsysteme

Wie in Kapitel 3.2.1 erwähnt, wurden ökotoxikologische Standardtests mit 9 Testsystemen durchgeführt. Dabei kamen 8 aquatische Spezies zum Einsatz, welche verschiedenste trophische Ebenen, vom Primärproduzenten über Konsumenten 1. und 2. Ordnung bis zu Destruenten, repräsentieren.

Die ökotoxikologischen Tests orientierten sich in der Durchführung und Auswertung an den Vorgaben von OECD Richtlinien bzw. Richtlinienentwürfen, Prüfmethode nach Verordnungen der Europäischen Union sowie DIN, DIN EN und DIN EN ISO Normen. Eine Ausnahme hierbei bildete der sedimentfreie Test mit dem Ährigen Tausendblatt *Myriophyllum spicatum*. Die Entwicklungsphase dieser Methodenvorschrift ist abgeschlossen (vergleiche dazu Maletzki *et al.* 2010) und ein Richtlinienentwurf bei der OECD eingereicht.

¹¹ *Lowest Observed Effect Concentration*

¹² *No Observed Effect Concentration*

Folgende Testsysteme wurden im Rahmen der Bearbeitung des AP 2.3.2 eingesetzt:

- Leuchtbakterium *Aliivibrio fischeri*
- Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae*
- Limnische Grünalge *Desmodesmus subspicatus*
- Protozoen
- Wasserlinse *Lemna minor*
- Ähriges Tausendblatt *Myriophyllum spicatum*
- Großer Wasserfloh *Daphnia magna* – Bestimmung der akuten Toxizität
- Großer Wasserfloh *Daphnia magna* – Bestimmung der chronischen Toxizität
- Embryonen des Zebraäbrblings *Danio rerio*

Eine ausführliche Beschreibung der Testsysteme inklusive einer Auflistung der den eingesetzten Testsystemen zu Grunde liegenden Richtlinien, Verordnungen, Normen und/oder wissenschaftlichen Veröffentlichungen ist in Kapitel 3.2.1 zu finden.

4.2.3 Bestimmung der Dosis-Wirkungsbeziehungen und Berechnung der EC_x-Werte

Die Dosis-Wirkungsbeziehungen und EC_x-Werte wurden mit der Statistik-Software *ToxRat Professional XT*, Version 2.10.06 des Herstellers *ToxRat Solutions GmbH* bestimmt. Zusätzlich wurde für die Auswertung und Bearbeitung des umfangreichen Rohdatenmaterials die Tabellenkalkulations-Software *Excel 2007* aus dem *Office 2007*-Paket des Herstellers *Microsoft* eingesetzt.

Bei der mathematisch-statistischen Auswertung der Ergebnisse wurden jeweils die prüfsystemspezifischen Vorgaben der entsprechenden Richtlinien, Normen oder Methodenvorschriften berücksichtigt. Die jeweils angewandten mathematischen Verfahren können den Ergebnisblättern der ToxRat-Berechnungen entnommen werden. Diese sind dem Abschlussbericht in digitaler Form beigelegt und werden zusätzlich für wenigstens 15 Jahre im GLP-Archiv der Prüfeinrichtung (UBA FG IV 2.4) aufbewahrt.

4.2.4 Lichtmikroskopie

Für die lichtmikroskopischen Untersuchungen der Testorganismen wurde ein Stereomikroskop der Firma Olympus, Modell CX 41 eingesetzt. Bei Verwendung eines Immersionsöls (Firma Merck) konnte eine maximale Vergrößerung um den Faktor 1000 erzielt werden.

Lichtmikroskopisch untersucht wurden Organismen, die unter den jeweils testspezifischen Bedingungen im Bereich der zuvor ermittelten EC₅₀ exponiert waren. Zum Vergleich diente eine unbehandelte Negativ-Kontrolle.

Die Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchungen wurden – wenn möglich – mit einer speziellen Digitalkamera (Hersteller: Olympus, Modell: Color View, Soft Imaging System) dokumentiert.

4.3 Analytik & Partikelcharakterisierung

4.3.1 Partikelcharakterisierung mit Hilfe von Transmissionsprofilen aus der UV/VIS-Spektroskopie

UV/VIS-Spektroskopie	MVT, TU Dresden	 TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN
----------------------	-----------------	---

Die Aufnahmen der UV/VIS-Spektren erfolgte im Ökotoxikologielabor des UBA mit Hilfe Spektralphotometern (SPECORD 210 & SPECORD 200 plus) der Firma Analytik Jena AG. Aufgezeichnet wurden die Spektren mindestens jeweils zu Beginn und nach Ende der Exposition. Aufgezeichnet wurden Spektren von allen Test-Ansätzen einschließlich der Negativ-Kontrolle (NK) sowie den beiden Stammlösungen mit NM-300K und NM-300K DIS.

Die Aufnahme der UV/VIS-Spektren erfolgte dabei in den jeweiligen Resten der Testansätze (bei $t=0$ Stunden, Beginn der Exposition) bzw. in den vereinigten Replikaten der einzelnen Testansätze (bei Ende der Exposition).

Je nach Transmissionen der Plasmonenbande (Absorptionsmaximum zwischen 350 und 500 nm) wurden Küvetten mit Schichtdicken von 10 cm, 4 cm oder 1 cm eingesetzt. Begonnen wurde in der Regel mit der 10 cm Küvette und der Negativ-Kontrolle. Danach erfolgte die Aufzeichnung der Spektren von der niedrigsten zur höchsten Test-Konzentration. Die 4 cm Küvette muss benutzt werden, sobald die Transmissionen der Plasmonenbande einen Wert von $T(\lambda_{\min}) > 0,9$ erreicht. Generell sollte die Transmissionen der Plasmonenbande für jede Konzentrationsstufe im Bereich von $T(\lambda_{\min}) = 0,1$ und $0,9$ liegen, wobei ein hoher Wert zu bevorzugen war. Die Größe (Schichtdicke) der zur jeweiligen Messung benutzten Küvette wurde im Rohdatenprotokoll vermerkt.

Gemessen wird immer gegen Reinstwasser (Referenz). Alle Spektren wurden über einen Wellenlängenbereich von 190 nm bis 1100 nm aufgezeichnet. Die Messwerte wurden in Excel-Tabellen übertragen und zur Auswertung via Email an die TU Dresden übermittelt. Dort wurden die Spektren ausgewertet und Parameter wie Partikelgröße, Ag-NP-Konzentrationen und Partikelgrößenverteilung berechnet.

Theoretische Grundlagen

Die Transmission T beschreibt das Verhältnis zwischen der Intensität des in Wechselwirkungen mit den Partikeln transmittierten Lichtes I und des eingestrahlt Lichtes I_0 . Aus dem Logarithmus der Transmission ergibt sich die natürliche Extinktion E :

$$T = \frac{I}{I_0} = \exp(-E) \quad \text{Gleichung I}$$

Die Extinktion resultiert wiederum aus der Beziehung zwischen der Volumenkonzentration c_V , der Messlänge L_{mess} , der Partikelgröße x und dem stoffabhängigen Extinktionsquerschnitt $C_{\text{Ext},i}$ als Funktion der Wellenlänge λ :

$$E = \frac{6 \cdot c_V}{\pi \cdot x^3} \cdot C_{\text{Ext},i} \cdot L_{\text{mess}} \quad \text{Gleichung II}$$

Auf Basis der Mie-Theorie kann der Extinktionsquerschnitt für ein kugelförmiges Einzelpartikel bestimmt werden (siehe auch Poster von A. Nogowski auf den Clustertreffen 2011 und 2012):

$$C_{Ext,i} = \frac{\lambda_i^2}{2\pi \cdot m_F} \cdot \sum_{n=1}^{n_B} (2n+1) \cdot \text{Re}(a_n + b_n) \quad \text{Gleichung III}$$

Auswertung

Das beschriebene Modell berechnet das Transmissionsspektrum für Silbernanopartikel-Suspensionen in Abhängigkeit von der Partikelgröße und Konzentration. Für die Bestimmung der theoretischen Spektren wurde der wellenlängenabhängige komplexe Brechungsindex von Silber nach den Werten von Hagemann (Hagemann 1975) verwendet:

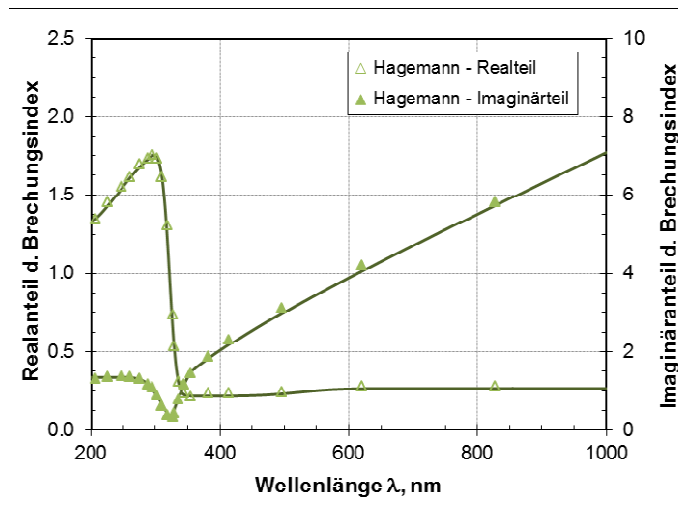


Abbildung 2: Real- und Imaginäranteil des Brechungsindex' von Silber nach den Werten von Hagemann (Hagemann 1975); Die Symbole entsprechen dabei den realen Messwerten, die Linien dem angepassten Verlauf.

Die theoretisch berechneten Transmissionsverläufe wurden mit den gemessenen Verläufen verglichen und über die Bestimmung des Minimums der Fehlerquadratsumme (FQS) wurden Partikelgrößen und Konzentrationen bestimmt:

$$FQS = \sum_{i=1}^n (T_{mess}(\lambda_i) - T_{bere}(x_{50,0}, \sigma_{ln}, c_V, \lambda_i))^2 \Rightarrow \min \quad \text{Gleichung IV}$$

Partikelgrößenverteilung

In der Natur sind monodisperse Partikelsysteme selten; in der Regel findet man Partikelgrößenverteilungen mit S-förmigen Verteilungssummen, welche nicht ohne weiteres analytisch angenähert werden können (Stieß 1995). Für einen besseren Vergleich von Partikelsystemen untereinander müssen diese daher mit Hilfe von (wenigen) Kenngrößen wie Mittelwert, volumenspezifische Oberfläche oder Verteilungsbreite beschrieben werden können. Eine häufig verwendete Form ist die Logarithmische Normalverteilung (LNVT), welche aus der linearen Normalverteilung (Gauß'sche Fehlerfunktion) abgeleitet ist:

$$q_r(\ln x) = \frac{1}{\sigma_{ln} \sqrt{2\pi}} \cdot \frac{1}{x} \cdot \exp \left[-\frac{1}{2} \left(\frac{\ln(x/x_{50,r})}{\sigma_{ln}} \right)^2 \right] \quad \text{Gleichung V}$$

Die *LNVT* lässt sich durch einen Medianwert der Verteilung (hier, wenn nicht anders angegeben, der anzahlmäßige Medianwert $x_{50,0}$) und der Standardabweichung σ_{ln} beschreiben.

Die folgenden Diagramme und Hinweise sollen helfen, die Besonderheiten einer *LNVT* und deren Auswirkungen auf das Transmissionsprofil zu verstehen.

Für *LNVTs* gilt allgemein:

- Eine *LNVT* ist linkslastig, d.h. es liegt ein höherer Feinkornanteil vor.
- Die „Breite“ der Verteilung wird durch die Standardabweichung beschrieben.
- Unterhalb einer Standardabweichung von 0,1 spricht man von quasi monodispersen Systemen.

Für die daraus resultierenden Transmissionsprofile lässt sich folgendes ableiten:

- Mit zunehmendem Medianwert verschiebt sich der *Plasmonenpeak* hin zu höheren Wellenlängen, wobei gleichzeitig die Transmission zunimmt (weniger Licht wird absorbiert bzw. reflektiert).
- Mit steigender Standardabweichung verschiebt sich der *Plasmonenpeak* ebenfalls hin zu höheren Wellenlängen, das Profil wird breiter und die Transmission nimmt zu. Dieser Effekt ist umso stärker je größer der Medianwert ist.

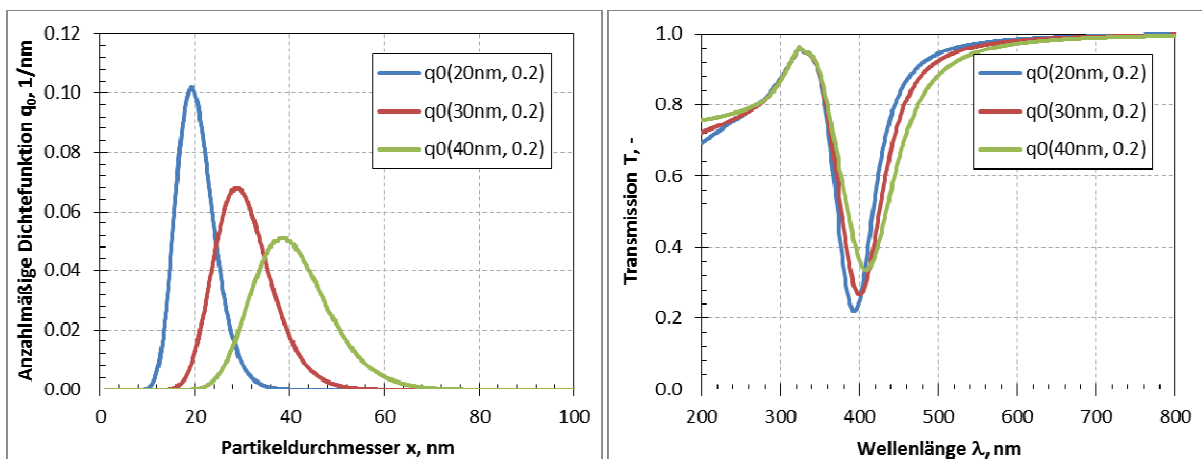


Abbildung 3: Anzahlmäßige Partikelgrößenverteilung bei unterschiedlichen Medianwerten und den daraus resultierenden Transmissionspektren für Silberpartikel-Suspensionen bei einer konstanten Konzentration

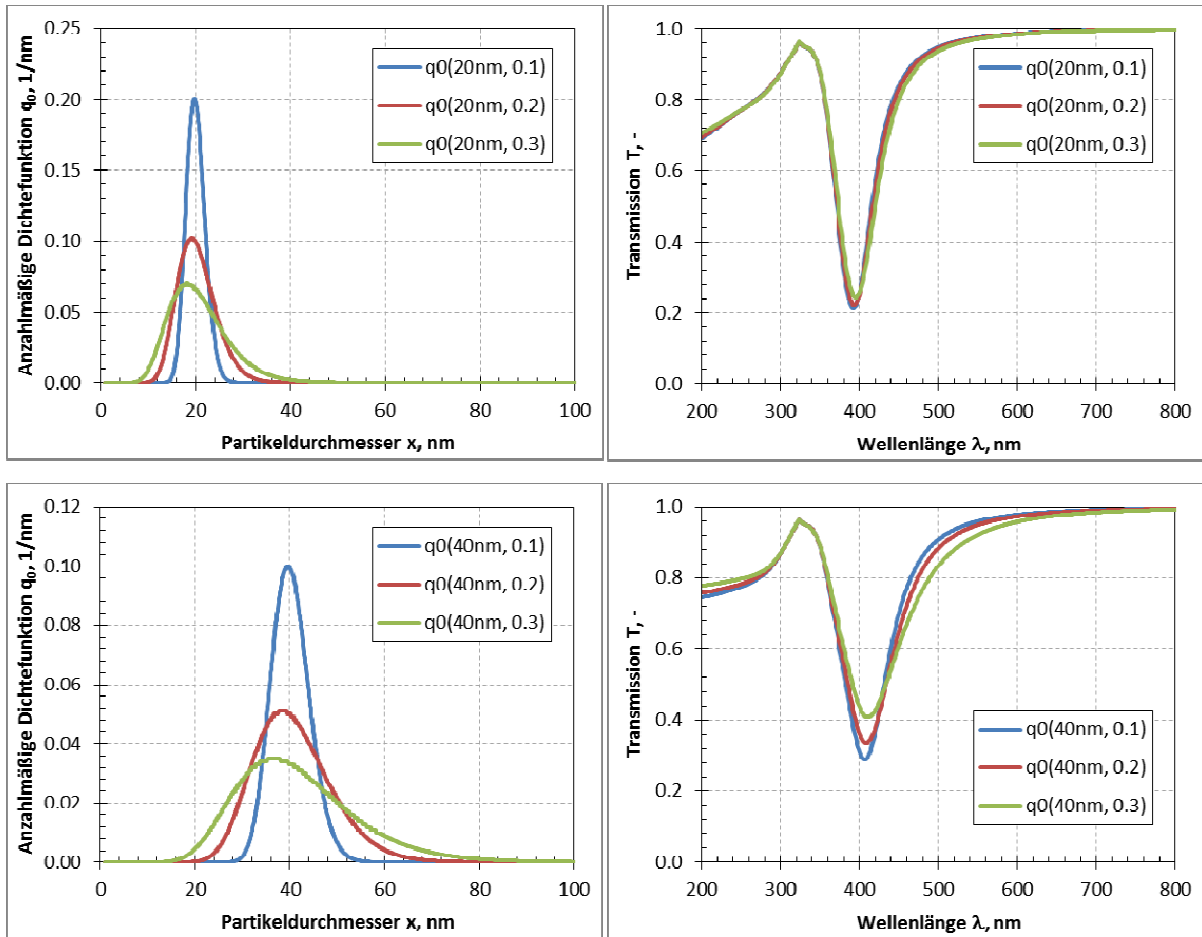


Abbildung 4 Anzahlmäßige Partikelgrößenverteilung bei unterschiedlichen Standardabweichungen und den
 Abbildung 5: daraus resultierenden Transmissionsspektren für Silberpartikel-Suspensionen bei einer konstanten
 Konzentration

Auswertung mit fester Partikelgrößenverteilung

Da jedes Spektrum individuell mit dem Optimierungsprogramm ausgewertet wurde, kommt es bei ähnlichen Spektren aufgrund von Probenschwankungen und Messungenauigkeiten zu unterschiedlichen Ergebnissen für die Kenngrößen der Partikelgrößenverteilung, was wiederum einen Einfluss auf die zu bestimmende Feststoffkonzentration hat. Um mögliche Änderungen in der Konzentration zwischen den Proben verfolgen zu können, wurde daher eine zweite Auswertestrategie verfolgt, bei der die Partikelgröße ($x_{50,0} = 43$ nm) und die Verteilungsbreite ($\sigma_{ln} = 0,27$) der *LNVT* konstant gehalten wurden. Diese Annahme kann nur getroffen werden, wenn sich die Partikelgröße nicht über die Zeit verändert.

4.3.2 Partikelcharakterisierung durch DLS, ELS und UV/VIS-Spektroskopie

UV/VIS-Spektroskopie, DLS, ELS, Zetapotentiale	VdW, UFT Universität Bremen	
---	-----------------------------	---

Bestimmung der Partikelgrößenverteilung mit Hilfe der Methode der dynamischen Lichtstreuung

Die Partikelgrößenverteilung wurde mit der mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung (DLS) bestimmt. Das hierfür verwendete Gerät DelsaNanoC (BeckmanCoulter) arbeitet nach dem Prinzip der dynamischen Lichtstreuung. Der Laser des Geräts hat die Wellenlänge 658 nm. Das von der Probe gestreute Laserlicht wird bei einem Streuwinkel von 165° mit einem Photomultiplier detektiert. Mit einem Autokorrelator wird die zeitliche Veränderung des Streulichts analysiert und die Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}(\tau)$ berechnet. Die numerische Analyse wird dann mit zwei unterschiedlichen Methoden durchgeführt. Die erste Methode ist die Kumulanten-Methode mit der die beiden Parameter mittlerer hydrodynamischer Durchmesser (man bezeichnet diesen Mittelwert als z-gemittelt) und die Polydispersität der Partikelgrößenverteilung ermittelt. Aus der Autokorrelationsfunktion wird die Feldkorrelationsfunktion $g^{(1)}(\tau) = (g^{(2)}(\tau) - 1)^{1/2}$ berechnet. Die Gleichung, mit der die experimentellen Werte von $g^{(1)}$ angepasst werden, ist $g^{(1)}(\tau) = A * \exp(-\Gamma\tau + \mu\tau^2/2)$. Aus der Abklingkonstante Γ wird der mittlere hydrodynamische Durchmesser $d_{H,CUMU}$ berechnet (mit den Parametern der Streugeometrie, den Medieneigenschaften, Brechungsindex und Viskosität, und der Temperatur (Berne & Pecora 1976)). Der Polydispersitätsindex (PI) wird aus dem Parameter μ berechnet: $PI = \mu/\Gamma^2$. Dieses Vorgehen bei der Auswertung ist sehr robust gegenüber z.B. Signalrauschen bei kleinen Streuintensitäten, da nur drei Parameter bei der numerischen Auswertung angepasst werden müssen.

Die zweite hier angewendete Methode ist die Auswertung von $g^{(1)}(\tau)$ mit einem NNLS-Algorithmus¹³. Die verwendete Gleichung ist hier eine Beschreibung als Summe der Beiträge i von unterschiedlichen Größenklassen zur Korrelationsfunktion $g^{(1)}(\tau) = B * \sum_i (A_i * \exp(-\Gamma_i * \tau))$. Bei der Anpassung der Feldkorrelationsfunktion mit der Summen-Gleichung werden die Amplituden der Größenklassen A_i optimiert. Die Software für das DelsaNanoC (v2.31) verwendet eine logarithmische Einteilung von 45 Größenklassen. Hier wird der Größenbereich von 1 nm bis $3 \mu\text{m}$ gewählt. Der gültige Bereich der Korrelationsfunktion ist bei der Optimierung der Klassenbeiträge A_i festgelegt auf $2 \geq g^{(2)} \geq 1,003$. Diese Methode ist weniger robust für die Auswertung von polydispersen Systemen, vor allem wenn nahe beieinander liegende Größen innerhalb einer Probe unterschieden werden sollen.

¹³ Non-Negative-Least-Square

Messung des Zetapotentials mit Hilfe der Methode der elektrophoretischen Lichtstreuung

Die Bestimmung des Zetapotentials der Proben wurde mit Hilfe des Geräts DelsaNanoC (BeckmanCoulter) durchgeführt. Die Messung der Proben erfolgte in der *FlowCell*-Messzelle nach dem Prinzip der elektrophoretischen Lichtstreuung (ELS). Der Laser des Geräts hat die Wellenlänge 658 nm. Das von der Probe gestreute Laserlicht wird mit ungestreutem Laserlicht überlagert und unter dem Streuwinkel 15° mit einem Photomultiplier detektiert. Die Interferenz dieser beiden Lichtbeiträge wird mit einem Linear-Korrelator analysiert und die Autokorrelationsfunktion berechnet. Der Hauptbeitrag zu den unterschiedlichen Frequenzbeiträgen zur Autokorrelationsfunktion wird mit einer Lorentz-Fit-Funktion bestimmt und dann mit der *Smoluchowski*-Gleichung in das Zetapotential umgerechnet. Durch die Messung der elektrophoretischen Mobilität an fünf Positionen innerhalb des 1 mm breiten Kanals der Messzelle wird der Einfluss des elektroosmotischen Flusses herauskorrigiert.

Messung der Absorption der Probe mit der UV/VIS Spektroskopie

Metallische Nanopartikel zeigen eine charakteristische Absorptionsbande im UV/VIS-Spektrum. Die Lage dieser Bande wird durch die Plasmonresonanz bestimmt. Kleinere Partikel zeigen eine Plasmonresonanz bei kleineren Wellenlängen als größere Partikel. Daher ist diese Methode bei metallischen Nanopartikeln sehr gut zur Beobachtung des Agglomerationsverhaltens in wässrigen Medien geeignet. Die Silbernanopartikel NM-300K zeigen in Reinstwasser eine Absorptionsbande bei ca. 410 nm. Zusätzlich kann das Lambert-Beer-Gesetz angewendet werden, um die Konzentration der Silbernanopartikel abzuschätzen. Die Aufnahme des Spektrum erfolgte im Wellenlängenbereich 350 nm bis 800 nm mit einem Spektralphotometer (Hach Lange DR 5000, Dr. Hach Cadas 200).

Probenpräparation und Zeitpunkte der Messungen

Die Testmedien werden unmittelbar vor den Experimenten zur Charakterisierung frisch angesetzt. Die Stammsuspension wird hergestellt, indem die Silbernanopartikel NM-300K (Vial-Nr. 7051) mit MilliQ Wasser auf 2% Silbergehalt verdünnt werden. Diese Suspension wird unmittelbar vor der Probenerstellung 15 min in einem Ultraschallbad behandelt um eventuell vorhandene leichte Agglomerate aufzulösen. Als Probengefäße werden Schraubdeckelgläser mit ca. 20 mL Volumen verwendet (Neolab, 7-0851 und 7-0869), die zuvor dreimal mit MilliQ-Wasser gespült wurden. Es werden 10 µL der Nanopartikelsuspension (2% Ag) vorgelegt und dann mit dem zu testenden Medium auf 20 mL aufgefüllt. Die Proben werden dann durch Schütteln homogenisiert. Die Kontrollproben aus Silbernitrat mit Testmedium werden aus einer Silbernitrat-Stammlösung von 10 g Ag L⁻¹, die zur Stabilisierung 1 % Salpetersäure (HNO₃) enthält, erstellt. Es werden 20 µL der Silbernitrat-Stammlösung vorgelegt, mit dem Testmedium auf 20 mL Volumen aufgefüllt und anschließend durch Schütteln homogenisiert. Die kleine Menge Salpetersäure von 0,2 mg hat einen zu vernachlässigenden Einfluss auf die eventuelle Fällung von schwerlöslichen Silbersalzen (wie z.B. Silberchlorid). Es wird ebenso eine Kontrollprobe von NM-300K in Wasser erstellt und parallel zu den Proben mit Testmedium charakterisiert (gleiche Präparation wie die Proben mit den Testmedien). Für jede Probe werden zwei Probengläser vorbereitet und befüllt, so dass das Gesamtvolumen pro Probe 40 mL ist. Von den Nanopartikelproben werden drei Replikate erstellt und charakterisiert (für die Charakterisierung im modifizierten Grünalgen-Medium werden nur zwei Replikate erstellt).

Die Expositionszeiten des akuten Daphnien-Tests und des Fischembryo-Tests betragen 48 h, daher werden die Messungen zur Charakterisierung zu Beginn (Tag 0) und nach einem Tag (Tag 1) und nach zwei Tagen (Tag 2) durchgeführt. Die Dauer des Cyanobakterien-Tests beträgt 72 h. Hier werden die Messungen zur

Charakterisierung zu Beginn (Tag 0), nach einem Tag (Tag 1) und nach drei Tagen (Tag 3) durchgeführt. Die Dauer des *Lemna*-Tests beträgt 168 h. Es werden die Messungen zur Charakterisierung zu Beginn (Tag 0), nach drei Tagen (Tag 3) und nach sieben Tagen (Tag 7) durchgeführt. Die Dauer des *Myriophyllum*-Tests beträgt 14 Tage. Hier werden die Messungen zur Charakterisierung zu Beginn (Tag 0) nach sieben Tagen (Tag 7) und nach 14 Tagen (Tag 14) durchgeführt. Die Dauer des Daphnien-Reproduktionstest beträgt 21 Tage. Die Daphnien müssen jedoch im Gegensatz zum Akut-Test mit Algen gefüttert werden. Es wird zudem täglich das Medium gewechselt und Algensuspension zugeführt. Über das Wochenende wird das Medium erst nach drei Tagen gewechselt und außerdem die doppelte Menge Algensuspension zur Fütterung hinzugegeben. Die Wochenend-Situation wird in dieser Arbeit untersucht. Daher werden die Messungen zur Charakterisierung zu Beginn (Tag 0) nach einem Tag (Tag 1) und nach drei Tagen (Tag 3) durchgeführt. Die Dauer der Grünalgen-Tests beträgt wie der Cyanobakterien-Test 72 h. Die ergänzenden Charakterisierungsmessungen werden daher ebenfalls zu Beginn (Tag 0), nach einem Tag (Tag 1) und nach drei Tagen (Tag 3) durchgeführt.

Die Proben mit den Testmedien für Cyanobakterien, Wasserlinsen, Tausendblatt und Grünalgen wurden in einem Klimaschrank (Binder KB720) bei 20 °C und bei einem Beleuchtungszyklus (8 h dunkel, 16 h hell, mit 800 ± 10 lx) inkubiert.

Durchführung der DLS-Messung und die Auswerteparameter der DLS

Vor der Messung werden die Messküvetten (Sarstedt Fluoreszenzküvetten, PS, Art.-Nr. 67.754) dreimal mit MilliQ-Wasser gespült um bei der Messung störenden Staub zu entfernen. Die zu untersuchende Probe wird vor der Entnahme des Volumens für die DLS-Messung geschüttelt. Ein Volumen von 2,5 mL der Probe wird in die Messküvette pipettiert. Die Probe wird in der Probenhalterung des BeckmanCoulter DelsaNanoC 15 min auf die Messtemperatur von 25 °C temperiert bevor die DLS-Messung beginnt. Es werden 10 Einzelmessungen jeweils mit 1 min Messdauer unmittelbar nacheinander durchgeführt. Die gesamte Dauer der DLS-Messung beträgt 25 min.

Die Parameter der Kumulanten-Methode hydrodynamischer Durchmesser $d_{H,CUMU}$ und Polydispersitätsindex PI werden notiert. Die Amplitude der Autokorrelationsfunktion $g^{(2)}_{Amp}$ wird abgeschätzt aus dem Wert bei der Zeitverschiebung $\tau = 3 \mu s$. Die Streuintensität und die Abschwächung des Lasers (Attenuator) werden ebenso notiert. Bei der Auswertung mit der NNLS-Methode werden die Größenklassen am unteren und am oberen Ende des Größenbereichs vernachlässigt, da sie Artefakte des Auswerte-Algorithmus sind. Im mittleren Größenbereich wird dann der *Peak* mit dem größten Intensitätsbeitrag notiert (Mittelwert und Breite des *Peaks* $d_{H,Int}$ und $sd_{dH,Int}$). Sind bei einzelnen Messungen nicht reproduzierbar mehrere *Peaks* unmittelbar nebeneinander im mittleren Größenbereich in der Intensitätsverteilung werden die Werte des *Peaks* ($d_{H,Int}$ und $sd_{dH,Int}$) mit einem Stern markiert und aus der Berechnung der Ergebnisse für die Probe ausgeschlossen. Die Streuintensitäten werden auf die Abschwächung des Lasers normiert ($I_{norm} = I/Attenuator$). Um die einzelnen Messungen miteinander vergleichen zu können, werden noch die Streuanteile der Intensitäten berechnet, die von streuenden Partikeln der Proben stammen. Dies geschieht durch Multiplikation der normierten Intensität mit der Amplitude der Feldkorrelationsfunktion $g^{(1)}_{Amp} = (g^{(2)}_{Amp} - 1)^{1/2}$ (Köser 2007, Dissertation). Die Gleichung hierzu ist $I_{korr} = g^{(1)}_{Amp} * I_{norm}$.

Die Aufnahme der UV/VIS-Spektren der Proben erfolgt direkt vor der DLS-Messung in der jeweils gleichen Küvette.

Durchführung der Messung des Zetapotentials und deren Auswerteparameter

Die Probe wird direkt vor der Messung des Zetapotentials geschüttelt. Ein Volumen von 4 mL der erstellten Proben, wurde in die Messzelle gegeben (mit Hilfe von 5 mL Einmalspritzen, PP/PE). Die *FlowCell*-Messzelle wurde vor der Messung 15 min im DelsaNanoC bei 25 °C equilibriert. Die Messung der Mobilitäten erfolgt dann an fünf Positionen innerhalb des Messkanals der Zelle (jeweils 40 s) mit drei Wiederholungen. Die Zelle wird nach jeder Messung mit MilliQ-Wasser gespült und am Ende des Messtages mit einer Reinigungslösung (2 % MICRO-90 des Herstellers Cole-Parmer in MilliQ-Wasser) gereinigt. Die Werte für das Zetapotential der Einzelmessungen und die elektrische Leitfähigkeiten der Proben werden notiert. Falls der Beitrag der Nanopartikel im Frequenzspektrum vom Auswerte-Algorithmus nicht korrekt erkannt wird, wird der Wert mit einem Stern markiert und bei der Berechnung des Mittelwerts und der Standardabweichung nicht berücksichtigt.

Der pH-Wert der Proben wurde mit einem pH Meter (PH-100ATC des Herstellers Voltcraft) bestimmt. Das hierfür benötigte Volumen beträgt 2 mL. Zuvor wurde das pH Meter mit zwei Puffern (pH 4 und pH 7) kalibriert. Die Messungen wurden bei 25 °C durchgeführt.

4.3.3 Konzentrationsbestimmung mittels ICP-MS und ICP-OES

Chemisch-analytische Konzentrationsbestimmungen von Ag und Ag ⁺	IME, Fraunhofer-Institut	
--	--------------------------	--

Bestimmung des Gesamtsilbergehaltes

Eine Beschreibung der angewandten Methoden wurde vom Projektpartner IME trotz mehrfacher Nachfrage bis Anfang Januar 2014 nicht zur Verfügung gestellt.

Proben für die Bestimmung des Gesamtsilbergehaltes wurden generell zu Beginn und am Ende der Exposition genommen. Dafür wurden die Testansätze zunächst von Hand kräftig aufgeschüttelt und homogenisiert. Danach wurden jeweils 50 ml Probe der jeweiligen Testansätze zum Beginn der Exposition sowie Mischproben (vereinigte Replikate) der Testansätze nach dem Ende der Exposition genommen.

Die Probegefäße wurden aussagekräftig und eindeutig beschriftet. Dafür wurde im gesamten Projekt ein einheitliches Beschriftungssystem verwendet.

Die Proben für die Gesamtsilberbestimmung wurden in 50 ml Scintillationsfläschchen, Firma Sarstedt, abgefüllt (Flaschen wurden vom Projektpartner IME bezogen), zur Stabilisierung mit Salpetersäure (Qualitätsanforderung: Spurenanalytik) angesäuert (Zielkonzentration ca. 1% v/v) und umgehend bis zum Versand bei < -18°C eingefroren.

Bestimmung des Silberionengehaltes (Zentrifugalfiltration)

Eine Beschreibung der angewandten Methoden wurde vom Projektpartner IME trotz mehrfacher Nachfrage bis Anfang Januar 2014 nicht zur Verfügung gestellt.

Für die Bestimmung des Silberionengehaltes war je Probe ein Volumen von mindestens 5,5 ml erforderlich. Die Proben wurden zunächst Zentrifugalfiltrierte. Dazu wurde der obere Teil spezieller Zentrifugalfiltrationsröhrchen (Vivaspin 6, 3000Da, Polyethersulfonmembran, Sartorius Stedim, Abbildung 6) mit ca. 5,5 ml Probenvolumen befüllt, verschlossen und in die temperierte Zentrifuge (Kühlzentrifuge

Material & Methoden

Servall RC 3 B Plus) eingesetzt. Waren sichtbare Trübungen zum Beispiel durch organisches Material (Algen, Cyanobakterien, Teile des Chorion...) zu erkennen, wurden die Proben vor der Zentrifugalfiltration zunächst aufgereinigt, damit die Filtrationsmembran der Zentrifugalfiltrationsröhren nicht verstopfte. Dazu wurde die Probe mit einem 0,45 µm Spitzenvorsatzfilter mit Polyethersulfonmembran filtriert.

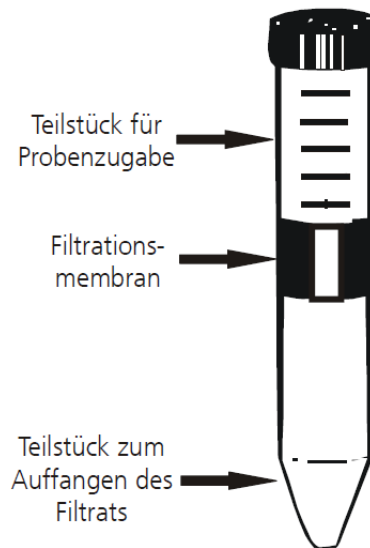


Abbildung 6: Schemazeichnung eines Vivaspin 6 Zentrifugalfiltrationsröhrchens

Im Anschluss erfolgte die Zentrifugation bei folgenden Bedingungen:

- Beschleunigung: ca. 2700 g (entspricht bei der Kühlzentrifuge Servall RC 3 B Plus ca. 4000 U/min),
- Temperatur: 18°C,
- Dauer: 1 Stunde (bei geringerer Beschleunigung entsprechend länger).

Nach der Zentrifugation durfte sich nur noch ein geringes Totvolumen oberhalb der Filtermembran befinden. War dies nicht der Fall, wurde die Zentrifugationszeit verlängert.

Nach erfolgreicher Zentrifugation wurde die filtrierte Probe im unteren Teilstück des Röhrchens (Abschnitt zum Auffangen des Filtrats) in ein Probengefäße (Reagenzröhren, Polypropylen, 15 mL, Sarstedt) umgefüllt und zur Stabilisierung ebenfalls mit Salpetersäure (Qualitätsanforderung: Spurenanalytik, Zielkonzentration ca. 1% v/v) angesäuert.

Auch diese Probegefäße wurden aussagekräftig und eindeutig beschriftet.

Die Lagerung der Proben bis zum Versand erfolgte gut verschlossen und lichtgeschützt im Tiefkühler bei < -18°C.

Die genommenen Proben für die chemisch-analytische Gesamtsilber- und Silberionenbestimmung wurden gesammelt und auf Trockeneis gekühlt an den Projektpartner IME, Abteilung Umweltprobenbank und Elementanalytik, zu Händen Herr Dr. Klawonn, verschickt.

5 Ergebnisse

UV/VIS-Spektroskopie, DLS, ELS, Zetapotentiale	VdW, UFT Universität Bremen	 Zentrum für Umweltforschung & nachhaltige Technologien
---	-----------------------------	---

5.1 Ergebnisse der Partikelcharakterisierung mittels DLS, ELS und UV/VIS-Spektroskopie

Die Charakterisierung der wässrigen Lösungen wurde vom Projektpartner VdW, Universität Bremen durchgeführt. Ergebnisse und Auswertung der Untersuchungen wurden dem UBA FG IV 2.4 in Form zweier Kurzberichte übermittelt.

Da bei jeder DLS-Messung 10 nacheinander folgende Einzelmessungen und bei der Zetapotential-Messung drei nacheinander folgende Einzelmessungen durchgeführt werden, sind hier zur Übersichtlichkeit in den Ergebnistabellen nur die Mittelwerte mit den Standardabweichungen angegeben. Für den hydrodynamischen Durchmesser der *NNLS*-Methode ist die mittlere Breite des *Peaks* aufgeführt (als Standardabweichung der Verteilung). Bei allen Messungen im Rahmen dieses Bericht sind diese Werte größer als die Standardabweichung der einzelnen Mittelwerte.

5.1.1 Charakterisierung der Kontrollen NM-300K in MilliQ-Wasser – 1. Durchgang

In der Abbildung 7 ist eine DLS-Messung beispielhaft gezeigt. Es ist die Korrelationsfunktion (oben), das Ergebnis des *NNLS*-Algorithmus für die Größenverteilung (Mitte) und das Ergebnis der Kumulanten-Methode (unten) dargestellt. Es ist gut das Abklingen der Korrelationsfunktion in dem Zeitbereich um $\tau = 100 \mu\text{s}$ erkennbar. Die Auswertung der Korrelationsfunktion zeigt daher einen deutlichen *Peak* beim hydrodynamischen Durchmesser von ca. 40 nm. Die kleineren *Peaks* bei kleineren Durchmessern und die *Peaks* am oberen Ende des Größenbereichs sind Artefakte des *NNLS*-Algorithmus. In dieser Messung entspricht das Ergebnis der Kumulanten-Methode sehr gut dem Ergebnis der *NNLS*-Methode.

In der Abbildung 8 ist eine Zetapotential-Messung beispielhaft gezeigt. Die Auftragung der Mobilitäten über der z-Position in der Probe ist parabelförmig aufgrund der Überlagerung des elektroosmotischen Flusses mit der Mobilität der gemessenen Partikel. Das Zetapotential wird aus der Form der Parabel berechnet.

Ergebnisse

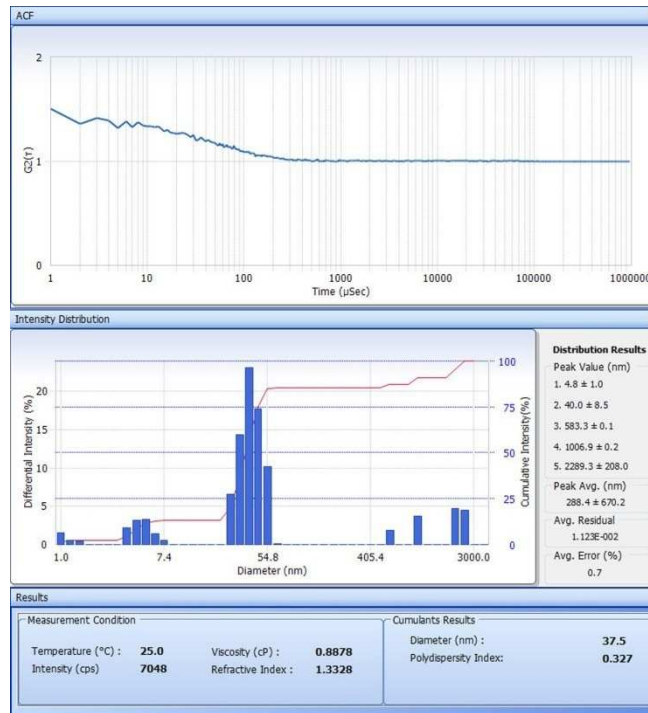


Abbildung 7: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der ersten DLS-Einzelmessung der Probe NM-300K in Wasser am Tag 0 aus der zweiten Messreihe. Oben ist die Autokorrelationsfunktion des gestreuten Lichts, in der Mitte die mit dem *NNLS*-Algorithmus bestimmte Größenverteilung und unten die Messbedingungen mit den Ergebnissen der Kumulanten-Methode.

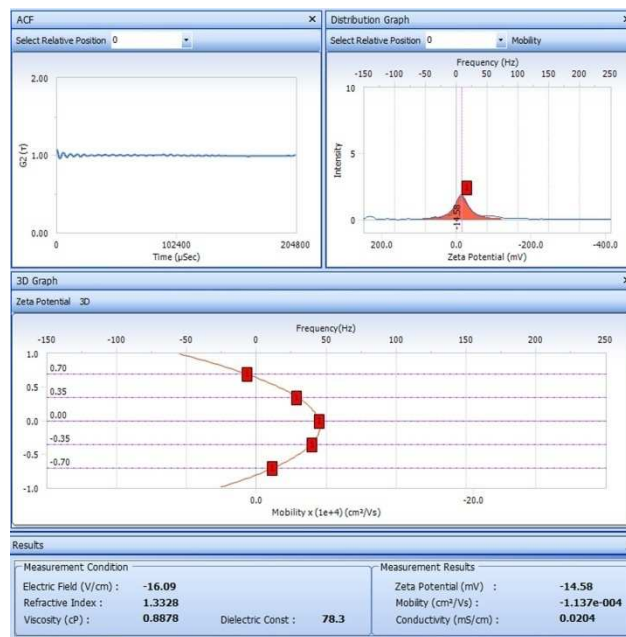


Abbildung 8: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der ersten Zetapotential-Einzelmessung der Probe NM-300K in Wasser am Tag 2 aus der zweiten Messreihe. Oben links ist die Autokorrelationsfunktion der Interferenz für die Position $z = 0$ mm in der Probe, oben rechts die Frequenzanalyse der Korrelationsfunktion und unten das Profil der Mobilitäten aus dem das Zetapotential berechnet wird.

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K in MilliQ-Wasser zusammengefasst. Die mit der Kumulanten-Methode bestimmten hydrodynamischen Durchmesser liegen für die erste Messreihe bei 57 nm und bei 68 nm. Die zweite Messreihe ergibt für die hydrodynamischen Durchmesser der Kumulanten-

Ergebnisse

Methode 36 nm bis 39 nm. Lediglich bei zwei Messungen ergeben sich Ausreißer von 784 nm und 175 nm. Die Ausreißer können anhand der UV/VIS Messungen der Proben identifiziert werden, die in Abbildung 9 und Abbildung 10 dargestellt sind. Das Maximum der Plasmonresonanz liegt bei allen Proben (NM-300K in MilliQ-Wasser) bei 410 – 412 nm. Es zeigt sich keine signifikante Veränderung innerhalb der Messreihen, weder des hydrodynamischen Durchmessers der Kumulanten-Methode noch der Höhe des Absorptionsmaximums bei den UV/VIS-Messungen. Dies zeigt sich auch für die Werte des Polydispersitätsindexes.

Die Ergebnisse des *NNLS*-Algorithmus für die hydrodynamischen Durchmesser ergeben das gleiche Bild. Die Werte der ersten Messreihe mit 40 nm bis 51 nm sind etwas größer als die der zweiten Messreihe von 35 nm bis 42 nm. Die Breiten der *Peaks* liegen zwischen 7 nm und 11 nm. Innerhalb des betrachteten Zeitraums können die NM-300K in MilliQ-Wasser bei der Konzentration von 10 mg Ag/L als kolloidal stabil angesehen werden.

Die Messungen des Zetapotentials der Proben (NM-300K in MilliQ-Wasser) ergaben Werte von -14.4 mV bis -16.9 mV und es kann keine signifikante zeitliche Abhängigkeit festgestellt werden. Die Messung von Tag 2 der ersten Messreihe von -4, mV kann als Fehlmessung eingeordnet werden. Die pH-Werte liegen im Neutralbereich und sinken leicht ab innerhalb der Testdauer. Dies ist auf das Lösen von Kohlendioxid der Luft in den ungepufferten MilliQ-Wasser Proben zurückzuführen.

Tabelle 1: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in Wasser der ersten Messreihe.

Erste Messreihe August 2012						
NM-300K / H ₂ O		10 mg Ag L ⁻¹				
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	784 ± 116	0.34 ± 0.05	40 ± 10	17.7 ± 1.8	-15.1 ± 1.4	7.3
1	68 ± 8	0.29 ± 0.09	51 ± 11	15.0 ± 2.6	-16.9 ± 1.9	7.3
2	57 ± 4	0.31 ± 0.06	49 ± 11	13.6 ± 2.9	-4.5 ± 3.8	6.9

Ergebnisse

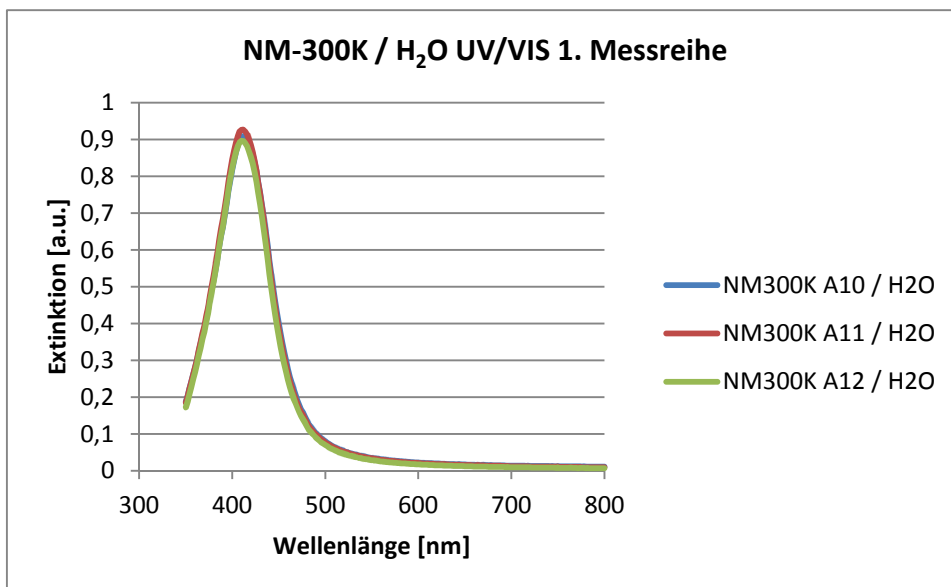


Abbildung 9: UV/VIS Spektren der ersten Messreihe der Proben NM-300K in MilliQ-Wasser. Die zweite Ziffer in der Probenbezeichnung gibt den Tag der Messung an.

Tabelle 2: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in Wasser der zweiten Messreihe.

Zweite Messreihe Oktober 2012						
NM-300K / H ₂ O		10 mg Ag L ⁻¹				
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	39 ± 4	0.37 ± 0.06	35 ± 7	8.2 ± 0.9	-14.9 ± 0.8	7.7
1	36 ± 2	0.36 ± 0.03	37 ± 8	9.7 ± 0.5	-16.1 ± 1.0	7.3
2	39 ± 2	0.32 ± 0.04	42 ± 9	11.0 ± 1.1	-14.4 ± 1.6	6.8
3	175 ± 182	0.25 ± 0.07	38 ± 8	11.4 ± 1.6	-16.1 ± 1.0	6.7

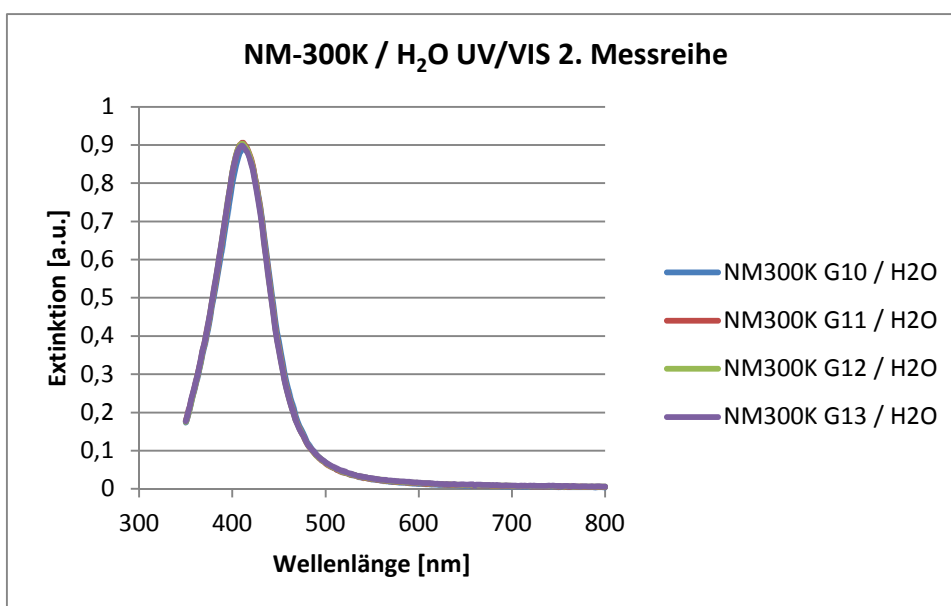


Abbildung 10: UV/VIS Spektren der zweiten Messreihe der Proben NM-300K in MilliQ-Wasser. Die zweite Ziffer in der Probenbezeichnung gibt den Messtag an.

5.1.2 Charakterisierung der Kontrollen NM-300K in MilliQ-Wasser – 2. Durchgang

In der Abbildung 11 ist eine DLS-Messung beispielhaft gezeigt. Die Abbildung zeigt die Korrelationsfunktion (oben), das Ergebnis des *NNLS*-Algorithmus für die Größenverteilung (Mitte) und das Ergebnis der Kumulanten-Methode (unten) dargestellt. Es ist gut das Abklingen der Korrelationsfunktion in dem Zeitbereich um $\tau = 100 \mu\text{s}$ erkennbar. Die Auswertung der Korrelationsfunktion zeigt daher einen deutlichen *Peak* beim hydrodynamischen Durchmesser von ca. 45 nm. Die kleineren *Peaks* bei kleineren Durchmessern und die *Peaks* am oberen Ende des Größenbereichs sind Artefakte des *NNLS*-Algorithmus. Das Ergebnis der Kumulanten-Methode ergibt abweichend den Wert von ca. 570 nm und ist damit viel größer als das Ergebnis der *NNLS*-Methode.

In der Abbildung 12 ist eine Zetapotential-Messung beispielhaft gezeigt. Die Auftragung der Mobilitäten über der z-Position in der Probe ist parabelförmig aufgrund der Überlagerung des elektroosmotischen Flusses mit der Mobilität der gemessenen Partikel. Das Zetapotential wird aus der Form der Parabel berechnet.

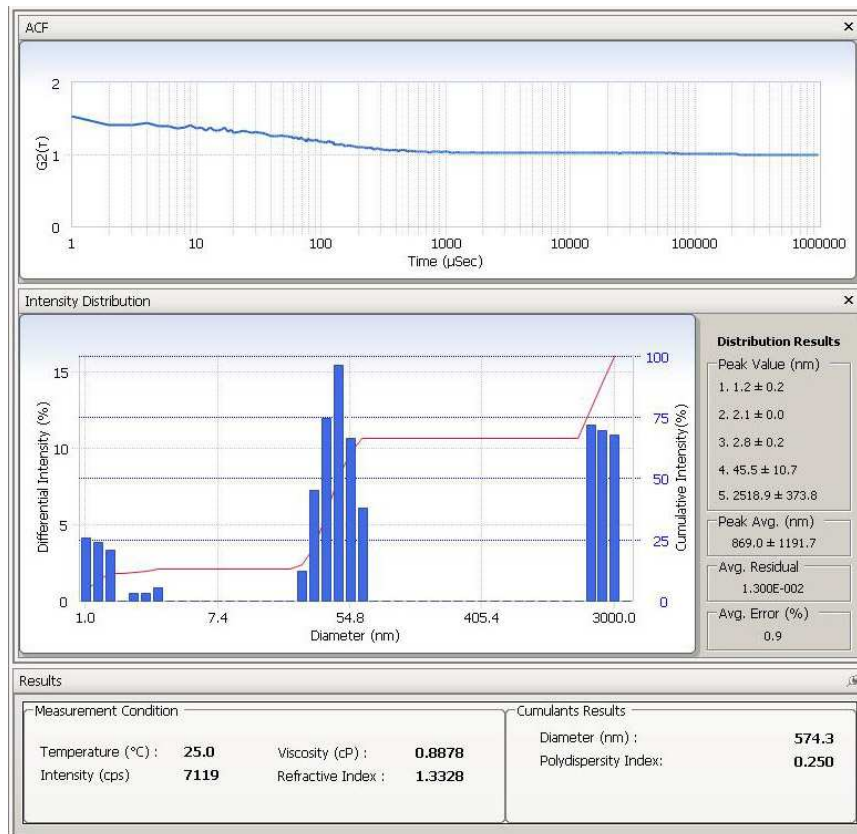


Abbildung 11: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der ersten DLS-Einzelmessung der Probe NM-300K in Wasser am Tag 0 der Messreihe. Oben ist die Autokorrelationsfunktion des gestreuten Lichts, in der Mitte die mit dem *NNLS*-Algorithmus bestimmte Größenverteilung und unten die Messbedingungen mit den Ergebnissen der Kumulanten-Methode.

Ergebnisse

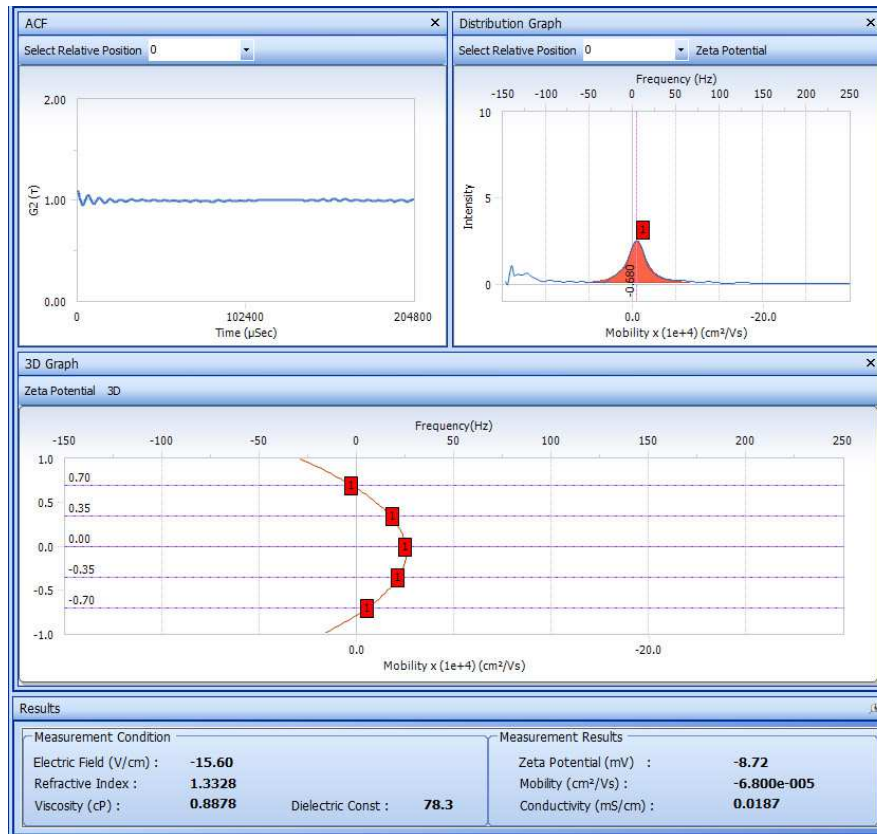


Abbildung 12: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der zweiten Zetapotential-Einzelmessung der Probe NM-300K in Wasser am Tag 0 der Messreihe. Oben links ist die Autokorrelationsfunktion der Interferenz für die Position $z = 0$ mm in der Probe, oben rechts die Frequenzanalyse der Korrelationsfunktion und unten das Profil der Mobilitäten aus dem das Zetapotential berechnet wird.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K in MilliQ-Wasser zusammengefasst. Die mit der Kumulanten-Methode bestimmten hydrodynamischen Durchmesser liegen für die Messreihe zwischen 460 nm und 710 nm. Das Maximum der Plasmonresonanz liegt bei allen Proben (NM-300K in MilliQ-Wasser) bei 412 – 413 nm (siehe Abbildung 13). Es sind für diese Parameter daher keine signifikanten Veränderungen innerhalb der Messreihen zu beobachten. Dies gilt auch für die Werte des Polydispersitätsindexes.

Die Ergebnisse des *NNLS*-Algorithmus für die hydrodynamischen Durchmesser ergeben das gleiche Bild. Die Werte der Messreihe liegen zwischen 41 nm und 49 nm. Die Breiten der *Peaks* sind 10 nm. Innerhalb des betrachteten Zeitraums können die NM-300K in MilliQ-Wasser bei der Konzentration von 10 mg Ag/L als kolloidal stabil angesehen werden.

Die Messungen des Zetapotentials der Proben (NM-300K in MilliQ-Wasser) ergaben Werte von -11.0 mV bis -24.4 mV. Es kann eine leichte zeitliche Abnahme des Zetapotentials festgestellt werden. Die pH-Werte liegen im Neutralbereich.

Ergebnisse

Tabelle 3: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in Wasser der Messreihe Februar und März 2013.

Dritte Messreihe Februar & März 2013						
NM-300K / H ₂ O	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	511 ± 56	0.23 ± 0.02	49 ± 10	14.5 ± 1.1	-11.0 ± 3.0	7.4
1	483 ± 135	0.22 ± 0.05	46 ± 10	13.2 ± 1.8	-18.5 ± 1.4	7
2	464 ± 192	0.21 ± 0.08	45 ± 10	14.2 ± 1.3	-18.5 ± 4.0	6.8
3	498 ± 80	0.23 ± 0.03	48 ± 10	16.5 ± 1.8	-14.5 ± 1.7	7.4
7	709 ± 62	0.31 ± 0.03	41 ± 10	15.7 ± 1.4	-19.9 ± 1.7	7.1
14	594 ± 100	0.26 ± 0.04	44 ± 10	13.0 ± 1.8	-24.4 ± 1.3	7.2

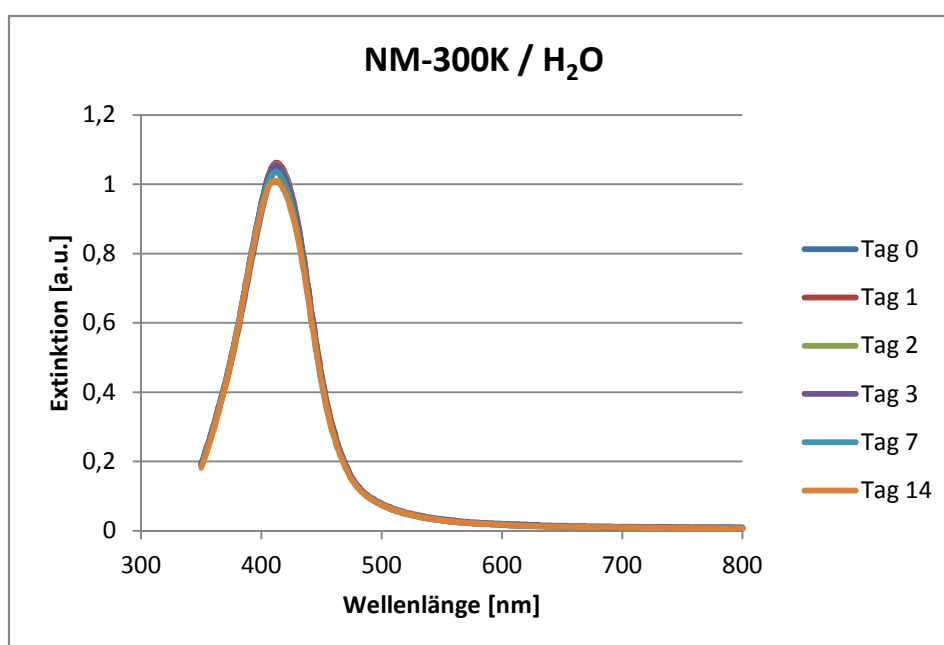


Abbildung 13: UV/VIS-Spektren der Proben NM-300K in MilliQ-Wasser über den Zeitraum der Messreihe.

5.1.3 Charakterisierung von NM-300K in Elendt M4 Medium

In Abbildung 14 ist beispielhaft die erste DLS-Einzelmessung einer Probe NM-300K in Elendt M4 Medium am zweiten Messtag dargestellt. Die Korrelationsfunktion klingt bei $\tau \approx 300 \mu\text{s}$ ab und man kann in der Größenverteilung (bestimmt mit der NNLS-Methode) einen deutlichen *Peak* bei ca. 120 nm sehen. Die kleineren *Peaks* bei kleineren Durchmessern und die *Peaks* am oberen Ende des Größenbereichs können vernachlässigt werden, wie schon bei den MilliQ-Wasser Proben beschrieben wurde.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K in Elendt M4 Medium sind in der Tabelle 4 zusammengefasst. Die Ergebnisse der Kumulanten-Methode für den hydrodynamischen Durchmesser schwanken für jeden Tag der Messung innerhalb der drei Replikate stark. Für Tag 0 ergeben sich hydrodynamische

Ergebnisse

Durchmesser von ca. 400 nm bis 800 nm. Für Tag 1 ergeben sich Werte von ca. 170 nm bis 340 nm, für Tag 2 von ca. 120 nm bis 420 nm. Dies ist daher als eine Abnahme des hydrodynamischen Durchmessers der Kumulanten-Ergebnisse mit der Zeit zu sehen. Die Werte des Polydispersitätsindex schwanken ebenfalls von 0,16 bis 0,35, wobei keine klare Zeitabhängigkeit zu erkennen ist.

Die Ergebnisse der *NNLS*-Methode zeigen ein klareres Bild. Die hier bestimmten hydrodynamischen Durchmesser für Tag 0 sind von 36 nm bis 50 nm genauso groß wie die Ergebnisse für die Proben mit NM-300K in MilliQ-Wasser. Für die Tage 1 und 2 ergeben sich hydrodynamische Durchmesser zwischen 134 nm und 181 nm. Es ist daher klar zu erkennen, dass die Nanopartikel in dem Medium agglomerieren. Dies wird durch die Messung der UV/VIS-Spektren bestätigt (dargestellt in Abbildung 15). Die Lage der Absorptionsmaxima ist zwischen 412 nm und 414 nm und verändert sich nicht über die Versuchsdauer. Die Änderung der Extinktion der Maxima ist nicht signifikant. In den UV/VIS-Spektren für die Tage 1 und 2 ist die Ausbildung einer zweiten Plasmonresonanz im Bereich der Wellenlänge um 600 nm zu sehen. In den UV/VIS-Spektren für Tag 0 ist diese Absorption nicht zu sehen. Diese zusätzliche Absorption wird auf die Bildung von größeren Silber-Nanopartikeln durch Agglomeration zurückgeführt. Die korrigierten Streuintensitäten steigen von ca. 13 kHz am Tag 0 auf ca. 30 kHz an den Tagen 1 und 2. Dies kann auch auf die Bildung größerer Silber-Nanopartikel zurückgeführt werden.

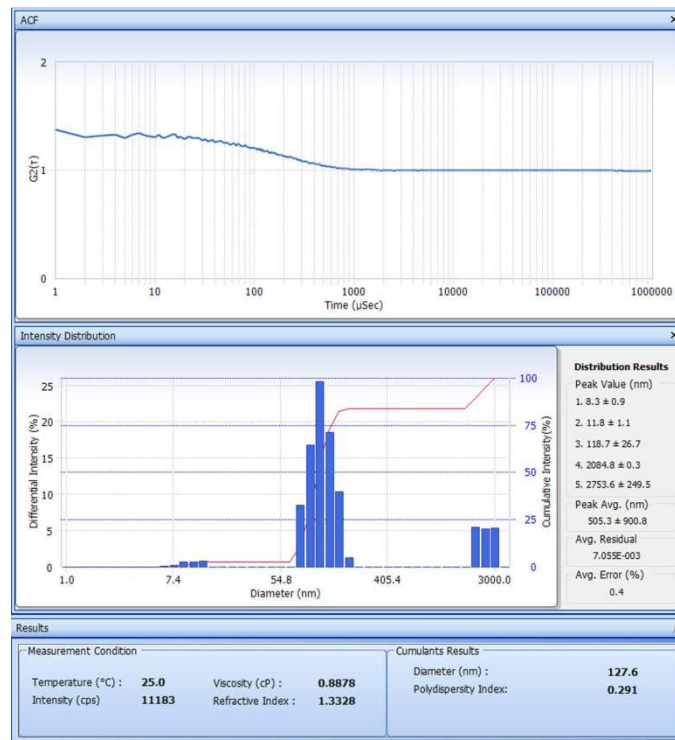


Abbildung 14: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der ersten DLS-Einzelmessung der Probe NM-300K in Elendt M4 am Tag 2. Oben ist die Autokorrelationsfunktion des gestreuten Lichts, in der Mitte die mit dem *NNLS*-Algorithmus bestimmte Größenverteilung und unten die Messbedingungen mit den Ergebnissen der Kumulanten-Methode.

Ergebnisse

Tabelle 4: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in Elendt M4 Medium.

NM-300K / Elendt M4	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0 / A	434 ± 65	0.20 ± 0.03	44 ± 10	13.3 ± 1.2	-8.2 ± 2.0	7.8
0 / B	795 ± 58	0.35 ± 0.02	36 ± 8	14.2 ± 1.1	-10.6 ± 1.1	7.8
0 / C	384 ± 64	0.18 ± 0.03	50 ± 10	12.8 ± 1.0	-9.8 ± 0.8	7.8
1 / A	165 ± 13	0.25 ± 0.06	134 ± 35	34.6 ± 2.1	-6.0 ± 0.4	7.9
1 / B	280 ± 39	0.17 ± 0.06	163 ± 33	37.4 ± 2.5	-6.1 ± 0.1	7.8
1 / C	343 ± 21	0.16 ± 0.01	181 ± 37	31.3 ± 2.4	-7.0 ± 1.9	7.9
2 / A	123 ± 4	0.32 ± 0.02	139 ± 31	30.5 ± 1.6	-6.7 ± 0.5	7.9
2 / B	128 ± 3	0.31 ± 0.02	134 ± 30	31.7 ± 1.2	-6.5 ± 0.4	7.9
2 / C	423 ± 39	0.19 ± 0.02	149 ± 31	27.6 ± 2.7	-6.2 ± 0.1	7.9

Die Ergebnisse der Messungen des Zetapotentials der Proben mit NM-300K in Elendt M4 Medium zeigen eine leichte Zeitabhängigkeit. Am Tag 0 liegen die gemessenen Zetapotentiale zwischen -8,2 mV und -10,6 mV, wohingegen an den Tagen 1 und 2 die Zetapotentiale weniger negativ sind und zwischen -6,0 mV und -7,0 mV liegen. Daher kann eine Veränderung der Oberfläche der Silber-Nanopartikel festgestellt werden, die mit der Agglomeration der Partikel einhergeht. Die pH-Werte der Proben liegen bei 7,8 bis 7,9 und zeigen keine Veränderung über den Versuchszeitraum. Die Beträge der gemessenen Zetapotentiale der Proben mit NM-300K in Elendt M4 Medium (mit einer Ionenstärke von 8,3 mM) sind kleiner als die gemessenen Zetapotentiale der Proben in MilliQ-Wasser (mit einer Ionenstärke nahe 0 mM) von ca. -15 mV. Dies entspricht der Erwartung, dass der Betrag des Zetapotentials mit steigender Ionenstärke des Mediums aufgrund der zunehmenden Abschirmung durch die Ionen des Elektrolyten abnimmt.

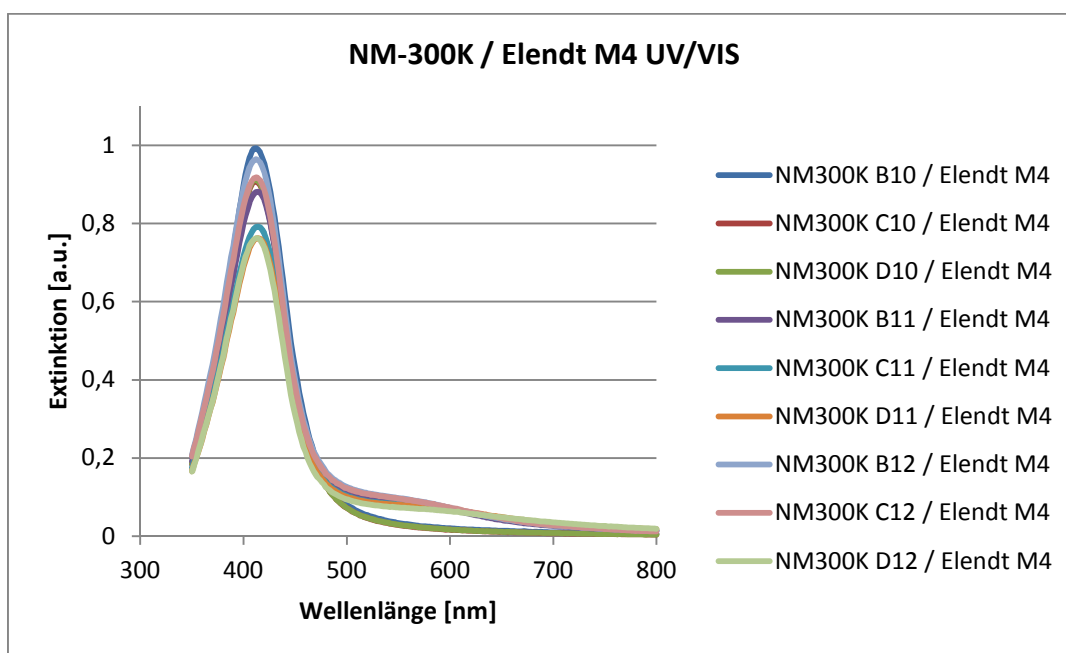


Abbildung 15: UV/VIS Spektren der Proben NM-300K in Elendt M4 Medium. Die zweite Ziffer in der Probenbezeichnung gibt den Tag der Messung an.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der DLS-Messung und der Zetapotential-Messung der Proben mit Silbernitrat in Elendt M4 Medium sind in der Tabelle 5 zusammengefasst. Die im Elendt M4 Medium enthaltenden Chlorid-Ionen bilden mit den Silberionen des Silbernitrats schwerlösliches Silberchlorid. Die mit der Kumulanten-Methode bestimmten hydrodynamischen Durchmesser der ausfallenden Kristalle wachsen von 212 nm an Tag 0 auf 424 nm an Tag 2. Der Polidispersitätsindex steigt ebenfalls mit der Testdauer von 0,14 auf 0,19. Die Ergebnisse des NNLS-Algorithmus zeigen den umgekehrten Trend von ca. 220 nm kleiner werdend bis ca. 170 nm. Die Zetapotentiale des Silberchlorids liegen zwischen -26,0 mV und -27,4 mV. Die pH-Werte der Proben liegen mit 7,1 bis 7,6 aufgrund der kleinen Menge von Salpetersäure im Silbernitrat-Standard etwas niedriger als die Proben der NM-300K in Elendt M4 Medium.

Tabelle 5: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für Silbernitrat in Elendt M4 Medium.

AgNO ₃ / Elendt M4	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	212 ± 5	0.14 ± 0.04	218 ± 51	35.5 ± 1.0	-27.4 ± 1.5	7.2
1	285 ± 42	0.17 ± 0.04	176 ± 36	10.0 ± 0.9	-26.2 ± 0.2	7.6
2	424 ± 70	0.19 ± 0.03	170 ± 33	14.0 ± 3.1	-26.0 ± 0.5	7.1

5.1.4 Charakterisierung von NM300K in *Danio rerio*-Medium

In Abbildung 16 ist beispielhaft die erste DLS-Einzelmessung einer Probe NM-300K in *Danio rerio*-Medium am Tag 1 dargestellt. Die Korrelationsfunktion klingt bei $\tau \approx 100 \mu\text{s}$ ab und man kann in der Größenverteilung (bestimmt mit der NNLS-Methode) einen deutlichen *Peak* bei ca. 50 nm sehen. Die kleineren *Peaks* bei kleineren Durchmessern und die *Peaks* am oberen Ende des Größenbereichs können vernachlässigt werden, wie schon bei den MilliQ-Wasser-Proben beschrieben wurde.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K in *Danio rerio*-Medium sind in der Tabelle 6 zusammengefasst. Die Ergebnisse der Kumulanten-Methode für die hydrodynamischen Durchmesser schwanken stark für den jeweiligen Tag der Messung, zeigen aber eine Tendenz für wachsende Durchmesser mit dem Testzeitraum. Für Tag 0 schwanken die Werte zwischen 132 nm und 501 nm, für Tag 1 zwischen 401 nm und 657 nm und für Tag 2 zwischen 550 nm und 579 nm (Die Ergebnisse der Probe 2 / B [in den Rohdaten M12] an Tag 2 werden als Fehlmessung gewertet, da die Amplitude von $g^{(2)}$ ungewöhnlich hoch ist). Die Polydispersitätsindices zeigen keinen eindeutigen Trend, sie schwanken zwischen 0,20 und 0,29.

Die Ergebnisse des NNLS-Algorithmus für die hydrodynamischen Durchmesser liegen zwischen 34 nm und 49 nm und zeigen keine signifikante Änderung im Testzeitraum. Diese Werte liegen bei der gleichen Größe wie die Ergebnisse des NNLS-Algorithmus für die Proben mit NM-300K in Wasser. Die UV/VIS-Spektren in Abbildung 17 zeigen eine minimale Verschiebung der Lage des Maximums der Absorption von der Wellenlänge 411 nm an Tag 0 auf 408 nm an Tag 2. Die Höhe des Maximums zeigt keine signifikante

Ergebnisse

Veränderung im Testzeitraum. Diese Ergebnisse zusammengenommen deuten auf eine sehr geringe Verkleinerung der Silbernanopartikel im *Danio rerio*-Medium während des Testzeitraums hin.



Abbildung 16: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der ersten DLS-Einzelmessung der Probe NM-300K in *D. rerio*. Medium am Tag 1. Oben ist die Autokorrelationsfunktion des gestreuten Lichts, in der Mitte die mit dem NNLS-Algorithmus bestimmte Größenverteilung und unten die Messbedingungen mit den Ergebnissen der Kumulanten-Methode.

Tabelle 6: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in *Danio rerio* Medium.

NM-300K / <i>Danio rerio</i> .	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0 / A	132 ± 118	0.25 ± 0.08	47 ± 10	8.4 ± 0.9	-11.1 ± 0.8	7.3
0 / B	438 ± 86	0.20 ± 0.03	41 ± 10	10.1 ± 1.4	-9.4 ± 0.7	7.3
0 / C	501 ± 146	0.22 ± 0.06	49 ± 11	11.4 ± 0.9	-9.4 ± 0.7	7.4
1 / A	401 ± 99	0.19 ± 0.04	43 ± 10	7.2 ± 0.6	-12.3 ± 0.7	7.4
1 / B	634 ± 140	0.28 ± 0.06	34 ± 13	8.6 ± 0.8	-8.7 ± 1.3	7.4
1 / C	657 ± 136	0.29 ± 0.05	38 ± 9	10.7 ± 0.8	-9.1 ± 1.9	7.4
2 / A	550 ± 159	0.25 ± 0.07	35 ± 8	8.3 ± 0.5	-7.8 ± 0.7	7.6
2 / B	1055 ± 289	0.45 ± 0.12	25 ± 5	10.2 ± 1.1	-7.6 ± 0.7	7.5
2 / C	579 ± 97	0.26 ± 0.04	39 ± 9	8.6 ± 1.0	-8.5 ± 0.5	7.6

Die gemessenen Zetapotentiale der Proben mit NM-300K in *Danio rerio*-Medium liegen zwischen -7,6 mV und -12,3 mV wobei sich ein leichter Trend zu kleineren Beträgen des Zetapotentials zeigt. Die Ionenstärke des *Danio rerio*-Mediums ist 8,4 mM. Daher sind die geringeren Beträge der hier gemessenen Zetapotentiale im Vergleich zu den Proben mit

Ergebnisse

MilliQ-Wasser auf die Abschirmung durch die Ionen des Elektrolyten zurückzuführen. Die pH-Werte der Proben steigen leicht von 7,3 auf 7,6 während des Testzeitraums.

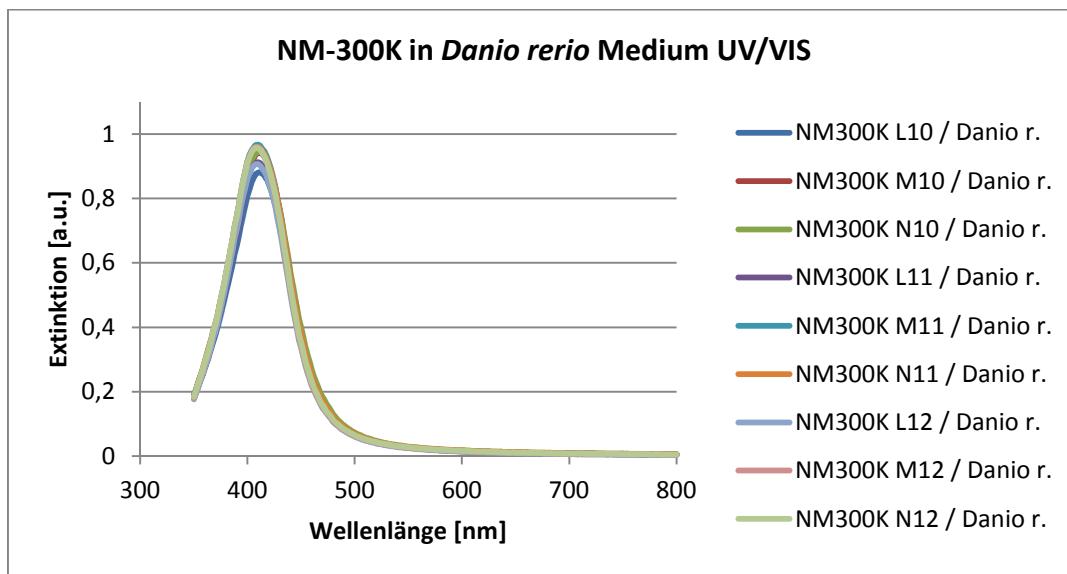


Abbildung 17: UV/VIS Spektren der Proben NM-300K in *Danio rerio* Medium. Die zweite Ziffer in der Probenbezeichnung gibt den Tag der Messung an.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit Silbernitrat in *Danio rerio*-Medium sind in der Tabelle 7 zusammengefasst. Es zeigt sich hier ein ähnliches Verhalten, wie es schon bei den Proben mit Elendt M4 Medium beobachtet wurde. Es ist deutlich die Agglomeration der Silberchlorid-Kristalle mit den DLS-Messungen nachweisbar. Das Zetapotential der Proben verändert sich von ca. -25 mV an den Tagen 0 und 1 auf ca. -18 mV am Tag 2. Die pH-Werte der Proben liegen im Neutralbereich und steigen im Messzeitraum von 6,8 auf 7,5.

Tabelle 7: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für Silbernitrat in *Danio rerio*-Medium.

AgNO ₃ / <i>Danio rerio</i>	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	365 ± 14	0.17 ± 0.01	219 ± 50	45.8 ± 2.1	-25.4 ± 0.1	6.8
1	2682 ± 291	0.99 ± 0.09	2522 ± 374	6.1 ± 1.7	-25.8 ± 1.5	7.1
2	6538 ± 2792	1.40 ± 0.14	2524 ± 374	2.0 ± 0.6	-17.5 ± 0.7	7.5

5.1.5 Charakterisierung von NM-300K in *Pseudokirchneriella subcapitata*-Medium

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K in *Pseudokirchneriella subcapitata*-Medium sind in der Tabelle 8 zusammengefasst. Die Ergebnisse der Kumulanten-Methode für die hydrodynamischen Durchmesser liegen für den Tag 0 zwischen 477 nm und 620 nm. Die Werte an den Tagen 1 und 3 sind etwas kleiner an Tag 1 von 344 nm bis 448 nm und an Tag 3 von 356 nm bis 486 nm. Die Polydispersitätsindices werden ebenfalls im Versuchszeitraum etwas kleiner. Am Tag 0 liegen die Werte von 0,22 bis 0,27. An den Tagen 1 und 3 zueinander vergleichbar

Ergebnisse

zwischen 0,16 bis 0,22. Die Ergebnisse für den hydrodynamischen Durchmesser des *NNLS*-Algorithmus hingegen liegen einheitlich zwischen 47 nm und 62 nm ohne signifikante zeitliche Abhängigkeit über den Testzeitraum. Diese Werte sind leicht erhöht gegenüber den entsprechenden Werten des *NNLS*-Algorithmus für die Proben in MilliQ-Wasser und deuten auf eine sehr geringe Agglomeration der Silber-Nanopartikel hin.

Die UV/VIS-Spektren der Proben mit NM-300K in *P. subcapitata*-Medium sind in der Abbildung 18 dargestellt. Die Lage der Maxima der Absorption ist zwischen den Wellenlängen 410 nm und 412 nm. Es ist kein signifikanter Trend für die Zeitabhängigkeit der Lage und der Höhe der Absorption zu erkennen.

Die gemessenen Zetapotentiale der Proben mit NM-300K in *P. subcapitata*-Medium liegen in dem Bereich von -13,9 mV bis -18,5 mV und sind somit vergleichbar hoch wie die Werte der Zetapotentiale der Proben mit MilliQ-Wasser. Die geringe Ionenstärke des *P. subcapitata*-Medium von 1,7 mM deutet auf eine nur geringe Abschirmung durch die Ionen des Elektrolyten hin. Es ist ebenfalls keine signifikante Veränderung des Zetapotentials innerhalb der Versuchsreihe festzustellen. Die pH-Werte liegen zwischen 7,9 und 8,1 und zeigen ebenso keine signifikante Zeitabhängigkeit im Zeitraum der Versuche.

Tabelle 8: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in *Pseudokirchneriella subcapitata*-Medium.

NM-300K / <i>P. subcapitata</i>	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int.,NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0 / A	620 ± 112	0.27 ± 0.04	47 ± 10	15.9 ± 1.7	-17.4 ± 0.9	8
0 / B	609 ± 96	0.27 ± 0.04	48 ± 10	15.5 ± 1.4	-15.9 ± 1.6	8
0 / C	477 ± 64	0.22 ± 0.03	56 ± 11	20.6 ± 2.3	-14.5 ± 1.6	8
1 / A	448 ± 82	0.21 ± 0.04	56 ± 11	16.1 ± 2.0	-14.8 ± 2.1	7.9
1 / B	439 ± 78	0.20 ± 0.03	54 ± 11	16.6 ± 2.2	-13.9 ± 0.1	8.1
1 / C	344 ± 44	0.16 ± 0.02	60 ± 13	18.2 ± 1.2	-16.2 ± 0.6	7.9
3 / A	486 ± 118	0.22 ± 0.05	56 ± 12	25.7 ± 4.0	-14.2 ± 0.3	7.9
3 / B	442 ± 49	0.20 ± 0.02	52 ± 11	15.1 ± 1.2	-17.3 ± 1.1	7.9
3 / C	356 ± 35	0.17 ± 0.02	62 ± 13	19.5 ± 0.9	-18.5 ± 0.9	7.9

Ergebnisse

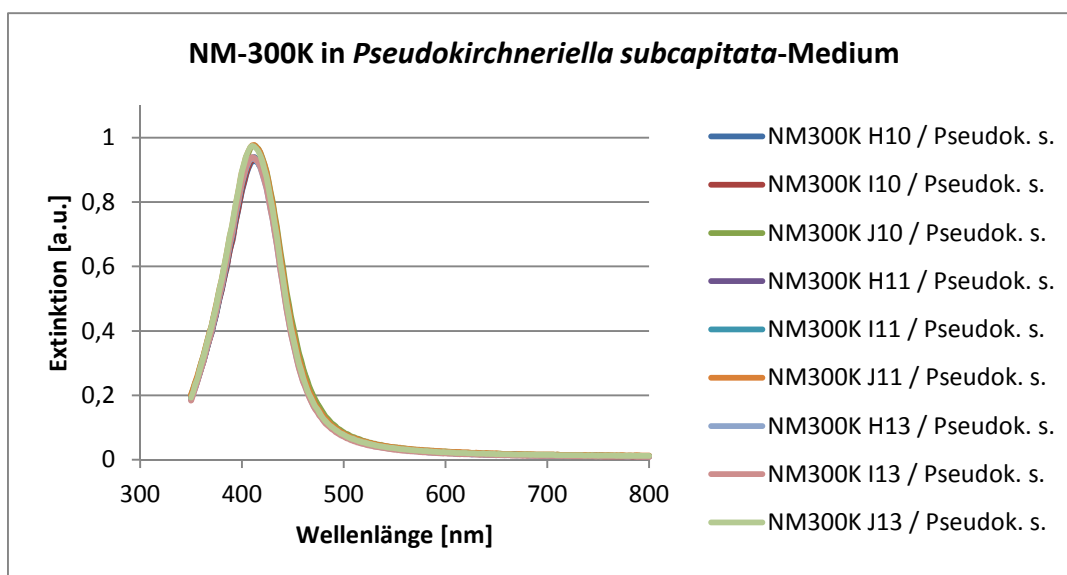


Abbildung 18: UV/VIS Spektren der Proben NM-300K in *Pseudokirchneriella subcapitata*-Medium. Die zweite Ziffer in der Probenbezeichnung gibt den Tag der Messung an.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen der Proben mit Silbernitrat in *P. subcapitata*-Medium sind in der Tabelle 9 aufgeführt. Die Bildung von Silberchlorid-Kristallen und deren starker Agglomeration ist an den Tagen 0 und 1 klar an den Ergebnissen der Kumulanten-Methode und der NNLS-Methode festzustellen. An Tag 3 ist die Probe klar und es kann keine Korrelationsfunktion mehr gemessen werden, da die Streuintensitäten zu gering sind. Daher sind nur die Werte für die Streuintensität und der pH-Wert eingetragen. Das gemessene Zetapotential der Silberchlorid-Kristalle an den Tagen 0 und 1 liegt bei ca. -25 mV und ist somit ähnlich hoch wie bei den Proben des Silbernitrats in den Medien Elendt M4 und für *Danio rerio*. Die pH-Werte liegen im Neutralbereich zwischen 7,1 und 7,7.

Tabelle 9: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für Silbernitrat in *Pseudokirchneriella subcapitata*-Medium.

AgNO ₃ / <i>P. subcapitata</i>	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	591 ± 42	0.25 ± 0.02	213 ± 50	16.2 ± 2.1	-24.4 ± 0.4	7.5
1	2682 ± 291	0.99 ± 0.09	2522 ± 374	6.1 ± 1.7	-25.8 ± 1.5	7.1
3	-	-	-	2.3 ± 0.5	-	7.7

5.1.6 Charakterisierung von NM-300K in Steinberg-Medium für *Lemna minor*

In Abbildung 19 ist beispielhaft die erste DLS-Einzelmessung einer Probe NM-300K in Steinberg-Medium am ersten Messtag dargestellt. Die Korrelationsfunktion klingt bei $\tau \approx 100 \mu\text{s}$ ab und man kann in der Größenverteilung (bestimmt mit der *NNLS*-Methode) einen deutlichen *Peak* bei ca. 30 nm sehen. Die kleineren *Peaks* bei kleineren Durchmessern und die *Peaks* am oberen Ende des Größenbereichs können vernachlässigt werden, wie schon bei den MilliQ-Wasser Proben beschrieben wurde.

In Abbildung 20 ist eine Zetapotential-Messung einer Probe in Steinberg-Medium beispielhaft gezeigt. Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K in Steinberg-Medium sind in der Tabelle 10 zusammengefasst. Die Ergebnisse der Kumulanten-Methode für den hydrodynamischen Durchmesser schwanken für jeden Tag der Messung innerhalb der drei Replikate stark. Für Tag 0 ergeben sich hydrodynamische Durchmesser von ca. 540 nm bis 940 nm. Für Tag 3 ergeben sich Werte von ca. 420 nm bis 570 nm, für Tag 7 von ca. 360 nm bis 620 nm. Es ist daher eine leichte Abnahme des hydrodynamischen Durchmessers der Kumulanten-Ergebnisse mit der Zeit zu sehen. Die Werte des Polydispersitätsindex schwanken ebenfalls von 0,17 bis 0,40, wobei keine klare Zeitabhängigkeit zu erkennen ist.

Die Ergebnisse der *NNLS*-Methode zeigen ein klareres Bild. Die hier bestimmten hydrodynamischen Durchmesser für Tag 0 sind von 27 nm bis 34 nm etwas kleiner als die Ergebnisse für die Proben mit NM-300K in MilliQ-Wasser. Für die Tage 3 und 7 ergeben sich hydrodynamische Durchmesser zwischen 33 nm und 45 nm. Es ist eine leichte Zunahme zu erkennen. Dies wird nicht durch die Messung der UV/VIS-Spektren bestätigt (dargestellt in Abbildung 21). Die Lage der Absorptionsmaxima ist zu Beginn an Tag 0 bei 414 nm und an den Tagen 3 und 7 bei 412 nm. Die Änderung der Extinktion der Maxima ist nicht signifikant.

Ergebnisse

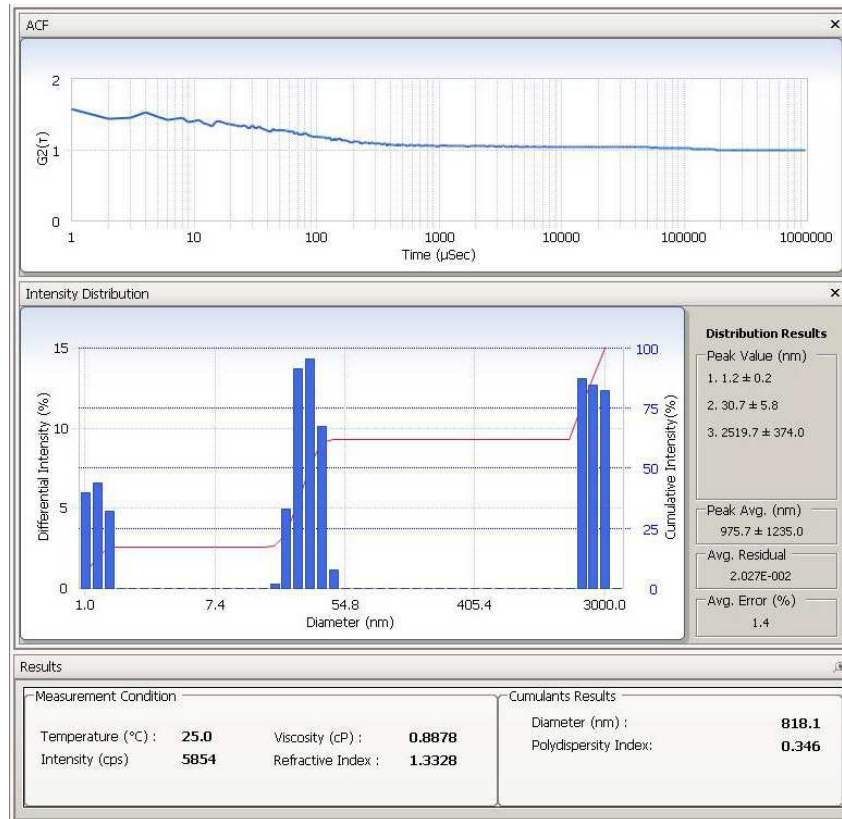


Abbildung 19: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der ersten DLS-Einzelmessung der Probe NM-300K in Steinberg-Medium am Tag 0. Oben ist die Autokorrelationsfunktion des gestreuten Lichts, in der Mitte die mit dem *NNLS*-Algorithmus bestimmte Größenverteilung und unten die Messbedingungen mit den Ergebnissen der Kumulanten-Methode.

Ergebnisse

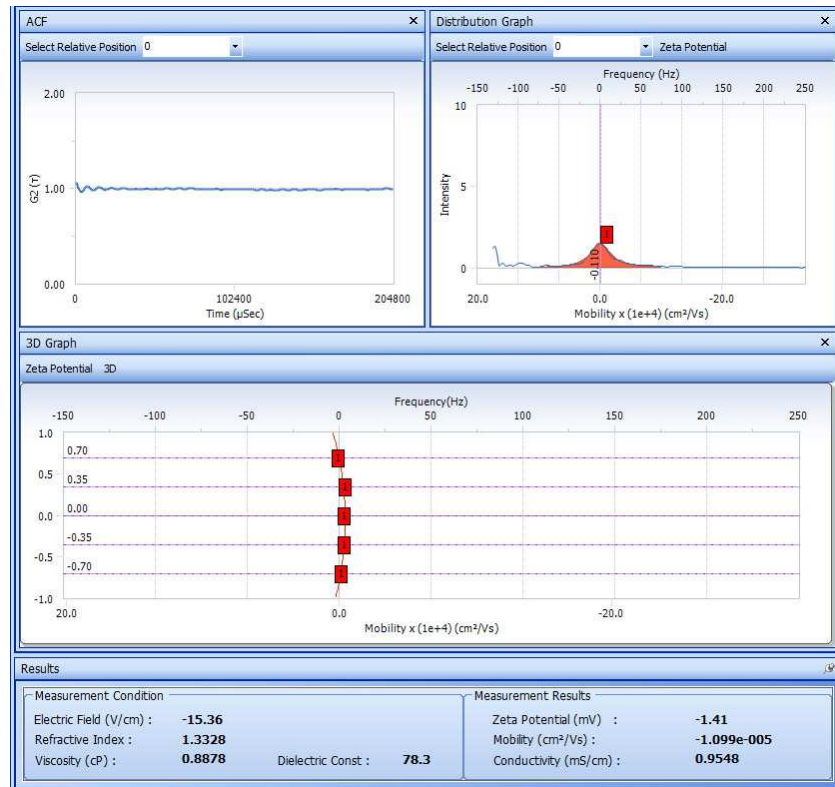


Abbildung 20: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der ersten Zetapotential-Einzelmessung der Probe NM-300K in Steinberg-Medium am Tag 0 der Messreihe. Oben links ist die Autokorrelationsfunktion der Interferenz für die Position $z = 0$ mm in der Probe, oben rechts die Frequenzanalyse der Korrelationsfunktion und unten das Profil der Mobilitäten, aus dem das Zetapotential berechnet wird.

Ergebnisse

Tabelle 10: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in Steinberg-Medium.

NM-300K / Lemna	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0 / A	935 ± 162	0.40 ± 0.06	27 ± 6	9.3 ± 1.0	-1.9 ± 1.0	5.8
0 / B	616 ± 180	0.27 ± 0.07	32 ± 7	8.7 ± 0.4	1.7 ± 1.0	5.9
0 / C	539 ± 166	0.24 ± 0.07	34 ± 8	11.2 ± 1.9	-1.7 ± 0.6	5.9
3 / A	424 ± 92	0.20 ± 0.04	45 ± 10	11.2 ± 1.8	-2.4 ± 1.5	5.9
3 / B	572 ± 164	0.25 ± 0.07	34 ± 7	8.0 ± 1.2	-3.5 ± 1.1	6.0
3 / C	539 ± 178	0.24 ± 0.07	33 ± 7	9.2 ± 1.2	-3.8 ± 0.5	6.0
7 / A	521 ± 113	0.23 ± 0.05	34 ± 7	9.8 ± 0.9	-3.9 ± 1.1	6.0
7 / B	616 ± 132	0.27 ± 0.05	42 ± 10	10.4 ± 1.9	-3.5 ± 1.6	6.0
7 / C	364 ± 62	0.17 ± 0.03	39 ± 9	9.4 ± 0.6	-2.3 ± 1.0	6.0

Die Ergebnisse der Messungen des Zetapotentials der Proben mit NM-300K in Steinberg-Medium zeigen eine leichte Zeitabhängigkeit. Am Tag 0 liegen die gemessenen Zetapotentiale zwischen -1,9 mV und 1,7 mV, wohingegen an den Tagen 3 und 7 die Zetapotentiale etwas niedriger sind und zwischen -2,4 mV und -3,9 mV liegen. Die pH-Werte der Proben liegen zwischen 5,8 bis 6,0 und zeigen keine signifikante Veränderung über den Versuchszeitraum. Die Beträge der gemessenen Zetapotentiale der Proben mit NM-300K in Steinberg-Medium (mit einer Ionenstärke von 9,3 mM) sind sehr viel kleiner als die gemessenen Zetapotentiale der Proben in MilliQ-Wasser (mit einer Ionenstärke nahe 0 mM) von ca. -11 mV bis -24 mV. Dies entspricht der Erwartung, dass der Betrag des Zetapotentials mit steigender Ionenstärke des Mediums aufgrund der zunehmenden Abschirmung durch die Ionen des Elektrolyten abnimmt. Zudem ist eine Verschiebung des Zetapotentials aufgrund des kleineren pH-Werts ebenfalls plausibel.

Ergebnisse

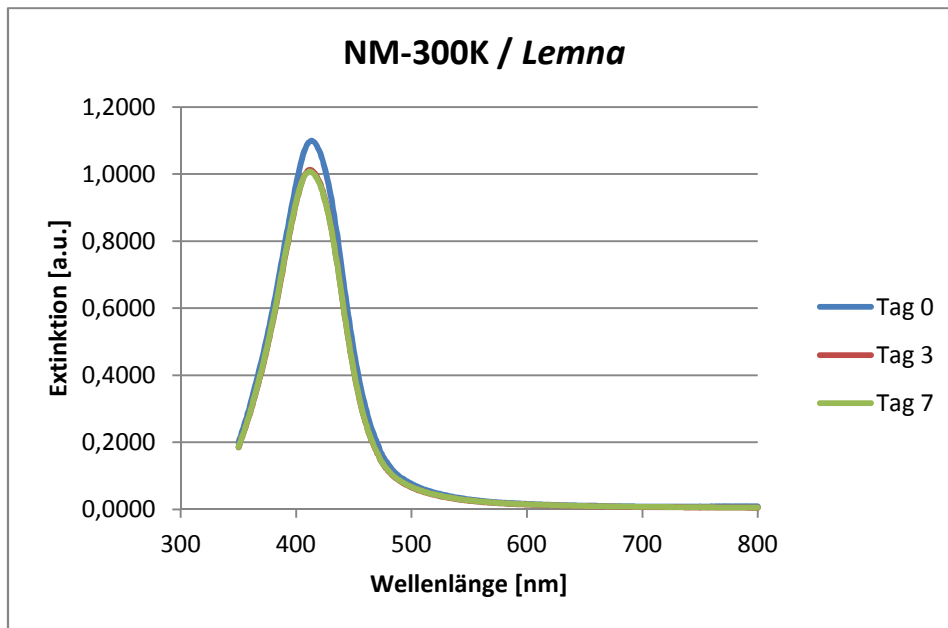


Abbildung 21: UV/VIS-Spektren der Proben NM-300K in Steinberg Medium. Die Daten sind für die Messtage jeweils gemittelt.

Die Ergebnisse der DLS-Messung und der Zetapotential-Messung der Proben mit Silbernitrat in Steinberg-Medium sind in der Tabelle 4 zusammengefasst. Die im Steinberg-Medium enthaltenden Chlorid-Ionen bilden mit den Silberionen des Silbernitrats schwerlösliches Silberchlorid. An Tag 0 ist der mit der Kumulanten-Methode bestimmte hydrodynamische Durchmesser der ausfallenden Kristalle ca. 1620 nm. Der Polydispersitätsindex ist bei ca. 0.64. Die Ergebnisse des NNLS-Algorithmus sind bei ca. 90 nm. Das Zetapotential ist mit -3.3 mV ähnlich groß wie der Wert für NM-300K im Steinberg-Medium. An den späteren Messtagen 3 und 7 ist Streuintensität stark abgesunken, so daß für die dynamische Lichtstreuung keine sinnvoll auswertbaren Korrelationsfunktionen mehr gemessen werden. Das Zetapotential an Tag 3 beträgt 1.6 mV. Für Tag 7 sind keine Werte angegeben, da die Streuintensität mit weniger als 0,2 kHz zu gering für die Berechnung der Korrelationsfunktion war. Die pH-Werte der Proben liegen bei ca. 4,0, und daher im Vergleich zu den Proben der NM-300K in Steinberg-Medium niedriger. Dies ist auf die kleine Menge von Salpetersäure im Silbernitrat-Standard zurückzuführen.

Tabelle 11: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für Silbernitrat in Steinberg Medium.

AgNO ₃ / Lemna	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	1621 ± 186	0.64 ± 0.06	89 ± 17	5.2 ± 0.6	-3.3 ± 2.1	4.0
3	109030 ± 58530	-0.25 ± 1.83	2512 ± 373	0.5 ± 0.2	1.6 ± 2.0	4.0
7	i < 200 cps	i < 200 cps	i < 200 cps	i < 200 cps	i < 200 cps	4.1

5.1.7 Charakterisierung von NM-300K in AAP-Medium für *Anabaena flos-aquae*

In Abbildung 22 ist beispielhaft die erste DLS-Einzelmessung einer Probe NM-300K in AAP-Medium am Tag 0 dargestellt. Die Korrelationsfunktion klingt bei $\tau \approx 100 \mu\text{s}$ ab und man kann in der Größenverteilung (bestimmt mit der *NNLS*-Methode) einen deutlichen *Peak* bei ca. 55 nm sehen.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K in AAP-Medium sind in der Tabelle 3 zusammengefasst. Die Ergebnisse der Kumulanten-Methode für die hydrodynamischen Durchmesser schwanken für den jeweiligen Tag der Messung, zeigen aber eine Tendenz für wachsende Durchmesser mit dem Testzeitraum. Für Tag 0 schwanken die Werte zwischen 380 nm und 540 nm, für Tag 1 zwischen 410 nm und 510 nm und für Tag 3 zwischen 560 nm und 610 nm. Die Polydispersitätsindices zeigen einen leichten Anstieg über den Testzeitraum, sie schwanken zwischen 0,18 und 0,27.

Die Ergebnisse des *NNLS*-Algorithmus für die hydrodynamischen Durchmesser liegen zwischen 45 nm und 57 nm und zeigen eine leichte Abnahme im Testzeitraum. Diese Werte liegen in der gleichen Größenordnung wie die Ergebnisse des *NNLS*-Algorithmus für die Proben von NM-300K in Wasser. Die UV/VIS-Spektren in Abbildung 23 zeigen eine sehr kleine Verschiebung der Lage des Maximums der Absorption von der Wellenlänge 412 nm an den Tagen 0 und 1 zu der Wellenlänge 411 nm. Die Höhe des Maximums zeigt keine signifikante Veränderung im Testzeitraum. Die Ergebnisse deuten auf eine sehr geringe Verkleinerung der NM-300K im AAP-Medium hin.

Ergebnisse



Abbildung 22: Ausgabe der DelsaNano Geräte Software der ersten DLS-Einzelmessung der Probe NM-300K in AAP-Medium am Tag 0. Oben ist die Autokorrelationsfunktion des gestreuten Lichts, in der Mitte die mit dem NNLS-Algorithmus bestimmte Größenverteilung und unten die Messbedingungen mit den Ergebnissen der Kumulanten-Methode.

Tabelle 12: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in AAP-Medium.

NM-300K / AAP	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cumulative)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0 / A	379 ± 97	0.18 ± 0.04	56 ± 11	15.5 ± 1.8	-20.3 ± 1.1	7.4
0 / B	451 ± 70	0.21 ± 0.03	55 ± 11	15.4 ± 1.6	-18.3 ± 1.8	7.5
0 / C	541 ± 167	0.24 ± 0.07	49 ± 11	14.5 ± 1.9	-19.7 ± 2.1	7.3
1 / A	461 ± 55	0.21 ± 0.02	54 ± 11	12.9 ± 1.1	-18.4 ± 0.8	7.5
1 / B	406 ± 104	0.19 ± 0.04	57 ± 12	15.9 ± 1.6	-19.6 ± 0.8	7.4
1 / C	506 ± 58	0.23 ± 0.03	51 ± 11	13.4 ± 0.8	-14.9 ± 0.7	7.3
3 / A	584 ± 137	0.26 ± 0.06	47 ± 10	12.4 ± 2.1	-17.2 ± 0.8	7.3
3 / B	607 ± 172	0.27 ± 0.07	45 ± 10	12.5 ± 1.8	-12.6 ± 0.5	7.4
3 / C	559 ± 161	0.25 ± 0.06	48 ± 10	14.1 ± 4.9	-14.8 ± 1.2	7.4

Die gemessenen Zetapotentiale der Proben mit NM-300K in AAP-Medium liegen zwischen -12,6 mV und -20,3 mV, wobei sich ein leichter Trend zu kleineren Beträgen des Zetapotentials zeigt. Die Werte des Zetapotentials sind somit ähnlich hoch wie in MilliQ-Wasser. Die geringe Ionenstärke des AAP-Mediums von 0,98 mM bewirkt nur eine sehr

Ergebnisse

geringe Abschirmung des Zetapotentials. Die gemessenen pH-Werten sind im Neutralbereich von 7,3 bis 7,5.

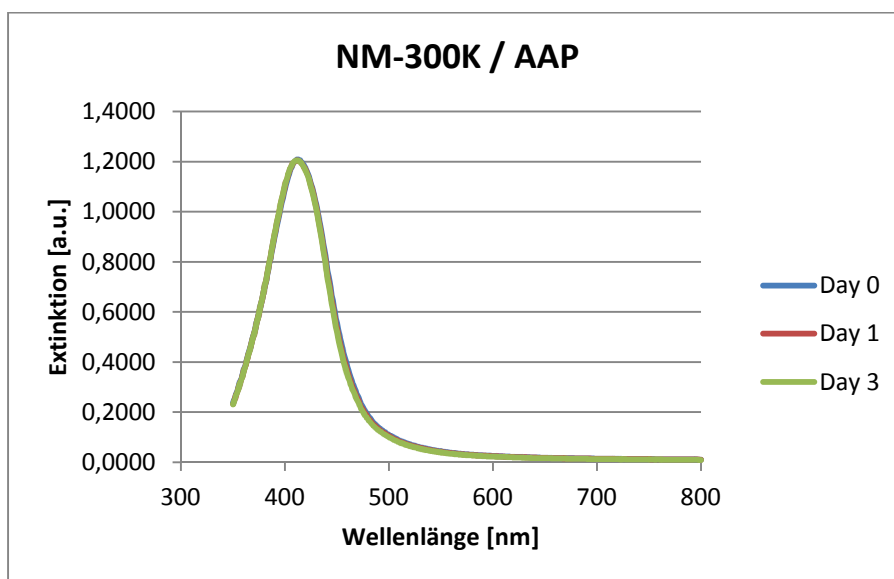


Abbildung 23: UV/VIS-Spektren der Proben NM-300K in AAP-Medium. Die Daten sind für die Messtage jeweils gemittelt.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit Silbernitrat in AAP-Medium sind in der Tabelle 13 zusammengefasst. Es zeigt sich hier deutlich die Fällung von Silberchlorid das nachfolgende Kristallwachstum. Die Agglomeration der Silberchlorid-Kristalle ist mit den DLS-Messungen nachweisbar. Das Zetapotential der Proben verändert sich von ca. -25 mV am Tag 0 über ca. -21 mV an Tag 1 und zuletzt -14 mV am Tag 3. Die pH-Werte der Proben liegen im leicht sauren Bereich zwischen 5,6 und 6,5.

Tabelle 13: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für Silbernitrat in AAP-Medium.

AgNO ₃ / AAP	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	292 ± 10	0.17 ± 0.01	219 ± 50	45.8 ± 2.1	-25.4 ± 0.1	5.6
1	684 ± 110	0.23 ± 0.17	337 ± 118	121.4 ± 24.5	-20.7 ± 0.6	6.5
3	1803 ± 361	0.68 ± 0.13	2519 ± 373	32.3 ± 11.7	-14.3 ± 0.7	6.3

5.1.8 Charakterisierung von NM-300K in Andrews-Medium für *Myriophyllum spicatum*

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K in Andrews-Medium sind in der Tabelle 14 zusammengefasst. Die Ergebnisse der Kumulanten-Methode für die hydrodynamischen Durchmesser schwanken stark und liegen für den Tag 0 zwischen 560 nm und 870 nm. Die Werte am Tag 7 sind etwas kleiner (550 nm bis 730 nm) und an Tag 14 wieder etwas größer mit Werten von 700 nm bis 1170 nm. Die

Ergebnisse

Polydispersitätsindices zeigen ebenso keinen eindeutigen Trend und schwanken von 0,25 bis 0,49. Die Ergebnisse für den hydrodynamischen Durchmesser des *NNLS*-Algorithmus hingegen liegen zwischen 24 nm und 42 nm ohne signifikante zeitliche Abhängigkeit über den Testzeitraum. Diese Werte sind leicht niedriger als die entsprechenden Werte des *NNLS*-Algorithmus für die Proben in MilliQ-Wasser.

Die UV/VIS-Spektren der Proben mit NM-300K in Andrews-Medium sind in der Abbildung 24 dargestellt. Die Lage der Maxima der Absorption ist zwischen den Wellenlängen 414 nm an Tag 0 und 412 nm an den Tagen 7 und 14. Es ist eine sehr leichte Abnahme der Wellenlänge der Plasmonresonanz zu sehen. Die Höhe der Absorption verändert sich nicht signifikant über den Testzeitraum.

Die gemessenen Zetapotentiale der Proben mit NM-300K in Andrews-Medium zeigen einen eindeutigen Trend mit Werten an Tag 0 von -1.1 mV bis -3.4 mV zu Werten an Tag 14 von ca. -10 mV. Die Ionenstärke des Andrews-Medium von 5,0 mM deutet auf eine geringe Abschirmung durch die Ionen des Elektrolyten hin. Die pH-Werte liegen zwischen 6,1 und 6,2 und zeigen ebenso keine signifikante Zeitabhängigkeit im Rahmen der Versuche.

Tabelle 14: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K in Andrews-Medium.

NM-300K / Myriophyllum	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cumu.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int.,NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential 	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0 / A	778 ± 131	0.34 ± 0.05	34 ± 7	18.4 ± 5.4	-3.4 ± 0.7	6.1
0 / B	874 ± 88	0.38 ± 0.04	30 ± 6	14.0 ± 1.8	-1.1 ± 0.7	6.1
0 / C	561 ± 125	0.25 ± 0.05	42 ± 10	7.7 ± 0.8	-3.1 ± 1.0	6.2
7 / A	672 ± 146	0.29 ± 0.06	38 ± 7	6.7 ± 0.8	-7.9 ± 0.9	6.2
7 / B	554 ± 187	0.25 ± 0.08	41 ± 10	8.8 ± 1.0	-8.7 ± 0.7	6.1
7 / C	734 ± 64	0.32 ± 0.03	34 ± 7	8.7 ± 1.8	-7.2 ± 1.0	6.2
14 / A	1167 ± 384	0.49 ± 0.15	24 ± 5	8.2 ± 2.6	-10.4 ± 1.0	6.1
14 / B	703 ± 209	0.31 ± 0.08	34 ± 4	9.8 ± 1.3	-10.7 ± 0.8	6.1
14 / C	852 ± 270	0.36 ± 0.10	35 ± 7	9.7 ± 1.8	-9.2 ± 1.0	6.1

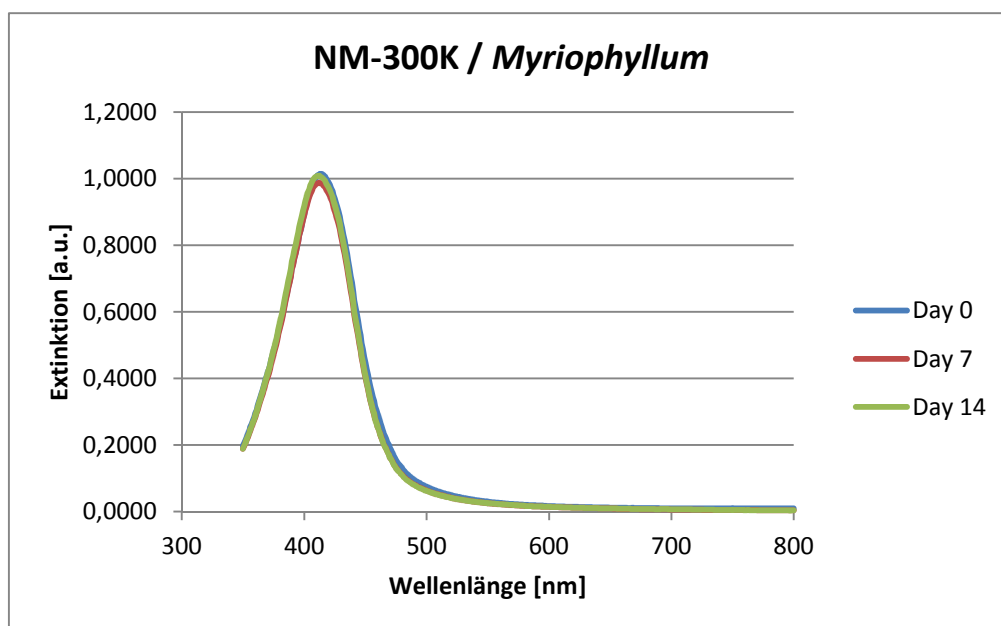


Abbildung 24: UV/VIS Spektren der Proben NM-300K in Andrews-Medium. Die Daten sind für die Messtage jeweils gemittelt.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen der Proben mit Silbernitrat in Andrews-Medium sind in der Tabelle 15 aufgeführt. Die Bildung von Silberchlorid-Kristallen ist an Tag 0 klar an den Ergebnissen der Kumulanten-Methode und der NNLS-Methode festzustellen. An den Tagen 7 und 14 waren die Amplituden der Korrelationsfunktion größer als 2 und ergaben somit keine sinnvollen Ergebnisse. Für die Profile der Zetapotentiale konnte an Tag 7 keine und an Tag 14 nur eine gültige Messung durchgeführt werden, daher ist dieser Wert ohne Standardabweichung aufgeführt. Die pH-Werte liegen im sauren Bereich bei 4,0.

Tabelle 15: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für Silbernitrat in Andrews-Medium.

AgNO ₃ / Myriophyllum	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential 	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	449 ± 27	0.20 ± 0.01	209 ± 12	12.6 ± 0.9	-6.2 ± 0.7	4.0
7	-	-	-	3.0 ± 2.9	-	4.0
14	-	-	-	13.8 ± 18.0	-2.6 ± -	4.0

5.1.9 Charakterisierung von NM-300K in Elendt M4 Medium im chronischen Daphnien-Test

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K im Medium für den chronischen Daphnien-Test sind in der Tabelle 16 zusammengefasst. Das Medium setzt sich aus Elendt M4 Medium und Holm-Hansen-Medium im Volumenverhältnis 45:2 zusammen. Die Ergebnisse der Kumulanten-Methode für die hydrodynamischen Durchmesser schwanken stark und liegen zwischen 330 nm und 610 nm. Es ist kein eindeutiger Trend zu erkennen. Die Polydispersitätsindices zeigen ebenso keinen eindeutigen Trend und schwanken von 0,16 bis 0,27. Die Ergebnisse für den

Ergebnisse

hydrodynamischen Durchmesser des *NNLS*-Algorithmus hingegen liegen zwischen 45 nm und 60nm ohne signifikante zeitliche Abhängigkeit über den Testzeitraum. Diese Werte sind leicht erhöht gegenüber den entsprechenden Werten des *NNLS*-Algorithmus für die Proben in MilliQ-Wasser.

Die UV/VIS-Spektren der Proben mit NM-300K im Medium für den chronischen Daphnien-Test sind in der Abbildung 25 dargestellt. Die Lage der Maxima der Absorption ist zwischen den Wellenlängen 413 nm an Tag 0 und 412 nm an den Tagen 1 und 3. Es ist eine sehr leichte Abnahme der Wellenlänge der Plasmonresonanz zu sehen. Die Höhe der Absorption verändert sich nicht signifikant über den Testzeitraum. Am Messtag 3 ist die Ausbildung einer Schulter bei der Wellenlänge 550 nm zu sehen. Dies Verhalten ist ähnlich zu der Beobachtung bei der Charakterisierung von NM-300K in reinem Elendt M4 Medium (siehe Bericht vom 9.11.2012). Allerdings ist die Ausbildung der Schulter in dem Medium für den chronischen Daphnien-Test nicht so stark ausgeprägt. Die Agglomeration ist wohl im Vergleich zum Verhalten in reinen Elendt M4 Medium schwächer. Daher ist in den Ergebnissen für den hydrodynamischen Durchmesser (*NNLS*-Algorithmus) keine Zeitabhängigkeit über den Testzeitraum zu sehen.

Die gemessenen Zetapotentiale der Proben mit NM-300K im Medium für den chronischen Daphnien-Test zeigen eine sehr leichte Abnahme der Werte vom Tag 0 von ca. -10 mV bis ca. -8 mV an Tag 3. Die Ionenstärke des Medium von 8,5 mM deutet auf eine geringe Abschirmung durch die Ionen des Elektrolyten hin. Die pH-Werte liegen zwischen 7,3 und 7,7 und zeigen eine leichte Zunahme im Zeitraum der Versuche.

Tabelle 16: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K im Medium für den chronischen Daphnien-Test.

NM-300K / Elendt M4 chron	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int., <i>NNLS</i>)	Scattering Intensity	Zetapotential I	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0 / A	476 ± 84	0.22 ± 0.03	55 ± 11	16.0 ± 1.9	-10.8 ± 0.8	7.4
0 / B	609 ± 216	0.27 ± 0.08	54 ± 12	16.8 ± 1.4	-8.4 ± 1.0	7.4
0 / C	522 ± 203	0.23 ± 0.08	55 ± 11	15.8 ± 1.9	-9.9 ± 0.9	7.3
1 / A	459 ± 146	0.21 ± 0.06	57 ± 12	11.6 ± 0.5	-9.3 ± 1.1	7.4
1 / B	442 ± 49	0.20 ± 0.02	55 ± 11	12.7 ± 1.3	-7.1 ± 0.5	7.5
1 / C	395 ± 99	0.18 ± 0.04	60 ± 13	16.2 ± 2.0	-10.5 ± 0.7	7.5
3 / A	333 ± 148	0.16 ± 0.06	60 ± 13	20.5 ± 1.5	-9.9 ± 0.5	7.7
3 / B	434 ± 111	0.20 ± 0.05	49 ± 11	15.0 ± 0.9	-6.0 ± 1.0	7.7
3 / C	559 ± 129	0.25 ± 0.05	45 ± 10	14.5 ± 1.1	-9.1 ± 0.6	7.6

Ergebnisse

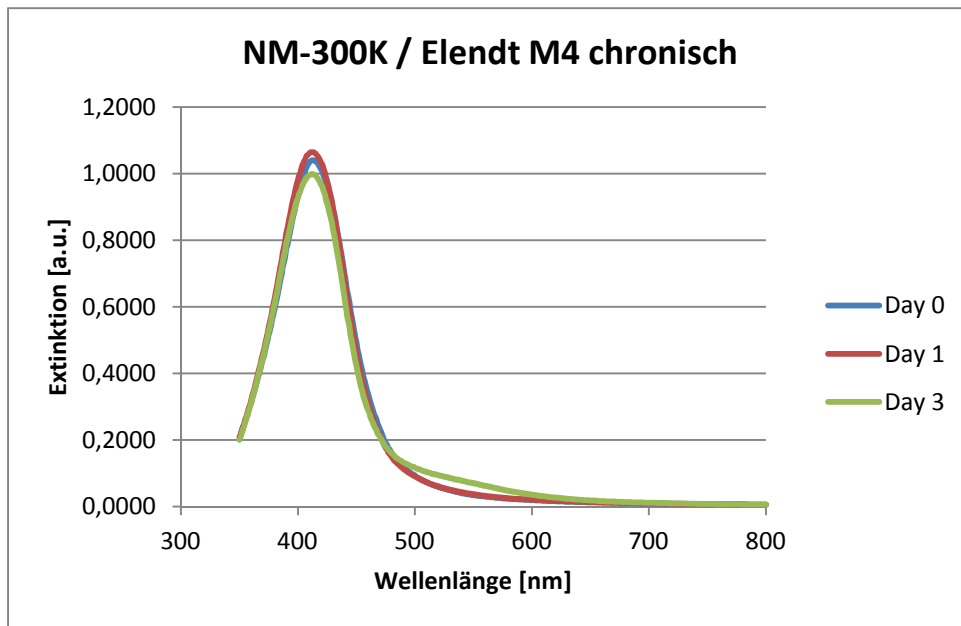


Abbildung 25:: UV/VIS-Spektren der Proben NM-300K im Medium für den chronischen Daphnien-Test. Die Daten sind für die Messtage jeweils gemittelt.

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen der Proben mit Silbernitrat in Medium für den chronischen Daphnien-Test sind in der Tabelle 17 aufgeführt. Die Bildung von Silberchlorid-Kristallen und das Kristallwachstum ist klar an den Ergebnissen der Kumulanten-Methode und der *NNLS*-Methode festzustellen. Die Zetapotentiale der Proben liegen bei ca. -13 mV und zeigen keine signifikante Zeitabhängigkeit im Testzeitraum. Die pH-Werte nehmen von 6,9 an Tag 0 bis 7,6 an Tag 3 zu.

Tabelle 17: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für Silbernitrat im Medium für den chronischen Daphnien-Test.

AgNO ₃ / Elendt M4 chronisch	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydisp. Index	Hydrodyn. Diameter (Int.,NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0	969 ± 83	0.37 ± 0.03	281 ± 47	36.2 ± 6.0	-13.9 ± 8.3	6.9
1	3913 ± 745	1.35 ± 0.21	2524 ± 374	34.4 ± 13.0	-13.4 ± 0.3	7.3
3	74590 ± 29170	0.20 ± 0.92	2490 ± 371	32.2 ± 17.7	-13.3 ± 2.1	7.6

5.1.10 Charakterisierung von NM-300K in modifiziertem Grünalgen-Medium

Die Ergebnisse der DLS-Messungen und der Zetapotential-Messungen der Proben mit NM-300K im modifizierten Grünalgenmedium für den chronischen Daphnien-Test sind in der Tabelle 18 zusammengefasst. Das Medium ist gegenüber der OECD TG 201 modifiziert. Die Modifikationen sind ein leicht erhöhter Gehalt an Eisen(III)chlorid und eine größere Zugabe von Natriumhydrogencarbonat. Die folgenden Ergebnisse basieren auf zwei unabhängigen Proben. Die Ergebnisse der Kumulanten-Methode für die hydrodynamischen Durchmesser schwanken stark und liegen zwischen 260 nm und 540 nm. Es ist kein eindeutiger Trend zu

Ergebnisse

sehen. Die Polydispersitätsindices zeigen ebenso keinen eindeutigen Trend und schwanken von 0,12 bis 0,24. Die Ergebnisse für den hydrodynamischen Durchmesser des *NNLS*-Algorithmus hingegen liegen zwischen 40 nm und 50 nm, bis auf einen Ausreißer an Tag 1 bei ca. 90 nm. Es zeigt sich keine signifikante zeitliche Abhängigkeit über den Testzeitraum. Diese Werte sind ähnlich den entsprechenden Werten des *NNLS*-Algorithmus für die Proben in MilliQ-Wasser.

Die UV/VIS-Spektren der Proben mit NM-300K im modifizierten Grünalgenmedium sind in der Abbildung 26 dargestellt. Die Lage der Maxima der Absorption ist zwischen den Wellenlängen 414 nm an Tag 0 und 412 nm an den Tagen 1 und 3. Es ist eine sehr leichte Abnahme der Wellenlänge der Plasmonresonanz zu sehen. Die Höhe der Absorption verändert sich nicht signifikant über den Testzeitraum.

Die gemessenen Zetapotentiale der Proben mit NM-300K im modifizierten Grünalgenmedium liegen bei ca. -10 mV und zeigen keine signifikante Änderung im Testzeitraum. Die Ionenstärke des Medium von 4,6 mM deutet auf eine geringe Abschirmung durch die Ionen des Elektrolyten hin. Die pH-Werte liegen zwischen 8,3 und 8,6 und zeigen eine leichte Zunahme im Zeitraum der Versuche.

Tabelle 18: Ergebnisse der DLS-Messungen und Zetapotential-Messungen für NM-300K im modifizierten Grünalgen-Medium.

NM-300K / Grünalge mod.	10 mg Ag L ⁻¹					
Day / Rep.	Hydrodyn. Diameter (Cum.)	Polydis p. Index	Hydrodyn. Diameter (Int.,NNLS)	Scattering Intensity	Zetapotential I	pH
	[nm]		[nm]	[kHz]	[mV]	
0 / A	542 ± 71	0.24 ± 0.03	40 ± 10	10.7 ± 3.0	-11.7 ± 4.4	8.3
0 / B	368 ± 233	0.24 ± 0.06	45 ± 9	8.3 ± 0.9	-8.2 ± 2.0	8.3
1 / A	256 ± 49	0.12 ± 0.02	92 ± 19	15.7 ± 1.1	-10.2 ± 0.3	8.3
1 / B	442 ± 110	0.20 ± 0.04	47 ± 10	10.0 ± 1.1	-7.7 ± 1.9	8.3
3 / A	473 ± 165	0.21 ± 0.07	40 ± 9	10.7 ± 1.2	-10.5 ± 0.8	8.6
3 / B	363 ± 96	0.17 ± 0.04	47 ± 11	12.0 ± 0.9	-10.3 ± 0.6	8.5

Ergebnisse

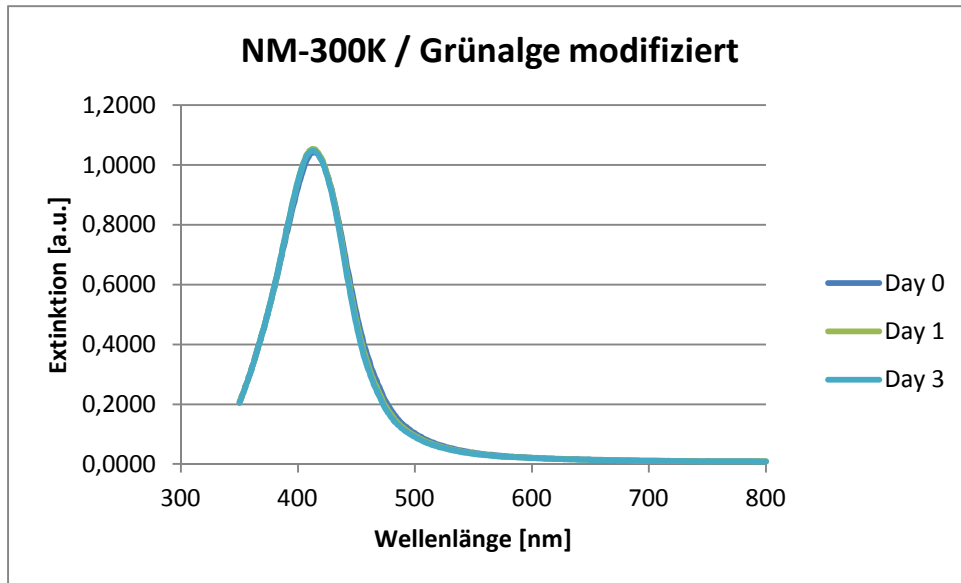



Abbildung 26: UV/VIS-Spektren der Proben NM-300K im modifizierten Grünalgenmedium. Die Daten sind für die Messtage jeweils gemittelt.

Ergebnisse

Chemisch-analytische Konzentrationsbestimmungen von Ag und Ag⁺	IME, Fraunhofer-Institut	
--	---------------------------------	---

5.2 Ergebnisse der Konzentrationsbestimmungen mittels ICP-MS und ICP-OES

5.2.1 Marines Leuchtbakterium *Aliivibrio fischeri*

NM-300K	2011-0093-AAVf
----------------	----------------

Ag	Probencode	Ag	Ag [mg/L]	Ag nominal [mg/L]	Wiederfindung %
Beginn	PG11-020/1-3 1.1	1.1	0,4063	0,7820	51,96
	PG11-020/1-3 1.2	1.2	0,7920	1,5630	50,67
	PG11-020/1-3 1.3	1.3	0,8949	3,1250	28,64
	PG11-020/1-3 1.4	1.4	0,8781	6,2500	14,05
	PG11-020/1-3 1.5	1.5	0,9011	12,5000	7,21
	PG11-020/1-3 1.6	1.6	1,0337	25,0000	4,13
	PG11-020/1-3 1.7	1.7	0,9792	50,0000	1,96

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺	Ag ⁺ [mg/L]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	PG11-020/1-3 1.1	1.1	0,0741	18,24
	PG11-020/1-3 1.2	1.2	/	/
	PG11-020/1-3 1.3	1.3	0,1613	20,37
	PG11-020/1-3 1.4	1.4	0,2813	31,44
	PG11-020/1-3 1.5	1.5	0,5088	57,94
	PG11-020/1-3 1.6	1.6	0,6831	75,81
	PG11-020/1-3 1.7	1.7	0,7512	72,67

5.2.2 Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae*

NM-300K	2013-0014-AAAf
---------	----------------

Ag	Probencode	Ag [mg/l]	Ag nominal [mg/l]	Wiederfindung %
Beginn	PG-1 A	0,00035	0,0005	69,03
	PG-2 A	0,00086	0,0013	66,31
	PG-3 A	0,00171	0,0031	55,14
	PG-4 A	0,00497	0,0078	63,76
	PG-5 A	0,01210	0,0195	62,05
	PG-6 A	0,02948	0,0488	60,41
	Kontrolle	0,00016	0,00	/
Ende	PG-1 B	0,00052	0,0005	103,66
	PG-2 B	0,00089	0,0013	68,74
	PG-3 B	0,00174	0,0031	56,28
	PG-4 B	0,00445	0,0078	57,08
	PG-5 B	0,01153	0,0195	59,13
	PG-6 B	0,02527	0,0488	51,78

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/l]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	Filtrat PG-1	0,00007	20,12
	Filtrat PG-2	0,00013	15,51
	Filtrat PG-3	0,00024	14,06
	Filtrat PG-4	0,00070	14,06
	Filtrat PG-5	0,00180	14,84
	Filtrat PG-6	0,00108	3,66
Ende	Filtrat PG -1 B	0,00011	21,45
	Filtrat PG -2 B	0,00012	13,07
	Filtrat PG -3 B	0,00010	5,53
	Filtrat PG -4 B	0,00009	2,09
	Filtrat PG -5 B	0,00048	4,15
	Filtrat PG -6 B	0,00128	5,06

Ergebnisse

5.2.3 Limnische Grünalge *Desmodesmus subspicatus*

NM-300K		2012-0064-AADs		
Ag	Probencode	Ag [mg/l]	Ag nominal [mg/l]	Wiederfindung %
Beginn	PG 1 110 µg/L	0,0051	0,01	51,03
	PG 1 220 µg/L	0,0109	0,02	54,52
	PG 1 340 µg/L	0,0194	0,04	48,56
	PG 1 460 µg/L	0,0264	0,06	44,08
	PG 1 580 µg/L	0,0301	0,08	37,66
	PG 1 6100 µg/L	0,0353	0,10	35,30
	PG 1 7120 µg/L	0,0366	0,12	30,46
	PG 1 8150 µg/L	0,0572	0,15	38,14
	PG 1 9200 µg/L	0,0897	0,20	44,84
	Kontrolle	0,0001	0,00	/
Ende	I 1 B	0,0040	0,01	39,65
	I 2 B	0,0089	0,02	44,48
	I 3 B	0,0162	0,04	40,60
	I 4 B	0,0260	0,06	43,27
	I 5 B	0,0339	0,08	42,33
	I 6 B	0,0384	0,10	38,39
	I 7 B	0,0470	0,12	39,15
	I 8 B	0,0539	0,15	35,96
	I 9 B	0,0566	0,20	28,30

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/l]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	PG I 1 A Filtrat	0,00021	4,21
	PG I 2 A Filtrat	0,00058	5,30
	PG I 3 A Filtrat	0,00083	4,29
	PG I 4 A Filtrat	0,00109	4,12
	PG I 5 A Filtrat	0,00080	2,67
	PG I 6 A Filtrat	0,00119	3,38
	PG I 7 A Filtrat	0,00301	8,24
	PG I 8 A Filtrat	0,00328	5,73
	PG I 9 A Filtrat	0,00952	10,62
Ende	PG I 1 B Filtrat	0,00018	4,67
	PG I 2 B Filtrat	0,00008	0,86
	PG I 3 B Filtrat	0,00015	0,92
	PG I 4 B Filtrat	/	/
	PG I 5 B Filtrat	0,00292	8,62
	PG I 6 B Filtrat	0,00113	2,94
	PG I 7 B Filtrat	0,00159	3,39
	PG I 8 B Filtrat	0,00202	3,75
	PG I 9 B Filtrat	0,00722	12,75

Ergebnisse

NM-300K	2011-0018-AADs
----------------	----------------

Ag	Probencode	Ag [mg/l]	Ag nominal [mg/l]	Wiederfindung %
Beginn	Kontrolle	0,00004	0,00	/
	0,750 µg/L 0h 1.1	0,00073	0,00	97,00
	1,50 µg/L 0h 1.2	0,00122	0,00	81,60
	3,00 µg/L 0h 1.3	0,00268	0,00	89,30
	6,00 µg/L 0h 1.4	0,00501	0,01	83,50
	12,0 µg/L 0h 1.5	0,00903	0,01	75,25
	24,0 µg/L 0h 1.6	0,01860	0,02	77,50
	48,0 µg/L 0h 1.7	0,03989	0,05	83,09
	96,0 µg/L 0h 1.8	0,05886	0,10	61,31
Ende	Kontrolle	0,00318	0,00	/
	0,75µg/L 72h 1.1	0,00064	0,00	85,04
	1,5µg/L 72h 1.2	0,00321	0,00	213,80
	3,0µg/L 72h 1.3	0,00206	0,00	68,71
	6,0µg/L 72h 1.4	0,00488	0,01	81,38
	12,0µg/L 72h 1.5	0,00872	0,01	72,63
	24,0µg/L 72h 1.6	0,02022	0,02	84,27
	48,0µg/L 72h 1.7	0,03861	0,05	80,44
	96,0µg/L 72h 1.8	0,06203	0,10	64,61

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/l]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	0,750 µg/L 0h 1.1	0,000078	10,72
	1,50 µg/L 0h 1.2	0,000081	6,62
	3,00 µg/L 0h 1.3	0,000078	2,91
	6,00 µg/L 0h 1.4	0,000210	4,19
	12,0 µg/L 0h 1.5	0,000198	2,19
	24,0 µg/L 0h 1.6	0,000417	2,24
	48,0 µg/L 0h 1.7	0,001260	3,16
	96,0 µg/L 0h 1.8	0,002064	3,51
	Ende	0,750 µg/L 72h 1.1	0,000040
1,50 µg/L 72h 1.2		0,000110	3,44
3,00 µg/L 72h 1.3		0,000080	3,86
6,00 µg/L 72h 1.4		0,000084	1,73
12,0 µg/L 72h 1.5		0,000160	1,84
24,0 µg/L 72h 1.6		0,000201	0,99
48,0 µg/L 72h 1.7		0,000645	1,67
96,0 µg/L 72h 1.8		0,000658	1,06

Ergebnisse

AgNO₃	2011-0018-AADs
-------------------------	----------------

Ag	Probencode	Ag [mg/l]	Ag nominal [mg/l]	Wiederfindung %
Beginn	Kontrolle	0,000017	0,00	/
	0.2 µg/L AgNO ₃ 2.1	0,000086	0,000188	45,84
	0.4 µg/L AgNO ₃ 2.2	0,000141	0,000375	37,64
	0.7 µg/L AgNO ₃ 2.3	0,000315	0,000750	41,94
	1.5 µg/L AgNO ₃ 2.4	0,000693	0,001500	46,18
	3 µg/L AgNO ₃ 2.5	0,001510	0,003000	50,33
	6 µg/L AgNO ₃ 2.6	0,002702	0,006000	45,03
	12 µg/L AgNO ₃ 2.7	0,004866	0,012000	40,55
	24 µg/L AgNO ₃ 2.8	0,011072	0,024000	46,13
Ende	Kontrolle	0,000062	0,00	/
	0.2 µg/L AgNO ₃ 2.1	0,000155	0,000188	82,66
	0.4 µg/L AgNO ₃ 2.2	0,000159	0,000375	42,37
	0.7 µg/L AgNO ₃ 2.3	0,000388	0,000750	51,76
	1.5 µg/L AgNO ₃ 2.4	0,000733	0,001500	48,89
	3 µg/L AgNO ₃ 2.5	0,001368	0,003000	45,59
	6 µg/L AgNO ₃ 2.6	0,002264	0,006000	37,73
	12 µg/L AgNO ₃ 2.7	0,004568	0,012000	38,06
	24 µg/L AgNO ₃ 2.8	0,012234	0,024000	50,98

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/l]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	0,750 µg/L 0h 2.1	0,000075	87,26
	1,50 µg/L 0h 2.2	0,000147	104,13
	3,00 µg/L 0h 2.3	0,000276	87,74
	6,00 µg/L 0h 2.4	0,000357	51,54
	12,0 µg/L 0h 2.5	0,000720	47,69
	24,0 µg/L 0h 2.6	0,002031	75,17
	48,0 µg/L 0h 2.7	0,003270	67,20
	96,0 µg/L 0h 2.8	0,006360	57,44
Ende	0,750 µg/L 72h 2.1	0,000090	58,20
	1,50 µg/L 72h 2.2	0,000080	50,08
	3,00 µg/L 72h 2.3	0,000144	37,14
	6,00 µg/L 72h 2.4	0,000108	14,69
	12,0 µg/L 72h 2.5	0,000084	6,12
	24,0 µg/L 72h 2.6	0,000142	6,28
	48,0 µg/L 72h 2.7	0,000570	12,48
	96,0 µg/L 72h 2.8	0,006735	55,05

5.2.4 Wasserlinse *Lemna minor*

NM-300K		2012-0021-AALm		
Ag		Ag	Ag nominal	Wiederfindung
	Probencode	[mg/l]	[mg/l]	%
Beginn	Kontrolle	0,00020	0,00	/
	1.1 6 µg/L	0,00374	0,0060	62,28
	1.2 36 µg	0,02475	0,0360	68,76
	1.3 217 µg	0,11547	0,2170	53,21
	1.4 1,3 mg	0,72564	1,3000	55,82
	1.5 3,9 mg	2,21250	3,9000	56,73
	1.6 7,81 mg	4,15932	7,8100	53,26
Ende	1.1 6 µg/L	0,00138	0,0060	23,08
	1.2 36 µg	0,00566	0,0360	15,73
	1.3 217 µg	0,02779	0,2170	12,81
	1.4 1,3 mg	0,34181	1,3000	26,29
	1.5 3,9 mg	1,20051	3,9000	30,78
	1.6 7,81 mg	3,34386	7,8100	42,82
	Ag ⁺		Ag ⁺	Ag ⁺ an Ag effektiv
	Probencode	[mg/l]	%	
Beginn	1.1 6 µg/L	0,00042	11,33	
	1.2 36 µg	0,00098	3,96	
	1.3 217 µg	0,00397	3,44	
	1.4 1,3 mg	0,04634	6,39	
	1.5 3,9 mg	0,10869	4,91	
	1.6 7,81 mg	0,38592	9,28	
	Ende	1.1 6 µg/L	0,00007	5,31
1.2 36 µg		0,00030	5,23	
1.3 217 µg		0,00116	4,17	
1.4 1,3 mg		0,00676	1,98	
1.5 3,9 mg		0,05582	4,65	
1.6 7,81 mg		0,12251	3,66	

Ergebnisse

NM-300K	2012-0018-AALm
----------------	----------------

Ag	Probencode	Ag [mg/l]	Ag nominal [mg/l]	Wiederfindung %
Beginn	Kontrolle 0.Tag	0,0001	0,00	/
	1.1 6 µg/L	0,0022	0,0060	36,89
	1.2 36 µg	0,0145	0,0360	40,33
	1.3 217 µg	0,0820	0,2170	37,80
	1.4 1,3 mg	0,4148	1,3000	31,91
	1.5 3,9 mg	1,2051	3,9000	30,90
	1.6 7,81 mg	2,6698	7,8100	34,18
Ende	1.1 6 µg/L	0,0007	0,0060	12,31
	1.2 36 µg	0,0049	0,0360	13,67
	1.3 217 µg	0,0230	0,2170	10,60
	1.4 1,3 mg	0,1735	1,3000	13,35
	1.5 3,9 mg	0,9209	3,9000	23,61
	1.6 7,81 mg	2,5313	7,8100	32,41

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/l]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	1.1 6 µg/L	0,0008	38,40
	1.2 36 µg	0,0017	11,92
	1.3 217 µg	0,0114	13,91
	1.4 1,3 mg	0,0563	13,57
	1.5 3,9 mg	0,1491	12,37
	1.6 7,81 mg	0,2396	8,97
	1.1 6 µg/L	0,0004	53,83
	1.2 36 µg	0,0010	19,95
	1.3 217 µg	0,0018	7,82
	1.4 1,3 mg	0,0077	4,46
	1.5 3,9 mg	0,0895	9,72
	1.6 7,81 mg	0,1641	6,48

Ergebnisse

NM-300K	2011-0038-AALm
----------------	----------------

Ag	Probencode	Ag [mg/l]	Ag nominal [mg/l]	Wiederfindung %
Beginn	Kontrolle	0,000071	0,00	/
	0,001 mg/L	0,000087	0,001	8,69
	0,006 mg/L	0,000851	0,006	14,18
	0,036 mg/L	0,006350	0,036	17,64
	0,217 mg/L	0,095970	0,217	44,23
	1,30 mg/L	0,190725	1,300	14,67
	7,81 mg/L	4,083750	7,810	52,29
	Ende	Kontrolle	0,000062	0,000
0,001 mg/L		0,000841	0,001	84,06
0,006 mg/L		0,003306	0,006	55,10
0,036 mg/L		0,020810	0,036	57,80
0,217 mg/L		0,096630	0,217	44,53
1,30 mg/L		0,281175	1,300	21,63
7,81 mg/L		4,506000	7,810	57,70

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/l]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	0,001 mg/L	0,000609	701,04
	0,006 mg/L	0,000321	37,69
	0,036 mg/L	0,001866	29,38
	0,217 mg/L	0,008250	8,60
	1,30 mg/L	0,059438	31,16
	7,81 mg/L	0,360000	8,82
	Ende	0,001 mg/L	0,000077
0,006 mg/L		0,000070	2,12
0,036 mg/L		0,000762	3,66
0,217 mg/L		0,003149	3,26
1,30 mg/L		0,008331	2,96
7,81 mg/L		0,265388	5,89

Ergebnisse

AgNO₃	2011-0038-AALm
-------------------------	----------------

Ag	Probencode	Ag [mg/l]	Ag nominal [mg/l]	Wiederfindung %
Beginn	Kontrolle. K1	0,000063	0,00	/
	0.1 µg/L AgNO3 2.1	0,000101	0,0001	101,48
	0.6 µg/L AgNO3 2.2	0,000383	0,0006	63,78
	3.6 µg/L AgNO3 2.3	0,002648	0,0036	73,56
	21.7 µg/L AgNO3 2.4	0,012720	0,0217	58,62
	130 µg/L AgNO3 2.5	0,079530	0,1300	61,18
	780 µg/L AgNO3 2.6	0,419925	0,7800	53,84
Ende	Kontrolle	0,000031	0,0000	/
	0.1 µg/L AgNO3 2.1	0,000045	0,0001	45,29
	0.6 µg/L AgNO3 2.2	0,000383	0,0006	63,77
	3.6 µg/L AgNO3 2.3	0,000276	0,0036	7,66
	21.7 µg/L AgNO3 2.4	0,001308	0,0217	6,03
	130 µg/L AgNO3 2.5	0,021623	0,1300	16,63
	780 µg/L AgNO3 2.6	0,447900	0,7800	57,42

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/l]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	0.1 µg/L AgNO3 2.1	0,000053	51,91
	0.6 µg/L AgNO3 2.2	0,000328	85,61
	3.6 µg/L AgNO3 2.3	0,001777	67,09
	21.7 µg/L AgNO3 2.4	0,011610	91,27
	130 µg/L AgNO3 2.5	0,074940	94,23
	780 µg/L AgNO3 2.6	0,452700	107,80
Ende	0,1 µg/L AgNO3 2.1	0,000108	238,56
	0,6 µg/L AgNO3 2.2	0,000090	23,63
	3,6 µg/L AgNO3 2.3	0,000349	126,62
	21,7 µg/L AgNO3 2.4	0,000277	21,15
	130 µg/L AgNO3 2.5	0,002998	13,86
	780 µg/L AgNO3 2.6	0,076500	17,08

5.2.5 Ähriges Tausendblatt *Myriophyllum spicatum*

NM-300K		2012-0044-AAMs		
Ag	Probencode	Ag [mg/l]	Ag nominal [mg/l]	Wiederfindung %
Beginn	1.1 10 µg/L	0,003941	0,01	39,41
	1.2 20 µg	0,007779	0,02	38,90
	1.3 100 µg	0,042993	0,10	42,99
	1.4 250 µg	0,104647	0,25	41,86
	1.5 1 mg	0,302616	1,00	30,26
	1.6 2,5 mg	0,634813	2,50	25,39
	1.7 10 mg	5,477665	10,00	54,78
	Kontrolle	0,000067	0,00	/
Ende	1.1 10 µg/L	0,001346	0,01	13,46
	1.2 20 µg	0,004274	0,02	21,37
	1.3 100 µg	0,018536	0,10	18,54
	1.4 250 µg	0,042548	0,25	17,02
	1.5 1 mg	0,101400	1,00	10,14
	1.6 2,5 mg	0,300600	2,50	12,02
	1.7 10 mg	5,684100	10,00	56,84

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/l]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	1.1 10 µg/L	0,000043	1,09
	1.2 20 µg	0,000106	1,36
	1.3 100 µg	0,001002	2,33
	1.4 250 µg	0,001718	1,64
	1.5 1 mg	0,025647	8,48
	1.6 2,5 mg	0,054887	8,65
	1.7 10 mg	0,236006	4,31
	Ende	1.1 10 µg/L	0,000043
1.2 20 µg		/	/
1.3 100 µg		0,000169	0,91
1.4 250 µg		0,000303	0,71
1.5 1 mg		/	/
1.6 2,5 mg		0,004230	1,41
1.7 10 mg		0,069762	1,23

5.2.6 Wasserfloh *Daphnia magna*

Akut

NM-300K	2011-0014-AADm
---------	----------------

Ag	Probencode	Ag [mg/L]	Ag nominal [mg/L]	Wiederfindung %
Beginn	10 µg/L 16.10.12	0,0068	0,01	68,22
	20 µg/L 16.10.12	0,0119	0,02	59,54
	30 µg/L 16.10.12	0,0193	0,03	64,41
	40 µg/L 16.10.12	0,0284	0,04	70,96
	50 µg/L 16.10.12	0,0379	0,05	75,79
	60 µg/L 16.10.12	0,0434	0,06	72,28
	70 µg/L 16.10.12	0,0522	0,07	74,55
	80 µg/L 16.10.12	0,0593	0,08	74,18
	Kontrolle	0,0000165	0,00	/
Ende	10 µg/L 18.10.12	0,0033	0,01	32,93
	20 µg/L 18.10.12	0,0070	0,02	34,96
	30 µg/L 18.10.12	0,0097	0,03	32,33
	40 µg/L 18.10.12	0,0148	0,04	36,98
	50 µg/L 18.10.12	0,0199	0,05	39,72
	60 µg/L 18.10.12	0,0289	0,06	48,20
	70 µg/L 18.10.12	0,0326	0,07	46,54
	80 µg/L 16.10.12	0,0304	0,08	38,04

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/L]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	0,010mg/L 1.1	0,00071	10,36
	0,020mg/L 1.2	0,00059	4,99
	0,030mg/L 1.3	0,00100	5,18
	0,040mg/L 1.4	0,00128	4,50
	0,050mg/L 1.5	0,00163	4,30
	0,060mg/L 1.6	0,00188	4,34
	0,070mg/L 1.7	0,00185	3,54
	0,080mg/L 1.8	0,00239	4,03
Ende	ZF A1 10µg	0,00003	0,91
	ZF A2 20µg	0,00008	1,07
	ZF A3 30µg	0,00008	0,77
	ZF A4 40µg	0,00013	0,89
	ZF A5 50µg	0,00057	2,89
	ZF A6 60µg	0,00089	3,09
	ZF A7 70µg	0,00117	3,60
	ZF A8 80µg	0,00032	1,04

Ergebnisse

AgNO₃	2011-0014-AADm
-------------------------	----------------

Ag	Probencode	Ag [mg/L]	Ag nominal [mg/L]	Wiederfindung %
Beginn	NM300K 3 µg/L	0,0016	0,0030	52,91
	NM300K 5 µg/L	0,0030	0,0050	60,52
	NM300K 6 µg/L	0,0039	0,0060	65,61
	NM300K 8 µg/L	0,0053	0,0080	65,76
	NM300K 10 µg/L	0,0062	0,0100	62,38
	NM300K 12 µg/L	0,0072	0,0120	59,73
	NM300K 16 µg/L	0,0104	0,0160	65,27
	NM300K 20 µg/L	0,0101	0,0200	50,58
Ende	NM300K 3 µg/L	0,0004	0,0030	13,77
	NM300K 5 µg/L	0,0009	0,0050	17,40
	NM300K 6 µg/L	0,0015	0,0060	25,76
	NM300K 8 µg/L	0,0016	0,0080	19,39
	NM300K 10 µg/L	0,0029	0,0100	28,78
	NM300K 12 µg/L	0,0035	0,0120	28,96
	NM300K 16 µg/L	0,0045	0,0160	28,43
	NM300K 20 µg/L	0,0066	0,0200	32,85

Ag ⁺	Probencode	Ag ⁺ [mg/L]	Ag ⁺ an Ag effektiv %
Beginn	ZF A1 3 µg	0,00008	5,10
	ZF A2 5 µg	0,00019	6,25
	ZF A3 6 µg	0,00044	11,05
	ZF A4 8 µg	0,00079	15,00
	ZF A5 10 µg	0,00116	18,61
	ZF A6 12 µg	0,00093	13,02
	ZF A7 16 µg	0,00221	21,12
	ZF A8 20 µg	0,00209	20,64
Ende	ZF AgNO ₃ 3 µg/L	0,00048	115,49
	ZF AgNO ₃ 5 µg/L	0,00045	52,06
	ZF AgNO ₃ 6 µg/L	0,00075	48,53
	ZF AgNO ₃ 8 µg/L	0,00119	76,39
	ZF AgNO ₃ 10 µg/L	0,00157	54,41
	ZF AgNO ₃ 12 µg/L	0,00122	35,14
	ZF AgNO ₃ 16 µg/L	0,00153	33,70
	ZF AgNO ₃ 20 µg/L	0,00167	25,34

Ergebnisse

5.2.7 Fischembryotoxizitäts-Test mit Embryonen des Zebraäbblings *D. rerio*

NM-300K		2013-001-AADr		
Ag		Ag	Ag nominal	Wiederfindung
	Probencode	[mg/L]	[mg/L]	%
Beginn	Nano Ag PG I 1 A	0,0103	0,10	10,28
	Nano Ag PG I 2 A	0,0190	0,30	6,34
	Nano Ag PG I 3 A	0,1078	0,60	17,97
	Nano Ag PG I 4 A	0,1753	0,90	19,48
	Nano Ag PG I 5 A	0,1660	1,20	13,83
	Nano Ag PG I 6 A	0,1776	1,50	11,84
Ende	Nano Ag PG I 1 B	0,0307	0,10	30,71
	Nano Ag PG I 2 B	0,0628	0,30	20,92
	Nano Ag PG I 3 B	0,1060	0,60	17,67
	Nano Ag PG I 4 B	0,1457	0,90	16,19
	Nano Ag PG I 5 B	0,1922	1,20	16,02
	Nano Ag PG I 6 B	0,1847	1,50	12,31

Ag ⁺		Ag ⁺	Ag ⁺ an Ag effektiv
	Probencode	[mg/L]	%
Beginn	PG I 1 A Filtrat	0,0019	18,47
	PG I 2 A Filtrat	0,0056	29,46
	PG I 3 A Filtrat	0,0077	7,19
	PG I 4 A Filtrat	0,0105	5,99
	PG I 5 A Filtrat	0,0085	5,14
	PG I 6 A Filtrat	0,0079	4,47
Ende	PG I 1 B Ag+ Filtrat	0,0041	13,48
	PG I 2 B Ag+ Filtrat	0,0005	0,77
	PG I 3 B Ag+ Filtrat	0,0010	0,93
	PG I 4 B Ag+ Filtrat	0,0054	3,72
	PG I 5 B Ag+ Filtrat	0,0079	4,11
	PG I 6 B Ag+ Filtrat	0,0090	4,88

5.3 Ergebnisse der Partikelcharakterisierung mit Hilfe von Transmissionsprofilen aus der UV/VIS-Spektroskopie

5.3.1 Leuchtbakterien *A. fischeri*

Prüfung 2011-0028-AAVf

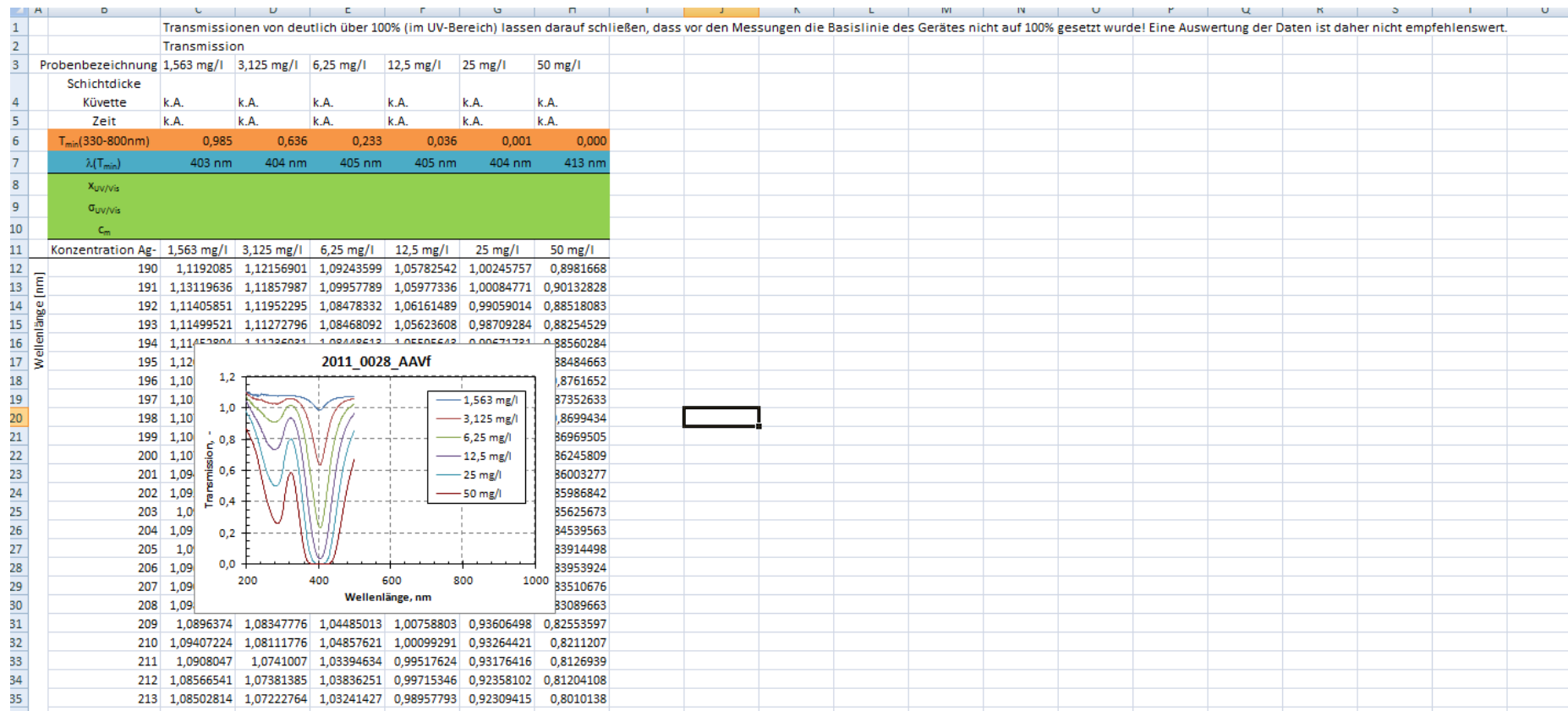


Abbildung 27: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2011-0028-AAVf

Ergebnisse

5.3.2 Cyanobakterien *A. flos-aquae*

Prüfung2013-0014-AAAf

		C _m =c _v *ρ _s	ρ _s =10.49g/cm ³			G	H	I	J	K	L	M	N	O	Startbedingungen: x=45nm, α=0.3, c _v =0.1e-6 v/v --> 3 x Fminsearch					
		Transmission																		
Reinstwasser				Reinstwasser		NK	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	NK	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	
Schichtdicke	Küvette	10 cm	1,0 cm	1,0 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm
Zeit	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h
T _{min} (330-500nm)	1,000			0,097	0,746	0,841	0,838	0,840	0,838	0,838	0,828	0,818	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
T _{min} (380-500nm)	0,746			0,767	0,894	0,892	0,893	0,891	0,886	0,866	0,818	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
λ(T _{min})	380 nm		396 nm	413 nm	380 nm	380 nm	380 nm	380 nm	380 nm	412 nm	412 nm	320 nm	320 nm	320 nm	320 nm	320 nm	320 nm	320 nm	320 nm	320 nm
X _{UV/vis}	-			47 nm	-							41 nm	42 nm	-						
σ _{UV/vis}	-			0,008	-							0,335	0,323	-						
C _m	-			7,99 mg/L	-							0,070 mg/L	0,098 mg/L	-						
Konzentration																				
Küvette	Ag-Nano	0,00 sec		0,00 sec	227,85 sec	0,00 sec	222,08 sec	541,70 sec	767,29 sec	1033,52 sec	1227,76 sec	1442,78 sec	1657,71 sec	222,08 sec	541,70 sec	767,29 sec	1033,52 sec	1227,76 sec	1442,78 sec	1657,71 sec
190	0,0190128	0,9992542 0,0716703																		
191	0,0486386	1,0014955 0,0636375																		
192	0,08956	0,0486386 0,000694981 0,0006184 0,0008117 0,0005862 0,0004204 0,0007171 0,0005292																		
193	0,16100	0,0142887 0,0127135 0,0166875 0,0120522 0,0086438 0,0147426 0,0108807																		
194	0,22727	0,08956 0,00048 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
195	0,30146	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
196	0,35972	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
197	0,41235	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
198	0,46162	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
199	0,5031	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
200	0,54037	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
201	0,57174	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
202	0,59912	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
203	0,62575	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
204	0,6478	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
205	0,66804	0,0099 0,00094 0,00034 0,00039 0,00049 0,00042 0,00026 0,00037 0,00040 0,00034 0,00041 0,00036 0,00017 0,00030																		
206	0,6851805	1,0011842 0,0485556 0,6851805 0,000395613 0,0002689 0,0003298 0,0003569 0,0003707 0,0004317 0,0003036 0,0005774 0,0003924 0,0004813 0,0005209 0,000541 0,0006301 0,0004431																		
207	0,7016766	1,0012557 0,0514166 0,7016766 0,000449124 0,0001631 0,0002874 0,0003138 0,0002943 0,000419 0,0002947 0,0006401 0,0002324 0,0004096 0,0004472 0,0004195 0,0005971 0,0004199																		
208	0,7151267	1,0013594 0,0548434 0,7151267 0,000342478 0,0003177 0,0002481 0,0004331 0,0002868 0,0004399 0,0002552 0,0004789 0,0004443 0,000347 0,0006056 0,000401 0,0006152 0,0003569																		
209	0,7276474	1,0013594 0,0548434 0,7276474 0,000342478 0,0003177 0,0002481 0,0004331 0,0002868 0,0004399 0,0002552 0,0004789 0,0004443 0,000347 0,0006056 0,000401 0,0006152 0,0003569																		

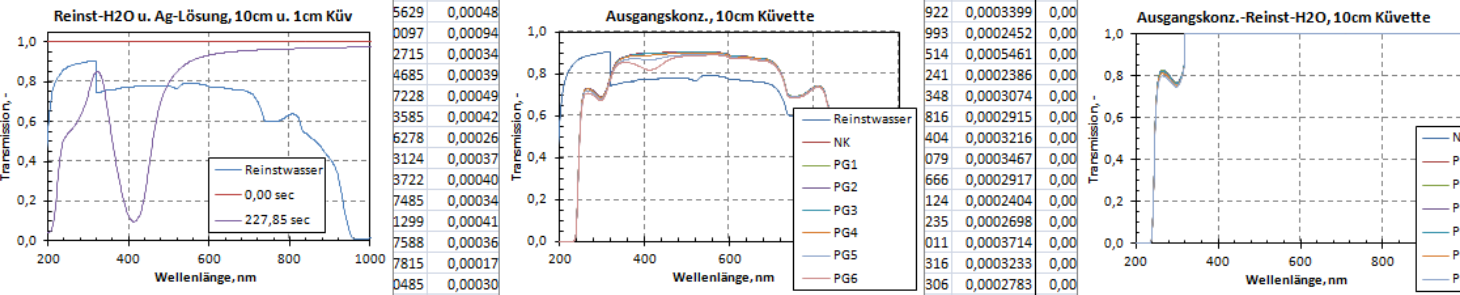


Abbildung 29: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2013-0014-AAAf, Teil a

Ergebnisse

Reinstwasser	NK	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6	NK	PG1	PG2	PG3	PG4	PG5	PG6
10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm
72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h	72 h
0,916	0,491	0,644	0,818	0,838	0,843	0,843	0,843	0,536	0,702	0,892	0,914	0,919	0,919	0,919
0,919	0,500	0,674	0,873	0,890	0,889	0,885	0,885	0,543	0,732	0,949	0,968	0,967	0,963	0,963
381 nm	440 nm	440 nm	380 nm	380 nm	380 nm	381 nm	381 nm	441 nm	440 nm	380 nm	380 nm	380 nm	380 nm	380 nm
-	75 nm	73 nm	-	-	-	-	-	75 nm	73 nm	-	-	-	-	-
-	0,231	0,207	-	-	-	-	-	0,237	0,231	-	-	-	-	-
-	0,594 mg/L	0,307 mg/L	-	-	-	-	-	0,531 mg/L	0,255 mg/L	-	-	-	-	-
0,00 sec	1407,11 sec	190,85 sec	420,98 sec	622,07 sec	816,62 sec	1004,09 sec	1198,59 sec	1407,11 sec	190,85 sec	420,98 sec	622,07 sec	816,62 sec	1004,09 sec	1198,59 sec
0,0214262	0,0008282	0,0003751	0,0011363	0,0002993	0,0008469	0,0011225	0,0007986	0,0386516	0,0175075	0,0530342	0,0139702	0,039528	0,0523872	0,0372701
0,0541931	0,0003132	0,0006534	0,0004316	0,0008472	0,000643	0,0007084	0,0007084	0,0057801	0,0120569	0,0079633	0,0156329	0,0118649	0,0130719	0,0130719
0,0999588	0,00042						877	0,0004877	0,0042135					0,0048792
0,1834345	0,00015						942	0,0006942	0,0008621					0,0037846
0,2556366	0,00018						495	0,0006495	0,0007069					0,0025407
0,3320986	0,00025						852	0,0002852	0,0008956					0,0008587
0,3948226	0,00020						513	0,0005513	0,0005178					0,0013963
0,4533212	0,00029						745	0,0004745	0,0006415					0,0010468
0,5028275	0,00027						281	0,0001281	0,0005466					0,0002548
0,5461815	0,00030						665	0,0004665	0,0005539					0,000854
0,5820617	0,00033						283	0,000283	0,0005723					0,0004862
0,6128977	4,005E-05						922	0,0003922	6,535E-05					0,00064
0,6415699	0,00015						532	0,0004532	0,0002995					0,0007063
0,6667899	0,00022						262	0,0003262	0,0003335					0,0004891
0,6882576	0,00021						514	0,0003514	0,0003127					0,0005105
0,7068789	0,00013						754	0,0003754	0,0001967					0,000531
0,7247313	0,000269	0,0002479	0,0003088	0,0003426	0,0002756	0,0003968	0,0003968	0,0003712						0,0005474
0,7397177	0,0001308	0,0003388	0,0003002	0,0003657	0,0003333	0,0003857	0,0003857	0,0001768	0,000458	0,0004058	0,0004944	0,0004506	0,0005214	0,0005214
0,7532758	0,0001911	0,0003299	0,0003875	0,0003243	0,0004199	0,0003119	0,0003119	0,0002536	0,0004379	0,0005145	0,0004305	0,0005574	0,000414	0,000414
0,7654503	0,000296	0,000391	0,0004402	0,0004405	0,0003476	0,000386	0,000386	0,0003653	0,0003802	0,0005751	0,0005754	0,0004541	0,0005590	0,0005590

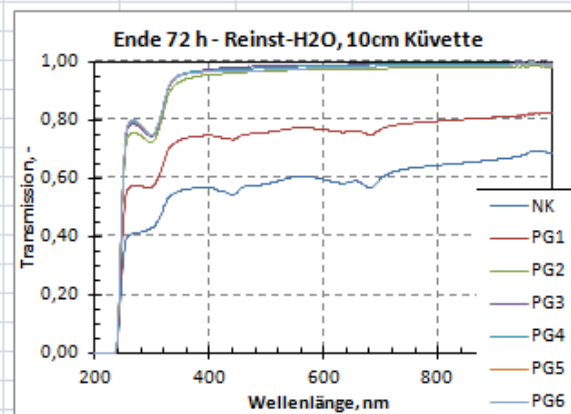
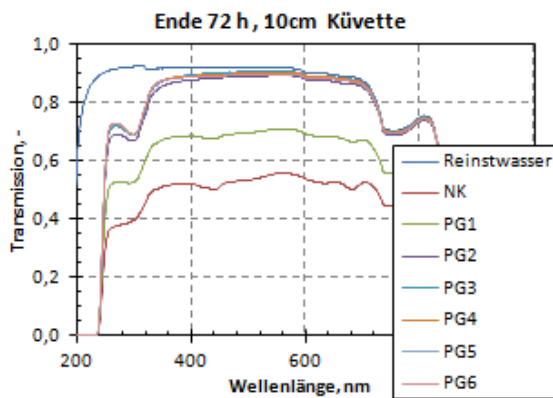


Abbildung 30: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2013-0014-AAAf, Teil b

Ergebnisse

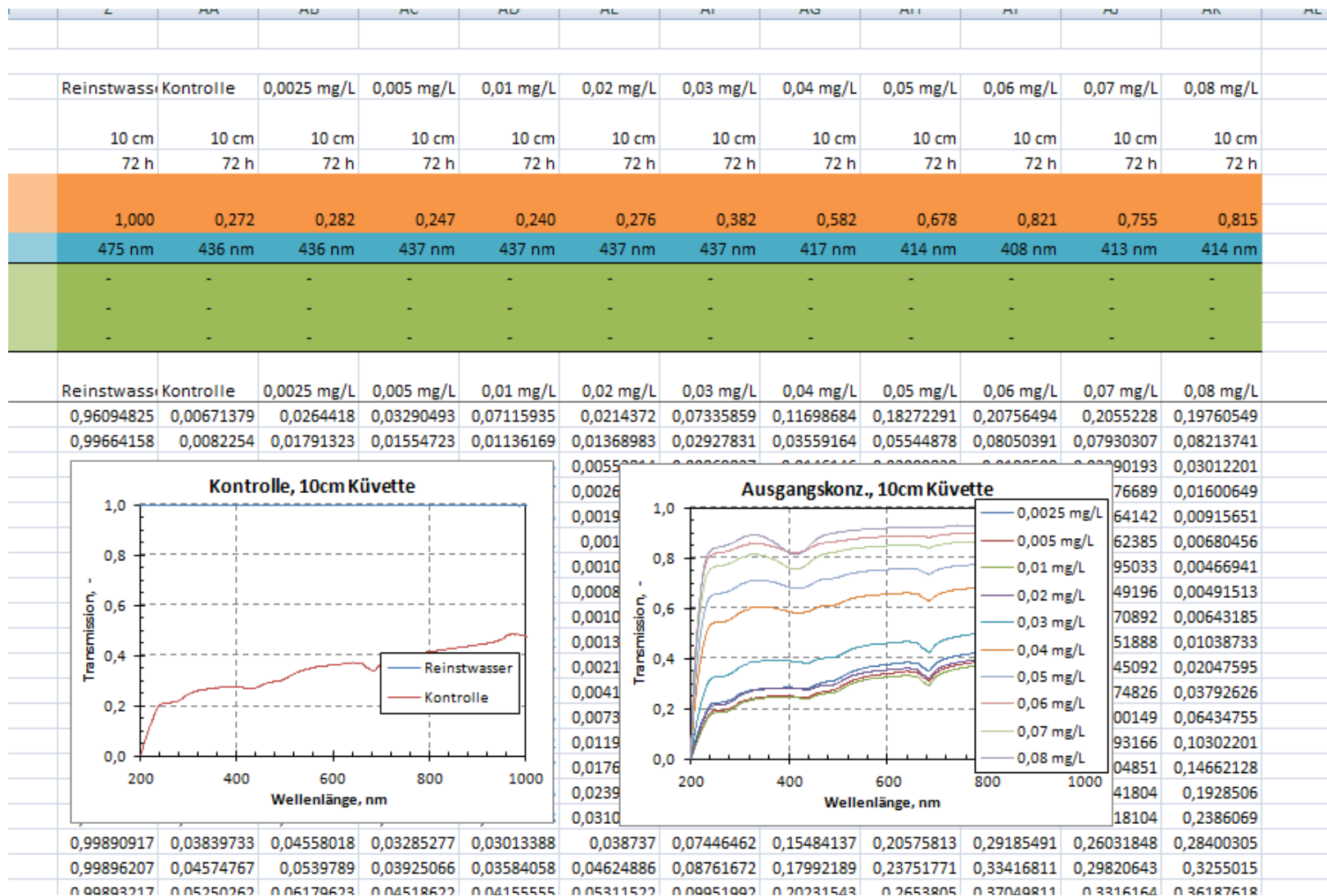


Abbildung 32: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2011-0081-AADs, Teil b

Ergebnisse

Prüfung 2012-0064-AADs

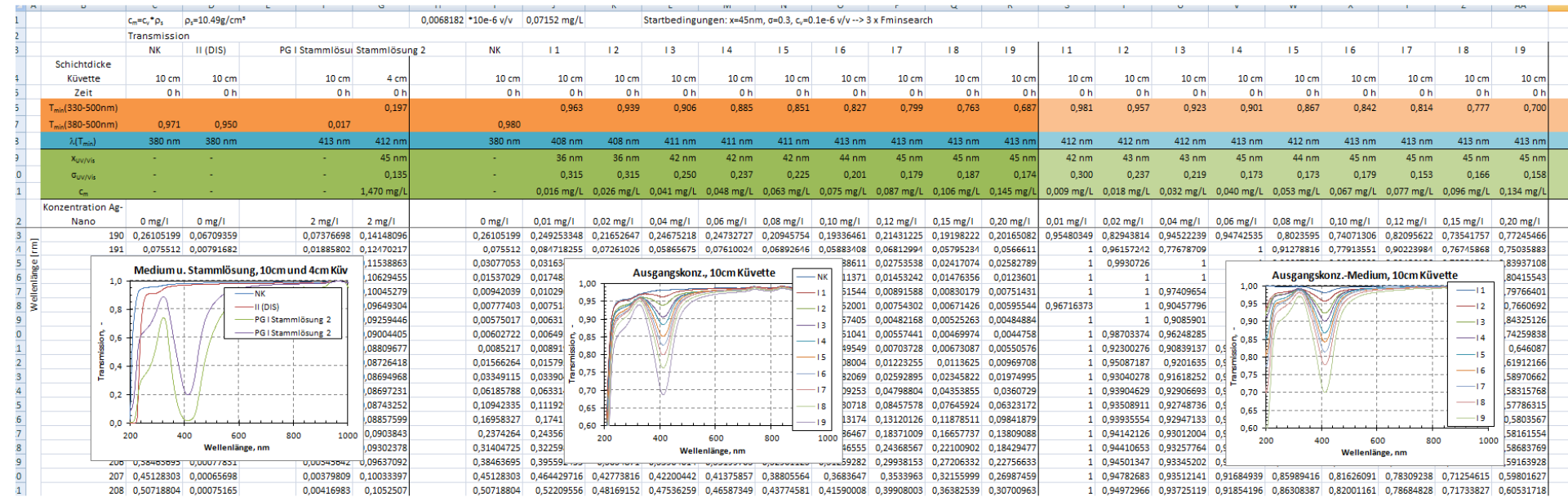


Abbildung 33: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0064-AADs, Teil a

Ergebnisse



Abbildung 34: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0064-AADs, Teil b

Ergebnisse

Prüfung 2012-0068-AADs

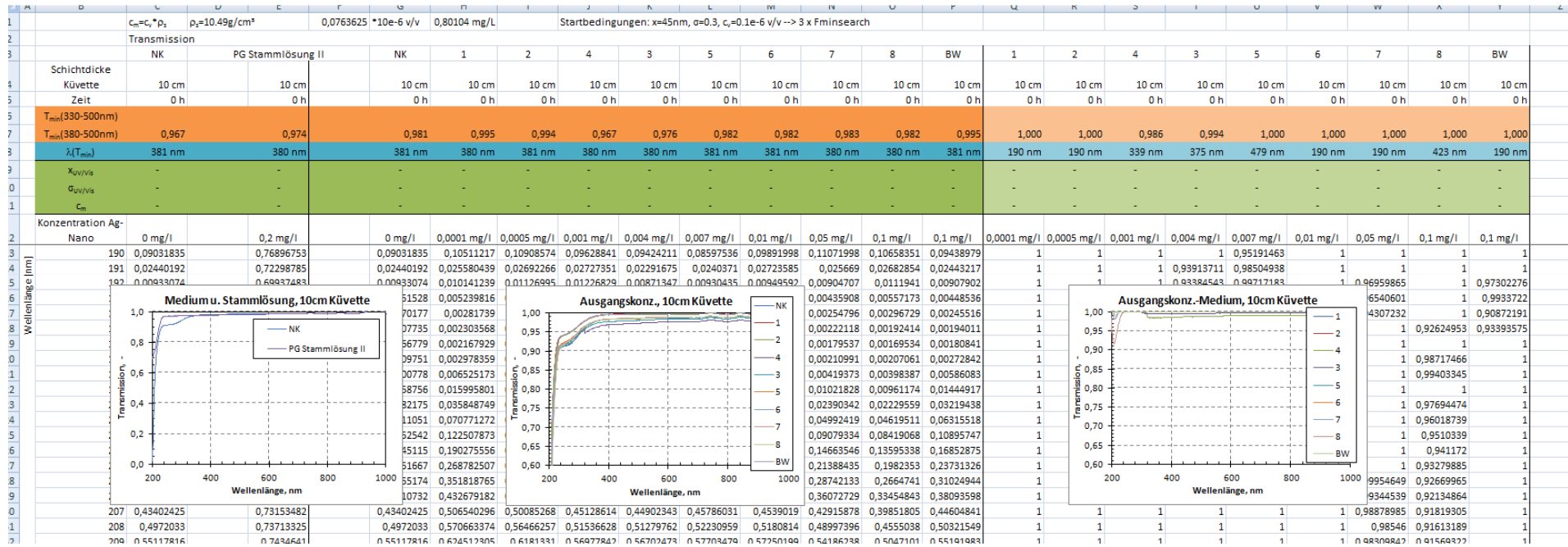


Abbildung 35: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0068-AADs

5.3.4 Wasserlinse *L. minor*

Prüfung 2011-0038-AALm

Tabelle 19: Charakteristische Kennwerte der Ausgangssuspensionen von NM-300K in Steinberg-Medium, 2011-0038-AALm

Konzentration	NM-300K in Steinbergmedium am Anfang					
	0.00 mg/L	0.01 mg/L	0.04 mg/L	0.22 mg/L	1.30 mg/L	7.81 mg/L
$\lambda(T_{\min,Ag})$	-	-	-	413 nm	413 nm	413 nm
$T_{\min,Ag}$	-	-	-	0.854	0.377	0.212
$T_{\min,Ag}/L$	-	-	-	0.961 cm ⁻¹	0.784 cm ⁻¹	0.212 cm ⁻¹
x				45 nm	45 nm	45 nm
c_m				0.18 mg/L	1.13 mg/L	7.15 mg/L

Tabelle 20: Charakteristische Kennwerte von NM-300K in Steinberg-Medium nach 7 Tagen, 2011-0038-AALm

Konzentration	NM-300K in Steinbergmedium nach 7 Tagen					
	0.00 mg/L	0.01 mg/L	0.04 mg/L	0.22 mg/L	1.30 mg/L	7.81 mg/L
$\lambda(T_{\min,Ag})$	-	-	-	-	412 nm	413 nm
$T_{\min,Ag}$	-	-	-	-	0.603	0.262
$T_{\min,Ag}/L$	-	-	-	-	0.881 cm ⁻¹	0.262 cm ⁻¹
x					43 nm	45 nm
c_m					0.56 mg/L	6.18 mg/L

Ergebnisse

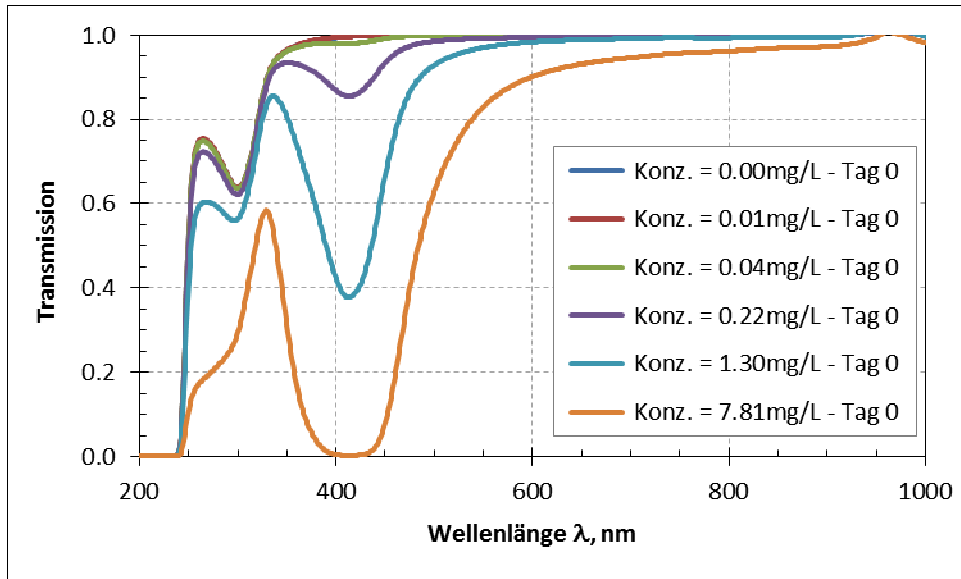


Abbildung 36: Transmission am Tag 0 von verschiedenen Konzentrationen NM-300K in Steinberg-Medium (siehe Konzentration 0,00 mg/L), 2011-0038-AALm

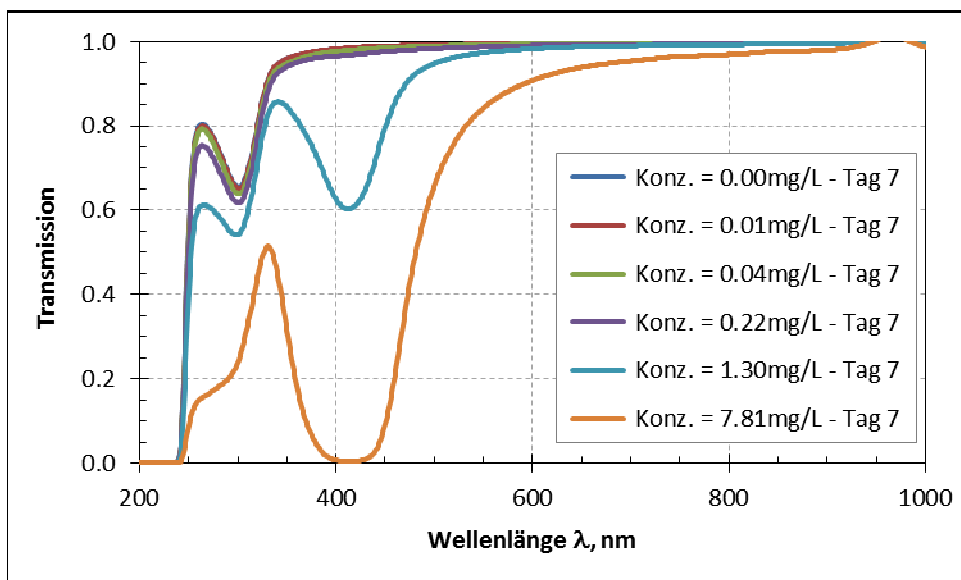


Abbildung 37: Transmission am Tag 7 von verschiedenen Konzentrationen NM-300K in Steinberg-Medium (siehe Konzentration 0,00 mg/L), 2011-0038-AALm

Ergebnisse

Prüfung 2012-0018-AALm

		$c_m = c_v \cdot \rho_s$	$\rho_s = 10.49 \text{ g/cm}^3$	0,512894	*10e-6 v/v	5,38026 mg/L	Startbedingungen: $x=45 \text{ nm}$, $\sigma=0,3$, $c_v=0.1e-6 \text{ v/v} \rightarrow 3 \times \text{Fminsearch}$														
		Transmission																			
		NK			NK			1	2	3	4	5	5	6	5	6	1	2	3	4	5
Schichtdicke	Küvette	10 cm			10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	4 cm	4 cm	1 cm	1 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	
Zeit		0 h			0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	
$T_{\min}(330-500 \text{ nm})$		0,737			0,963	0,972	0,936	0,691	0,085	0,000	0,046	0,002	0,191	0,102	1,000	0,954	0,704	0,086	0,000		
$\lambda(T_{\min})$		380 nm			380 nm	380 nm	407 nm	412 nm	413 nm	419 nm	413 nm	413 nm	413 nm	413 nm	190 nm	416 nm	413 nm	413 nm	419 nm		
$x_{UV/vis}$		-			-	-	35 nm	44 nm	47 nm	-	47 nm	-	47 nm	47 nm	-	47 nm	45 nm	47 nm	-		
$\sigma_{UV/vis}$		-			-	-	0,315	0,151	0,002	-	0,002	-	0,054	0,004	-	0,237	0,148	0,002	-		
c_m		-			-	-	0,027 mg/L	0,134 mg/L	0,847 mg/L	-	2,649 mg/L	-	5,728 mg/L	7,850 mg/L	-	0,021 mg/L	0,130 mg/L	0,842 mg/L	-		
Konzentration Ag-Nano		0 mg/l			0 mg/l	0,006 mg/l	0,036 mg/l	0,217 mg/l	1,3 mg/l	3,9 mg/l	3,9 mg/l	7,81 mg/l	3,9 mg/l	7,81 mg/l	0,006 mg/l	0,036 mg/l	0,217 mg/l	1,3 mg/l	3,9 mg/l		
L3	190	0,02627901			0,02627901	0,046263768	0,03667896	0,06094625	0,02775006	0,0000001	0,00335868	0,00958279	0,00092495	0,07843357	1	1	1	1	3,8053E-06		
L4	191	0,01851693			0,01851693	0,00981479	0,02174783	0,01569105	0,01490672	0,0000001	0,00312053	0,0011004	0,0000001	0,07313361	0,53004409	1	0,84738935	0,80503173	5,4005E-06		
L5	192	0,00068155			0,00068155	0,00016004	0,00099290	0,00050411	8,28673E-0	0,00014760	0,00044152	0,00032375	0,00035939	0,00026955	0,00022053	0,00034378	0,000412506	0,00033512	0,00047343		
L6	193	0,00038587			0,00038587	0,000412506	0,00033512	0,00047343	0,00024994	0,00010365	0,00028114	0,00030727	0,00024899	0,05945454	1	0,86848836	1	0,64774042	0,26860989		
L7	194	0,00036853			0,00036853	0,000147687	0,00027899	0,00020547	0,00027969	0,00018137	0,000271	0,00022029	0,00034785	0,06303155	0,40074213	0,75702984	0,55753483	0,75892	0,49212565		

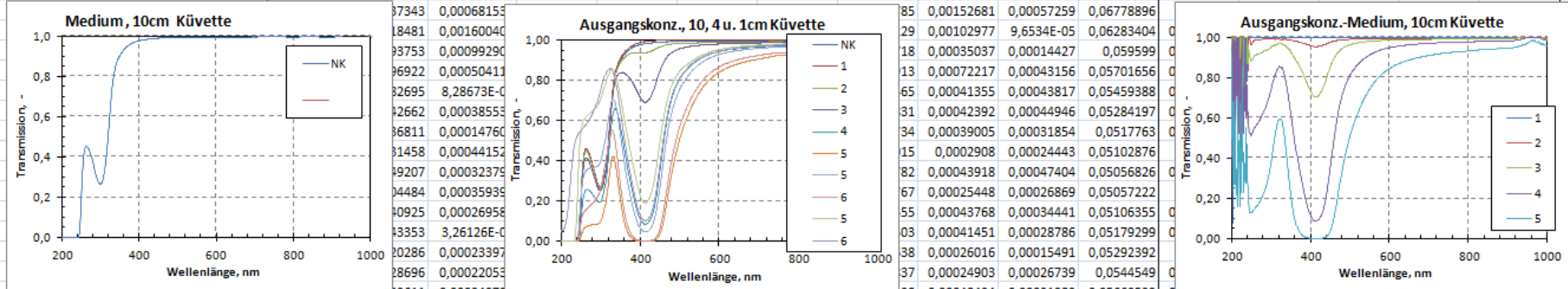


Abbildung 38: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0018-AALm, Teil a

Ergebnisse

	NK	1	2	3	4	5	5	5	6	1	2	3	4	5
	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	4 cm	1 cm	1 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm
	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h
	0,919	0,921	0,894	0,880	0,429	0,000	0,053	0,471	0,205	0,957	0,929	0,914	0,437	0,000
	380 nm	380 nm	380 nm	380 nm	411 nm	414 nm	413 nm	412 nm	412 nm	380 nm	380 nm	380 nm	411 nm	414 nm
	-	-	-	-	43 nm	-	47 nm	45 nm	46 nm	-	-	-	43 nm	-
	-	-	-	-	0,172	-	0,002	0,066	0,041	-	-	-	0,177	-
	-	-	-	-	0,309 mg/L	-	2,518 mg/L	2,543 mg/L	5,380 mg/L	-	-	-	0,302 mg/L	-
	0 mg/l	0,006 mg/l	0,036 mg/l	0,217 mg/l	1,3 mg/l	3,9 mg/l	3,9 mg/l	3,9 mg/l	7,81 mg/l	0,006 mg/l	0,036 mg/l	0,217 mg/l	1,3 mg/l	3,9 mg/l
	0,2753658	0,17178609	0,26497384	0,33419196	0,22907252	0,17532425	0,0067412	0,00059521	0,00136488	1	1	1	1	1
	0,12411578	0,09718607	0,12129726	0,0650531	0,1526803	0,07179083	0,00251543	0,0014779	0,00144104	1	1	1	1	1

Kontrolle 168 h, 10cm Küvette

168 h, 10cm Küvette

168 h - Medium 168 h, 10cm Küvette

0,00473247	0,00023051	0,00402442	0,00347002	0,00302195	0,00211250	0,00010070	0,00010100	0,00020000	0,00020000	1	1	1	1	1
0,00431487	0,00411626	0,00311384	0,00341685	0,0022126	0,00201174	0,00024133	0,00031591	0,00046275	1	1	1	1	1	1
0,00477351	0,00414504	0,00234434	0,00306609	0,00333941	0,00270891	0,00035298	0,00030591	0,00022406	1	1	1	1	1	1
0,00466642	0,00450546	0,00329961	0,00475031	0,00257891	0,0016122	0,00041941	0,00026115	0,00036291	1	1	1	1	1	1
0,00234369	0,00433398	0,00220291	0,00419356	0,00263227	0,00106776	0,00033069	0,0003596	0,00014111	1	1	1	1	1	1

Abbildung 39: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0018-AALm, Teil b

Ergebnisse

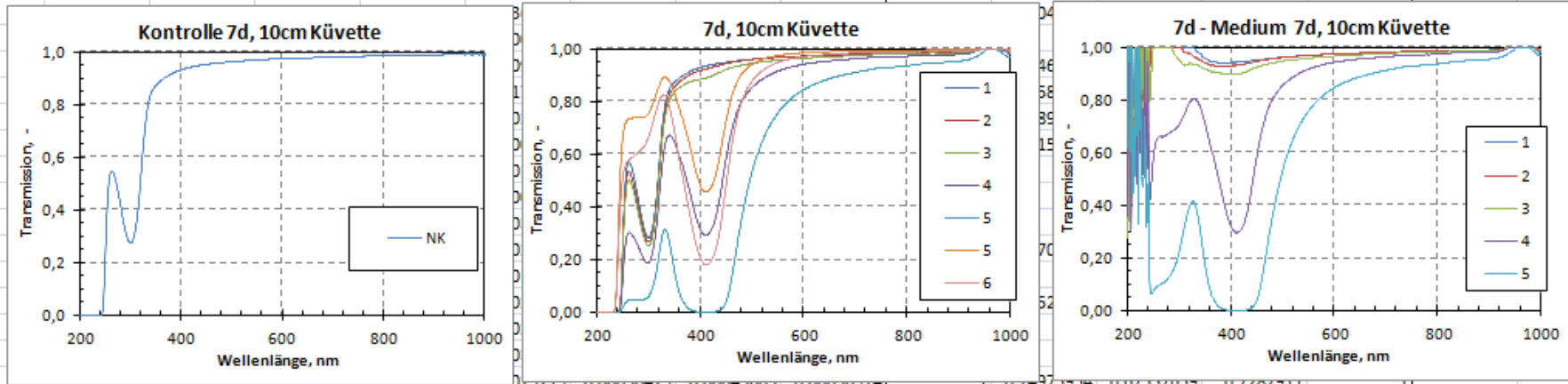
Prüfung 2012-0021-AALm

	$c_m=c_v \cdot \rho_s$		$\rho_s=10.49g/cm^3$		$0,2526224 \cdot 10^{-6} v/v$		$2,65001 mg/L$		Startbedingungen: $x=45nm, \sigma=0,3, c_v=0.1e-6 v/v \rightarrow 3 \times F_{minsearch}$										
	Transmission				NK		1		2		3		4		5				
	Schichtdicke		Küvette		Stammlösung		NK		1		2		3		4		5		
	10 cm		1 cm		10 cm		10 cm		10 cm		10 cm		10 cm		4 cm		4 cm		
	0 h		0 h		0 h		0 h		0 h		0 h		0 h		0 h		0 h		
	$T_{min}(330-500nm)$		0,120		0,673		0,076		0,000		0,384		0,046		0,476		0,199		
	0,739		0,969		0,970		0,940												
	$\lambda(T_{min})$		380 nm		412 nm		380 nm		380 nm		408 nm		412 nm		414 nm		407 nm		
	$\chi_{UV/Vis}$		46 nm		-		-		39 nm		45 nm		48 nm		-		47 nm		
	$\sigma_{UV/Vis}$		0,015		-		-		0,207		0,105		0,002		-		0,028		
	c_m		7,12 mg/l		-		-		0,022 mg/l		0,139 mg/l		0,897 mg/l		-		0,817 mg/l		
	Konzentration Ag-Nano		0 mg/l		9,76 mg/l		0 mg/l		0,006 mg/l		0,036 mg/l		0,217 mg/l		1,3 mg/l		3,9 mg/l		
	190		0,05622973		0,00781927		0,05622973		0,087116015		0,06778272		0,04459242		0,0400863		0,00546265		
	191		0,02151365		0,00562911		0,02151365		0,018965312		0,02729053		0,02276334		0,0000001		0,01817687		
Wellenlänge (nm)	0,0070425		0,008831002		0,0013053		0,00173279		0,00054935		0,00101707		0,00006679		0,000096789		0,000096789		
	0,0015435		0,005542619		0,00173279		0,00054589		0,0004323		0,0004323		0,0004323		0,0004323		0,0004323		
	0,00142051		0,001780648		0,0004819		0,00074604		0,00057507		0,00057507		0,00057507		0,00057507		0,00057507		
	0,00147532		0,001471943		0,00051013		0,00033011		0,00043513		0,00043513		0,00043513		0,00043513		0,00043513		
	0,00120129		0,001029307		0,00041132		0,00035924		0,00044969		0,00044969		0,00044969		0,00044969		0,00044969		
	0,00067849		0,000944344		0,00035204		0,00045495		0,00026794		0,00026794		0,00026794		0,00026794		0,00026794		
	0,0003424		0,000909063		0,0005298		0,00036662		0,00037961		0,00037961		0,00037961		0,00037961		0,00037961		
	0,00028773		0,000662621		0,00041222		0,00039585		0,00040775		0,00040775		0,00040775		0,00040775		0,00040775		
	0,00033386		0,0004053		0,00043778		0,00048346		0,00027489		0,00027489		0,00027489		0,00027489		0,00027489		
	0,00052123		0,000510293		0,00051762		0,00030341		0,00020943		0,00020943		0,00020943		0,00020943		0,00020943		
	0,00033339		0,0006582		0,00043282		0,00053572		0,00039717		0,00039717		0,00039717		0,00039717		0,00039717		
	0,00030592		0,000603714		0,00031381		0,00018006		0,00018968		0,00018968		0,00018968		0,00018968		0,00018968		
0,00022669		0,000274027		0,00038822		0,00039942		0,00036339		0,00036339		0,00036339		0,00036339		0,00036339			
0,00037223		0,000257044		0,00028476		0,00042833		0,00052499		0,00052499		0,00052499		0,00052499		0,00052499			
0,00040121		0,000444464		0,00023143		0,00037062		0,00033727		0,00033727		0,00033727		0,00033727		0,00033727			
206		0,00040121		0,00198197		0,00040121		0,00044464		0,00040121		0,00044464		0,00040121		0,00044464		0,00040121	
207		0,00014218		0,00223385		0,00014218		0,000515254		0,00025763		0,00035473		0,00028892		0,00011689		0,00043516	
208		0,00027114		0,00251657		0,00027114		0,000400235		0,00038217		0,00033791		0,00027524		6,4932E-05		0,00049575	
209		0,00034685		0,00279043		0,00034685		0,000471178		0,00036657		0,00041178		0,00035207		0,0001512		0,00040631	

Abbildung 40: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0021-AALm, Teil a

Ergebnisse

	NK	1	2	3	4	5	5	6	1	2	3	4	5
	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	1 cm	1 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm
	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h	168 h
	0,916	0,914	0,902	0,874	0,293	0,000	0,456	0,180	0,941	0,929	0,897	0,295	0,000
	380 nm	380 nm	380 nm	380 nm	412 nm	407 nm	412 nm	412 nm	383 nm	383 nm	404 nm	412 nm	407 nm
	-	-	-	-	45 nm	-	45 nm	46 nm	-	-	30 nm	45 nm	-
	-	-	-	-	0,109	-	0,074	0,053	-	-	0,363	0,116	-
	-	-	-	-	0,431 mg/L	-	2,670 mg/L	5,840 mg/L	-	-	0,043 mg/L	0,431 mg/L	-
	0 mg/l	0,006 mg/l	0,036 mg/l	0,217 mg/l	1,3 mg/l	3,9 mg/l	3,9 mg/l	7,81 mg/l	0,006 mg/l	0,036 mg/l	0,217 mg/l	1,3 mg/l	3,9 mg/l
	0,02701444	0,05939132	0,03291122	0,06126198	0,02074785	0,05388266	0,001139	0,00155238	1	0,58529929	1	0,36898355	0,95825921
	0,01429434	0,01786776	0,02018459	0,01397243	0,00763373	0,01983494	0,00214718	0,00152815	0,83053129	0,93822284	0,64946836	0,35483218	0,92197045



0,00031383	0,00049504	0,00014251	0,00030416	0,00027684	0,00017184	0,00055277	0,00033611	1	0,74373534	0,87337039	0,7282911	1	1
0,00034526	0,00047301	0,00040849	0,00024522	8,2062E-05	0,00016419	0,00035497	0,00028973	1	1	0,90440718	0,30265231	0,60555138	1
0,00041867	0,00036686	0,00026144	0,00014824	0,00016632	0,0003764	0,00038059	0,0003524	1	0,75377373	0,42739654	0,47951699	1	1

Abbildung 41: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0021-AALm, Teil b

Ergebnisse

5.3.5 Ähriges Tausendblatt *M. spicatum*

Prüfung 2012-0024-AAMs

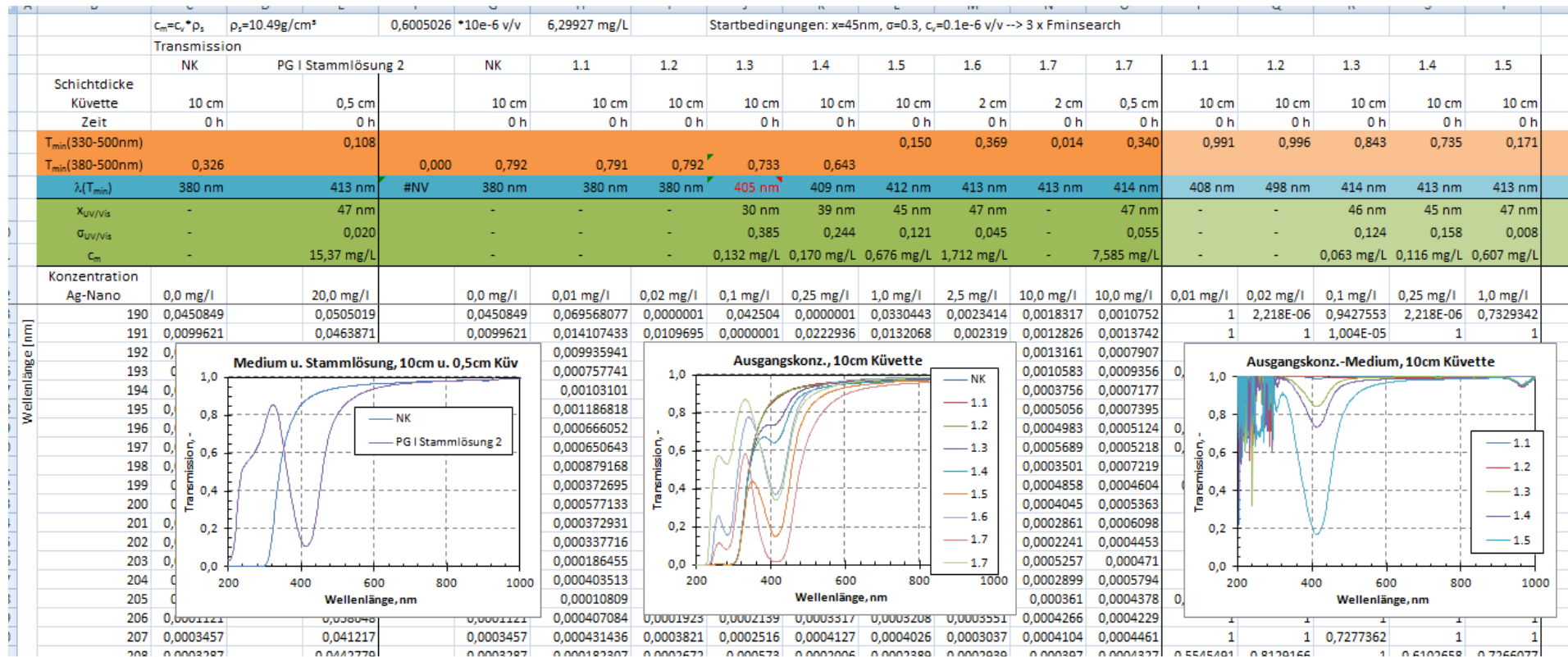


Abbildung 42: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0024-AAMs, Teil a

Ergebnisse

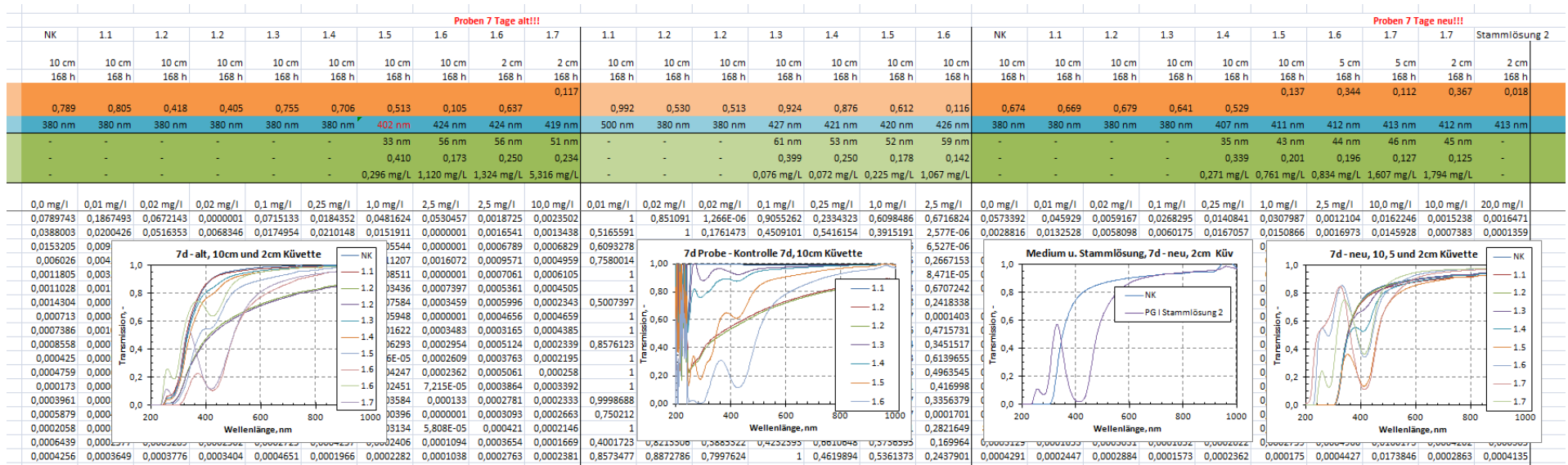


Abbildung 43: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0024-AAMs, Teil b

Ergebnisse

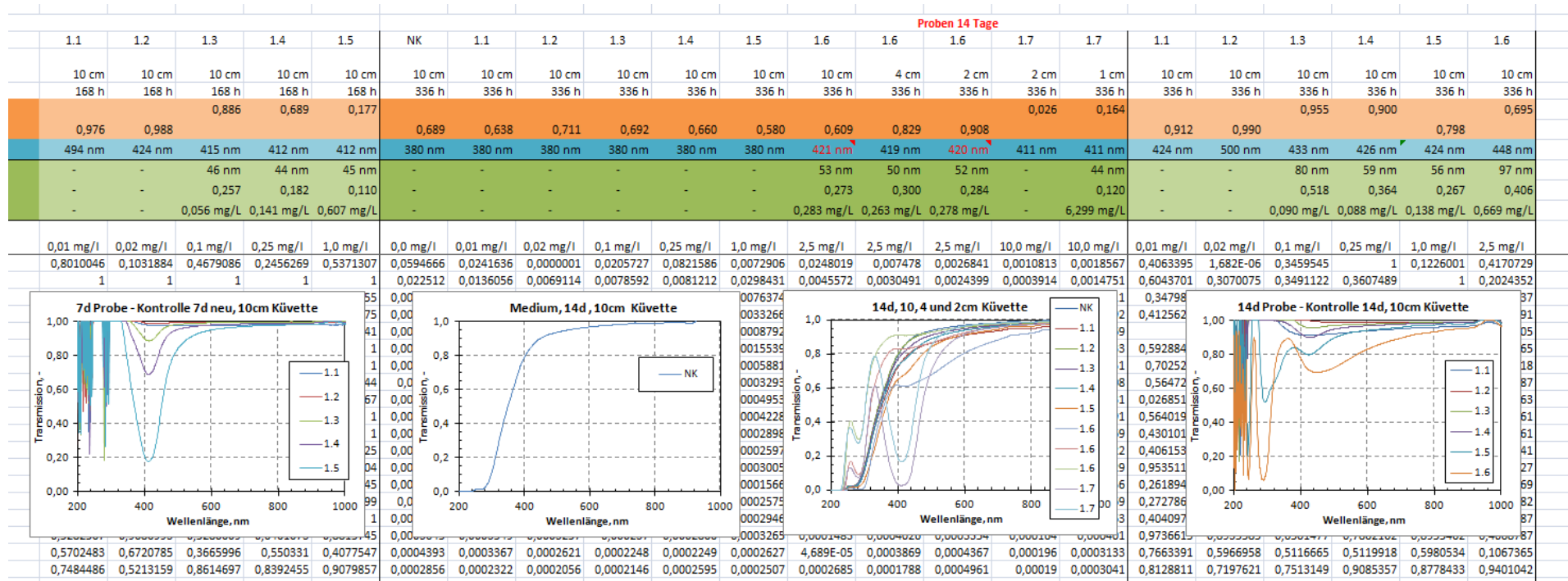


Abbildung 44: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0024-AAMs, Teil c

Ergebnisse



Abbildung 46: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2011-0014-AADm, Teil b

Ergebnisse

Prüfung 2011-0069-AADm

		C		D		E		F		G		H		I		J		K		L		M		N		O		P		Q		R		S		T		U		V		
		c _m =c _v *ρ _s		ρ _s =10.49g/cm ³		0,01		*10e-4 v/v		0,10490 mg/L																																
		Transmission																																								
M4 Medium		0,0 mg/l	0,01 mg/l	0,02 mg/l	0,04 mg/l	0,06 mg/l	0,08 mg/l	0,10 mg/l	0,12 mg/l	0,14 mg/l	10 mg/l	0,0 mg/l	0,01 mg/l	0,02 mg/l	0,04 mg/l	0,06 mg/l	0,08 mg/l	0,10 mg/l	0,12 mg/l	0,14 mg/l	10,0 mg/l	0,0 mg/l	0,01 mg/l	0,02 mg/l	0,04 mg/l	0,06 mg/l	0,08 mg/l	0,10 mg/l	0,12 mg/l	0,14 mg/l	10,0 mg/l											
Schichtdicke																																										
Küvette		1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm	4 cm		
Zeit		0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h	0 h
T _{min} (330-500nm)																																										
T _{min} (380-500nm)		0,997	0,996	0,993	0,987	0,981	0,975	0,971	0,967	0,958	0,073	0,925	0,932	0,935	0,933	0,927	0,906	0,891	0,871	0,848	0,000																					
λ(T _{min})		331 nm	381 nm	415 nm	408 nm	414 nm	412 nm	415 nm	413 nm	416 nm	413 nm	380 nm	381 nm	410 nm	410 nm	412 nm	412 nm	414 nm	413 nm	413 nm	411 nm																					
κ _{UV/Vis}		-	-	-	39 nm	46 nm	44 nm	47 nm	46 nm	48 nm	47 nm	-	-	42 nm	42 nm	46 nm	44 nm	48 nm	47 nm	47 nm	-																					
σ _{UV/Vis}		-	-	-	0,200	0,200	0,200	0,100	0,120	0,100	0,001	-	-	0,200	0,180	0,070	0,070	0,013	0,042	0,020	-																					
c _m		-	-	-	0,046 mg/L	0,079 mg/L	0,098 mg/L	0,111 mg/L	0,122 mg/L	0,163 mg/L	9,007 mg/L	-	-	0,028 mg/L	0,047 mg/L	0,065 mg/L	0,084 mg/L	0,100 mg/L	0,119 mg/L	0,142 mg/L	-																					
Konzentration Ag-Nano		0,0 mg/l	0,01 mg/l	0,02 mg/l	0,04 mg/l	0,06 mg/l	0,08 mg/l	0,10 mg/l	0,12 mg/l	0,14 mg/l	10 mg/l	0,0 mg/l	0,01 mg/l	0,02 mg/l	0,04 mg/l	0,06 mg/l	0,08 mg/l	0,10 mg/l	0,12 mg/l	0,14 mg/l	10,0 mg/l																					
190		0,0178227	0,0172154	0,0165541	0,018121	0,0177424	0,01695189	0,0171748	0,0176865	0,0174885	0,0028338	0,0395508	0,036967	0,0385208	0,0375284	0,0428828	0,0337614	0,0404734	0,0421452	0,0365628	0,0114383																					
191		0,015489	0,0154664	0,0156706	0,0149932	0,0160034	0,01616267	0,0158314	0,0154071	0,0150124	0,0012844	0,0225913	0,0214423	0,0212108	0,0203562	0,0214751	0,0218887	0,0195468	0,0223958	0,0198647	0,0037792																					
192																																										
193																																										
194																																										
195																																										
196																																										
197																																										
198																																										
199																																										
200																																										
201																																										
202																																										
203																																										
204																																										
205																																										
206																																										
207		0,8291154	0,8215859	0,8215822	0,8135139	0,8068504	0,78857681	0,7835415	0,7760738	0,7725667	0,0296053	0,4439407	0,4241407	0,4364284	0,4083448	0,4038025	0,3918276	0,3758945	0,369492	0,358136	0,0004832																					
208		0,837944	0,8309713	0,8305657	0,8229852	0,8163925	0,79831814	0,7931549	0,7861203	0,7818798	0,0319471	0,4634775	0,4442833	0,4564151	0,4284114	0,4233465	0,4108043	0,3944887	0,3878087	0,3763535	0,0002817																					

Abbildung 47: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2011-0069-AADm, Teil a

Ergebnisse



Abbildung 50: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2011-0090-AADm, Teil b

Ergebnisse

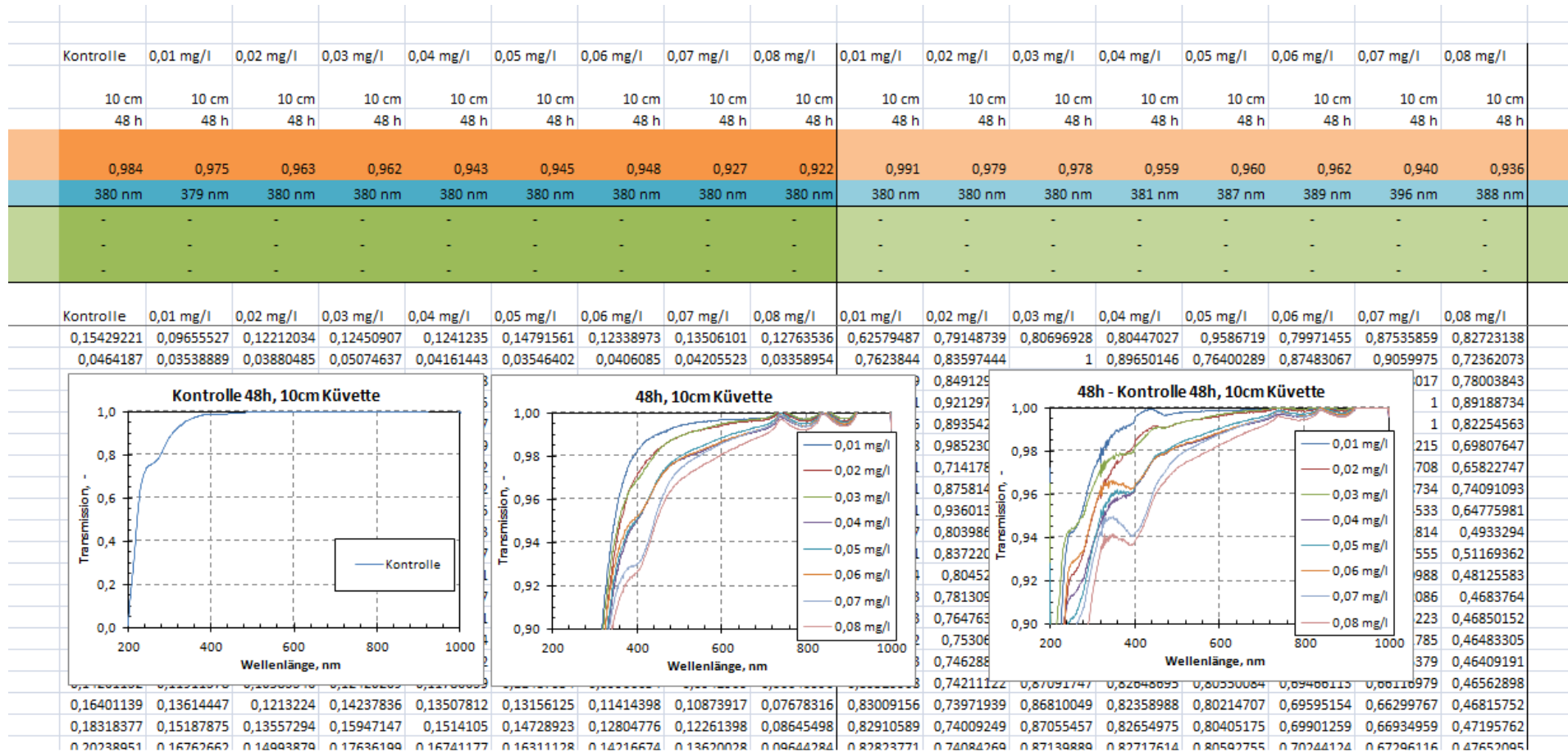


Abbildung 51: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2011-0090-AADm, Teil c

Ergebnisse

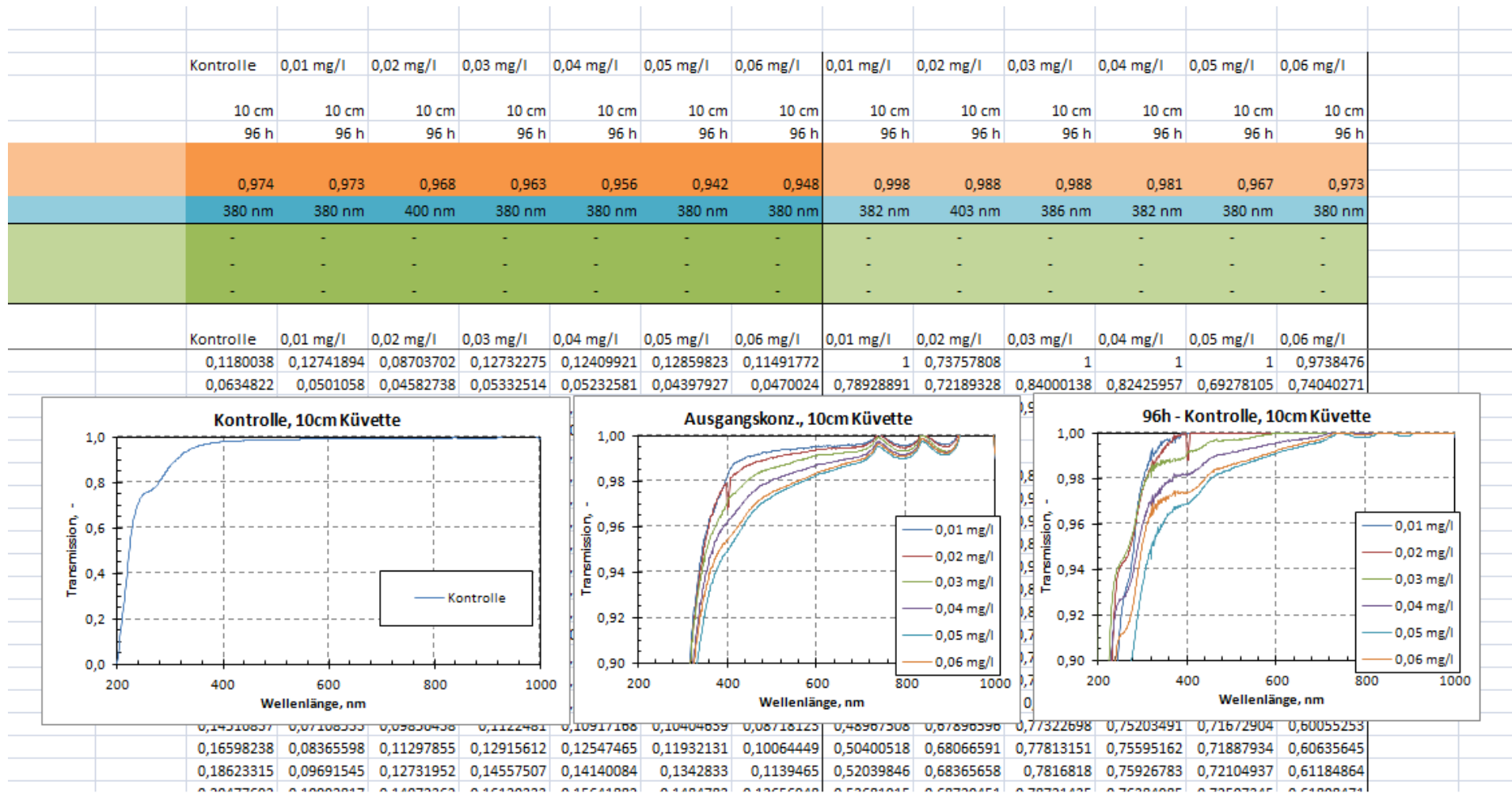


Abbildung 52: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2011-0090-AADm, Teil d

Ergebnisse

5.3.7 Embryonen des Zebraärlings *D. rerio*

Prüfung 2012-0002-AADr

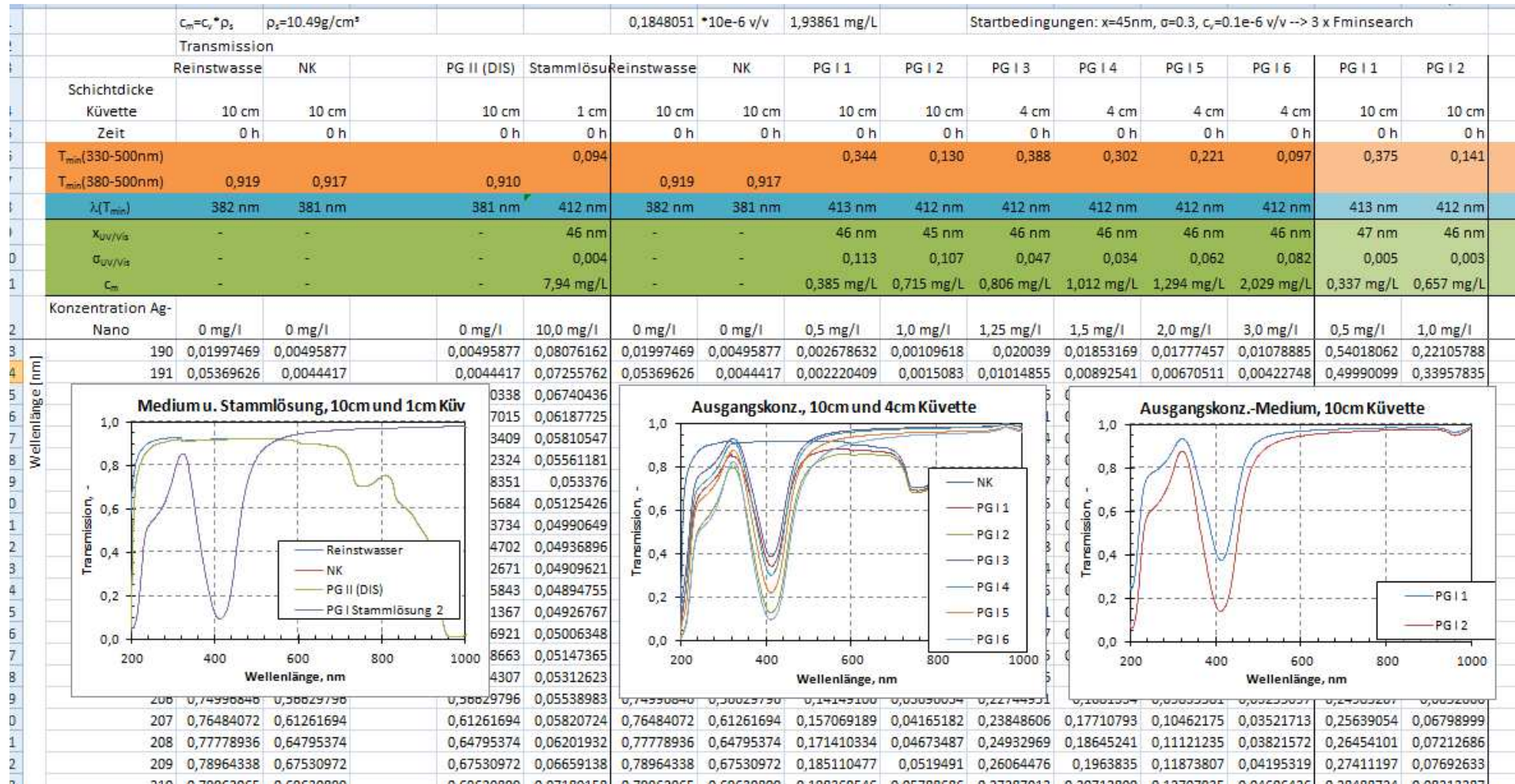


Abbildung 53: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0002-AADr, Teil a

Ergebnisse

Reinstwasser	PG II (DIS)	NK	PG I 1	PG I 2	PG I 3	PG I 4	PG I 4	PG I 5	PG I 6	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,25 mg/l	1,5 mg/l
10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	4 cm	4 cm	4 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm
48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h
			0,450	0,201	0,143	0,079	0,376	0,247	0,107	0,497	0,222	0,158	0,087
0,922	0,766	0,902											
380 nm	380 nm	380 nm	413 nm	415 nm	415 nm	414 nm	414 nm	414 nm	414 nm	413 nm	415 nm	415 nm	414 nm
-	-	-	45 nm	48 nm	48 nm	48 nm	48 nm	48 nm	48 nm	46 nm	48 nm	48 nm	48 nm
-	-	-	0,152	0,105	0,004	0,002	0,006	0,008	0,002	0,036	0,035	0,002	0,002
-	-	-	0,297 mg/L	0,606 mg/L	0,683 mg/L	0,884 mg/L	0,851 mg/L	1,216 mg/L	1,939 mg/L	0,238 mg/L	0,534 mg/L	0,649 mg/L	0,850 mg/L
0 mg/l	0 mg/l	0 mg/l	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,25 mg/l	1,5 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l	3,0 mg/l	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,25 mg/l	1,5 mg/l
0,02172156	0,00066548	0,00375444	0,00234701	0,0007222	0,00103505	0,00083002	0,00977557	0,00736738	0,00846334	0,62512951	0,19235966	0,27568809	0,2210757
0,05809945	0,000421	0,00342934	0,00162814	0,00056378	0,00070541	0,00044365	0,00574254	0,00394158	0,00294606	0,47476971	0,16439818	0,20569797	0,12936923

0,76840291	0,00040085	0,45442896	0,09015691	0,00070997	0,00088734	0,00050633	0,03002147	0,01116802	0,0048367	0,1869442	0,0016216	0,00190269	0,00127449
0,78101253	0,00051874	0,48863323	0,10290868	0,00088386	0,00118482	0,00052536	0,03649144	0,01401738	0,00606458	0,21060516	0,00180884	0,00242476	0,00107516
0,79254695	0,00034957	0,51829975	0,11616251	0,00117358	0,00146718	0,00066815	0,04414769	0,01767397	0,00754222	0,22412226	0,00226428	0,00283075	0,00128912

Abbildung 54: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2012-0002-AADr, Teil b

Ergebnisse

Prüfung 2013-0011-AADr

		$c_m = c_v \cdot \rho_s$		$\rho_s = 10,49 \text{ g/cm}^3$				0,042202		*10e-6 v/v		0,44270 mg/L		Startbedingungen: x=45nm, $\sigma=0,3$, $c_v=0,1e-6 \text{ v/v} \rightarrow 3 \times \text{Fminsearch}$																								
Transmission																																						
Reinstwasser				NK				PG II		Stammlösung		Reinstwasser		NK		PG I 1		PG I 2		PG I 3		PG I 4		PG I 5		PG I 6		PG I 1		PG I 2		PG I 3		PG I 4				
Schichtdicke	Küvette	Zeit																																				
10 cm	10 cm	0 h																																				
0 h	0 h	0 h																																				
$T_{\text{min}}(330-500\text{nm})$									0,101																													
$T_{\text{min}}(380-500\text{nm})$	1,000	0,990							0,917																													
$\lambda(T_{\text{min}})$	190 nm	380 nm							380 nm	413 nm																												
$X_{UV/vis}$	-	-							47 nm																													
$\sigma_{UV/vis}$	-	-							0,002																													
c_m	-	-							7,89 mg/L																													
Konzentration Ag-																																						
Nano	0 mg/l	0 mg/l							0 mg/l	10 mg/l																												
190	1	0,25600768							0,07066641	0,0755287																												
191	1	0,08955462							0,02280032	0,06922947																												
198	1	0,05472263							0,02280032	0,06922947																												
206	1	0,695429							0,00080201	0,05563396																												
207	1	0,74093652							0,00084885	0,05859884																												
208	1	0,77454918							0,00063774	0,06224364																												

Abbildung 55: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2013-0011-AADr, Teil a

Ergebnisse

Reinstwasser	PG II	NK	PG I 1	PG I 2	PG I 3	PG I 3	PG I 4	PG I 5	PG I 6	PG I 1	PG I 2	PG I 3	PG I 3	PG I 4	PG I 5
10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	4 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm	10 cm
48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h
			0,900	0,654	0,418	0,424	0,213	0,114	0,334	0,906	0,659	0,421	0,427	0,215	0,114
1,000	0,890	0,992													
190 nm	380 nm	402 nm	411 nm	413 nm	413 nm	413 nm	415 nm	415 nm	415 nm	411 nm	413 nm	413 nm	413 nm	415 nm	415 nm
-	-	-	42 nm	40 nm	40 nm	40 nm	48 nm	48 nm	48 nm	42 nm	39 nm	40 nm	40 nm	48 nm	48 nm
-	-	-	0,219	0,406	0,359	0,359	0,074	0,002	0,003	0,225	0,397	0,358	0,358	0,075	0,002
-	-	-	0,041 mg/L	0,249 mg/L	0,449 mg/L	0,443 mg/L	0,563 mg/L	0,766 mg/L	0,967 mg/L	0,038 mg/L	0,232 mg/L	0,445 mg/L	0,435 mg/L	0,561 mg/L	0,763 mg/L
0 mg/l	0 mg/l	0 mg/l	0,1 mg/l	0,3 mg/l	0,6 mg/l	0,6 mg/l	0,9 mg/l	1,2 mg/l	1,5 mg/l	0,1 mg/l	0,3 mg/l	0,6 mg/l	0,6 mg/l	0,9 mg/l	1,2 mg/l
1	0,0295853	0,22359135	0,18605485	0,077770071	0,01686646	0,04424437	0,03505185	0,05071121	0,01274806	0,83212008	0,34751216	0,07542599	0,1978805	0,15676749	0,22680311
1	0,02025821	0,06425812	0,05321573	0,02108007	0,00306711	0,0072952	0,00844921	0,01114982	0,00436579	0,82815571	0,32805299	0,04773105	0,11352957	0,13148857	0,17351619

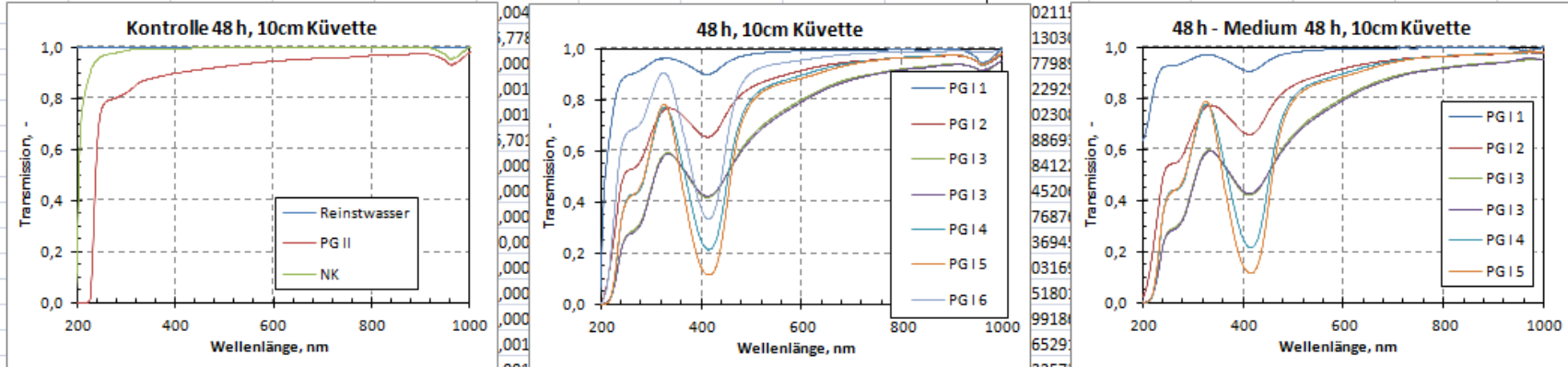



Abbildung 56: Auswertung der UV-/VIS-Spektren, Transmissionsprofile für Prüfung 2013-0011-AADr, Teil b

Ökotoxikologische Untersuchungen	Umweltbundesamt, FG IV 2.4	
----------------------------------	----------------------------	---

5.4 EC_x-Werte, berechnet auf Basis der Nominal-Konzentrationen

5.4.1 Marines Leuchtbakterium *Aliivibrio fischeri*

NM-300K

Prüfungs-Code	2011-0093- AAVf a	2011-0093- AAVf b	2011-0020- AAVf	2011-0028- AAVf	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	13,590	11,540	10,880	10,560	11,643	1,361
lower 95%-cl ¹⁴	11,950	10,460	10,300	9,230	10,486	1,119
upper 95%-cl	15,490	12,730	11,510	12,090	12,955	1,762

Sensitivste Prüfung mit *A. fischeri* und NM-300K

2011-0028-AAVf	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,310	2,440	4,040	10,560	n.d. ¹⁵
	lower 95%-cl	0,150	1,760	3,180	9,230	n.d.
	upper 95%-cl	0,520	3,120	4,860	12,090	n.d.
	lower 99%-cl	0,110	1,520	2,850	8,610	n.d.
	upper 99%-cl	0,720	3,610	5,420	12,960	n.d.

Silbernitrat

Sensitivste Prüfung mit *A. fischeri* und Silbernitrat

2011-0020-AAVf	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	n.d.	0,240	0,480	1,760	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	0,130	0,300	1,380	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	0,370	0,660	2,250	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0,090	0,240	1,200	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	0,510	0,830	2,590	n.d.

¹⁴ confidence level (Vertrauensbereich)

¹⁵ not determined due to mathematical reasons or inappropriate data

Ergebnisse

NM-300K DIS

Sensitivste Prüfung mit *A. fischeri* und NM-300K DIS

2011-0028-AAVf	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	n.d.	17,500	33,500	115,990	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	15,630	30,860	110,300	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	19,400	36,130	122,050	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	14,780	29,630	107,460	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	20,510	37,630	125,280	n.d.

5.4.2 Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae*

NM-300K

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2013-0014- AAAf	2011-0076- AAAf	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,0011	0,0050	0,0031	0,0028
lower 95%-cl	0,0008	0,0040	0,0024	0,0023
upper 95%-cl	0,0015	0,0110	0,0063	0,0067
LOEC	n.d.	0,0200	0,0200	/
NOEC	n.d.	0,0040	0,0040	/

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2013-0014- AAAf	2011-0076- AAAf	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,0017	0,0070	0,0044	0,0037
lower 95%-cl	0,0013	0,0050	0,0032	0,0026
upper 95%-cl	0,0022	0,0160	0,0091	0,0098
LOEC	n.d.	0,0200	0,0200	/
NOEC	n.d.	0,0040	0,0040	/

Ergebnisse

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *A. flos-aquae*

2013-0014-AAAf	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	n.d.	0,0004	0,0006	0,0011	0,0103
	lower 95%-cl	n.d.	0,0001	0,0003	0,0008	0,0047
	upper 95%-cl	n.d.	0,0007	0,0008	0,0015	0,1151
	lower 99%-cl	n.d.	0,0001	0,0002	0,0007	0,0026
	upper 99%-cl	n.d.	0,0009	0,0010	0,0017	0,2107
	LOEC	n.d.				
	NOEC	n.d.				

Silbernitrat

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und *A. flos-aquae*

Hemmung der Biomassezunahme

2013-0019-AAAf	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	0,000014	0,000025	0,000029	0,000038	0,000105
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LOEC	n.d.				
	NOEC	n.d.				

Hemmung der Wachstumsrate

2013-0019-AAAf	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Wachstumsrate	EC _x [mg/L]	0,000021	0,000032	0,000035	0,000043	0,000087
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LOEC	n.d.				
	NOEC	n.d.				

Ergebnisse

NM-300K DIS

Keine toxischen Effekte bis zu einer Konzentration vom 100 mg/L bestimmbar.

5.4.3 Protozoen

NM-300K

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *Protozoen*

2012-0066-XB	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,790	4,982	7,797	18,365	n.d.
	lower 95%-cl	0,253	3,090	5,630	16,132	n.d.
	upper 95%-cl	1,531	6,630	9,552	21,129	n.d.
	lower 99%-cl	0,119	2,246	4,514	14,411	n.d.
	upper 99%-cl	3,248	9,122	11,913	23,651	n.d.
	LOEC	/				
	NOEC	/				

Silbernitrat

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und *Protozoen*

2012-0065-XB	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	1,176	4,947	7,016	13,693	n.d.
	lower 95%-cl	0,435	3,073	4,917	11,659	n.d.
	upper 95%-cl	2,092	6,570	8,725	15,561	n.d.
	lower 99%-cl	0,260	2,393	4,071	10,602	n.d.
	upper 99%-cl	3,508	8,438	10,539	17,113	n.d.
	LOEC	n.d.				
	NOEC	n.d.				

Ergebnisse

NM-300K DIS

Sensitivste Prüfung mit NM-300K DIS und *Protozoen*

2012-0067-XB	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	n.d.	463,322	n.d.	n.d.	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LOEC	n.d.				
	NOEC	n.d.				

5.4.4 Limnische Grünalge *Desmodesmus subspicatus*

NM-300K

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2012-0073-AADs	2012-0064-AADs	2011-0081-AADs	2011-0018-AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,0230	0,0220	0,0380	0,0500	0,0333	0,0134
lower 95%-cl	0,0210	0,0190	0,0360	0,0470	0,0308	0,0132
upper 95%-cl	0,0260	0,0240	0,0400	0,0530	0,0358	0,0135
LOEC	0,0250	<=0,010	0,0300	0,0480	0,0343	0,0121
NOEC	0,0100	<0,010	0,0200	0,0240	0,0180	0,0072

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2012-0073-AADs	2012-0064-AADs	2011-0081-AADs	2011-0018-AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,0810	0,1000	0,0740	0,0930	0,0870	0,0117
lower 95%-cl	0,0670	0,0820	0,0700	0,0870	0,0765	0,0095
upper 95%-cl	0,0990	0,1250	0,0810	0,1030	0,1020	0,0181
LOEC	0,0250	<=0,010	0,0300	0,0770	0,0440	0,0287
NOEC	0,0100	<0,010	0,0200	0,0480	0,0260	0,0197

Ergebnisse

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *D. subspicatus*

2012-0064-AADs	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	n.d.	n.d.	0,009	0,022	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	0,007	0,019	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	0,011	0,024	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	0,006	0,018	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	0,012	0,026	n.d.
	LOEC	<=0,010				
	NOEC	<0,010				

Silbernitrat

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2011-0018-AADs	2011-0012-AADs	2012-0068-AADs	2012-0070-AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,004	0,001	0,002	0,006	0,0033	0,0022
lower 95%-cl	0,003	0,001	0,002	0,006	0,0031	0,0021
upper 95%-cl	0,004	0,002	0,003	0,007	0,0039	0,0023
LOEC	0,003	<=0,002	0,004	0,004	0,0037	0,0006
NOEC	0,002	<0,002	0,001	0,002	0,0017	0,0006

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2011-0018-AADs	2011-0012-AADs	2012-0068-AADs	2012-0070-AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,008	0,004	0,005	0,020	0,0092	0,0074
lower 95%-cl	0,007	0,003	0,004	0,018	0,0080	0,0069
upper 95%-cl	0,008	0,005	0,006	0,022	0,0103	0,0079
LOEC	0,003	<=0,002	0,004	0,004	0,0037	0,0006
NOEC	0,002	<0,002	0,001	0,002	0,0017	0,0006

Ergebnisse

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und *D. subspicatus*

2011-0012-AADs	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	n.d.	n.d.	n.d.	0,001	0,087
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	0,001	0,043
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	0,002	0,266
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	0,001	0,030
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	0,002	0,390
	LOEC	<=0,002				
	NOEC	<0,002				

NM-300K DIS

Keine toxischen Effekte bis zu einer Konzentration vom 100 mg/L bestimmbar.

5.4.5 Wasserlinse *Lemna minor*

NM-300K

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2012-0018-AALm	2011-0038-AALm	2012-0021-AALm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	1,7690	1,4860	1,1580	1,4710	0,3058
lower 95%-cl	0,9120	0,8720	0,0880	0,6240	0,4646
upper 95%-cl	3,4930	2,5780	2,9850	3,0187	0,4584
LOEC	3,900	0,217	0,217	1,4447	2,1264
NOEC	1,300	0,036	0,036	0,4573	0,7298

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2012-0018-AALm	2011-0038-AALm	2012-0021-AALm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	3,052	2,977	2,372	2,8003	0,3728
lower 95%-cl	2,285	2,448	1,657	2,1300	0,4177
upper 95%-cl	3,905	3,640	3,243	3,5960	0,3332
LOEC	3,900	1,300	0,217	1,8057	1,8929
NOEC	1,300	0,036	0,036	0,4573	0,7298

Ergebnisse

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *L. minor*

2012-0021-AALm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	0,022	0,224	0,393	1,158	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	0,000	0,000	0,088	n.d.
	upper 95%-cl	0,170	0,654	0,950	2,985	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0,000	0,000	0,028	n.d.
	upper 99%-cl	1283,062	42,095	19,771	9,531	n.d.
	LOEC	0,217				
	NOEC	0,036				

Silbernitrat

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und *L. minor*

Hemmung der Biomassezunahme

2011-0038-AALm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	0,001	0,020	0,039	0,133	n.d.
	lower 95%-cl	0,000	0,000	0,001	0,045	n.d.
	upper 95%-cl	0,011	0,055	0,087	0,407	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0,000	0,000	0,022	n.d.
	upper 99%-cl	1,462	0,466	0,392	0,842	n.d.
	LOEC	0,022				
	NOEC	0,004				

Hemmung der Wachstumsrate

2011-0038-AALm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Wachstumsrate	EC _x [mg/L]	EC0	EC10	EC20	EC50	EC100
	lower 95%-cl	0,025	0,099	0,137	0,258	2,628
	upper 95%-cl	0,006	0,054	0,089	0,191	1,169
	lower 99%-cl	0,048	0,137	0,185	0,397	17,460
	upper 99%-cl	0,003	0,040	0,070	0,150	0,480
	LOEC	0,022				
	NOEC	0,004				

Ergebnisse

NM-300K DIS

Keine toxischen Effekte bis zu einer Konzentration vom 100 mg/L bestimmbar.

5.4.6 Ähriges Tausendblatt *Myriophyllum spicatum*

NM-300K

Prüfungs-Code	2011-0077-AAMs		2012-0024-AAMs	
	EC ₁₀	EC ₅₀	EC ₁₀	EC ₅₀
EC _x [mg/L]				
Hemmung der Zunahme der Hauptsprosslänge	0,080	0,966	0,390	1,680
Hemmung der Wachstumsrate bezogen auf die Hauptsprosslänge	0,099	1,399	0,460	2,000
Hemmung des Wachstums der Seitentriebe	0,240	0,976	0,850	2,640
Hemmung der Zunahme der Gesamtsprosslänge	0,197	1,109	0,650	2,130
Hemmung der Wachstumsrate bezogen auf die Gesamtsprosslänge	0,165	1,413	0,800	2,600
Hemmung des Wachstums der Wurzeln	0,183	1,124	0,610	1,960
Hemmung der Zunahme des Frischgewichtes	0,025	0,236	0,290	1,220
Hemmung der Zunahme der Trockenmasse	0,005	0,064	0,670	2,250
Hemmung der Zunahme entfalteter Wirtel	0,002	0,712	0,280	1,410

Silbernitrat

Prüfungs-Code	2011-0077-AAMs	
	EC ₁₀	EC ₅₀
EC _x [mg/L]		
Hemmung der Zunahme der Hauptsprosslänge	0,001	0,034
Hemmung der Wachstumsrate bezogen auf die Hauptsprosslänge	0,002	0,058
Hemmung des Wachstums der Seitentriebe	0,035	0,106
Hemmung der Zunahme der Gesamtsprosslänge	0,010	0,069
Hemmung der Wachstumsrate bezogen auf die Gesamtsprosslänge	0,009	0,078
Hemmung des Wachstums der Wurzeln	0,004	0,078
Hemmung der Zunahme des Frischgewichtes	0,003	0,019
Hemmung der Zunahme der Trockenmasse	0,004	0,037
Hemmung der Zunahme entfalteter Wirtel	0,003	0,057

Ergebnisse

NM-300K DIS

Keine toxischen Effekte bis zu einer Konzentration vom 100 mg/L bestimmbar.

5.4.7 Wasserfloh *Daphnia magna*

5.4.7.1 Akut

NM-300K

Prüfungs-Code	2011-0090-AADm	2011-0069-AADm	2010-0068-AADm	2011-0014-AADm	2011-0090-AADm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,0460	0,0240	0,0600	0,0430	0,0460	0,0433	0,0148
lower 95%-cl	0,0430	n.d.	n.d.	0,0380	0,0430	0,0405	0,0035
upper 95%-cl	0,0500	n.d.	n.d.	0,0470	0,0500	0,0485	0,0021
LOEC	0,0400	0,0400	0,0640	0,0400	0,0400	0,0460	0,0120
NOEC	0,0300	0,0200	0,0320	0,0300	0,0300	0,0280	0,0054

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *D. magna* - akut

2011-0069-AADm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,017	0,021	0,022	0,024	0,032
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LOEC	0,040				
	NOEC	0,020				

Silbernitrat

Prüfungs-Code	2010-0068-AADm	2011-0014-AADm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,007	0,005	0,0060	0,0014
lower 95%-cl	n.d.	0,004	0,0040	/
upper 95%-cl	n.d.	0,005	0,0050	/
LOEC	0,008	0,006	0,0070	0,0014
NOEC	0,004	0,005	0,0045	0,0007

Ergebnisse

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und *D. magna* - akut

2011-0014-AADm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	n.d.	0,003	0,004	0,005	0,013
	lower 95%-cl	n.d.	0,003	0,003	0,004	0,010
	upper 95%-cl	n.d.	0,004	0,004	0,005	0,020
	lower 99%-cl	n.d.	0,002	0,003	0,004	0,009
	upper 99%-cl	n.d.	0,004	0,005	0,006	0,022
	LOEC	0,006				
	NOEC	0,005				

NM-300K DIS

Keine toxischen Effekte bis zu einer Konzentration vom 100 mg/L bestimmbar.

5.4.7.2 Chronisch

NM-300K

Prüfungs-Code	2013-0009-ARDm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,0496	0,0496	n.d.
lower 95%-cl	0,0124	0,0124	n.d.
upper 95%-cl	256,4655	256,4655	n.d.
LOEC	0,0005	0,0005	n.d.
NOEC	0,0002	0,0002	n.d.

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *D. magna*

2013-0009-ARDm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₅	EC ₄₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Nachkommenzahl	EC _x [mg/L]	n.d.	0,0006	0,0080	0,0496	n.d.	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	0,0000	0,0024	0,0124	n.d.	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	0,0020	0,1602	256,4655	n.d.	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0,0000	0,0006	0,0005	n.d.	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	0,0336	0,6426	6754,4660	n.d.	n.d.
	LOEC	0,0005					
	NOEC	0,0002					

Ergebnisse

5.4.8 Fischembryotoxizitäts-Test mit Embryonen des Zebraärbblings *Danio rerio*

NM-300K

Prüfungs-Code	2012-0001-AADr	2012-005-AADr	2012-0009-AADr	2012-0002-AADr	2013-0011-AADr	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	1,2050	1,6680	1,1210	0,7120	0,2920	0,9996	0,5213
lower 95%-cl	1,0590	1,4330	0,7200	0,1780	0,2210	0,7222	0,5399
upper 95%-cl	1,5960	2,0430	1,4670	1,0720	0,3520	1,3060	0,6360
LOEC	0,9000	1,0000	1,0000	1,0000	0,3000	0,8400	0,3050
NOEC	0,8000	0,7500	0,5000	0,5000	0,1000	0,5300	0,2775

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und Embryonen von *D. rerio*

2013-0011-AADr	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,084	0,174	0,208	0,292	1,007
	lower 95%-cl	0,025	0,093	0,127	0,221	0,693
	upper 95%-cl	0,135	0,228	0,261	0,352	2,589
	lower 99%-cl	0,019	0,081	0,114	0,206	0,564
	upper 99%-cl	0,176	0,262	0,292	0,378	3,185
	LOEC	0,300				
	NOEC	0,100				

Silbernitrat

Prüfungs-Code	2012-0012-AADr	2012-0014-AADr	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,126	0,098	0,1120	0,0198
lower 95%-cl	0,100	0,079	0,0895	0,0148
upper 95%-cl	0,204	0,116	0,1600	0,0622
LOEC	0,100	0,100	0,1000	0,0000
NOEC	0,080	0,080	0,0800	0,0000

Ergebnisse

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und Embryonen von *D. rerio*

2012-0012-AADr	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	n.d.	0,045	0,059	0,098	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	0,027	0,039	0,079	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	0,060	0,074	0,116	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0,023	0,035	0,074	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	0,068	0,082	0,123	n.d.
	LOEC	0,100				
	NOEC	0,080				

NM-300K DIS

Keine toxischen Effekte bis zu einer Konzentration vom 100 mg/L bestimmbar.

5.5 EC_x-Werte, berechnet auf Basis der chemisch-analytisch bestimmten Effektiv-Konzentrationen des Projektpartners IME

5.5.1 Marines Leuchtbakterium *Aliivibrio fischeri*

NM-300K

Prüfungs-Code	2011-0093- AAVf a	2011-0093- AAVf b	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,960	0,930	0,9450	0,0212
lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *A. fischeri*

2011-0093-AAVf b	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,520	0,730	0,790	0,930	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Silbernitrat

Prüfungs-Code	2011-0093- AAVf a	2011-0093- AAVf b	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und *A. fischeri*

2011-0093-AAVf a	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	n.d.	0,130	0,280	n.d.	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	0,030	0,170	n.d.	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	0,200	0,400	n.d.	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0,010	0,100	n.d.	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	0,720	0,700	n.d.	n.d.

NM-300K DIS

Ergebnisse

Keine Analytikdaten vorhanden.

5.5.2 Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae*

NM-300K

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2013-0014-AAAf	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,000783	0,000783	n.d.
lower 95%-cl	0,000611	0,000611	n.d.
upper 95%-cl	0,000984	0,000984	n.d.
LOEC	n.d.	n.d.	n.d.
NOEC	n.d.	n.d.	n.d.

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2013-0014-AAAf	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,001081	0,001081	n.d.
lower 95%-cl	0,000885	0,000885	n.d.
upper 95%-cl	0,001334	0,001334	n.d.
LOEC	n.d.	n.d.	n.d.
NOEC	n.d.	n.d.	n.d.

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *A. flos-aquae*

	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	n.d.	0,000385	0,000491	0,000783	0,004342
	lower 95%-cl	n.d.	0,000162	0,000265	0,000611	0,002372
	upper 95%-cl	n.d.	0,000521	0,000625	0,000984	0,028823
	lower 99%-cl	n.d.	0,000130	0,000226	0,000559	0,001478
	upper 99%-cl	n.d.	0,000650	0,000735	0,001077	0,046265
	LOEC	n.d.				
	NOEC	n.d.				

Silbernitrat

Keine Analytikdaten vorhanden.

NM-300K DIS

Keine Analytikdaten vorhanden.

5.5.3 Protozoen

Keine Analytikdaten vorhanden.

5.5.4 Limnische Grünalge *Desmodesmus subspicatus*

NM-300K

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2011-0018- AADs	2012-0064- AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,040	0,010	0,0250	0,0212
lower 95%-cl	0,038	0,009	0,0235	0,0205
upper 95%-cl	0,042	0,011	0,0265	0,0219
LOEC	0,039	<=0,004	0,0390	n.d.
NOEC	0,019	<0,004	0,0190	n.d.

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2011-0018- AADs	2012-0064- AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,072	0,038	0,0550	0,0240
lower 95%-cl	0,068	0,032	0,0500	0,0255
upper 95%-cl	0,079	0,046	0,0625	0,0233
LOEC	0,060	<=0,004	0,0600	n.d.
NOEC	0,039	<0,004	0,0390	n.d.

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *D. subspicatus*

2012-0064-AADs	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	n.d.	n.d.	0,004	0,010	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	0,004	0,009	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	0,005	0,011	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	0,003	0,008	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	0,006	0,012	n.d.
	LOEC	<=0,004				
	NOEC	<0,004				

Ergebnisse

Silbernitrat

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2011-0018-AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,002	0,0020	n.d.
lower 95%-cl	0,002	0,0020	n.d.
upper 95%-cl	0,002	0,0020	n.d.
LOEC	0,001	0,0010	n.d.
NOEC	0,001	0,0010	n.d.

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2011-0018-AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,003	0,0030	n.d.
lower 95%-cl	0,003	0,0030	n.d.
upper 95%-cl	0,003	0,0030	n.d.
LOEC	0,001	0,0010	n.d.
NOEC	0,001	0,0010	n.d.

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und *D. subspicatus*

2011-0018-AADs	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	0,000	0,001	0,002	0,003	n.d.
	lower 95%-cl	0,000	0,001	0,001	0,003	n.d.
	upper 95%-cl	0,000	0,001	0,002	0,003	n.d.
	lower 99%-cl	0,000	0,001	0,001	0,003	n.d.
	upper 99%-cl	0,001	0,002	0,002	0,004	n.d.
	LOEC	0,001				
	NOEC	0,001				

NM-300K DIS

Keine Analytikdaten vorhanden.

Ergebnisse

5.5.5 Wasserlinse *Lemna minor*

NM-300K

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2012-0021-AALm	2012-0018-AALm	2011-0038-AALm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,406	0,388	0,508	0,4340	0,0647
lower 95%-cl	0,007	0,167	0,337	0,1703	0,1650
upper 95%-cl	1,343	0,819	1,025	1,0623	0,2640
LOEC	0,057	1,053	0,232	0,4473	0,5318
NOEC	0,012	0,268	0,096	0,1253	0,1305

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2012-0021-AALm	2012-0018-AALm	2011-0038-AALm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,952	0,778	n.d.	0,8650	0,1230
lower 95%-cl	0,630	0,536	n.d.	0,5830	0,0665
upper 95%-cl	1,373	1,073	n.d.	1,2230	0,2121
LOEC	0,057	1,053	n.d.	0,5550	0,7043
NOEC	0,012	0,268	n.d.	0,1400	0,1810

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *L. minor*

2012-0018-AALm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	EC0	EC10	EC20	EC50	EC100
	lower 95%-cl	0,020	0,114	0,174	0,388	7,450
	upper 95%-cl	0,000	0,002	0,009	0,167	1,984
	lower 99%-cl	0,078	0,225	0,303	0,819	102632,648
	upper 99%-cl	0,000	0,000	0,003	0,099	0,056
	LOEC	1,053				
	NOEC	0,268				

Ergebnisse

Silbernitrat

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2011-0038-AALm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,043	0,0430	n.d.
lower 95%-cl	0,012	0,0120	n.d.
upper 95%-cl	0,174	0,1740	n.d.
LOEC	0,004	0,0040	n.d.
NOEC	0,001	0,0010	n.d.

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2011-0038-AALm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,102	0,1020	n.d.
lower 95%-cl	0,069	0,0690	n.d.
upper 95%-cl	0,179	0,1790	n.d.
LOEC	0,004	0,0040	n.d.
NOEC	0,001	0,0010	n.d.

Sensitivste Prüfung mit Silbernitrat und *L. minor*

2011-0038-AALm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	0	0,004	0,009	0,043	n.d.
	lower 95%-cl	0	0	0	0,012	n.d.
	upper 95%-cl	0,001	0,013	0,024	0,174	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0	0	0,005	n.d.
	upper 99%-cl	0,319	0,135	0,127	0,42	n.d.
	LOEC	0,004				
	NOEC	0,001				

NM-300K DIS

Keine Analytikdaten vorhanden.

5.5.6 Ähriges Tausendblatt *Myriophyllum spicatum*

NM-300K

Prüfungs-Code	2012-0024-AAMs	
	EC10	EC50
EC _x [mg/L]		
Hemmung der Zunahme der Hauptsprosslänge	0,0696	0,4443
Hemmung der Wachstumsrate bezogen auf die Hauptsprosslänge	0,0880	0,5516
Hemmung des Wachstums der Seitentriebe	0,1026	0,6368
Hemmung der Zunahme der Gesamtsprosslänge	0,0616	0,4456
Hemmung der Wachstumsrate bezogen auf die Gesamtsprosslänge	0,0898	0,6200
Hemmung des Wachstums der Wurzeln	0,0562	0,3879
Hemmung der Zunahme des Frischgewichtes	0,0442	0,2932
Hemmung der Zunahme der Trockenmasse	0,1403	0,6398
Hemmung der Zunahme entfalteter Wirtel	0,0501	0,3574

Silbernitrat

Keine Analytikdaten vorhanden.

NM-300K DIS

Keine Analytikdaten vorhanden.

5.5.7 Wasserfloh *Daphnia magna*

5.5.7.1 Akut

NM-300K

Prüfungs-Code	2011-0014-AADm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,022	0,0220	n.d.
lower 95%-cl	0,019	0,0190	n.d.
upper 95%-cl	0,025	0,0250	n.d.
LOEC	0,020	0,0200	n.d.
NOEC	0,014	0,0140	n.d.

Ergebnisse

Sensitivste Prüfung mit *D. magna* und NM-300K - akut

2011-0014-AADm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,006	0,013	0,015	0,022	n.d.
	lower 95%-cl	0,003	0,010	0,012	0,019	n.d.
	upper 95%-cl	0,008	0,015	0,018	0,025	n.d.
	lower 99%-cl	0,003	0,009	0,012	0,018	n.d.
	upper 99%-cl	0,009	0,016	0,019	0,026	n.d.
	LOEC	0,020				
	NOEC	0,014				

Silbernitrat

Prüfungs-Code	2011-0014-AADm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,002	0,0020	n.d.
lower 95%-cl	0,001	0,0010	n.d.
upper 95%-cl	0,002	0,0020	n.d.
LOEC	0,002	0,0020	n.d.
NOEC	0,002	0,0020	n.d.

Sensitivste Prüfung mit *D. magna* und Silbernitrat - akut

2011-0014-AADm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	n.d.	0,001	0,001	0,002	0,007
	lower 95%-cl	n.d.	0,000	0,001	0,001	0,004
	upper 95%-cl	n.d.	0,001	0,002	0,002	0,025
	lower 99%-cl	n.d.	0,000	0,000	0,001	0,003
	upper 99%-cl	n.d.	0,002	0,002	0,003	0,040
	LOEC	0,002				
	NOEC	0,002				

NM-300K DIS

Keine Analytikdaten vorhanden.

5.5.7.2 Chronisch

Keine Analytikdaten vorhanden.

Ergebnisse

5.5.8 Fischembryotoxizitäts-Test mit Embryonen des Zebraärbblings *Danio rerio*

NM-300K

Prüfungs-Code	2013-0011-AA Dr	2012-0002-AA Dr	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,038	0,103	0,0380	n.d.
lower 95%-cl	0,031	0,094	0,0310	n.d.
upper 95%-cl	0,048	0,109	0,0480	n.d.
LOEC	0,035	0,123	0,0350	n.d.
NOEC	0,018	0,086	0,0180	n.d.

Sensitivste Prüfung mit Embryonen von D. rerio und NM-300K

2013-0011-AA Dr	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	n.d.	0,020	0,025	0,038	0,169
	lower 95%-cl	n.d.	0,014	0,018	0,031	0,106
	upper 95%-cl	n.d.	0,026	0,031	0,048	0,455
	lower 99%-cl	n.d.	0,012	0,017	0,028	0,084
	upper 99%-cl	n.d.	0,029	0,034	0,052	0,573
	LOEC	0,035				
	NOEC	0,018				

Silbernitrat

Keine Analytikdaten vorhanden.

NM-300K DIS

Keine Analytikdaten vorhanden.

5.6 EC_x-Werte, berechnet auf Basis der theoretisch aus den Transmissionsprofilen bestimmten Effektiv-Konzentrationen des Projektpartners MVT, TU Dresden

5.6.1 Marines Leuchtbakterium *Aliivibrio fischeri*

NM-300K

Prüfungs-Code	2011-0093-AAVf a	2011-0093-AAVf b	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	9,0200	7,7200	8,3700	0,9192
lower 95%-cl	8,4600	6,8800	7,6700	1,1172
upper 95%-cl	9,6400	8,6600	9,1500	0,6930

Sensitivste Prüfung mit *A. fischeri* und NM-300K

2011-0093-AAVf b	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,290	1,990	3,170	7,720	n.d.
	lower 95%-cl	0,150	1,470	2,550	6,880	n.d.
	upper 95%-cl	0,470	2,480	3,740	8,660	n.d.
	lower 99%-cl	0,100	1,240	2,250	6,380	n.d.
	upper 99%-cl	0,690	2,940	4,240	9,330	n.d.

5.6.2 Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae*

NM-300K

Es konnten keine EC_x-Werte berechnet werden, da die Datenbasis der UV/VIS-Spektren eine sinnvolle Auswertung nicht ermöglichte.

5.6.3 Protozoen

Es konnten keine EC_x-Werte berechnet werden, da die Datenbasis der UV/VIS-Spektren eine sinnvolle Auswertung nicht ermöglichte.

5.6.4 Limnische Grünalge *Desmodesmus subspicatus***NM-300K****Hemmung der Biomassezunahme**

Prüfungs-Code	2012-0064-AADs	2011-0081-AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,026	0,044	0,0350	0,0127
lower 95%-cl	0,024	0,041	0,0325	0,0120
upper 95%-cl	0,028	0,045	0,0365	0,0120
LOEC	<=0,016	0,043	0,0430	n.d.
NOEC	<0,016	0,029	0,0290	n.d.

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2012-0064-AADs	2011-0081-AADs	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,064	0,067	0,0655	0,0021
lower 95%-cl	0,056	0,061	0,0585	0,0035
upper 95%-cl	0,076	0,078	0,0770	0,0014
LOEC	<=0,016	0,043	0,0430	n.d.
NOEC	<0,016	0,029	0,0290	n.d.

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *D. subspicatus*

2012-0064-AADs	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	n.d.	0,012	0,016	0,026	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	0,010	0,014	0,024	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	0,014	0,018	0,028	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0,010	0,013	0,024	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	0,015	0,019	0,029	n.d.
	LOEC	<=0,016				
	NOEC	<0,016				

Ergebnisse

5.6.5 Wasserlinse *Lemna minor*

NM-300K

Hemmung der Biomassezunahme

Prüfungs-Code	2012-0018-AALm	2011-0038-AALm	2012-0021-AALm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,9200	0,9750	0,5700	0,8217	0,2197
lower 95%-cl	n.d.	n.d.	0,2900	0,2900	n.d.
upper 95%-cl	n.d.	n.d.	1,1840	1,1840	n.d.
LOEC	2,634	0,180	0,134	0,9827	1,4303
NOEC	0,608	0,000	0,027	0,2117	0,3435

Hemmung der Wachstumsrate

Prüfungs-Code	2012-0018-AALm	2011-0038-AALm	2012-0021-AALm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,9200	0,9750	0,5700	1,7717	0,3891
lower 95%-cl	n.d.	n.d.	0,2900	0,8610	n.d.
upper 95%-cl	n.d.	n.d.	1,1840	1,9920	n.d.
LOEC	2,634	0,180	0,134	0,9827	1,4303
NOEC	0,608	0,000	0,027	0,2117	0,3435

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *L. minor*

2012-0021-AALm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
Biomasse	EC _x [mg/L]	n.d.	0,087	0,166	0,570	n.d.
	lower 95%-cl	n.d.	0,009	0,033	0,290	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	0,195	0,319	1,184	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	0,002	0,013	0,161	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	0,707	0,819	2,129	n.d.
	LOEC	0,134				
	NOEC	0,027				

5.6.6 Ähriges Tausendblatt *Myriophyllum spicatum***NM-300K**

Prüfungs-Code	2012-0024-AAMs	
	EC10	EC50
EC _x [mg/L]		
Hemmung der Zunahme der Hauptsprosslänge	0,270	1,150
Hemmung der Wachstumsrate bezogen auf die Hauptsprosslänge	0,310	1,370
Hemmung des Wachstums der Seitentriebe	0,580	1,800
Hemmung der Zunahme der Gesamtsprosslänge	0,440	1,460
Hemmung der Wachstumsrate bezogen auf die Gesamtsprosslänge	0,540	1,770
Hemmung des Wachstums der Wurzeln	0,410	1,330
Hemmung der Zunahme des Frischgewichtes	0,190	0,830
Hemmung der Zunahme der Trockenmasse	0,460	1,540
Hemmung der Zunahme entfalteter Wirtel	0,190	0,960

5.6.7 Wasserfloh *Daphnia magna*

5.6.7.1 Akut

NM-300K

Prüfungs-Code	2011-0090-AADm	2011-0069-AADm	2011-0014-AADm	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,0490	0,0320	0,0430	0,0413	0,0086
lower 95%-cl	0,0390	n.d.	0,0360	0,0375	0,0021
upper 95%-cl	0,0530	n.d.	0,0470	0,0500	0,0042
LOEC	<=0,046	0,046	<=0,039	0,0460	n.d.
NOEC	<0,046	0,028	<0,039	0,0280	n.d.

Ergebnisse

Sensitivste Prüfung mit NM-300K und *D. magna* – akute Toxizität

2011-0069-AADm	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,025	0,029	0,030	0,032	0,041
	lower 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 95%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	lower 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	upper 99%-cl	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LOEC	0,046				
	NOEC	0,028				

5.6.7.2 Chronisch

Es konnten keine EC_x-Werte berechnet werden, da die Datenbasis der UV/VIS-Spektren eine sinnvolle Auswertung nicht ermöglichte.

5.6.8 Fischembryotoxizitäts-Test mit Embryonen des Zebraärlblings *Danio rerio*

NM-300K

Prüfungs-Code	2012-0002-AADr	2013-0011-AADr	MW	SD
EC ₅₀ [mg/L]	0,469	0,228	0,3485	0,1704
lower 95%-cl	0,086	0,160	0,1230	0,0523
upper 95%-cl	0,693	0,273	0,4830	0,2970
LOEC	0,658	0,238	0,4480	0,2970
NOEC	0,338	0,060	0,1990	0,1966


Sensitivste Prüfung mit NM-300K und Embryonen von *D. rerio*

2013-0011-AADr	Parameter	EC ₀	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₁₀₀
	EC _x [mg/L]	0,071	0,141	0,166	0,228	0,733
	lower 95%-cl	0,014	0,060	0,085	0,160	0,513
	upper 95%-cl	0,118	0,187	0,211	0,273	2,19
	lower 99%-cl	0,010	0,051	0,074	0,147	0,408
	upper 99%-cl	0,164	0,224	0,243	0,297	2,751
	LOEC	0,238				
	NOEC	0,060				

6 Diskussion

6.1 Analytik & Partikelcharakterisierung

6.1.1 Partikelcharakterisierung mittels DLS, ELS und UV/VIS-Spektroskopie

<p>UV/VIS-Spektroskopie, DLS, ELS, Zetapotentiale</p>	<p>VdW, UFT Universität Bremen</p>	 <p>Zentrum für Umweltforschung & nachhaltige Technologien</p>
---	------------------------------------	---

Die kolloidale Stabilität der Silber-Nanopartikel NM-300K wurde in den Medien MilliQ-Wasser, Elendt M4-Medium (akuter Daphnien-Test), *Danio rerio*-Medium (synthetisches Süßwasser), *Pseudokirchneriella subcapitata*-Medium, Steinberg-Medium (*Lemna minor*), AAP-Medium (Cyanobakterien), Andrews-Medium (*Myriophyllum spicatum*), Medium für den chronischen Daphnien-Test und im modifizierten Grünalgenmedium (*Desmodesmus subspicatus*) bei einer Silberkonzentration von 10 mg Ag/L untersucht. Die hydrodynamischen Durchmesser, die mit der NNLS-Methode bestimmt wurden, eignen sich gut, um das kolloidale Verhalten der Silber-Nanopartikel zu beschreiben. Dies ergaben die Vergleichsmessungen der Proben mit der UV/VIS-Spektroskopie. Die Partikel waren in den Medien MilliQ-Wasser, Steinberg-Medium, AAP-Medium, Andrews-Medium, *D. rerio*-Medium, *P. subcapitata*-Medium und dem modifizierten Grünalgen-Medium kolloidal stabil. Im Medium für chronische Daphnien-Tests zeigte sich in den UV/VIS-Spektren leichte Agglomeration der NM-300K Silbernanopartikel am Tag 3 des Testzeitraums.

Es wurden hydrodynamische Durchmesser von 40 nm bis 49 nm in den Medien MilliQ-Wasser und modifiziertem Grünalgen-Medium gemessen. Im Steinberg-Medium und im Andrews-Medium waren die hydrodynamischen Durchmesser leicht verkleinert und wurden im Bereich von 24 nm bis 45 nm gemessen. Im *D. rerio*-Medium wurden hydrodynamische Durchmesser von 35 nm bis 50 nm bestimmt. Im AAP-Medium, im *P. subcapitata*-Medium und im Medium für chronische Daphnien-Tests wurden leicht vergrößerte hydrodynamische Durchmesser im Bereich von 45 nm bis 62 nm bestimmt.

In dem Medium für den akuten Daphnien-Test (Elendt M4) wurde eine Agglomeration der NM-300K Silbernanopartikel beobachtet. Am ersten Tag der Versuche wurden hydrodynamische Durchmesser vergleichbar groß wie in MilliQ-Wasser gemessen. Nach einem Tag und nach zwei Tagen waren die gemessenen hydrodynamischen Durchmesser im Bereich von 134 nm bis 181 nm. In den dazugehörigen UV/VIS-Spektren bildete sich eine zweite Absorptionsbande im Wellenlängenbereich von ca. 600 nm aus. Dies weist ebenfalls auf die Agglomeration der Silber-Nanopartikel NM-300K in dem Medium Elendt M4 hin.

Die UV/VIS-Spektren im Medium für chronische Daphnien-Tests zeigten am Tag 3 eine Ausbildung einer Schulter, welche auf Agglomeration von NM-300K Silbernanopartikeln hindeutet. Die Agglomeration war allerdings nicht so ausgeprägt wie im reinen Elendt M4 Medium, da sich keine Vergrößerung des hydrodynamischen Durchmessers mit der DLS feststellen ließ.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Partikel über die Testdauern in den meisten Medien kolloidal stabil waren, wobei die hydrodynamischen Durchmesser im Bereich zwischen 24 nm und 62 nm lagen.

Das Zetapotential der NM-300K Silbernanopartikel scheint keinen bestimmenden Einfluss auf die kolloidale Stabilität der Partikel in den Medien zu haben. In vielen der untersuchten Medien haben die NM-300K ein Zetapotential in der Nähe von 0 mV und sind dennoch kolloidal stabil. Sie sind sterisch stabilisiert durch die hinzugefügten Stabilisatoren (Klein *et al.* 2011). In den Medien Elendt M4 für den Daphnien-Akuttest und den chronischen Daphnien-Test zeigte sich Agglomeration der Silbernanopartikel. Im Medium für *Aliivibrio fischeri* war die Agglomeration sehr stark ausgeprägt.

Diskussion

Die Methode der UV/VIS-Spektroskopie war sehr gut geeignet um die Auswertung der DLS-Messungen bei der Bestimmung der kolloidalen Stabilität von Silbernanopartikeln zu ergänzen. Die Aufnahme der UV/VIS Spektren parallel zur DLS und ELS unterstützte die Interpretation der Lichtstreuungsergebnisse, indem sie eine Differenzierung zwischen verschiedenen Aggregatformen der AgNP ermöglichte.

In Abbildung 57, Abbildung 58 und Abbildung 59 sind die Ergebnisse der Charakterisierung von NM-300K in den untersuchten Testmedien zusammengefasst. Die Namen der zum jeweiligen Medium zugehörigen Organismen sind in den Graphiken aufgeführt.

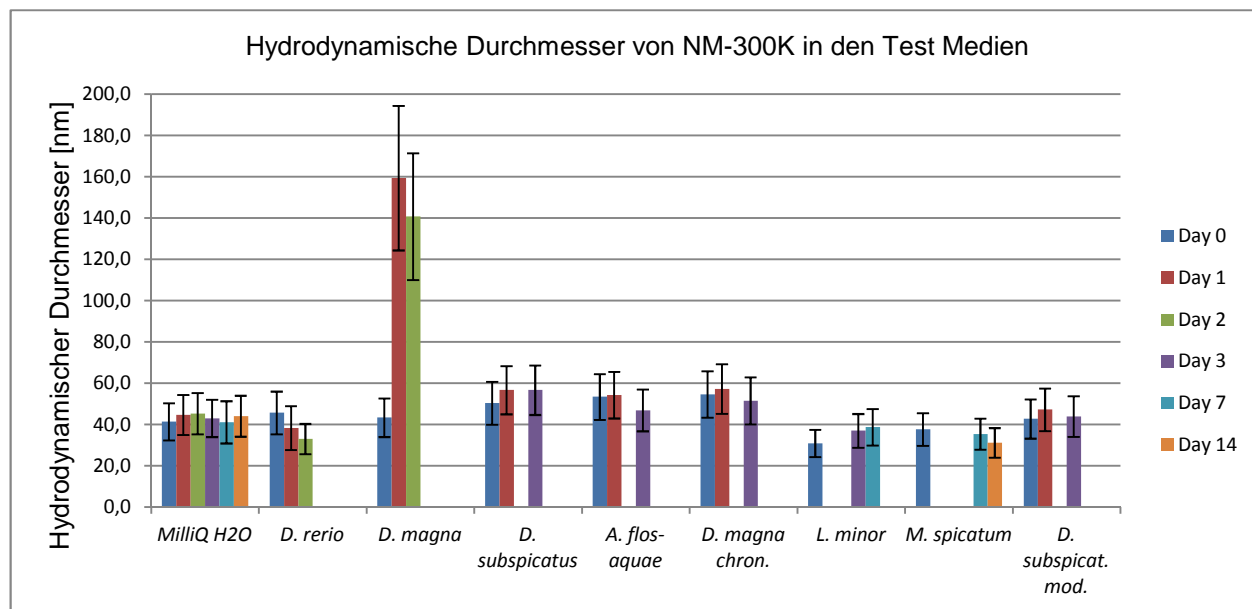


Abbildung 57: Ergebnisse der DLS-Messungen für die hydrodynamischen Durchmesser (NLS-Algorithmus) der Silbernanopartikel NM-300K in den jeweiligen Testmedien. Die Daten sind für die Messtage jeweils gemittelt.

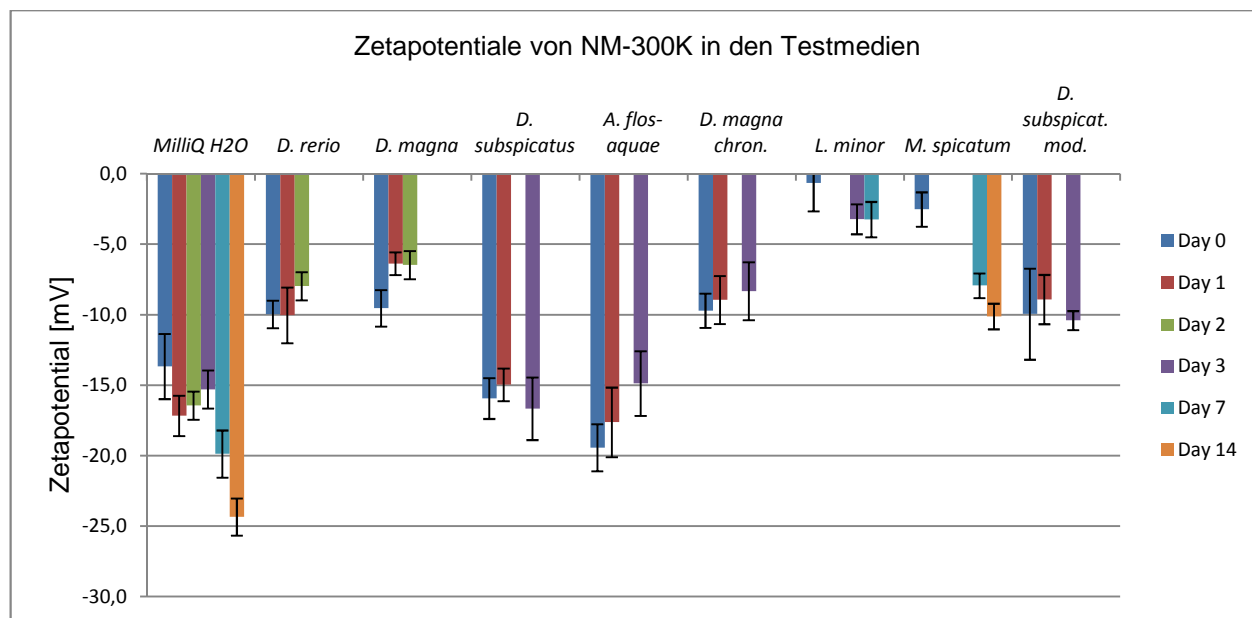


Abbildung 58: Ergebnisse der Zetapotential-Messungen der Silbernanopartikel NM-300K in den jeweiligen Testmedien. Die Daten sind für die Messtage jeweils gemittelt.

Diskussion

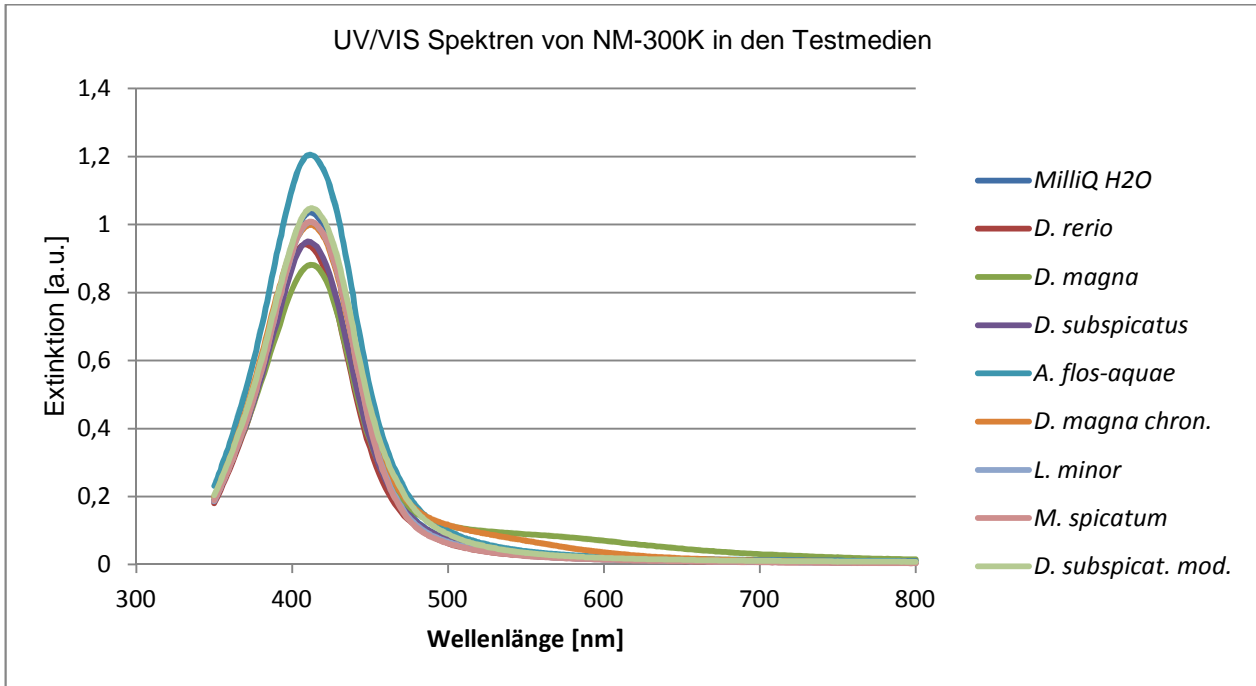


Abbildung 59: Ergebnisse der Messungen der UV/VIS-Spektren der Silbernanopartikel NM-300K in den jeweiligen Testmedien am jeweils letzten Messtag. Die Daten sind für den Messtag jeweils gemittelt.

6.1.2 Konzentrationsbestimmung mittels ICP-MS und ICP-OES

<p style="text-align: center;">Chemisch-analytische Konzentrationsbestimmungen von Ag und Ag⁺</p>	<p style="text-align: center;">IME, Fraunhofer-Institut</p>	
---	--	---

Die vom Projektpartner IME chemisch-analytisch bestimmten Effektiv-Konzentrationen von NM-300K und Silbernitrat fanden Berücksichtigung bei der Bestimmung von Dosis-Wirkungsbeziehungen und Berechnung der EC_x-Werte. Diese Dosis-Wirkungsbeziehungen und EC_x-Werte werden im Vergleich mit weiteren ermittelten Dosis-Wirkungsbeziehungen EC_x-Werten auf Basis von Nominal- und Effektiv-Konzentrationen im Kapitel 6.2 dieses Abschlussberichtes diskutiert.

Eine Beschreibung der angewandten Methoden wurde vom Projektpartner IME trotz mehrfacher Nachfrage bis Anfang Januar 2014 nicht zur Verfügung gestellt.

Ein Problem, das sich über den gesamten Verlauf des Projektes erstreckte, waren die geringen Wiederfindungsraten bei Proben mit NM-300K. Dies betraf sowohl die Gesamtsilber- als auch Silberionenbestimmung. Die gefundenen Silber- und Silberionenkonzentrationen konnten nicht oder nur schwer mit den ausgeprägten Dosis-Wirkungsbeziehungen der ökotoxikologischen Versuche in Einklang gebracht werden. Die Zuverlässigkeit der chemisch-analytischen Methode wurde nach Aussage des Projektpartners durch interne Standards und Wiederfindungsraten um 100 % garantiert. Interessant erscheinen in diesem Zusammenhang die deutlich realistischeren Wiederfindungsraten bei Proben mit Silbernitrat. Hier wurden in der Regel Wiederfindungsraten im Bereich von 50 % der Nominal-Konzentration bestimmt. Berücksichtigt man, dass der Silberanteil in Silbernitrat bei 63,5 %¹⁶ liegt, ergeben sich auf das Silber bezogen Wiederfindungsraten von etwa 80 %. Also durchaus Werte, die sich mit den bestimmten Dosis-Wirkungsbeziehungen in Einklang bringen lassen!

Dies legt den Schluss nahe, dass das angesprochene Problem der geringen Wiederfindungsraten bei Proben mit NM-300K nicht bei der angewandten Methode selbst zu suchen ist. Vielmehr scheint das silberhaltige Nanomaterial NM-300K während der Analytik nicht mehr „verfügbar“. Denkbare Szenarien, die dieses vermeintliche Verschwinden der Ag-NP erklären könnten, wären Adsorption an die Wände der Probengefäße, Adsorption oder Absorption an bzw. in die Kunststoffdeckel oder Dichtungen der Probengefäße oder ein anderweitiger Austrag der Ag-NP zum Beispiel während der Probenaufbereitung im Analytiklabor.

Vor dem Hintergrund der recht geringen Wiederfindungsraten der Ag-NP sollten die ermittelten EC_x-Werte, basierend auf den chemisch-analytisch ermittelten Effektiv-Konzentration nicht zur Risikoabschätzung herangezogen werden, um eine deutliche Überschätzung des ökotoxischen Potential von NM-300K zu vermeiden!

Generell sollte zukünftig bei (öko-) toxikologische Untersuchungen und Risikobewertungen mit (Silber-) Nanomaterialien dem Bereich der versuchsbegleitenden Analytik besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden, um eine möglichst realistische Gefahrenabschätzung gewährleisten zu können.

¹⁶ bezogen auf die molare Masse (*M*)

6.1.3 Partikelcharakterisierung mit Hilfe von Transmissionsprofilen aus der UV/VIS-Spektroskopie

UV/VIS-Spektroskopie	MVT, TU Dresden	 TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN
----------------------	-----------------	---

Die Kooperation zwischen dem Ökotoxikologielabor des UBA und dem Projektpartner MVT der TU Dresden verlief reibungslos und produktiv. Am MVT wurden durch Herrn Nogowski mit Hilfe von Transmissionsprofilen aus UV/VIS-Spektren die eingesetzten Ag-NP charakterisiert und deren theoretische Konzentration bestimmt. Die dazu benötigten Spektren wurden im Ökotoxikologielabor aufgezeichnet und anschließend gemeinsam mit allen nötigen Angaben wie Testsystem, Nominal-Konzentrationen, Schichtdicken der eingesetzten Küvetten etc. an Herrn Nogowski übermittelt.

Die mit Hilfe der Transmissionsprofile ermittelten mittleren Partikelgrößen bewegten sich bei allen Testsystem in Bereichen zwischen 41 nm und 51 nm (siehe Tabelle 21). Diese Werte decken sich gut mit den durch Herrn Dr. Köser vom Projektpartner VdW der Universität Bremen ermittelten hydrodynamischen Durchmessern der NM-300K-Partikel (vergleiche Kapitel 6.1.1). Diese Bestätigung der mittleren Partikelgrößen durch unabhängige Projektpartner verleiht den Ergebnissen eine gewisse Belastbarkeit und zeigt, dass die Partikelgröße des eingesetzten AgNM unabhängig vom Testsystem über die Dauer der Versuche keine signifikanten Änderungen erfuhr. Die Ergebnisse der Partikelgrößenbestimmung zeigen aber auch, dass die untersuchten Ag-NP des Referenzmaterials NM-300K nicht die vom Hersteller angegebene Partikelgröße von 15 nm (siehe Kapitel 4.1.1) hatten, sondern im Mittel eher um den Faktor 2,5 größer waren. Ob für diese Partikelgrößenzunahme die Bildung von Agglomeraten bei der Herstellung der Testsuspensionen verantwortlich war oder ob die Ag-Partikel bereits im Gebinde des Herstellers größer als angegeben waren, konnte mit der Partikelcharakterisierung durch die Projektpartner nicht geklärt werden. Dazu wären Untersuchungen des unverdünnten Referenzmaterials nötig gewesen. Ob im Rahmen des UMSICHT-Projektes solche Untersuchungen durchgeführt wurden, ist uns nicht bekannt.

Diskussion

Tabelle 21: Mittlere Partikelgröße von NM-300K in den wässrigen Ansätzen der verschiedenen Testsysteme. Angegeben sind die mittlere Partikelgröße (MW) über den gesamten Prüfungszeitraum sowie die Standardabweichung (SD).

Prüfsystem	Parameter	Partikelgröße [nm]	Anmerkungen
Leuchtbakterium <i>A. fischeri</i>	MW	46,17	System-bedingt keine Daten bei Expositionsende (30 min), Aussage über zeitlichen Verlauf daher nicht möglich.
	SD	2,10	
Cyanobakterium <i>A. flos-aquae</i>	MW	51,64	Schwache Datenbasis, tendenziell leichte Zunahme über die Prüfungsdauer (72 h).
	SD	18,26	
Grünalge <i>D. subspicatus</i>	MW	42,25	Annähernd konstante Partikelgröße über gesamte Prüfungsdauer (72 h).
	SD	2,37	
Cyanobakterien Protozoen	MW	/	Keine Messwerte vorhanden, da Spektren System-bedingt nicht sinnvoll auswertbar.
	SD	/	
Wasserlinse <i>L. minor</i>	MW	44,87	Annähernd konstante Partikelgröße über gesamte Prüfungsdauer (168 h).
	SD	2,85	
Ähriges Tausendblatt <i>M. spicatum</i>	MW	42,01	Leichte Zunahme der Partikelgröße mit zunehmender Konzentration, keine Zunahme über die Prüfungsdauer.
	SD	6,33	
Daphnie akut <i>D. magna</i>	MW	41,51	Keine Zunahme der Partikelgröße über die Prüfungsdauer (48 h)
	SD	4,83	
Daphnie chronisch <i>D. magna</i>	MW	/	Keine Messwerte vorhanden, da Spektren System-bedingt nicht sinnvoll auswertbar.
	SD	/	
Embryonen von <i>D. rerio</i>	MW	45,87	Annähernd konstante Partikelgröße über gesamte Prüfungsdauer (48 h)
	SD	2,37	


Neben Parametern wie Partikelgröße, Größenverteilung und Verteilungsdichte war durch Auswertung der Transmissionsprofile auch eine theoretische Abschätzung der Ag-NP-Konzentration in den Testsuspensionen möglich. Die theoretisch bestimmten Effektiv-Konzentrationen auf Basis der UV/VIS-Spektren waren wesentlich realistischer mit den ermittelten Dosis-Wirkungsbeziehungen in Einklang zu bringen, als die chemisch-analytisch bestimmten Effektiv-Konzentrationen von NM-300K. Die theoretischen bestimmten Wiederfindungsraten der Effektiv-Konzentrationen auf Basis der UV/VIS-Spektren lagen je nach Testsystem in einem Bereich von 30 % bis 100 % der Nominal-Konzentration (vergleiche Tabelle 27).

Diskussion

Die Effektiv-Konzentrationen auf Basis der UV/VIS-Spektren lassen sich auf Grund der plausibel erscheinenden Wiederfindungsraten gut mit den ausgeprägten Dosis-Wirkungsbeziehungen in Einklang bringen und scheinen daher deutlich verlässlicher als die chemisch-analytisch bestimmten Effektiv-Konzentrationen von NM-300K.

Den vermeintlichen Vorteilen der Partikelcharakterisierung und Konzentrationsbestimmung mit Hilfe der Transmissionsprofile aus UV/VIS-Spektren (methodische Einfachheit, keine praktische Aufbereitung von Proben nötig, gute Wiederfindungsraten...) stehen aber auch klare Limitierungen gegenüber. So sind die berechneten Konzentrationen lediglich theoretischer Natur und immer direkt abhängig vom zu Grunde liegenden Modell. Eine Abbildung der tatsächlich vorhandenen Konzentrationen kann daher immer nur mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit erfolgen, was die Ergebnisse nur bedingt belastbar macht. Weiterhin lassen sich Testmedien mit einer systembedingten hohen optischen Dichte und/oder inhomogener Partikelverteilung nur eingeschränkt auswerten. Ebenfalls nicht bzw. nur schwer auszuwerten sind Proben mit sehr geringen Partikelkonzentrationen im μg -Bereich oder niedriger. In Rahmen des UMSICHT-Projektes konnten aus den Proben der Versuche mit Cyanobakterien und dem chronischen Daphnien-Test keine Transmissionsprofile ermittelt werden. Die AgNP-Konzentrationen war in diesen Tests so gering, dass trotz Einsatz einer 100 mm Küvette (Schichtdicke $d = 100 \text{ mm}$) keine Silberpeaks aufgezeichnet werden konnten. Theoretisch ließe sich dieses Problem mit einem größeren Schichtdicken, also durch größere Küvetten, lösen. Allerdings ist die Aufnahmekapazität der meisten Photometer auf 10 cm Küvetten begrenzt. Aus diesem Grund eignet sich die Methode der Partikelcharakterisierung und Konzentrationsbestimmung mit Hilfe der Transmissionsprofile aus UV/VIS-Spektren nur bedingt für sehr geringe Partikel-Konzentrationen.

6.2 Ökotoxikologie

Ökotoxikologische Untersuchungen	Umweltbundesamt, FG IV 2.4	
----------------------------------	----------------------------	---

Die Toxizität von Silber bzw. Silberionen ist seit Langem bekannt (Morones-Ramirez et al. 2013). Silber ist eines der giftigsten Metalle in aquatischen Systemen (Ribeiro *et al.* 2013) und schon seit Jahrhunderten wird Silber vor allem wegen seiner antibakteriellen und antimikrobiellen Wirkung in der Medizin und im Lebensmittelbereich eingesetzt. Silberionen greifen dabei in vielfältiger Weise in die Funktionsabläufe von Zellen und Geweben ein. Seit einiger Zeit ist bekannt, dass die zellschädigende Wirkung von Silberionen im Wesentlichen auf folgenden Mechanismen basiert:

- Blockierung von Enzymen und Unterbindung deren lebensnotwendiger Transportfunktionen in der Zelle,
- Beeinträchtigung der Zellstrukturfestigkeit,
- Schädigung der Membranstruktur.

Diese Effekte führen bereits bei sehr geringen Silber-Konzentrationen zum Zelltod (Morones-Ramirez et al. 2013).

Allgemein wird gegenwärtig davon ausgegangen, dass die Auflösung elementaren Silbers und die dabei freiwerdenden Silberionen für die hohe Toxizität der Ag-NP verantwortlich sind (Ribeiro *et al.* 2013, Zhao & Wang 2011). Die erhöhte Toxizität von nanopartikulärem Silber im Vergleich zu mikroskaligem Silber wäre demnach lediglich auf die größere Oberfläche der Ag-NP zurück zu führen. Diese Annahme wird durch zahlreiche Untersuchungen gestützt, bei denen gezeigt werden konnte, dass Ag-NP zwar durchaus toxisch auf aquatische Organismen wirken, dass diese Toxizität aber immer deutlich geringer ist als die Wirkung von Silberionen aus Silbersalzen (Silbernitrat, Silberchlorid, Silbersulfid...) (Völker *et al.* 2013, Wang *et al.* 2012, Navarro *et al.* 2008).

6.2.1 Ökotoxikologisches Potential von NM-300K

Vor diesem Hintergrund können die im Rahmen des UMSICHT-Projektes erzielten Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen nicht überraschen:

NM-300K wirkt toxisch auf alle untersuchten aquatischen Organismen!

Bezogen auf die EC_{50} , berechnet auf Basis der Nominal-Konzentrationen ist das Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae* der mit Abstand sensitivste Organismus mit einer mittleren EC_{50} von nur 3,1 $\mu\text{g/L}$ bei 72-stündiger Exposition (vergleiche Tabelle 3). Der am wenigsten empfindliche Organismus sind die untersuchten Protozoen aus Belebtschlammproben (mittlere EC_{50} = 18,365 mg/L , vergleiche Tabelle 3). In den Diagrammen der Abbildung 60 sind die EC_{50} -Werte aller Testorganismen vom sensitivsten zum unempfindlichsten Organismus aufgetragen. Die Ergebnisse können ebenfalls Tabelle 22 entnommen werden. Die Reihenfolge in dieser Darstellung bezieht sich auf die Position des untersuchten Organismus im aquatischen Nahrungsnetz, angefangen von den Bakterien über Primärproduzenten bis zu Konsumenten zweiter Ordnung.

Diskussion

Tabelle 22: Vergleich der mittleren EC₅₀-Werte für NM-300K, AgNO₃ und Silberionen für alle Testsysteme auf Basis der Nominal-Konzentrationen. Die Werte für Silberionen sind dabei über die molaren Massen aus den Werten für Silbernitrat berechnet worden.

Testsystem	EC ₅₀ -Werte [mg/L] Berechnungsgrundlage: Nominal-Konzentrationen		
	NM-300K	Silbernitrat (AgNO ₃)	Silber-Ionen (Ag ⁺ , berechnet)
<i>Aliivibrio fischeri</i>	11,6425	1,7600	1,1176
<i>Anabaena flos-aquae</i> ¹⁷	0,0031	0,000038	0,000024
<i>Desmodesmus subspicatus</i> ¹⁷	0,0333	0,0033	0,0021
Protozoen	18,365	13,6930	8,6951
<i>Lemna minor</i> ¹⁷	1,4710	0,1330	0,0845
<i>Myriophyllum spicatum</i> ¹⁸	1,4382	0,0596	0,0378
<i>Daphnia magna</i> akut	0,0433	0,0060	0,0038
<i>Daphnia magna</i> chronisch	0,0496 ¹⁹	0,000385 ²⁰	0,000244 ²⁰
Embryonen von <i>Danio rerio</i>	0,9996	0,1120	0,0711

Ebenfalls in Tabelle 22 sind die mittleren EC₅₀ für Silbernitrat und – aus den Silbernitratwerten über die molaren Massen berechnet – für Silberionen zusammengetragen. Das Ergebnis ist eindeutig: Silbernitrat und damit auch Silberionen wirken wesentlich toxischer auf die untersuchten aquatischen Organismen als NM-300K. Zum Teil unterscheiden sich die EC_x-Werte innerhalb eines Testsystems um mehrere Größenordnungen, wie zum Beispiel beim Cyanobakterium *A. flos-aquae*:

$$EC_{50 \text{ NM-300K}} = 3,1 \mu\text{g/L},$$

$$EC_{50 \text{ Ag}^+} = 0,024 \mu\text{g/L}.$$

¹⁷ Endpunkt: Hemmung der Biomassezunahme (*Yield*), in aller Regel der sensitivste Endpunkt des Testsystems

¹⁸ Mittelwert aller 9 toxikologischen Endpunkte

¹⁹ EC₄₀ nach 21-tägiger Exposition

²⁰ Wert aus Ribeiro *et al.* 2013

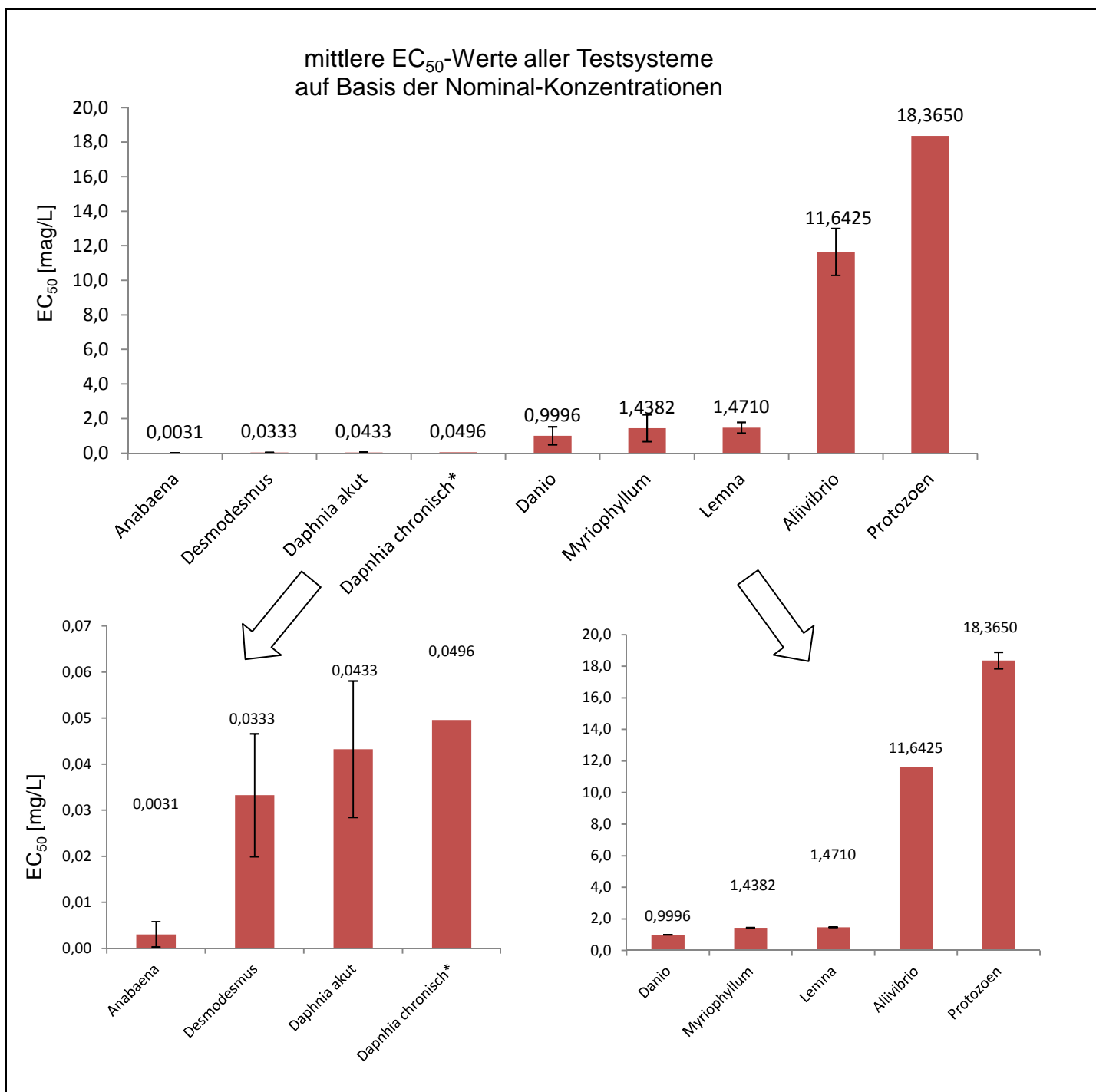


Abbildung 60: EC₅₀-Werte aller untersuchten Testsysteme für NM-300K auf Basis der eingesetzten Nominal-Konzentrationen. Aufgetragen sind die jeweiligen Mittelwerte mit Standardabweichungen sowie die EC₅₀-Werte in mg/L.

* Der Wert des chronischen Testes mit *Daphnia magna* bezieht sich auf den EC₄₀.

6.2.2 NM-300K DIS

Um eine möglichst dauerstabile Suspension der untersuchten Nanopartikel zu erhalten, wurde NM-300K in einem Dispergens aus verschiedenen Tensiden geliefert und aufbewahrt. Dieses Dispergens trug die Bezeichnung NM-300K DIS. NM-300K DIS wurde als sogenannte Lösungsmittelkontrolle unter denselben Bedingungen wie NM-300K auf sein toxisches Potential untersucht, um sicher zu stellen, dass die beobachteten toxischen Effekte ausschließlich auf die untersuchten Ag-NP zurück zu führen waren und dass diese Effekte nicht durch eventuell giftige Inhaltsstoffe des Dispergens überlagert oder verstärkt wurden.

Diskussion

Dazu wurde das Dispergens NM-300K DIS in der Regel als Limit-Test mit einer Konzentration von 100 mg/L (Ausnahme: *Myriophyllum spicatum*. Hier betrug die Konzentration von NM-300K DIS nur etwa 89 mg/L). Konnte bei dieser Konzentration kein Effekt im Sinne der definierten toxikologischen Endpunkte beobachtet werden, wurde davon ausgegangen, dass das Dispergens unter den entsprechenden Bedingungen nicht toxisch auf die Testorganismen wirkt.

Mit Ausnahme des Leuchtbakteriums *A. fischeri* konnten keine toxischen Effekte des Dispergens NM 300K-DIS auf die Testorganismen beobachtet werden. Für *A. fischeri* konnte eine eindeutige Dosis-Wirkungsbeziehung mit NM-300K DIS (Abbildung 61) mit einem EC₅₀ von etwa 116 mg/L (Tabelle 23) ermittelt werden. In der folgenden Tabelle sind die für NM-300K DIS im Test 2011-0028-AAVf mit *A. fischeri* ermittelten EC-Werte inklusive Angaben zu den 95 %-Vertrauensbereichen angegeben:

Tabelle 23: EC_x-Werte für NM-300K DIS für Tests mit dem Leuchtbakterium *A. fischeri* auf Basis der Nominal-Konzentrationen. Angaben im mg/L inklusive oberen und unteren 95 % Vertrauensbereichen (VB)

Parameter	EC ₁₀	EC ₂₀	EC ₅₀
EC _x [mg/L]	17,50	33,50	115,99
unterer 95 % VB	15,63	30,86	110,30
oberer 95 % VB	19,40	36,13	122,05

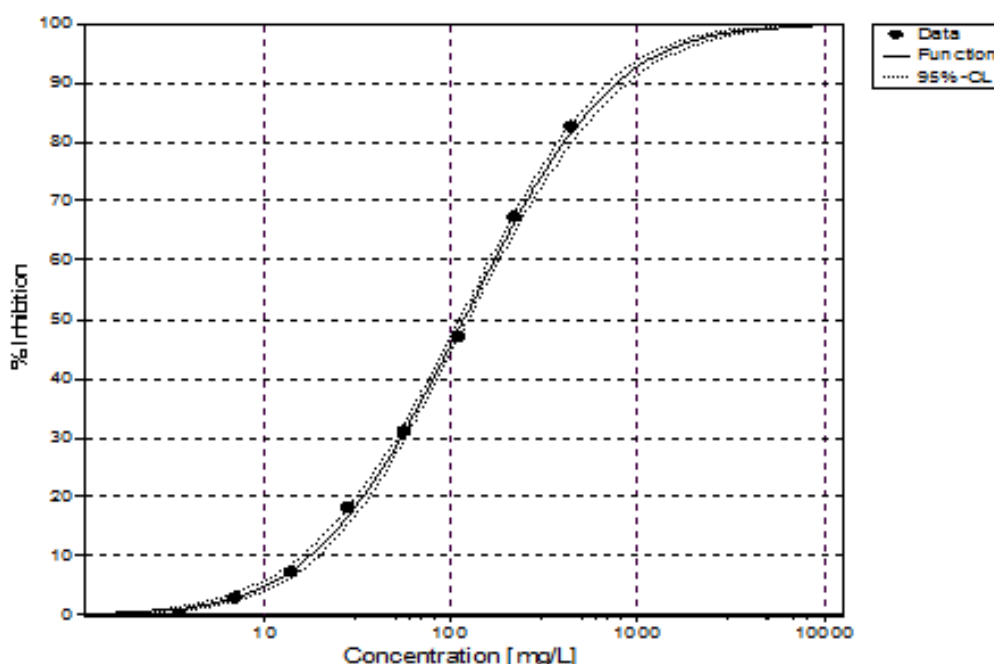


Abbildung 61: Dosis-Wirkungsbeziehung des Dispergens NM-300K DIS im Test mit dem Leuchtbakterium *A. fischeri*. Untersuchungszeitpunkt: 30 min nach Applikation.

Die bestimmten EC-Werte bei Tests mit NM-300K können im Fall der Leuchtbakterien aller Wahrscheinlichkeit nach nicht allein auf die toxische Wirkung der Ag-NP zurück geführt werden. Bei der Bewertung der Testergebnisse, aber auch bei der darauf basierenden Risikobewertung und Gefahrenabschätzung von NM-300K muss unbedingt berücksichtigt werden, dass auch das Dispergens NM-300K DIS - zumindest auf Leuchtbakterien - toxisch wirkt.

6.2.3 NM-300K vs. Silbernitrat / Silberionen

Die Diagramme der Abbildung 62 zeigen die mittleren EC₅₀-Werte in mg/L aller Testorganismen im Vergleich von Ag-NP NM-300K, Silbernitrat und Silberionen. Im Sinne einer besseren Übersichtlichkeit

Diskussion

wurde das Hauptdiagramm (alle Testsysteme) in drei Diagramme unterteilt, um auch die niedrigen EC_x -Werte im Detail abbilden zu können. Die Werte für Silbernitrat und Silberionen in den Testsystemen Cyanobakterien und chronischer Daphnientest sind aber im Vergleich so niedrig, dass sie sich in Relation zu den deutlich höheren Werten für NM-300K nicht sinnvoll graphisch in einem Diagramm wiedergeben lassen.

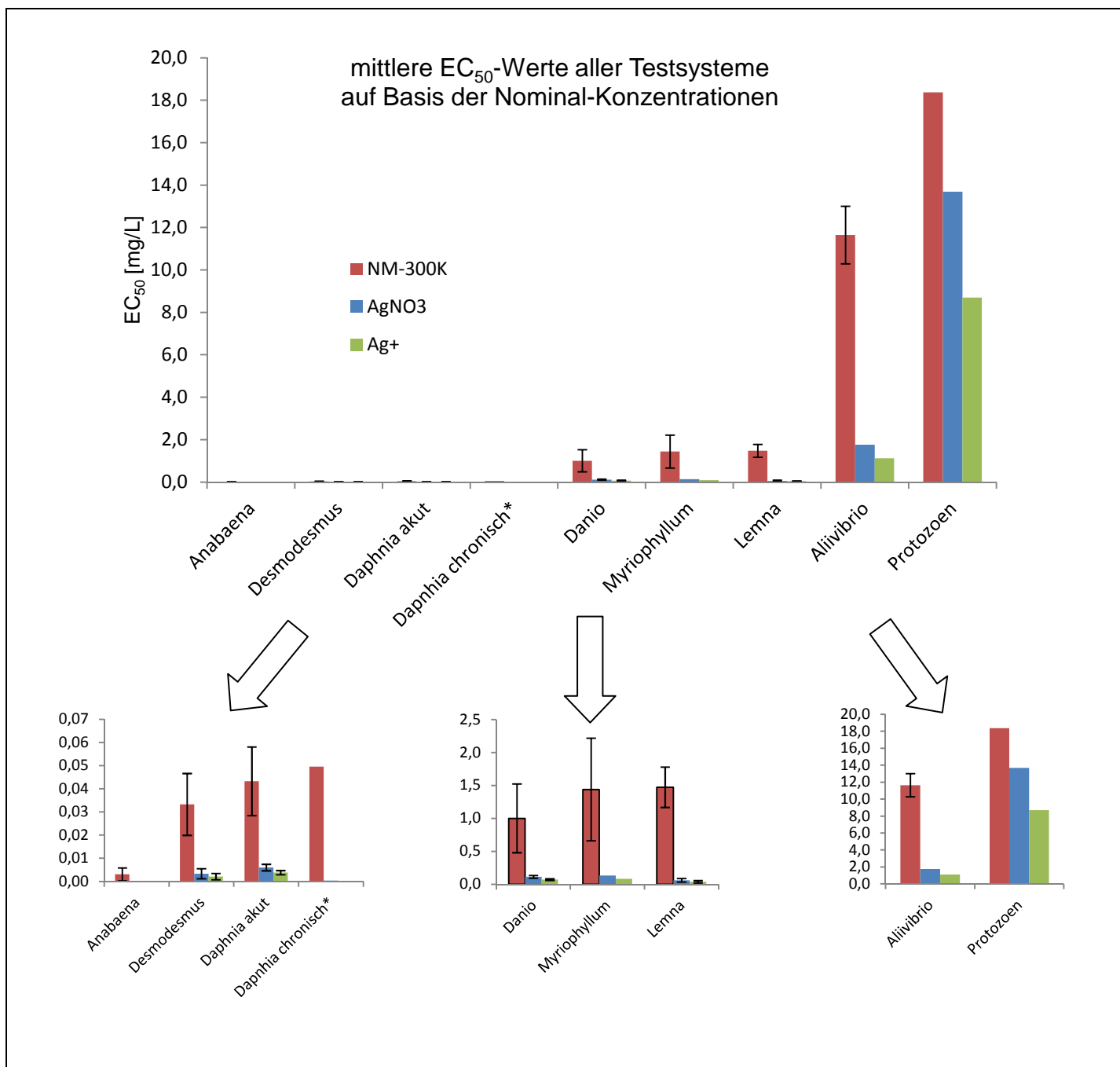


Abbildung 62: EC_{50} -Werte aller untersuchten Testsysteme für NM-300K, Silbernitrat und Silberionen. Grundlage der Berechnungen waren die eingesetzten Nominal-Konzentrationen. Aufgetragen sind die jeweiligen Mittelwerte mit Standardabweichungen sowie die EC_{50} -Werte in mg/L.
* Der Wert des chronischen Testes mit *D. magna* für NM-300K bezieht sich auf den EC_{40} nach 21-tägiger Exposition.

Deutlich ist bei allen Testsystemen zu erkennen, dass die EC_{50} von Silbernitrat und Silberionen deutlich niedriger sind als die entsprechenden Werte für NM-300K. Dieser Befund stützt die anfangs erwähnte Theorie, dass die toxische Wirkung von Ag-NP auf die sich langsam aus dem nanopartikulären, elementaren Silber herauslösenden Silberionen zurück zu führen ist.

Diskussion

Generell konnten für alle untersuchten Testsysteme aussagekräftige Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Versuche mit NM-300K und Silbernitrat abgeleitet werden. Beispielhaft ist in Abbildung 63 für jedes Testsystem eine Dosis-Wirkungsbeziehung für NM-300K abgebildet. Mit Hilfe dieser Modelle konnten die entsprechenden EC_x -Werte zu den jeweiligen Versuchen berechnet werden.

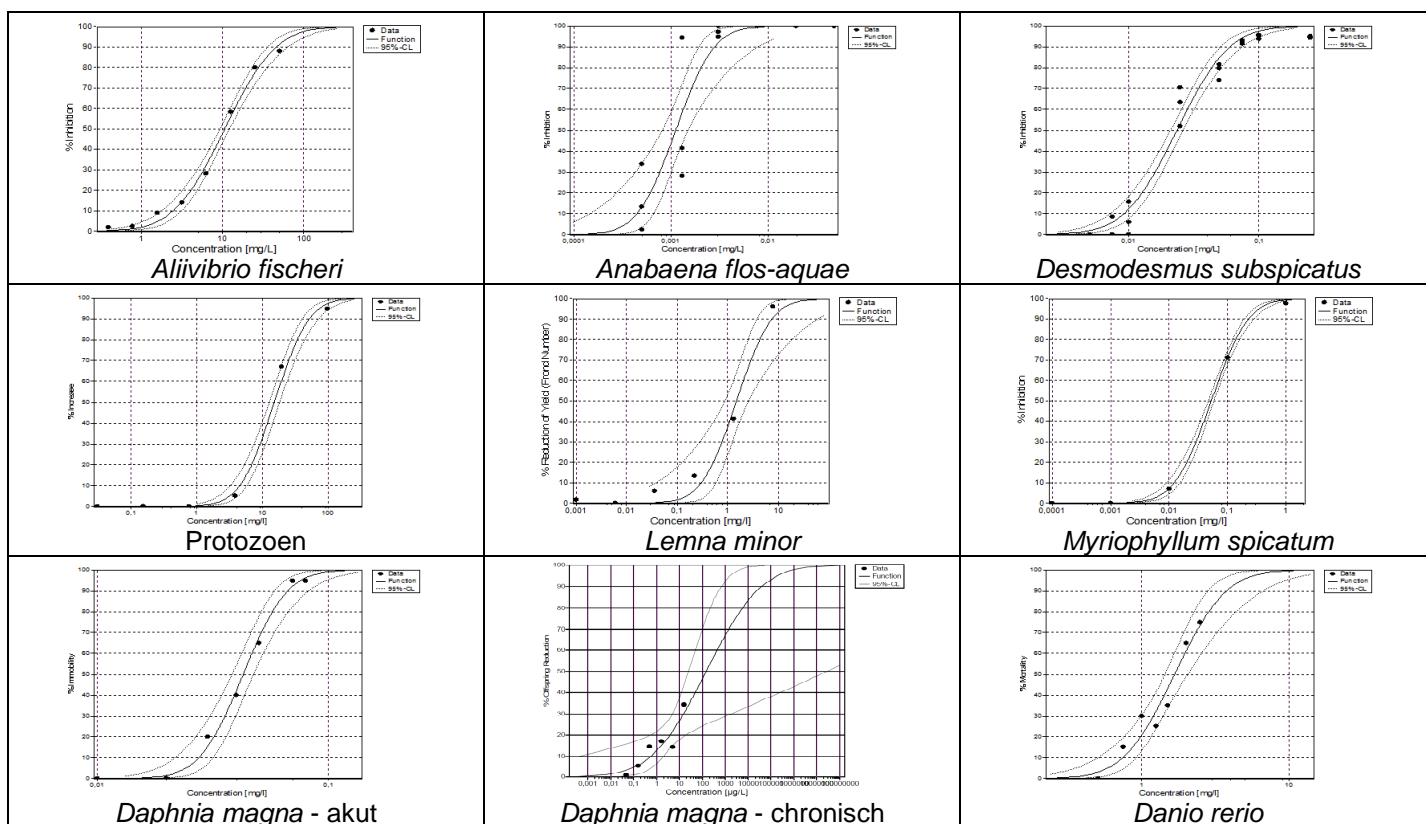


Abbildung 63: Dosis-Wirkungsbeziehung aller Testorganismen mit NM-300K. Abgebildet ist jeweils ein Beispiel pro Organismus zur Veranschaulichung der aussagekräftigen Dosis-Wirkungsbeziehungen über den jeweils gesamten Testzeitraum, inklusive obere und untere 95 %-Vertrauensbereiche. Einheit: mg/L.

Trotz des vergleichbar hohen EC_{50} der Leuchtbakterien für NM-300K sollte dieser Wert vor dem Hintergrund der in Kapitel 6.2.2 angesprochenen Toxizität des Dispergens NM-300K DIS auf den Testorganismus betrachtet werden. Die überraschend ausgeprägte Unempfindlichkeit der Leuchtbakterien gegenüber den eingesetzten Ag-NP NM-300K als auch gegen Silberionen aus Silbernitrat könnte sich auf die Komposition des Testmedium für Leuchtbakterien zurück führen lassen. Auf Grund der Erfahrungen mit der antibakteriellen Wirkung von Silber wären für das Leuchtbakterium deutlich niedrigere EC_x -Werte zu erwarten gewesen (vergleiche dazu auch die Angaben zu EC -Werten mit Ag-NP im *Review* von Fabrega *et al.* 2010). *A. fischeri* ist eine marine Spezies. Entsprechend viel gelöste Salze enthält das eingesetzte Medium. Es erscheint durchaus plausibel, dass sowohl die dissoziierten Silberionen des Silbernitrates als auch die aus dem elementaren Silber freiwerdenden Silberionen in kürzester Zeit mit z.B. den Chlorid-Ionen des Mediums reagieren, zum Teil ausfallen und damit nur noch bedingt auf die Organismen wirken.

Das Problem der Medienzusammensetzung mit zum Teil beachtlichen Osmolaritäten und Ionenstärken lässt sich auf alle eingesetzten Testmedien übertragen, wobei die Auswirkungen je nach Komposition der Medien unterschiedlich ausgeprägt sind. Dieser Umstand wurde bereits in Abschnitt 6.1.1 angesprochen und wird auch in der aktuellen Literatur zum Thema diskutiert (vergleiche dazu Römer *et al.* 2011). Die Matrizes der Testmedien eignen sich denkbar schlecht für die Untersuchung von hochreaktiven Partikeln und Ionen. Auf der anderen Seite sollen die eingesetzten Testmedien natürlich Szenarien simulieren. Versuche in Reinstwasser könnten die genannten Probleme umgehen. Reinstwasser ist aber nicht nur wenig realitätsnah, sondern auch praktisch nicht umsetzbar, da die gewählten Testorganismen in Reinstwasser schlicht nicht lebensfähig sind. Römer *et al.* (2011) weisen in ihrer Publikation darauf hin, dass bereits eine kleine Änderung der Komposition des Mediums für den akuten Daphnien-Test, zum Beispiel eine Reduzierung der

Diskussion

Ionenstärke, die Stabilität der Nanopartikel wesentlich erhöhen und die Neigung zur Aggregationen damit deutlich verringern kann. Bei der Bewertung ökotoxikologischer Untersuchungen mit (Silber-) NP darf eine kritische Betrachtung der eingesetzten Medien daher auf keinen Fall fehlen!

Neben der Komposition der Medien und den eingesetzten Dispersionsmitteln kommt vor allem den physikalischen Eigenschaften der eingesetzten Nanopartikel eine entscheidende Bedeutung für ihre toxikologische Wirkung zu. Bereits geringe Unterschiede in Größe, Form und Oberflächenbeschaffenheit beeinflussen die Wirkung von Nanomaterialien eines Elements maßgeblich (Asghari *et al.* 2012). Ganz besonders das sogenannte *Coating* von Nanopartikel spielt in diesem Zusammen eine wesentliche Rolle. Unter *Coating* versteht man eine Beschichtung der eigentlichen Nanomaterialien, welche die Eigenschaften der Partikel selbst radikal verändern und deren Funktionalisierung stark beeinflussen kann (vergleiche dazu Review von Mohanraj & Chen, 2006).

Aus diesen Gründen ist auch ein Vergleich der Ergebnisse mit Literaturwerten nur dann wirklich zielführend, wenn sowohl die untersuchten Nanopartikel als auch Testorganismen und Expositionsszenarien identisch waren. Sobald sich ein oder mehrere der genannten Parameter voneinander unterscheiden, können die Ergebnisse nicht mehr ohne Einschränkungen miteinander verglichen werden. Aus diesem Grund ist die spezielle Datenlage zur ökotoxikologischen Wirkung einzelner Nanopartikel trotz der rasanten Zunahme an wissenschaftlichen Publikationen auf diesem Gebiet innerhalb der letzten Jahre nach wie vor relativ überschaubar. Auf Grund der großen Diversität sowohl der Nanopartikel als auch der Testsysteme wird sich dieser Zustand voraussichtlich auch in Zukunft ohne gezielte Forschung kaum bessern.

Findet man aber Studien, bei denen sich eingesetzte Nanopartikel, Testsysteme und Expositionsszenarien entsprechen, ist ein Vergleich der EC_x -Werte zulässig. In einer aktuellen Studie von Muth-Köhne *et al.* (2013) wurden zum Beispiel die Wirkungen von NM-300K und Silbernitrat auf Embryonen des Zebraärbblings untersucht. Die ermittelten EC_{50} -Werte decken sich sehr gut mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie (Tabelle 24).

Tabelle 24: Vergleich der EC_{50} -Werte von NM-300K und Silbernitrat des UMSICHT-Projektes mit Literaturdaten. Testsystem: Embryonen des Zebraärbblings *D. rerio*.

Parameter	UMSICHT-Projekt	Muth-Köhne <i>et al.</i> 2013
EC_{50} NM-300K	0,9996 mg/L	1,1 mg/L
EC_{50} AgNO ₃	112 µg/L	73 µg/L

Ein weiteres Beispiel für die große Übereinstimmung zwischen im Projekt ermittelten Ergebnissen und bereits publizierten Daten sind die Resultate einer Studie von Baumann *et al.* (2013). Auch hier stimmten Testsystem, Testsubstanz und Expositionsszenarien überein, sodass ein uneingeschränkter Vergleich der Ergebnisse (Tabelle 25) zulässig ist.

Tabelle 25: Vergleich der EC_{50} -Werte von NM-300K und Silberionen des UMSICHT-Projektes mit Literaturdaten. Testsystem: *Daphnia magna* akut.

Parameter	UMSICHT-Projekt	Baumann <i>et al.</i> 2013
EC_{50} NM-300K	43,3 µg/L	33,6 ± 29,4 µg/L
EC_{50} Ag ⁺	3,8 µg/L	2,32 ± 0,31 µg/L

Diskussion

Auch für die Ergebnisse mit Grünalgen konnten korrespondierende Literaturdaten gefunden werden (Laruelle *et al.* 2013). Auch diese Werte decken sich gut mit den Ergebnissen, die im Rahmen des UMSICHT-Projektes gewonnen wurden (Tabelle 26):

Tabelle 26: Vergleich der EC₅₀-Werte von NM-300K und Silberionen des UMSICHT-Projektes mit Literaturdaten. Testsystem: Grünalge *D. subspicatus*.

Parameter	UMSICHT-Projekt	Laruelle <i>et al.</i> 2013
EC ₅₀ NM-300K	33 µg/L	99 µg/L (pH 8)
EC ₅₀ Ag ⁺	2,1 µg/L	2,08 µg/L (pH 8)

6.2.4 Nominal- vs. Effektiv-Konzentrationen

Im Rahmen des AP 2.3.2 wurden - wie bereits mehrfach gezeigt - neben ökotoxikologischen Untersuchungen auch versuchsbegleitende Bestimmungen bzw. Berechnungen der Effektiv-Konzentrationen durchgeführt (siehe dazu unter anderem Kapitel 6.1.2 und 6.1.3). Die Ergebnisauswertung der ökotoxikologischen Versuche erfolgte entsprechend nicht nur auf Basis der Nominal-Konzentrationen, sondern auch unter Berücksichtigung der ermittelten Effektiv-Konzentrationen. Bei der Berechnung der EC_x-Werte auf Basis der Effektiv-Konzentrationen wurde in Absprache der risikobewertenden Projektpartner für jeden Test das geometrische Mittel²¹ aus der jeweiligen Konzentration bei Expositionsbeginn und der entsprechenden Konzentration bei Expositionsende bestimmt. Auf Basis dieser mittleren Effektiv-Konzentrationen erfolgten die Bestimmung der Dosis-Wirkungsbeziehungen sowie die Berechnungen der EC_x-Werte.

Eine Gegenüberstellung dieser Berechnungen zeigt die folgende Tabelle 27:

Tabelle 27: Vergleich der ermittelten EC₅₀-Werte [mg/L] für NM-300K bezogen auf Nominal- und Effektiv-Konzentrationen

Testsystem	EC ₅₀ -Werte [mg/L] für NM-300K		
	Nominal-Konzentrationen	Effektiv-Konzentrationen	
		ICP-MS / ICP-OES	UV/VIS-Spektren
<i>Aliivibrio fischeri</i>	11,6425	0,9450	8,3700
<i>Anabaena flos-aquae</i> ¹⁷	0,0031	0,00078	Spektren nicht auswertbar ²²
<i>Desmodesmus subspicatus</i> ¹⁷	0,0333	0,0250	0,0350
Protozoen	18,365	Proben nicht auswertbar ²³	Spektren nicht auswertbar ²⁴

$$^{21} \quad G(x_1, x_2, \dots, x_n) = \bar{x}_{\text{geom}} = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n x_i} = \sqrt[n]{x_1 \cdot x_2 \cdot \dots \cdot x_n}$$

²² Konzentration der AgNP so gering, dass eine 100 mm-Küvetten (Schichtdicke d=100 mm) nicht groß genug war, um den *Peak* der AgNP detektieren zu können. Der Einsatz noch größerer Küvetten war technisch nicht möglich. Darum lassen sich diese Messungen nicht sinnvoll auswerten.

²³ Auf Grund des hohen Anteils an organischen Verbinden konnten Proben mit Belebtschlamm nicht analytisch ausgewertet werden.

²⁴ Auf Grund der sehr hohen optischen Dichte und der inhomogenen Konsistenz des eingesetzten Belebtschlammes waren die gemessenen Spektren mit der Methode nicht sinnvoll auszuwerten.

Diskussion

Testsystem	EC ₅₀ -Werte [mg/L] für NM-300K		
	Nominal-Konzentrationen	Effektiv-Konzentrationen	
		ICP-MS / ICP-OES	UV/VIS-Spektren
<i>Lemna minor</i> ¹⁷	1,4710	0,4340	0,8214
<i>Myriophyllum spicatum</i> ¹⁸	1,4382	0,4863	1,3567
<i>Daphnia magna</i> akut	0,0433	0,0220	0,0413
<i>Daphnia magna</i> chronisch	0,0496 ¹⁹	Analytikergenergebnisse stehen noch aus	Spektren nicht auswertbar ²²
Embryonen von <i>Danio rerio</i>	0,9996	0,0705	0,3485

Deutlich fallen dabei die beachtlichen Unterschiede der EC₅₀-Werte innerhalb eines Testsystems bezogen auf die unterschiedlichen Konzentrationen auf. Die Ursache für diese zum Teil um mehr als eine Zehnerpotenz verschiedenen Werte wurde bereits in Kapitel 6.1.2 diskutiert: Unrealistisch geringe Wiederfindungsraten bei der chemisch-analytischen Konzentrationsbestimmung.

Vor diesem Hintergrund und in dem Bemühen, das ökotoxikologische Potential von NM-300K nicht maßlos zu überschätzen, einigten sich die Projektpartner im Rahmen des letzten UMSICHT-Projekttreffens im März 2013 darauf, bei der Auswertung der ökotoxikologischen Untersuchungen die Nominal-Konzentrationen als Berechnungsgrundlage zu verwenden. Auch die Projektpartner, die sich im Rahmen des UMSICHT-Projektes mit der Risikobewertung beschäftigen, verständigten sich darauf, EC_x-Werte auf Basis der Nominal-Konzentrationen für die Gefährdungs- und Risikoabschätzung einzusetzen. Dieses Vorgehen führt zwar zu einer tendenziellen Unterschätzung des ökotoxikologischen Potentials der Ag-NP. Das Ausmaß der Unterschätzung sollte aber deutlich geringer ausfallen, als die potentielle Überschätzung der Giftigkeit von Ag-NP bei Verwendung der chemisch-analytisch bestimmten Effektiv-Konzentrationen.

In diesem Zusammenhang soll auf einen weiteren Punkt im Zusammenhang mit den eingesetzten NM-300K-Konzentrationen hingewiesen werden: Unabhängige Untersuchungen verschiedener Projektpartner zeigten eindeutig, dass die Konzentration des nano-partikulärem Silber in der Referenzsubstanz NM-300K im Mittel über verschiedene Chargen nur etwa 80 % des vom Hersteller angegebenen Wertes betrug. Trotz dieses Wissens verständigte man sich innerhalb des UMSICHT-Projektes darauf, weiter mit den Herstellerangaben zu arbeiten. Auch dieser zusätzliche Aspekt trägt zur Unterschätzung des ökotoxikologischen Potentials von NM-300K im Rahmen des UMSICHT-Projektes bei.

6.2.5 GLP

Wie bereits in Kapitel 3.2.3 angekündigt, wurde das Arbeitspaket 2.3.2 im Vergleich zur Ausschreibung deutlich erweitert. Neben zusätzlichen Prüfsystemen und Substanzen wurde auch der Punkt „GLP“ zusätzlich in das Arbeitspaket aufgenommen. Um die Aussagekraft und Qualität der im Rahmen des UMSICHT-Projektes ermittelten Ergebnisse zu steigern, wurde je Prüfsystem mindestens eine Untersuchung als GLP-Prüfung durchgeführt. Die übrigen Prüfungen wurden zwar als *non*-GLP-Prüfungen durchgeführt, allerdings wurden auch bei diesen Prüfungen dieselben strengen Vorgaben zur Qualitätssicherung und Nachvollziehbarkeit eingehalten, wie sie für GLP-Prüfungen gelten. Auf Grund des erheblichen Mehraufwandes durch Untersuchungen im Rahmen eines Qualitätssicherungssystems wie GLP, sind die Ergebnisse der Untersuchungen belastbar, reproduzierbar und für die Risikobewertung uneingeschränkt einsetzbar.

6.2.6 Lichtmikroskopie

Mit Hilfe der lichtmikroskopischen Untersuchungen konnten nicht in allen Prüfsystemen Partikel erkannt werden. In den Testsystemen mit *Daphnia magna*, *Danio rerio* und *Myriophyllum spicatum* konnten Agglomerate von Partikeln auf den Organismen ausgemacht werden. Ob es sich bei diesen Partikeln um elementares Silber handelt, konnte nicht zweifelsfrei belegt werden. Denkbar wäre auch eine Anreicherung von ausgefallenen Silbersalzen. Ein Beispiel für einen lichtmikroskopischen Befund ist in Abbildung 64 dargestellt. Deutlich sind die dunklen Partikel am Carapax der gegen NM-300K exponierten Daphnie zu erkennen.

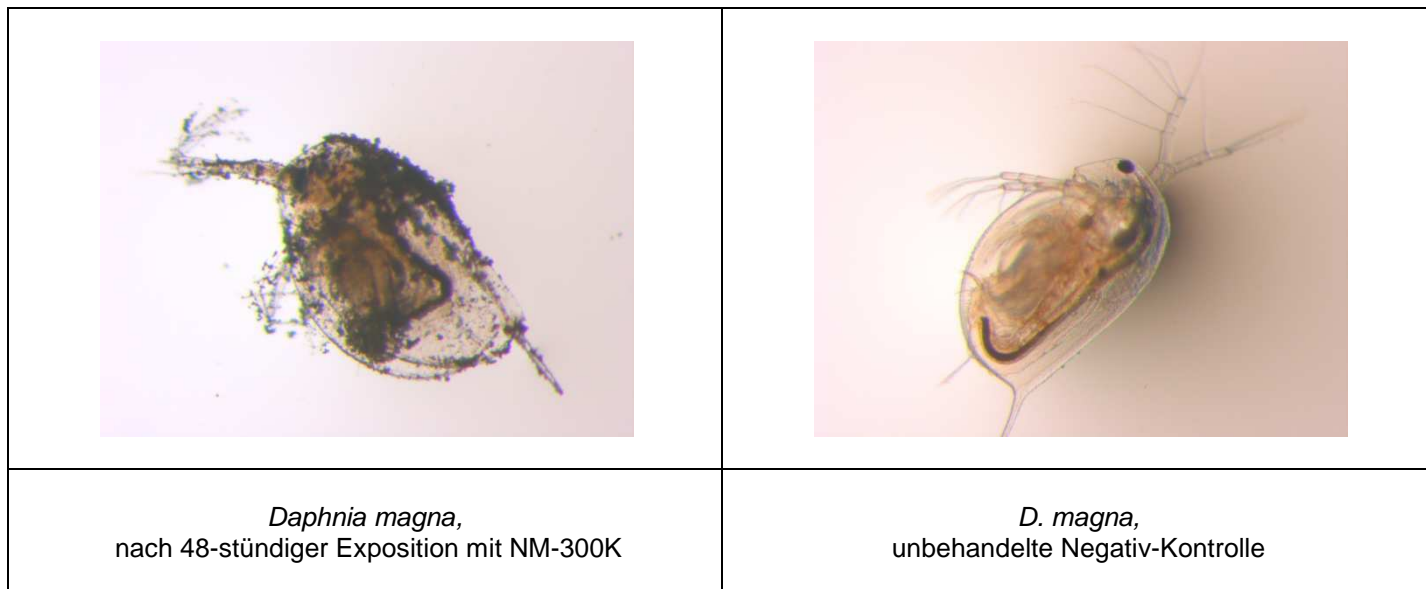


Abbildung 64: Lichtmikroskopische Aufnahmen von *Daphnia magna*. Links: *D. magna* nach 48-stündiger Exposition mit NM-300K. Rechts: Unbehandelte Negativ-Kontrolle.

In den übrigen Testsystemen konnten mit den zur Verfügung stehenden Mitteln keine Partikel mit Sicherheit nachgewiesen werden. Die Lichtmikroskopie stößt bei der Untersuchung von Nanopartikeln klar an physikalische Grenzen. Eine Auswertung der digitalen Aufnahmen war weder qualitativ noch quantitativ möglich. Wesentlich effizienter wären hier Verfahren wie REM²⁵ und TEM²⁶, die ursprünglich auch für das UMSICHT-Projekt geplant waren, letztlich aber leider nicht umgesetzt werden konnten.

6.2.7 Species Sensitivity Distribution

EC_x-Werte von Organismen unterschiedlicher Trophieebenen können als Grundlage für die Modellierung von Spezies-Sensitivitäts-Verteilungen (*Species Sensitivity Distributions*, SSD) herangezogen werden. Diese *Species Sensitivity Distributions* können als nützliches Werkzeug im Rahmen einer Risikobewertung dienen. Aus den Graphen der SSD können sogenannte *hazardous concentrations* (gefährliche Konzentrationen, HC_x) abgeleitet werden. Diese HC_x beschreiben die Konzentration einer Substanz, bei der für x-% der Biozönose²⁷ eine Gefährdung zu erwarten ist und im Umkehrschluss für 100 – (x-%) der Biozönose ein relativer Schutz gewährleistet werden kann.

Auf Grundlage der Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen des UBA FG IV 2.4 wurden mit Hilfe der freeware „*Species Sensitivity Distribution Generator, Version 1*“ der *US EPA*²⁸ (http://www.epa.gov/caddis/da_advanced_2.html) *Species Sensitivity Distributions* für NM-300K und Silbernitrat auf Basis der EC₅₀-Werte und Nominal-Konzentrationen berechnet (NM-300K: Abbildung 65, AgNO₃:

²⁵ Rasterelektronenmikroskopie

²⁶ Transmissionselektronenmikroskopie

²⁷ Gemeinschaft von Organismen verschiedener Arten in einem abgrenzbaren Lebensraum (Biotop)

²⁸ *United States Environmental Protection Agency*

Diskussion

Abbildung 66). Die freeware „Species Sensitivity Distribution Generator, Version 1“ basiert auf Arbeiten und Veröffentlichungen von Neter *et al.* (1990), Posthuma *et al.* (2002) und US EPA (2005).

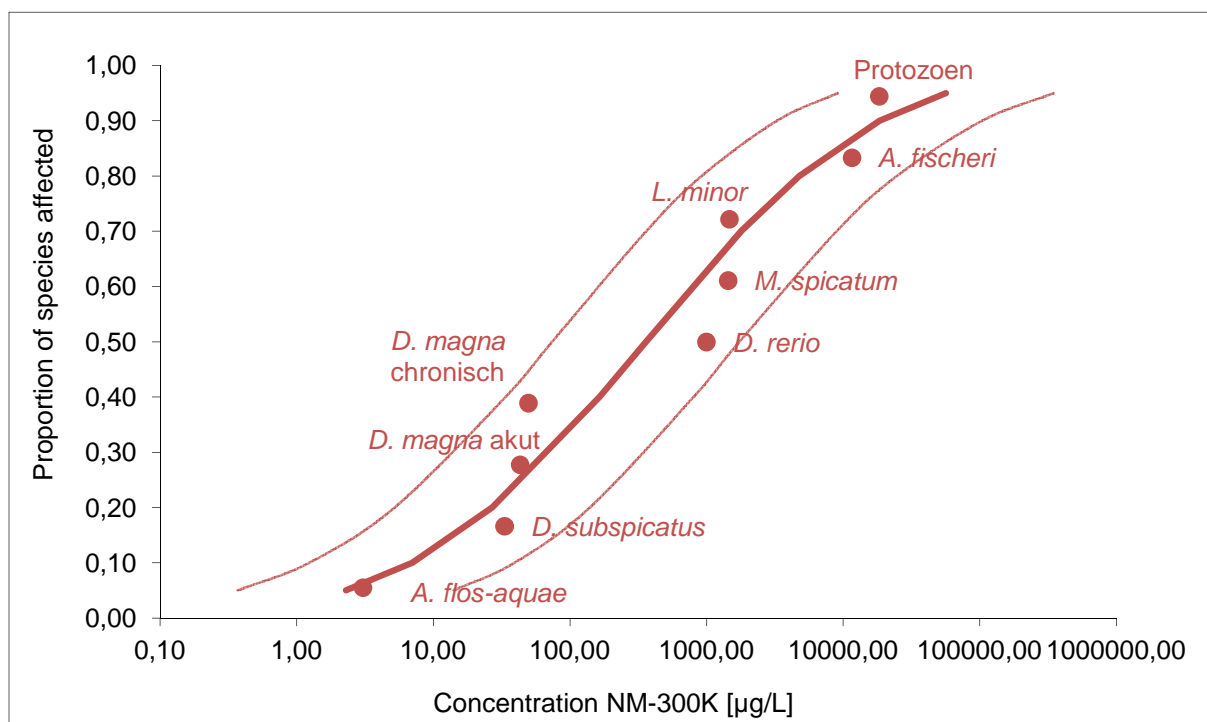


Abbildung 65: Species Sensitivity Distribution für NM-300K. Die Verteilung basiert auf den mittleren EC_{50} -Werten [$\mu\text{g/L}$] der Testorganismen inkl. 95 %-Vertrauensbereiche, berechnet aus den Nominal-Konzentrationen.

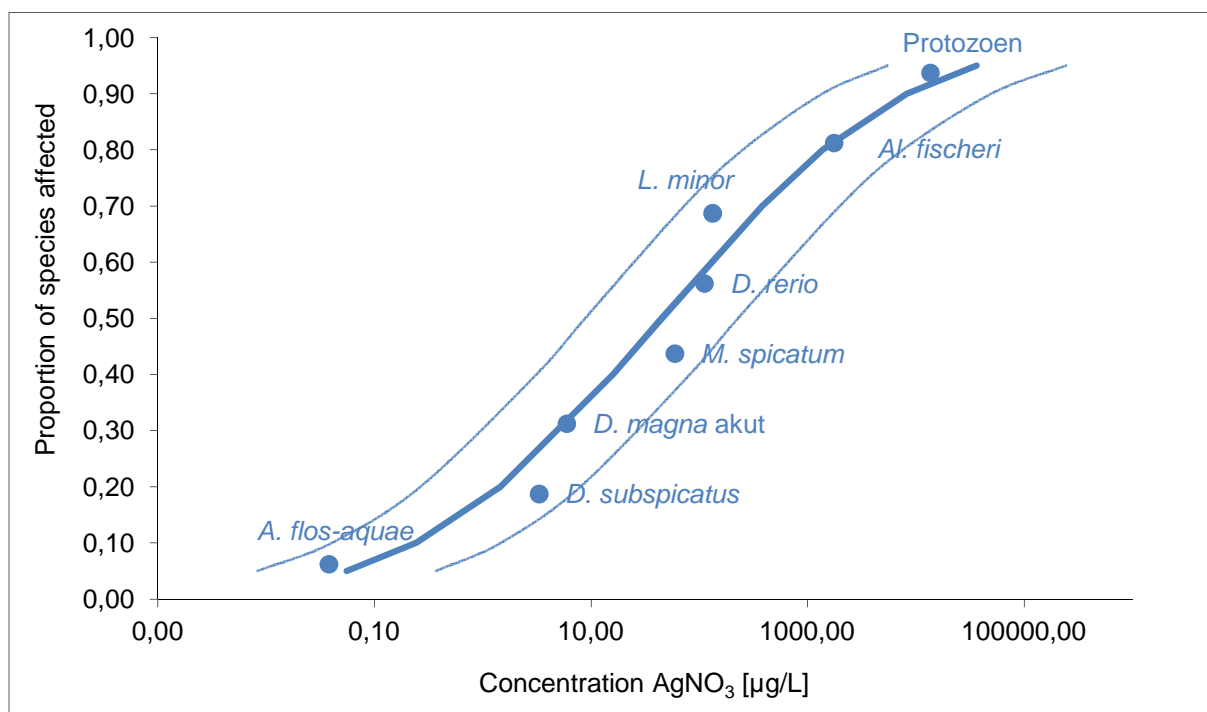


Abbildung 66: Species Sensitivity Distribution für Silbernitrat. Die Verteilung basiert auf den mittleren EC_{50} -Werten [$\mu\text{g/L}$] der Testorganismen inkl. 95 %-Vertrauensbereiche, berechnet aus den Nominal-Konzentrationen.

Spezies-Sensitivitäts-Verteilungen wie die dargestellten erlauben einen schnellen Überblick über die Reihenfolge der Empfindlichkeiten der untersuchten Organismen in Bezug auf die eingesetzte Substanz oder Verbindung. Das Cyanobakterium *A. flos-aquae* reagierte sowohl auf NM-300K als auch auf Silbernitrat von allen Testorganismen mit Abstand am sensitivsten. Die Protozoen aus Belebtschlammproben reagierten sich am wenigsten empfindlich sowohl auf NM-300K als auch auf Silbernitrat.

Ein Vergleich der beiden Abbildungen verdeutlicht sehr anschaulich, dass Silbernitrat um wenigstens eine Größenordnung toxischer auf die untersuchten aquatischen Organismen wirkt als NM-300K.

Modelle dieser Art wurden im Rahmen des UMSICHT-Projektes auch für die Risikobewertung der Ag-NP eingesetzt (siehe dazu Abschlussbericht zu AP 3.2 „Gefährdungs- und Risikoabschätzung“ des Projektpartners UBA FG 2.2).

6.3 Fazit

Bereits eingangs des Kapitels 6.2 wurde kurz auf die der toxischen Wirkung von Silber und Silberionen zu Grunde liegenden Mechanismen eingegangen. Diese Wirkmechanismen sind komplex und mannigfaltig. Veranschaulicht wird die Komplexität dieser Mechanismen gut durch eine Skizze aus Liu *et al.* (2010):

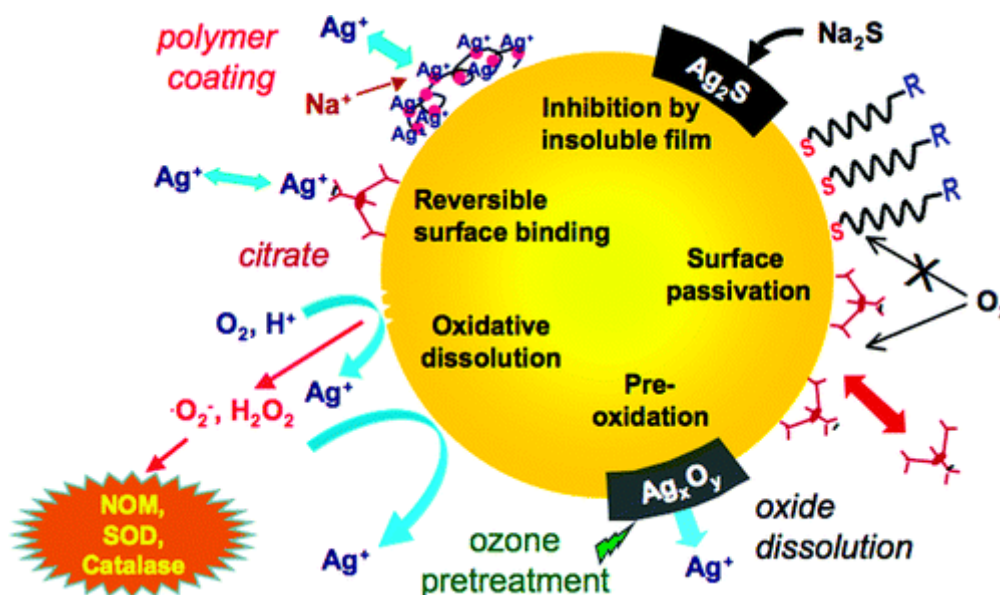


Abbildung 67: Skizze der Hauptwirkmechanismen von nanopartikulärem Silber, Silberionen und wasserlöslichen Silberkomplexen auf Bakterien und eukariotische Zellen. nach Liu *et al.* (2010).

Simon *et al.* (2000) und Lesser (2006) beschreiben die Steigerung des intrazellulären Anteils reaktiver Sauerstoffspezies (ROS²⁹) als Hauptursache für das zytotoxische Potential von nanopartikulärem Silber. Auch Völker *et al.* (2013) zählen die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies zu den Hauptwirkmechanismen (*modes of action*) von Silber in Zellen. Die Aufklärung der *modes of action* war nicht Teil des Arbeitspakets 2.3.2 im Rahmen des UMSICHT-Projektes. Die toxischen Effekte der eingesetzten AgNP wurden daher nur beschrieben aber nicht mechanistisch hinterfragt. Auf Basis der bereits erwähnten Arbeiten von Simon *et al.* (2000), Lesser (2006) und Völker *et al.* (2013) kann aber mit einiger Sicherheit davon ausgegangen werden, dass auch NM-300K – über die freigesetzten Silberionen – letztlich das ROS-Level in Zellen steigert und dadurch Schädigungen an Zellorganellen, Proteinen und Erbsubstanz bewirkt.

²⁹ *Reactive Oxygen Species*

Diskussion

Daher wirkt NM-300K auf alle untersuchten Organismen toxisch. Die akute Toxizität der eingesetzten AgNP ist jedoch durchweg geringer als die von Silbernitrat. Auch wurde gezeigt, dass die zur Stabilisierung der AgNP eingesetzten Tenside des Dispergens NM-300K DIS auf wenigstens ein Testsystem akut toxisch wirkt.

Der mit Abstand sensitivste Organismus für NM-300K ist das Cyanobakterium *A. flos-aquae*. Am wenigsten empfindlich reagierten Protozoen aus Belebtschlamm.

Wirkung und Effekte von Nanopartikeln hängen von verschiedenen Parametern ab. Neben Größe und Form der Partikel ist vor allem das sogenannte *Coating* für Eigenschaften und Funktionalisierung von Nanopartikeln von Bedeutung. So divers die Eigenschaften der Nanopartikel in der Praxis sein können, so unterschiedlich ist auch ihrer Wirkung auf lebende Organismen.

Weiter konnte gezeigt werden, dass der Zusammensetzung der eingesetzten (Nähr-) Medien eine wichtige Bedeutung zu kommt. Dies betrifft neben der kolloidalen Stabilität der Silberpartikel vor allem auch die Reaktion der freigesetzten Silberionen mit Bestandteilen der Medien. Auch die Dauer der Exposition ist ein wichtiger Faktor, da die Freisetzung von Silberionen aus AgNP über eine Funktion der Zeit beschrieben werden kann.

Ein Vergleich der Ergebnisse der ökotoxikologischen Versuche mit Ergebnissen aus international publizierten Studien zeigt, dass die ermittelten EC_x -Werte durchaus im Bereich der publizierten Daten liegen. Dies gilt natürlich nur mit der Einschränkung, dass wichtige Parameter wie Art, Größe, *Coating*... der eingesetzten NP, Expositionsbedingungen, Komposition der Medien usw. ebenso vergleichbar waren.

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass eine repräsentative versuchsbegleitende Analytik unumgänglich ist, um die Erstellung von Dosis-Wirkungsbeziehungen und die Berechnung von EC_x -Werten für die Risikobewertung auf ein realistisches und damit zuverlässiges Fundament zu stellen.

7 Quellenangaben

- Asghari, S., Johari, S. A., Lee, J. H., Kim, Y., S., Jeon, Y. B., Choi, H., J., Moon, M. C., Yu, I. J.: Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. Journal of Nanobiotechnology 2012, 10:14, <http://www.jnanobiotechnology.com/content/10/1/14>, 2012.
- Arbeitsgruppe „Textilien“ des BfR: Gesundheitliche Bewertung von Textilhilfsmitteln und –farbstoffen. 2006.
- Barig, A.: Überblick zur Expositionssituation. BIA/BG-Symposium, Allgemeiner Staubgrenzwert. 2002
- Baumann, J., Sakka, Y., Bertrand, C., Köser, J., Filser, J.: Adaptation of the *Daphnia* sp. acute toxicity test: miniaturization and prolongation for the testing of nanomaterials. Environ Sci Pollut Res., DOI 10.1007/s11356-013-2094-y. 2013.
- Benn, T.M. & Westerhoff, P.: Environmental Science & Technology. 42 (11), 4133-4139. 2008.
- Berne, B. J., Pecora, R.: Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics. Publisher: Wiley, New York, Dover reprint. 1976, 2000.
- BMU/UBA Umweltpolitik: Wasserwirtschaft in Deutschland, Teil 2 – Gewässergüte. 2006.
- DIN 38412-33: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen (L 33)
- DIN EN 28692: Wasserbeschaffenheit; Wachstumshemmtest mit den Süßwasseralgen *Scenedesmus subspicatus* und *Selenastrum capricornutum* .
- DIN EN ISO 11348-2: Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest), Teil 2: Verfahren mit flüssig getrockneten Bakterien (Mai 2009)
- Luoma, S.N., Tyler, C.R., Galloway, T.S., Lead, J.R.: Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. 2011 Feb;37 (2):517-31. doi: 10.1016/j.envint. 2010.10.012. Epub 2010 Dec 14. 2010.
- Fedotov, P. S., Vanifatova, N. G., Shkinev, V. M., Spivakov, B. Y.: Fractionation and characterization of nano- and microparticles in liquid media. Anal Bioanal Chem 400:1787–1804. 2011
- Filser et al.: Antrag zum Verbundvorhaben „UMSICHT“ im Rahmen der Ausschreibung „NanoNature: Nanotechnologien für den Umweltschutz – Auswirkungen synthetischer Nanomaterialien auf die Umwelt“, Januar 2010.
- Gaiser, B. K., Fernandes, T.F., Jepson, M., Lead, J.R., Tyler, C.R., Stone, V.: Assessing exposure, uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles from contaminated environments. Environ Health 8:S2. 2009.
- Gaiser et al.: SETAC Europe, 18th Meeting, Warswa. 2008.
- Geranio, L., Heuberger, M., Nowack, B.: The Behavior of Silver Nanotextiles during Washing. Environ. Sci. Technol. 43: 8113–8118. 2009.
- Glover, C.N. & Wood, C.M.: Aquatic Toxicology, 73 (4), 406-417. 2005.
- Hagemann, H. J., Gudat, W. and Kunz, C.: Optical constants from the far infrared to the x-ray region. J. Opt. Soc. Am., 65, 742, 1975.
- Harris, A.T. & Bali, R.: Journal of Nanoparticle Research. 10, 691-695. 2008.
- Huang, L., Wang, D., Tang, H., Wang, S.: Separation and purification of nano-Al₁₃ by UF method. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 275: 200–208. 2006.
- Hund-Rinke, K., Schlich, K., Wenzel, A.: TiO₂ nanoparticles – Relationship between dispersion preparation method and ecotoxicity in the algal growth test. Umweltwissenschaften und Schadstofforschung, 22:517–528, DOI 10.1007/s12302-010-0147-0, 2010.

Quellenangaben

- Klein, C. L., Comero, S., Stahlmecke, B., Romazanov, J., Kuhlbusch, T. A. J., Van Doren, E, De Temmerman, P-J., Mast, J., Wick, P., Krug, H., Locoro, G., Hund-Rinke, K., Kördel, W., Friedrichs, S., Maier, G., Werner, J., Linsinger, T., Gawlik, B. M.: NM-300 silver characterisation, stability, homogeneity. EUR—Scientific and Technical Research Reports, JRC Publication No. JRC60709, EUR 24693 EN, Publications Office of the European Union. doi:10.2788/23079. 2011.
- Köser, J.: Lichtstreuung in trüben Flüssigkeiten. Dissertation / PhD thesis, Universität Bremen. 2007.
- Laruelle, S., Nørgaard Sørensen, S., Cupi, D., Engelbrekt, C., Veinot, J., Baun, A.: Understanding Toxicity of Silver Nanoparticles to Green Algae - Towards a Biotic Ligand . Posterbeitrag SETAC Europe 2013, Glasgow, UK. 2013.
- Lesser MP (2006) Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annu Rev Physiol* 68:253–278
- Liu, J., Sonshine, D. A., Shervani, S., Hurt, R. H.: Controlled Release of Biologically Active Silver from Nanosilver Surfaces. *ACS Nano*, 2010, 4 (11), pp 6903–6913, DOI: 10.1021/nn102272n. 2010
- Maletzki, D., Hünken, A., Hübner, I., Kussatz, C.: *Myriophyllum spicatum* als ökotoxikologischer Testorganismus: Methodenentwicklung eines sedimentfreien Testsystems und erste Ergebnisse mit 3,5-Dichlorphenol. *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung*, Volume 22, Issue 6, pp 702-710. 2010.
- Mohanraj, V. J., Chen, Y.: Nanoparticles – A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, June 2006; 5 (1): 561-573. 2006.
- Morones, J.R. et al.: *Nanotechnology* , 16(10), 2346-2353.2005.
- Morones-Ramirez, J.R., Winkler, J. A., Spina, C. S., Collins, J.J.: Silverenhances antibiotic activity against gram-negative bacteria. *Sci Transl Med.*;5(190):190ra81. doi: 10.1126/scitranslmed.3006276. 2013.
- Muth-Köhne, E., Sonnack, L., Schlich, K., Hischen, F., Baumgartner, W., Hund-Rinke, K., Schäfers, C., Fenske, M.: The toxicity of silver nanoparticles to zebrafish embryos increases through sewage treatment processes. *Ecotoxicology*. DOI 10.1007/s10646-013-1114-5. 2013.
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Niksa, O., Sigg, L., Behra, R.: Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Sci. Technol.* 42: 8959–8964. 2008.
- Neter, J., Wasserman, W., Kutner, M. H.: *Applied Linear Statistical Models*. 3rd ed. Irwin, Boston, MA. 1184 pp. 1990.
- Nichols, J.W. et al.: *Aquatic Toxicology*, 78(3), 253-261. 2006.
- OECD Guideline Draft “Fish Embryo Toxicity (FET) Test” (2006).
- OECD Guideline Draft “Protozoa Activated Sludge Phagocytosis Inhibition Test” (2009).
- OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 201 (2006): “Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test”.
- OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 204 (2004): „Daphnia sp. Acute Immobilisation Test“.
- OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 211 (1998): „Daphnia magna Reproduction Test“.
- OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS, No. 221 (2006): “Lemna sp. Growth Inhibition Test“.
- OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials, WPNM. 2008.
- Oromieh, A. G.: Evaluating solubility, aggregation and sorption of nanosilver particles and silver ions in soils. Master’s Thesis in Environmental Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Soil and Environment. 2011.
- Pavlostathis, S.G. & Maeng, S.K.: *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(4), 617-624, 1998.
- Pavlostathis, S.G. & Maeng, S.K.: *Water Research*, 34(16), 3957-3966. 2000.

Quellenangaben

Posthuma, L., Suter II, G. W., Traas, T. P.: Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. 587 pp. 2002.

Ratte, H.T.: Silberverbindungen: Umweltverhalten, Bioakkumulation, Toxizität. Verlagsgruppe Hüthig, Jehle und Rehm, Landsberg. 1998.

Ribeiro, F., Gallego-Urrea, J. A., Jurkschat, K., Crossley, A., Hassellöv, M., Taylor, C., Soares, A. M. V. M., Loureiro, S.: Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio*. Science of the Total Environment 466–467 (2014) 232–241. 2013 (online).

Römer, I., White, T.A., Baalousha, M., Chipman, K., Viant, M.R., Lead, J.R.: Aggregation and dispersion of silver nanoparticles in exposure media for aquatic toxicity tests. Journal of Chromatography A. 1218 (2011) 4226–4233. 2011

Schlich, K., Klawonn, T., Terytze, K., Hund-Rinke, K.: Hazard assessment of a silver nanoparticle in soil applied via sewage sludge. Environmental Sciences Europe, 25:17, 2013.

Simon, H. U., Haj-Yehia, A., Levi-Schaffer, F.: Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. Apoptosis 5:415–418. 2000)

Stieß, M.: Mechanische Verfahrenstechnik. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1995.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA): Methods/indicators for determining when metals are the cause of biological impairments of rivers and streams: species sensitivity distributions and chronic exposure-response relationships from laboratory data. Cincinnati, Ohio, U.S. EPA, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment. 2005.

Verordnung (EG) Nr. 761/2009 der Kommission vom 23. Juli 2009 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) zwecks Anpassung an den technischen Fortschritt, Anhang IV, C.3. „Süßwasseralgen und Cyanobakterien: Wachstumsinhibitionstest“.

Verordnung (EG) Nr. 761/2009 der Kommission vom 23. Juli 2009 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) zwecks Anpassung an den technischen Fortschritt, Anhang IV, C.26. „Lemna sp. – Wachstumsinhibitionstest“.

Verordnung (EG) Nr. 440/2008 der Kommission vom 30. Mai 2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), C.2. „Daphnia sp.- Test auf akute Schwimmunfähigkeit“.

Verordnung (EG) Nr. 440/2008 der Kommission vom 30. Mai 2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), C.20. „Daphnia magna, Reproduktionstest“.

Völker, C., Boedicker, C., Daubenthaler, J., Oetken, M., Oehlmann, J.: Comparative Toxicity Assessment of Nanosilver on Three *Daphnia* Species in Acute, Chronic and Multi-Generation Experiments. PLOS ONE, October 2013 | Volume 8 | Issue 10 | e75026. 2013.

Völker, C., Oetken, M., Oehlmann, J.: The biological effects and possible modes of action of nanosilver. Rev Environ Contam Toxicol 223: 81–106. 2013.

Wang, Z., Chen, J., Li, X., Shao, J., Peijnenburg, W.J.G.M.: Aquatic toxicity of nanosilver colloids to different trophic organisms: Contributions of particles and free silver ion. Environ Toxicol Chem 31: 2408–2413. 2012.

Wood, C.M. et al.: Aquatic Toxicology. 56(3), 197-213. 2002.

Zhao, C.M., Wang, W.X.: Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. Environ Toxicol Chem ;30:885–92, 2011.

8 Veröffentlichungen

Vorträge:

- „Zwischenbericht: Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt- UMSICHT“, UMSICHT-Projekttagung, Marburg, Februar 2011
- „Silber-Nanomaterialien in Standardtests zur Risikobewertung für aquatische Lebensräume“, 16. SETAC GLB Jahrestagung, Universität Koblenz-Landau, September 2011
- „Ergebnisse AP 2.3.2: Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme“, UMSICHT-Projekttagung, Hannover, September 2011
- „Projekt UMSICHT - Sachstand und Planungen zur Ökotoxikologie von Nanosilber“, Fachtagung Nanotechnologie und Wasserwirtschaft, Düsseldorf, November 2011
- „Ergebnisse AP 2.3.2: Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme“, UMSICHT-Projekttagung, Frankfurt, März 2012
- „Ergebnisse AP 2.3.2: Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme“, UMSICHT-Projekttagung, Dresden, September 2012
- „Ergebnisse AP 2.3.2: Erfassung der Wirkung – Aquatische Systeme“, UMSICHT-Projekttagung, Berlin, März 2013

Veröffentlichungen:

- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Dezember 2010
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Juli 2011
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Januar 2012
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Juli 2012
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Januar 2013
- Zwischenbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Juli 2013
- Abschlussbericht „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien – vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt – UMSICHT“, Dezember 2013

Veröffentlichungen

Poster:

- „Silver nanoparticles in aquatic environments: Tiny element –huge impact?“, Christian Polleichtner & Andreas Hünken, NORMAN-Workshop, Koblenz, Oktober 2010
- „Silber-Nanopartikel in aquatischen Lebensräumen: Kleine Partikel mit großer Wirkung?“, A. Hünken, C. Polleichtner & C. Kussatz, 1. Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, Mai 2011
- „Silber-Nanopartikel in Standardtests zur Risikobewertung für aquatische Lebensräume“, A. Hünken, C. Polleichtner & C. Kussatz, SETAC GLB, Landau, September 2011
- „Effekte von Silber-Nanopartikeln auf aquatische Modellorganismen“, C. Polleichtner, A. Hünken & C. Kussatz, 2. Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, März 2012
- “Impact, behaviour and fate of silver nanoparticles in aquatic environments”, C. Polleichtner, A. Hünken, R. Lehmann, SETAC World, Berlin, Mai 2012
- „Ökotoxikologie von Silber- Nanopartikeln: Effekte und Verhalten in aquatischen Modellsystemen“, A. Hünken, C. Polleichtner, J. Köser, SETAC GLB, Leipzig, September 2012
- „Ökotoxikologie von Silber-Nanopartikeln: Effekte und Verhalten in aquatischen Modellsystemen“, C. Polleichtner, A. Hünken, J. Köser, C. Kussatz, 3. Clustertreffen der BMBF-Fördermaßnahmen *NanoCare* und *NanoNature*, Frankfurt, Januar 2013
- „The ecotoxic potential of silver nanoparticles: Effects and behaviour in aquatic model systems.“, C. Polleichtner, J. Köser & C. Kussatz, SETAC Europe, Glasgow, Mai 2013

Anlage 3 zum Abschlussbericht **UMSICHT**

Abschlussbericht zum Arbeitspaket 3.2

Ausführende Stelle: Umweltbundesamt, FG IV 2.2
Arzneimittel, Wasch- und Reinigungsmittel,
Nanomaterialien

Zuweisungsempfänger: UBA - Umweltbundesamt	Förderkennzeichen: 03X0091D
Vorhabensbezeichnung: „Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien - vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt - UMSICHT“	
Laufzeit des Vorhabens: 01. Mai 2010 bis 31. Juli 2013	

UMSICHT



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Verbundvorhaben

UMSICHT

“Abschätzung der **Umwelt**gefährdung durch **Silber**-Nanomaterialien:
Vom **chemischen** Partikel bis zum **technischen** Produkt.“

im Rahmen der Ausschreibung „**NanoNature**“:

„Nanotechnologien für den Umweltschutz - Auswirkungen synthetischer
Nanomaterialien auf die Umwelt“

Abschlussbericht der ausführenden Stelle:

Umweltbundesamt

FG IV 2.2 – Arzneimittel, Wasch- und Reinigungsmittel und Nanomaterialien

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) unter dem Förderkennzeichen 03X0091D gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Kontaktperson zum Abschlussbericht:

Dr. Doris Völker
Umweltbundesamt
FG IV 2.2
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Dessau-Roßlau, Dezember 2013

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Abkürzungen

1	Zusammenfassung	1
2	Hintergrund.....	2
2.1	Einleitung und Ziele der Studie.....	2
2.2	Freisetzung von Silbernanopartikeln am Beispiel Textilien	4
3	Expositionsszenarien	5
3.1	Allgemeines zu den verwendeten Szenarien	5
3.2	Technologiebasiertes Szenario.....	5
3.3	Tonnagebasiertes Szenario.....	7
4	Umweltkonzentration (PEC).....	7
4.1	Freisetzung von NM-300K aus Textilien.....	7
4.2	Auswahl der Szenarien.....	9
4.2.1	Szenario A	9
4.2.2	Szenario B.....	9
4.2.3	Szenario C.....	9
4.3	Bestimmung der Emission in die Standard-Kläranlage	10
4.4	Konzentration in der Kläranlage	12
4.5	Umweltkonzentration (PEC) in Oberflächengewässern und Sedimenten.....	13
4.6	Umweltkonzentration (PEC _{soil}) in Böden (über Klärschlamm).....	16
4.7	Zusammenfassung der berechneten Umweltkonzentrationen (Technologiebasiertes Szenario)	18
4.8	Umweltkonzentrationen für das Tonnage-basierte Szenario.....	19
5	Wirkkonzentrationen	20
5.1	NM-300K: Wirkkonzentrationen im Belebtschlamm	20
5.2	NM-300K: Wirkkonzentrationen in Oberflächengewässern.....	21
5.3	NM-300K: Wirkkonzentrationen in Sedimenten	22
5.4	NM-300K: Wirkkonzentrationen in Böden.....	30
6	Risikoabschätzung	30
6.1	Abschätzung für Kläranlagen.....	31
6.2	Abschätzung für Oberflächengewässer	32
6.3	Abschätzung für Sedimente	32

6.4	Abschätzung für Böden (via Klärschlamm).....	33
6.5	Ansatz zur Bestimmung von Grenzwerten von Nanosilber im Belebtschlamm	34
7	Zusammenfassung der Umweltbewertung.....	37
8	Diskussion.....	38
8.1	Umweltbewertungen für Nanosilber in der Literatur	38
8.2	Limitierende Faktoren.....	39
8.3	Relevanz der Ergebnisse und Grenzen der Aussagekraft.....	43
8.4	Empfehlungen zur Verbesserung der Risikobewertung von Nanomaterialien	44
9	Gewässergütekriterien	44
10	Resistenzen	46
11	Entsorgung auf Deponien	47
12	Quellenverzeichnis.....	48

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung des Expositionsszenarios das im BMBF Projekt UMSICHT gewählt wurde.....	7
--	---

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Waschversuche mit NM-300K beschichteten oder inkorporierten Fasern.....	9
Tabelle 2: Zusammenfassung der einzelnen Szenarien, die für die Berechnung der Umweltkonzentration betrachtet wurden	10
Tabelle 3: Allgemeine Annahmen zur Abschätzung der Freisetzung von Nanosilber aus Textilien	11
Tabelle 4: Allgemeine Annahmen zur Berechnung der C_{effluent} und C_{sludge} für Nanosilber aus Textilien	12
Tabelle 5: Konzentration für NM-300K aus Textilien in Klärschlamm und Effluent (UMSICHT).....	13
Tabelle 6: Annahmen zur Abschätzung der Umweltkonzentrationen in Oberflächengewässern.....	14
Tabelle 7: Annahmen zur Abschätzung der Umweltkonzentrationen in Sedimenten	15
Tabelle 8: Annahmen zur Abschätzung der Umweltkonzentrationen in Böden PEC_{soil} , eingetragen über Klärschlamm	17
Tabelle 9: Umweltkonzentrationen für NM-300K aus Textilien in Böden, eingetragen über Klärschlamm (UMSICHT).....	18
Tabelle 10: Übersichtstabelle der berechneten Konzentrationen für Belebtschlamm und Umweltkonzentrationen an Nanosilber	18
Tabelle 11: Annahmen zur Berechnung der Emission in die Kläranlage für das auf Tonnage basierende Emissionsszenario	19
Tabelle 12: Datensatz aus UMSICHT zu Wirkkonzentrationen von NM-300K.....	23
Tabelle 13: Literaturdaten zu Wirkkonzentrationen von Nanosilber	26
Tabelle 14: Risikobewertung für Kläranlagen.....	31
Tabelle 15: Risikobewertung für das Oberflächengewässer	32
Tabelle 16: Risikobewertung für Sediment	33
Tabelle 17: Risikobewertung für Boden via Klärschlamm	33
Tabelle 18: Auflistung der durchgeführten Versuche, vorhandene Wirkkonzentrationen und die daraus resultierenden Sicherheitsfaktoren für die Risikoabschätzung	36
Tabelle 19: Mittelwerte für gelöstes Silber in Oberflächengewässern	45
Tabelle 20: Vergleich der Jahresmittelwerte an gelöstem Silber mit der Umweltqualitätsnorm (0,02 $\mu\text{g/L}$) von 2009 bis 2011	45
Tabelle 21: Jahreskennzahlen für gelöstes Silber	46

Abkürzungen

AbfKlärV	Klärschlammverordnung
AgNP	Silbernanopartikel
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ECHA	European Chemicals Agency
EC _x	Effektkonzentration; Wirkkonzentration: ist die Konzentration in einem Versuch, die bei dem gemessenen Parameter zu einer x-prozentigen Hemmung im Vergleich zu der Kontrolle führt
E _y C _x	Effektkonzentration; Wirkkonzentration Endpunkt „Yield“
E _r C _x	Effektkonzentration; Wirkkonzentration Endpunkt „Growth“
FET	Fisch-Embryo-Test
LC _x	Letale Konzentration; ist die Konzentration in einem Versuch, die zu einer x-prozentigen Mortalität im Vergleich zu der Kontrolle führt
MEC	Measured environmental concentrations
NOEC	No observed effect concentration: ist die höchste getestete Konzentration bei der keine signifikante Hemmung im Vergleich zur Kontrolle hervorgerufen wird
PEC	Predicted environmental concentration (vorhergesagte Umweltkonzentration)
PNEC	Predicted no observed effect concentration (vorhergesagte Konzentration ohne Effekte)
TG	Test Guideline
TGD	Technical Guidance Document
TM	Trockenmasse (Boden oder Sediment)
TS	Trockensubstanz (Klärschlamm)
WGK	Wassergefährdungsklasse
UBA	Umweltbundesamt

1 Zusammenfassung

Im Rahmen des BMBF-geförderten Verbundvorhabens „UMSICHT - Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien: Vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt.“ wurde durch das Fachgebiet IV 2.2 des Umweltbundesamtes (UBA) das Arbeitspaket 3.2 „Gefährdungs- und Risikoabschätzung“ federführend betreut und bearbeitet.

Auf Grundlage der Ergebnisse aus UMSICHT wurde in Zusammenarbeit mit weiteren Partnern des Arbeitspaketes (v. a. Partner IME (Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie Schmallenberg)) und in Absprache mit weiteren Fachgebieten des Fachbereichs Chemikaliensicherheit des UBA eine exemplarische Umweltgefährdungs- und Risikoabschätzung des Nanosilbers NM-300K - eingesetzt in Textilien - erarbeitet. Diese erfolgt anhand der Ergebnisdokumentationen nach Abschluss der Arbeiten im AP 2. Darüber hinaus wurde die Notwendigkeit und Problematik der Anpassung an die Qualitätskriterien der Gewässergüte für Silber anhand der Ergebnisdokumentationen zur Ökotoxikologie und Umweltverfügbarkeit von Nanosilber im aquatischen Bereich diskutiert. Ebenso wurden Aspekte der Entsorgung von nanosilberhaltigen Produkten und der Resistenzbildung in der Umwelt adressiert. Auch Faktoren, die die Gefährdungs- und Risikoabschätzung derzeit limitieren, wurden im Rahmen dieses Vorhabens aufgeführt.

Im Rahmen dieser Arbeiten wurden Expositionsszenarien (Kläranlagenpfad ausgehend von Privathaushalten) entwickelt, aus denen PECs (*predicted environmental concentrations*) für die verschiedenen Umweltkompartimente (Oberflächengewässer, Boden (aus Klärschlamm,) Sediment) abgeleitet wurden, die dann mit den PNECs (*predicted no effect concentrations*) aus den in UMSICHT erarbeiteten Effektkonzentrationen in Relation gestellt wurden. Auf Basis der gewählten Szenarien und vorausgesetzten Bedingungen wurde für keines der untersuchten Umweltkompartimente ein Risiko ausgehend vom Nanosilber NM-300K festgestellt. Es wird darauf hingewiesen, dass diese Bewertung allein für NM-300K und nur für die Anwendung in Privathaushalten genutzten Textilien gültig ist. Eine Empfehlung zur Anpassung der Umweltqualitätsnorm für Silber kann auf Basis der vorhandenen Ergebnisse nicht ausgesprochen werden. Hierzu werden weitere, nanospezifische Daten benötigt. Es wird die Einführung der Messung des Silbergesamtgehaltes in Klärschlamm empfohlen. Eine Erhöhung des Silbergehaltes würde als Indikator für ein mögliches Risiko durch eine potentielle Belastung mit Nanosilber, welches Teil des Gesamtsilbers wäre, dienen.

Die Daten zur Ökotoxikologie und Umweltverhalten des untersuchten Nanosilbers NM-300K aus dem Projekt UMSICHT dienen als deutscher Beitrag für das Testprogramm zu Nanosilber der OECD Arbeitsgruppe „Working Party on Manufactured Nanomaterials“ (WPMN). Diese Daten inklusive der physikalisch-chemische Beschreibung während der Testversuche wurden vom Partner UBA in die Projektinstallation für UMSICHT der Datenbank NANOhub des JRC eingegeben. Die Daten aus dieser Projektinstallation wurden termingerecht für die Erstellung des Dossiers zu Nanosilber zusammengestellt. Die gemeinsame Erstellung des Dossiers für Nanosilber erfolgt zusammen mit den Lead-Sponsoren für Nanosilber im Testprogramm Korea und USA.

2 Hintergrund

2.1 Einleitung und Ziele der Studie

Silbernanopartikel bieten eine Vielzahl an Einsatzmöglichkeiten in den verschiedensten Produkten. Dies liegt vor allem an der antibakteriellen Wirkung hervorgerufen durch die Freisetzung von Silberionen und der daraus resultierenden Hemmung des Wachstums von Mikroorganismen.

Silber wird aufgrund seiner bioziden Wirkung gegenüber Algen, Pilzen und Mikroorganismen bereits seit Jahrhunderten eingesetzt. Als kolloidales Silber, das Partikel in und über dem nanoskaligen Bereich in Lösung beinhaltet (Nowack, 2010), fand und findet Silber im medizinischen Bereich Anwendung z.B. zur Desinfektion oder Wundaufgabe. Dies ist möglich, da Silber für höhere Lebewesen nur in sehr hohen Konzentrationen toxisch ist. Die Toxizität von Silberverbindungen ist bereits eingehend untersucht (Ratte, 1999). Der generelle Mechanismus der toxischen Wirkung von Silber beruht auf der Abgabe von Ionen aus den Silberverbindungen, wenn metallisches Silber unter Kontakt mit Wasser oxidiert. Die Ionen interagieren mit Thiol-Gruppen von Proteinen und führen zur Destabilisierung von Zellmembranen, blockieren Transportsysteme oder binden im Zellinneren an Proteine und stören diese so in ihrer Funktion. Silber stört darüber hinaus die DNS Replikation.

Heute ist es möglich, gezielt und definiert nanoskaliges Silber herzustellen. Dadurch treten neue spezifische Anwendungsbereiche für Nanosilber in den Mittelpunkt. Diese beinhalten die präzise Behandlung von Materialien und Oberflächen mit synthetisiertem nanoskaligem Silber definierter Größe und Eigenschaften. Es ist weitgehend anerkannt, dass auch die Toxizität von synthetisiertem Nanosilber im Grunde auf der Ionentoxizität beruht, es wird aber derzeit intensiv diskutiert, ob Nanosilber neben der Ionen-vermittelten Toxizität eine weitere Nanopartikel-spezifische Toxizität aufweist, die von der physikalischen Interaktion des Nanomaterials vermittelt wird (Fabrega et al., 2011).

Für Silbernanopartikel (in einem Größenbereich von 1 – 10 nm) wurde gezeigt, dass es zu einer Anlagerung an die Zellmembran kommen kann, wodurch deren Funktionalität (Permeabilität, Respiration) gestört wird. Überwinden Nanosilbermaterialien biologische Membranen, könnten sie so direkt in der Zelle Ionen abgeben (Carlson et al., 2008; Wei et al., 2010). Damit könnten Silbernanomaterialien eine Art Depotwirkung ausüben und Ionen lokal und über die Zeit abgeben. Das Eindringen der Nanosilberpartikel ist dabei größenabhängig (Wei et al. 2010). Hier gilt für Silbernanopartikel, dass aufgrund der größeren Oberfläche von kleineren Partikeln mehr Ionen freigesetzt werden (Ma et al., 2012). Dabei sind lokal erhöhte Konzentrationen an Silberionen nicht auszuschließen.

Verschiedene Studien haben darüber hinaus gezeigt, dass die Anwesenheit von Nanosilber intrazellulär den Anteil an freien Sauerstoffradikalen (ROS) erhöht, was zu oxidativem Stress mit Schäden an Lipiden, Proteinen und DNA führen kann (Arora et al., 2009; AshaRani et al., 2009; Wei et al., 2010).

Das Einsatzgebiet von Silbernanopartikeln zur antibakteriellen Wirkung umfasst die Luft- und Raumfahrttechnik, die Gesundheitspflege und verschiedene Verbrauchsgüter (Ahamed et al., 2010). Ebenso werden Silbernanopartikel in Lebensmittelverpackungen, den Innenbereichen von Automobilen und verschiedenen Baustoffen, die z.B. im Sanitärbereich von Wohnungen verwendet werden, genutzt (Blaser et al., 2008). Ein weiteres großes Feld, in dem Silbernanopartikel immer öfter angewendet werden, stellt die Medizin dar. Hier werden Silbernanopartikel z.B. auf Bandagen und auf die Oberfläche von neurochirurgischen Shunts und Kathetern aufgebracht. Auch in Knochenzement und Implantaten werden Silbernanopartikel aufgrund ihrer antibakteriellen Wirkung eingearbeitet (Chaloupka et al., 2010). Nach Angaben des „Inventory of Nanotechnology-based Consumer Products (Project on Emerging

Nanotechnologies)“ wurden Silbernanopartikel im Jahr 2011 in mehr als 313 kommerziell vertriebenen Produkten genutzt. Dabei werden die Silbernanopartikel vorrangig in Produkten der Gesundheitsvorsorge und in Fitnessprodukten eingesetzt, welche Körperpflege- und Kosmetikartikel genauso umfassen wie Kleidung und Sportbekleidung (Woodrow Wilson International Center for Scholars, 2011).

Das Wachstum von Bakterien auf Textilien kann durch eine antibakteriell wirkende Beschichtung der Textilien oder durch den Einbau eines Biozids in eine synthetische Faser während der Extrusion vermindert werden. Die Produktion von Textilien mit antibakterieller Wirkung wurde auf 100.000 Tonnen weltweit für das Jahr 2000 geschätzt, mit einer jährlichen Zunahme von mehr als 15% (Yuan and Cranston, 2008). Nach Berechnungen des „Silver Institute“ 2011 werden zwischen 9 (Burkhardt et al., 2011) und 45 (UBA, 2007) Tonnen biozides Silber in Textilien genutzt, von denen zwischen 13 und 79% nanopartikulär sind. Dies würde bedeuten, dass weltweit ca. 1,2 bis 36 Tonnen Nanosilber in Textilien verwendet wurden (berichtet in Windler et al. (2013)). Wie der Vergleich dieser Studie mit weiteren Studien zu diesem Thema z.B. von Piccinno et al. (2012) zeigt, muss berücksichtigt werden, dass die Abschätzungen zum Gebrauch von Nanosilber in Textilien sehr stark schwanken können. So liegt zwischen den Angaben für Europa zwischen den Studien von Burkhardt et al. (2011) (0,2t/a in Europa) und Piccinno et al. (2012) (umgerechnet ~2,25 t/a in Europa), ein Faktor von 10 (~ 2,05 t Nanosilber pro Jahr). Im Rahmen des Verbundvorhabens UMSICHT wurde in Abhängigkeit der zugrunde gelegten Daten ebenfalls eine große Spannweite für den Nanosilbereinsatz in Textilien ermittelt. In der im Rahmen des Projektes vorgenommenen Lebenszyklusanalyse wird für ein realistisches Szenario ein Wert von 1,2 t/a Nanosilber für die Anwendung in Textilien in Europa abgeschätzt. Dies entspricht für Deutschland einer Verwendung von Nanosilber in Textilien von 190 kg pro Jahr.

Der vermehrte Einsatz von Silber – und damit auch Nanosilber – als antimikrobielles Biozid wird heute auch beeinflusst durch das generelle Interesse, den Einsatz organischer Chemikalien in diesem Bereich zu reduzieren und Alternativen zu nutzen, die in geringeren Konzentrationen eingesetzt werden können und darüber hinaus in einer breiteren Anwendungspalette zum Einsatz kommen können (Nowack 2010). Mit steigendem Anwendungsbereich und einhergehendem Anstieg der Produktionsmenge an Silbernanopartikeln steigt gleichzeitig aber die Gefahr einer Freisetzung aus z.B. Kleidung bereits nach ein- oder mehrmaligem Waschen. Diese freigesetzten Silbernanopartikel werden unweigerlich in die Kläranlagen gelangen. Der Gebrauch von Silber in der traditionellen Fotografie führte im letzten Jahrhundert zu einer enormen Umweltbelastung. Silber wirkt toxisch auf Wasserorganismen und ist daher als stark wassergefährdend (WKG3) eingestuft. Durch die Einführung strengerer Gesetzgebung, sowie den Rückgang der analogen Fotografie sind auch die Umweltkonzentrationen von Silber zurück gegangen. Inwiefern der auflebende Einsatz von Silberverbindungen inklusive Nanosilber in den verschiedensten Produkten diesen positiven Trend aufhebt, gilt es zu prüfen.

Das Ziel des Forschungsprojektes „Umsicht – Abschätzung der Umweltgefährdung durch Silber-Nanomaterialien: vom chemischen Partikel bis zum technischen Produkt.“, gefördert vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (2010 - 2013), war die Generierung grundlegender Daten zu Verhalten, Verbleib und Wirkung von Silbernanopartikeln und die Erfassung möglicher Umweltrisiken. Fragestellungen, die untersucht werden sollten, bezogen sich auf den Zustand und die Menge an Silbernanopartikeln, welche durch den Einsatz und Gebrauch dieser Partikel in die Umwelt, z.B. durch Waschwasser und Abrieb, eingetragen wird. Darüber hinaus wurde untersucht, ob die Silbernanopartikel in dieser Form und diesen Mengen Auswirkungen auf essenzielle Leistungen terrestrischer oder aquatischer Mikroorganismen haben und wie Modifikationen der Silbernanopartikel ihre Wirkung beeinflussen.

Auf Grundlage der gesammelten Informationen aus dem BMBF Projekt UMSICHT wird anhand eines der im Projekt untersuchten Silbernanopartikel (NM-300K) eine exemplarische Umweltbewertung für Silbernanopartikel, die aus Textilien freigesetzt werden, angefertigt. Diese Bewertung erfolgt auf Grundlage der regulatorischen Vorgaben der Stoffbewertung am Umweltbundesamt (UBA).

Zusätzlich wird anhand von vorliegenden Werten die Notwendigkeit und Umsetzbarkeit einer eigenen Umweltqualitätsnorm für Nanosilber diskutiert. Darüber hinaus erfolgen kurze Literatur-basierte Darstellungen zu aktuell als auch im UMSICHT-Konsortium geführten Diskussion zum Verhalten von Nanosilber bei Entsorgung durch Deponierung als auch das Risikopotential einer Resistenzbildung von Bakterien bei vermehrtem Auftreten von Silber und Nanosilber in der Umwelt.

2.2 Freisetzung von Silbernanopartikeln am Beispiel Textilien

In der Literatur wurde am Beispiel der Textilien dargestellt, dass Silbernanopartikel aus Produkten wie z.B. Socken freigesetzt werden können (Benn and Westerhoff, 2008; Danish Ministry of the Environment, 2012; Geranio et al., 2009; Lorenz et al., 2012) und somit den Weg in die Umwelt finden. Hierzu gibt es eine Reihe von Studien, die die Freisetzung im Verlauf des Waschvorganges von Textilien belegen. Es gibt drei Möglichkeiten, die Faser bei der Textilausrüstung mit Silber und entsprechend Silbernanopartikeln zu bestücken. Entweder wird die Faser von Silber komplett beschichtet, das Silber wird an der Faser angelagert oder in die Faser integriert. In 90% aller Anwendungen werden Textilien mit Silber veredelt (Beschichtung oder Anlagerung) und nur bei 10% wird Silber in die Faser integriert (Burkhardt et al., 2011).

Die Studie von Geranio et al. (2009) zur Freisetzung von Silbernanopartikeln unter Waschbedingungen (pH-Wert 10, Zugabe von Tensiden und Oxidationsmitteln) zeigt, dass ein Großteil der Silbernanopartikel, die aus Textilien freigesetzt wurden, in Fraktionen vorgefunden wurden, deren Bestandteile größer als 450 nm waren. Die Autoren führen hierzu mechanische Beanspruchung an, was die Freisetzung von Faserbestandteilen und –fragmenten mit Silber bedeutet. Jedoch waren 5 – 15% der freigesetzten Partikel immer noch im Bereich unter 100 nm vorzufinden. Die Auflösung der Silbernanopartikel wurde unter realistischen Waschbedingungen mit einem pH-Wert von 10 vermindert. Zusätzlich wurde gezeigt, dass die Freisetzung und die Größe der Partikel abhängig von der Einarbeitung der Silbernanopartikel in die Faser waren.

Diese Ergebnisse werden von einer weiteren Studie zu diesem Thema gestützt, in der ebenfalls mehrere silbernanopartikelhaltige Textilien auf die Freisetzung der Partikel untersucht wurden. Diese Versuche wurden ebenfalls unter realistischen Waschbedingungen durchgeführt. Auch hierbei zeigte sich, dass die Silbernanopartikel aus Textilien freigesetzt wurden. Mikroskopische Untersuchungen ergaben, dass die Silbernanopartikel unter anderem als AgCl-Nanopartikel, größere AgCl-Partikel, nanopartikeläres Ag₂S und metallische Silbernanopartikel wiederzufinden waren. Auch in dieser Studie besaß ein Großteil der freigesetzten Partikel (34 – 85%) eine Größe von mehr als 450 nm, wobei die Partikel zumeist als Agglomerate vorlagen (Lorenz et al., 2012).

In einer dritten Studie von Benn and Westerhoff (2008) zu dieser Thematik zeigten sich vergleichbare Ergebnisse zu den ersten beiden Studien. Es wurden silbernanopartikelhaltige Strümpfe auf die Freisetzung der Partikel untersucht. Die Freisetzung wurde in dieser Studie nicht unter realistischen Waschbedingungen betrachtet. Die Experimente wurden mit destilliertem Wasser durchgeführt. Es zeigte sich auch hier, dass die Partikelgröße der freigesetzten Silbernanopartikel zwischen 10 – 500 nm lag. Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl kolloidales als auch ionisches Silber aus den Strümpfen freigesetzt wurde. In dieser Studie wurde

zusätzlich gezeigt, dass Klärschlamm auch hohe Konzentrationen des freigesetzten Silbers adsorbieren kann.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse der drei Studien, dass Silbernanopartikel aus Fasern freigesetzt werden können. Ein geringer Anteil der freigesetzten Silbernanopartikel lag weiterhin als metallisches Nanosilber vor. Je nach Umgebungsmedium reagieren die freigesetzten Nanopartikel mit Chlorid- oder Sulfidionen. Unabhängig davon, mit welchen Komponenten des Umgebungsmediums die Partikel reagierten, besaßen auch diese teilweise weiterhin eine Partikelgröße von unter 100 nm. Es wurde außerdem gezeigt, dass Klärschlamm hohe Konzentrationen an freigesetztem Silber aufnehmen kann.

3 Expositionsszenarien

3.1 Allgemeines zu den verwendeten Szenarien

Da im UMSICHT – Projekt Emissionen von AgNP experimentell durch Auswaschversuche bestimmt wurden, sollte das zur ökotoxikologischen Bewertung erforderliche Expositionsszenario vorrangig technologiebasiert sein. Es verwendet für die spezifische Technik (hier die Auswaschung von AgNP aus entsprechend ausgerüsteten Textilien in Haushaltswaschmaschinen) material- und prozessspezifische Input-Größen für das Emissionsmodul des Szenarios, während eine Tonnage (z.B. Produktions-, Vermarktungs- oder Verwendungsmenge) keinen Eingang findet. Da in vielen Fällen die technologie-spezifischen Daten nicht hinreichend gut oder gar nicht bekannt sind, geht das alternative Szenario von der Tonnage sowie eines vorgegebenen Emissionsfaktors (siehe (TGD, 2003)) aus und verwendet keinerlei technologiespezifische Daten. Dieses Szenario wird in dieser Studie vergleichend zum technologiebasiertem Szenario erprobt.

Zur Berechnung der PEC (Predicted Environmental Concentration) – Werte ist sowohl beim technologie- als auch beim tonnagebasiertem Expositionsszenario das Kläranlagen-Modul erforderlich (siehe TGD 2003). Für die abschließende Verdünnung im Vorfluter wird ein harmonisierter Vorgabewert von 10 verwendet.

Im Rahmen des UMSICHT-Projektes sollen hier die zu erwartende Konzentration im Klärschlamm sowie die Umweltkonzentrationen für Oberflächengewässer, Sediment und Boden berechnet werden. Das Kompartiment „Grundwasser“ wurde hier nicht betrachtet, da zur Berechnung einer aussagekräftigen Konzentration im Grundwasser das Verhalten von AgNP im Boden noch nicht hinreichend gut aufgeklärt ist und somit eine Fokussierung auf die Haupt-Zielkompartimente erfolgen sollte.

3.2 Technologiebasiertes Szenario

Nachdem die Silbernanopartikel aus Textilien ausgewaschen wurden, gelangen sie über die Kanalisation unweigerlich mit dem Abwasserstrom in kommunale Kläranlagen. Tiede et al. (2010) zeigten, dass in Batchversuchen mit Klärschlamm nach sechs Stunden Kontaktzeit mehr als 90% der zugefügten Silbernanopartikel im Klärschlamm zu finden waren. Nur ca. 10% der Silbernanopartikel wurden in diesen Batchversuchen im Überstand gefunden. Die im Überstand vorgefundenen Silbernanopartikel besaßen nach wie vor ihre ursprüngliche Partikelgröße von 40 nm. Die Interaktion von Klärschlamm und Silbernanopartikeln wurde anhand der Ergebnisse zum einen damit erklärt, dass die Partikel an Klärschlamm adsorbieren. Zusätzlich wurden Fällungsreaktionen der von Silbernanopartikeln gebildeten Silberionen mit Chlorid, Sulfid und mit organischem Material in Betracht gezogen.

Kaegi et al. (2011) zeigten mit Hilfe von Modellkläranlagen, dass nach 43 Tagen Versuchsdauer nur 5% des Gesamteintrags der Silbernanopartikel, die in die Denitrifikationsstufe eingeleitet wurden, im Auslauf wiederzufinden waren. 85% der Silbernanopartikel waren an den Klärschlamm sorbiert und weitere 5%

waren nach wie vor in der Modellkläranlage zu finden. Die restlichen 5% konnten mit den angewendeten Analysemethoden nicht wiedergefunden werden. Dennoch lag die Wiederfindungsrate mit 95% in einem sehr guten Bereich. Zu Beginn des Versuchs war die Sorption der Silbernanopartikel an den Klärschlamm mit 90% noch einmal größer. Eine Studie von Shafer et al. (1998), die allerdings für Silber und nicht für Silbernanopartikel durchgeführt wurde, bekräftigt diese Ergebnisse. Hier wurde gezeigt, dass 92 – 99% der Einlaufkonzentration an Silber über den Klärschlamm aus der Wasserphase eliminiert wurden.

In der Studie von Kaegi et al. (2011) wurde zusätzlich gezeigt, dass die Silbernanopartikel primär mit Schwefelquellen reagieren. Es kommt sowohl im Klärschlamm als auch im Abwasser der Kläranlage zu einer nahezu kompletten Transformation von Silbernanopartikeln mit dem vorhandenen Schwefel zu Ag_2S . Die Bildung von Ag_2S geht dabei in der Denitrifikationsstufe in weniger als zwei Stunden vonstatten. Diese Erkenntnisse werden von einer weiteren Studie von Kim et al. (2010a) bekräftigt. Hier zeigte sich die Bildung von ellipsenförmigen Ag_2S -Kristallen in Klärschlamm, die eine Partikelgröße von 5 – 20 nm aufwiesen und sehr kleine, lockere Aggregate bildeten. In dieser Studie wurde Klärschlamm genutzt, der aus einer Großstadtregion bezogen wurde und einen Ag-Gehalt von 856 mg/kg TS Klärschlamm aufwies.

Die Literaturdaten zeigen, dass die AgNP und die gebildeten Ag-Ionen sowohl im Abwasser als auch im Klärschlamm vorrangig mit dem vorhandenen Sulfid und mit Chlorid reagieren. Die gebildeten Ag_2S -Kristalle liegen selbst dabei weiterhin im nanopartikulären Maßstab vor. Nur ein geringer Teil der in eine Kläranlage eingeleiteten Silbernanopartikel gelangt mit dem Abwasserstrom aus der Kläranlage in einen Vorfluter. Auf Grundlage der vorhandenen Literaturdaten wurde in entschieden, in der vorliegenden Risikoabschätzung von folgender Verteilung in der Kläranlage auszugehen: 10% der AgNP verbleiben in der Wasserphase, , 90% sorbieren an den Klärschlamm. Diese Verteilung der Silbernanopartikel wurde im Rahmen des Projektes UMSICHT für das Nanopartikel NM-300K in Kläranlagensimulationsstudien (OECD 303 A) bestätigt (Schlich 2013).

Anhand dieser Daten ergab sich folgendes technologiebasiertes Expositionsszenario, dass in Abbildung 1 dargestellt wird. Dieses Expositionsszenario bildet für die in dieser Studie angefertigte Umweltbewertung die Grundlage.

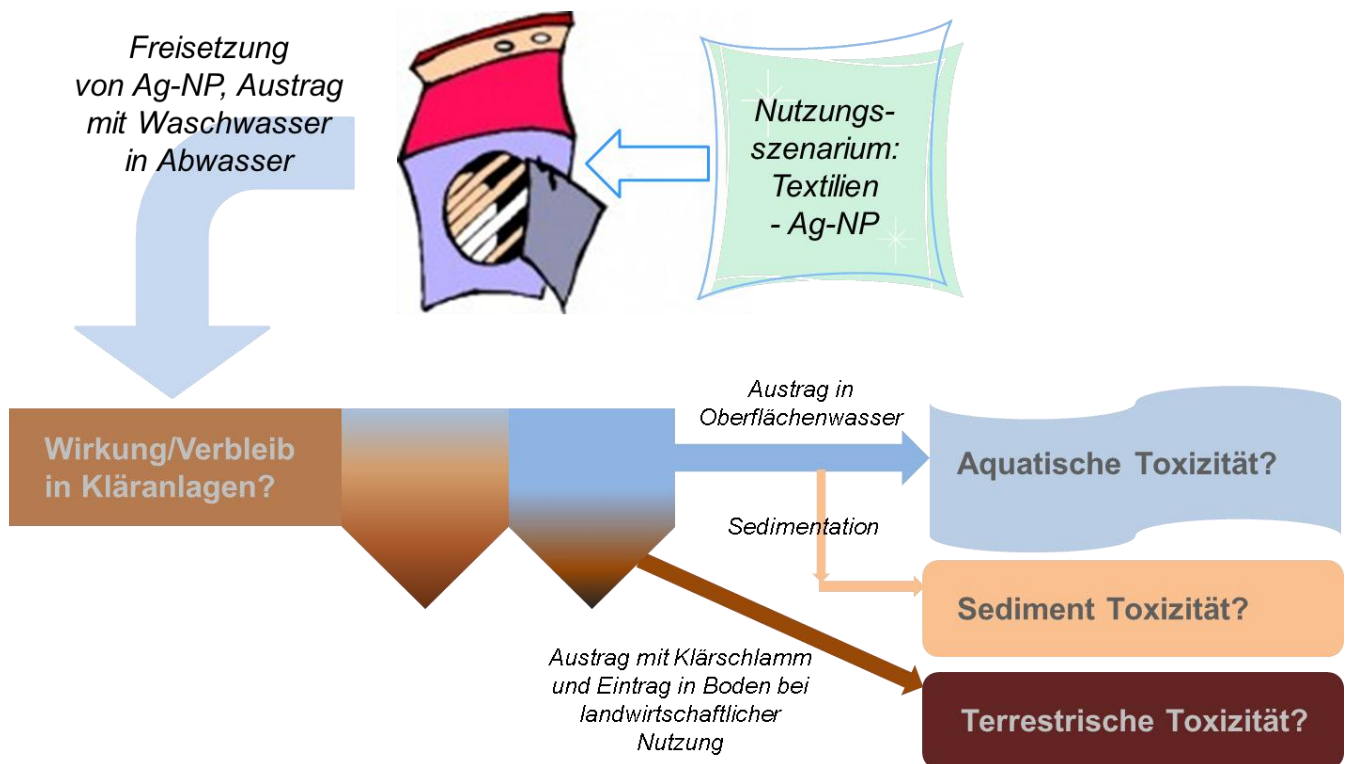


Abbildung 1: Darstellung des Expositionsszenarios das im BMBF Projekt UMSICHT gewählt wurde

3.3 Tonnagebasiertes Szenario

Entsprechend TGD 2003 lässt sich die lokale Exposition in die Kläranlage auch über die in der EU vermarktete Menge einer Substanz abschätzen. Für das entsprechende Szenario aus dem TGD wird hier die in UMSICHT-AP 3.1 abgeleitete EU-Verwendungsmenge von 1200 kg AgNP in Textilien als Input genutzt (siehe Bericht Partner ÖKO). Von der EU-Ebene wird bei diesem Szenario die entsprechende Emission über die Regionsebene und die lokale Ebene mit Standard-Kläranlage anteilig berechnet.

Die konkreten Vorgabewerte sind im Kap. 4.8 dargestellt.

4 Umweltkonzentration (PEC)

4.1 Freisetzung von NM-300K aus Textilien

Verschiedene Textilfasern (Baumwolle, Polyester) wurden im Rahmen von UMSICHT mit NM-300K beschichtet. Außerdem wurde in einem Fall das Nanosilber NM-300K in die Textilfasern (Lyocell) inkorporiert. Partikel müssen in höheren Konzentrationen in die Faser eingearbeitet werden, da bei der Inkorporation in die Faser nicht alle Partikel an der Faseroberfläche liegen und je nach Fasermaterial die Partikel, die im Inneren der Faser liegen, nur bedingt eine Wirkung zeigen. Im Vergleich der Ein- bzw. Aufbringungsmethoden für Silber im Generellen zeigt sich, dass die antibakterielle Ausstattung durch die Beschichtung der Textilfasern wesentlich häufiger durchgeführt wird, als durch die Inkorporation in die Fasern (Burkhardt et al., 2011).

Lyocell ist eine Celluloseregeneratfaser, die im Rahmen von UMSICHT mit NM-300K ausgestattet wurde. Hierbei handelt es sich um eine cellulose Synthesefaser. Diese zeichnet sich durch eine gute Quellbarkeit und durch ein gutes Wasseraufnahmevermögen aus. Sobald das Wasser wieder abgegeben

wird, können mit dem Wasser sehr leicht Bestandteile der Faser herausgelöst werden. Dies ist bei den klassischen Synthefasern wie Polyester oder Polyamid nicht der Fall. Diese Fasern weisen im Inneren eine kompaktere Struktur auf, wodurch das Wasser in wesentlich geringeren Mengen aufgenommen wird. In diesem Fall können bei Wasseraustritt nicht so viele Bestandteile aus dem Faserrinneren herausgelöst werden. Die Lyocellfaser stellt also eine Art „worst case“-Scenario für die Freisetzung von Nanosilber im Falle einer Inkorporation von Partikeln in die Faser dar.

Im Rahmen von UMSICHT wurde mit Hilfe von Waschversuchen unter standardisierten Bedingungen die Freisetzungsrates von NM-300K aus Textilien bestimmt. Hierzu wurde die Waschvorschrift DIN EN ISO 105 C12 zur Bestimmung der Beständigkeit der Farbe von Textilien jeglicher Art, die allen Formen industrieller Waschvorgänge unterzogen werden, genutzt. Die Norm beschreibt vier Prüfverfahren, eines davon zur Prüfung von Arbeitskleidung bei einer Waschttemperatur von $92 \pm 2^\circ\text{C}$ und drei zur Prüfung von Bett-, Tischwäsche und Berufsbekleidung bei $75 \pm 2^\circ\text{C}$ mit verschiedenen Waschzusätzen. Es wurde das Prüfverfahren zur Beurteilung von Bett-, Tischwäsche und Berufsbekleidung bei $75 \pm 2^\circ\text{C}$ ohne Zusatz von Peroxy-Bleichverbindungen verwendet (DIN EN ISO 105 C12-2S). Die 75°C Wäsche ist typisch für die Bereiche, in denen hygienische Aspekte eine Rolle spielen (z.B. Arbeitskleidung, Handtücher). Die antimikrobielle Ausrüstung erfolgt gerade in diesen Bereichen, weshalb die Waschversuche primär bei 75°C durchgeführt wurden. Für alle Untersuchungen wurde ein Referenzwaschmittel verwendet. Die Waschversuche werden über mehrere Waschzyklen durchgeführt. Dabei entspricht ein Waschzyklus 5 - 10 Wäschen in üblichen Haushaltswaschmaschinen.

Tabelle 1 fasst die einzelnen durchgeführten Waschversuche mit verschiedenem Fasermaterial und verschiedenen Konzentrationen an NM-300K zusammen. Die Waschversuche mit beschichteten Textilfasern zeigen, dass Silbernanopartikel in kurzer Zeit fast vollständig aus den Fasern ausgewaschen werden. Teilweise war schon nach einem Waschzyklus kein Nanosilber mehr in den Fasern nachweisbar. Die Freisetzung aus dem Bindersystem bei Polyester ist dabei geringer als die Freisetzung aus dem Bindersystem bei Baumwolle. In den Versuchen mit Nanosilber, inkorporiert während des Herstellungsprozesses in Lyocellfasern, zeigte sich wiederum, dass eine erhöhte Freisetzung an Silbernanopartikeln vermieden wird. Nach 4 Waschzyklen ergab sich eine Freisetzung von lediglich 4,4% der eingearbeiteten Silbernanopartikel (Tabelle 1). Die Lyocellfaser stellt eine „worst case“ – Situation für die Methode der Inkorporation von Nanosilber in Fasern dar. Dennoch zeigte sich, dass nach Inkorporation des Nanosilbers in diese Faser relativ betrachtet kaum Nanosilber freigesetzt wird.

Fazit: Die Ergebnisse zeigen, dass die Freisetzung der Silbernanopartikel neben der Methode der Einbringung des Silbers stark von der verwendeten Faserart bzw. von dem verwendeten Bindersystem abhängig ist. Die Faserart bedingt die Wahl des Bindersystems. Für die verschiedenen Textilfasern werden jeweils spezielle Bindersysteme eingesetzt.

Dieses Fazit ist im Einklang mit Aussagen der schwedischen Chemikalienagentur KEMI, die 2012 in Auswaschungsversuchen festgestellt hatten, dass nach nur 10 Wäschen 10-98% des in Textilien eingesetzten Silbers ausgewaschen wurden, wobei die Hälfte hiervon bereits nach 3 Wäschen nicht mehr im Textil nachweisbar war. Bei den Textilien handelte es sich um real auf dem Markt existierende Produkte. Eine der Schlussfolgerungen der Studie lautet, dass die Methode, mit der die Biozid wirkenden Agenzien in das Textil oder die Faser eingebracht werden, essentiell den Grad der Auswaschung bestimmt (KEMI 2012).

Tabelle 1: Waschversuche mit NM-300K beschichteten oder inkorporierten Fasern

Fasermaterial	Methodik der Zugabe	Konzentration [ppm]	Waschzyklen	Konzentration [ppm] nach Waschzyklen ^a
Baumwolle	Beschichtung (iSySMTX)	50	2 (~10 - 20 Wäschen)	0
		10	1 (~5 - 10 Wäschen)	0
		50	5 (~25 - 50 Wäschen)	0
		10	5 (~25 - 50 Wäschen)	0
Polyester	Beschichtung (iSysSyn)	75	9 (~45 - 90 Wäschen)	0
		75	5 (~25 - 50 Wäschen)	10
		50	5 (~25 - 50 Wäschen)	6
Lyocellvlies	Inkorporation	161	4 (~20 - 40 Wäschen)	154

^a Nachweisgrenze der Methode liegt bei < 2,5 ppm

4.2 Auswahl der Szenarien

Auf Basis der Ergebnisse der Waschversuche (Tabelle 1) wurden drei konservative Szenarien erstellt. In diesen Szenarien wurden verschiedene Freisetzungsraten von Nanosilber aus Textilfasern angenommen und entsprechende Umweltkonzentrationen berechnet. Im Folgenden werden die Szenarien kurz beschrieben:

4.2.1 Szenario A

In dem ersten Szenario wird ein Textil aus Baumwolle betrachtet, dass mit einer Konzentration von 50 ppm Nanosilber (NM-300K) beschichtet wurde. Die Freisetzungsraten an Nanosilber ist aufgrund der Art der Beschichtung hoch. Nach 10 – 20 Wäschen ist kein Nanosilber mehr auf der Faser nachweisbar. Es wurde im Folgenden mit einer Freisetzung des gesamten Nanosilbers nach 10 Wäschen gerechnet, um die Umweltbewertung konservativ zu gestalten.

4.2.2 Szenario B

In dem zweiten Szenario wird ein Textil aus Polyester betrachtet, dass mit einer Konzentrationen von 75 ppm Nanosilber (NM-300K) ausgestattet wurde. Auch in diesem Szenario wurde die Textilfaser mit Nanosilber beschichtet und die Freisetzungsraten an Nanosilber ist entsprechend hoch. Nach 25 – 50 Wäschen sind noch 10 mg/kg auf der Faser nachweisbar. Es wurde im Folgenden mit einer Freisetzung des gesamten Nanosilbers nach 25 Wäschen gerechnet, um die Umweltbewertung konservativ zu gestalten.

4.2.3 Szenario C

In dem dritten Szenario wird ein Textil aus Lyocellfasern betrachtet, dass mit einer hohen Konzentration an Nanosilber NM-300K (161 ppm) ausgestattet wurde. In diesem Szenario wurde die Textilfaser nicht mit Nanosilber beschichtet. Das Nanosilber wurde in die Lyocellfaser inkorporiert und die Freisetzungsraten an Nanosilber ist somit geringer. Nach 20 - 40 Wäschen wurden nur 4,4% des Nanosilbers aus der Faser freigesetzt. Der Rest des Nanosilbers war nach wie vor in der Faser nachweisbar. Es wurde im Folgenden mit einer Freisetzung von 4,4% des Nanosilbers nach 20 Wäschen gerechnet, um die Umweltbewertung konservativ zu gestalten.

Annahmen

Die Annahmen bezüglich der Freisetzung von Nanosilber innerhalb verschiedener Zeiträume bzw. Waschzyklen variierten innerhalb der drei Szenarien und sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Da die Risikobewertung konservativ durchgeführt werden soll, wurde für die Berechnung der Freisetzung auch die Umrechnung der Waschzyklen in haushaltsüblichen Waschgängen konservativ gewählt (Faktor 1:5). Es wurde dabei von einer gleichmäßigen Freisetzung des Nanosilbers aus der Textilfaser ausgegangen.

Tabelle 2: Zusammenfassung der einzelnen Szenarien, die für die Berechnung der Umweltkonzentration betrachtet wurden

Szenario	Annahme	Freisetzung (nach x Wäschen)	Freigesetztes Nanosilber	Quelle
A	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Baumwolle beschichtet 50 ppm)	nach 10 Wäschen	50 mg/kg Textil	HI Daten, UMSICHT
B	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Polyester beschichtet 75 ppm)	nach 25 Wäschen	65 mg/kg Textil	HI Daten, UMSICHT
C	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Lyocellflies inkorporiert 161 ppm)	nach 20 Wäschen	7 mg/kg Textil	HI Daten, UMSICHT

4.3 Bestimmung der Emission in die Standard-Kläranlage

Auf Basis des Expositionsszenarios, welches in UMSICHT experimentell zu Grunde lag, wurden die zu erwartende Konzentration im Klärschlamm (Belebtschlamm) und die Umweltkonzentrationen (PECs) für die Kompartimente Oberflächengewässer, Böden und Sedimente abgeschätzt. Die Bestimmung der Umweltkonzentrationen wurde mit Hilfe des Technical Guidance Document on Risk Assessment (TGD 2003) der Europäischen Kommission durchgeführt. Für jedes der drei Szenarien wurden die Konzentrationen einzeln berechnet. Voraussetzung für die Berechnung der einzelnen Kompartiment-Konzentration ist die Kenntnis der in die Standard-Kläranlage emittierten täglichen Menge an AgNP.

Die Input-Werte, die der Bestimmung der Emissionsmenge in die Kläranlage zu Grunde liegen, werden in Tabelle 3 aufgelistet. Es ist zu beachten, dass die Input-Werte Annahmen für die Auswaschung von Nanosilber aus Textilien aus privatem Gebrauch darstellen. Emissionsmengen, die sich aus der Auswaschung aus nanosilberhaltiger Textilien im gewerblichen Bereich oder Krankenhausbetrieb ergeben, sind hier nicht berücksichtigt. Für die Abschätzung der Silbernanopartikel-Freisetzung während des Waschvorgangs wurde eine standardisierte Waschmaschine betrachtet, in die 5 kg Textil gegeben wurde. Auch die Annahme, dass jeder der 40 Mio. Privathaushalte in Deutschland eine Waschmaschine besitzt und diese jeden zweiten Tag mit AgNP-haltiger Wäsche betreibt, wurde in der Berechnung berücksichtigt.

Tabelle 3: Allgemeine Annahmen zur Abschätzung der Freisetzung von Nanosilber aus Textilien

Abk. der Größe	Größe	Wert	Einheit	Quelle
M_WG	Masse der Wäsche pro Waschgang	5	kg	Fassungsvermögen einer Waschmaschine
Nano_W_Anteil	Anteil AgNP-haltiger Textilien pro Waschgang	0,05	--	Schätzung
Emission_nano_Ag	AgNP – Emission aus AgNP-haltiger Wäsche	5 (Sz. A) 2,6 (Sz. B) 0,35 (Sz. C)	mg/kg mg/kg mg/kg	UMSICHT, siehe Tabelle 3 (durchschnittlicher Wert pro Wäsche)
Anzahl_WaV	Angenommene Waschgänge pro Tag (AgNP relevant)	0,5	d ⁻¹	Konservative Schätzung
Anzahl_WaMa	Anzahl Waschmaschinen pro Einwohner	0,5	--	Berechnet (siehe unten)

Die Anzahl Waschmaschinen pro Einwohner wurde als

$Anzahl_WaMa = Anzahl_HH_DE / Anzahl_EW_DE$ abgeschätzt, wobei vereinfachend davon ausgegangen wird, dass jeder Haushalt eine Waschmaschine betreibt.

Anzahl_EW_DE	Anzahl der Einwohner der Bundesrepublik Deutschland	~80 Mio.	--	Statistisches Bundesamt, 2012
Anzahl_HH_DE	Anzahl der Haushalte in Deutschland	~40 Mio.	--	Internet, abgerufen am 09.08.2013*

*<http://de.statista.com/statistik/daten/studie/1240/umfrage/anzahl-der-privathaushalte-deutschland-nach-bundeslaendern/>

Der Eintrag des Nanosilbers aus den Textilien in die Kläranlage „Elocal_water“ (Einheit: Masse pro Einwohner und Tag) ist die direkte oder indirekte Ausgangsgröße für die in Kap. 4.4 – 4.6 beschriebenen PEC-Berechnungen. Sie wurde mit den folgenden Formeln errechnet, wobei Emission_Ag die Emission von AgNP für einen Waschvorgang ist:

$$Emission_Ag := M_WG \cdot Nano_W_Anteil \cdot Emission_nano_A \quad (1)$$

$$Elocal_water := Emission_Ag \cdot Anzahl_WaMa \cdot Anzahl_WaV \quad (2)$$

Das Modell beinhaltet die Annahme, dass die vorhandene AgNP-haltige Wäsche nach Austrag des gesamten AgNP-Gehaltes ersetzt wird. Für Szenario A wäre dies nach 10 Wäschen, für Szenario B nach 29 und für Szenario C nach 460 Wäschen der Fall.

Die nach Gl. (2) berechneten einwohnerspezifischen Emissionen in die Kläranlage betragen 312,5 µg · inh⁻¹ · d⁻¹ für Szenario A, 162,5 µg · inh⁻¹ · d⁻¹ für Szenario B sowie 21,9 µg · inh⁻¹ · d⁻¹ für Szenario C.

Diese Werte beziehen sich nur auf Emissionen aus Nanosilberhaltigen Textilien im privaten Bereich. Emissionen aus nanosilberhaltigen Textilien, die im stationären medizinischen Bereich Anwendung finden, könnten – je nach Marktentwicklung – ein zusätzlich relevanter Pfad sein. Um die Relevanz dieses

Anwendungsbereiches einordnen zu können, wurde der Anteil Krankenhaus-relevanter Emissionen von Nanosilber aus Textilien im Vergleich zu den hier entwickelten, auf Privathaushalte bezogenen Emissionen ermittelt. Unter Annahme des Aufkommens von 3,5 kg Wäsche pro Krankenhausbett mit einem Anteil von 10% nanosilberhaltiger Wäsche, sowie bei 506.954 Betten in deutschen Krankenhäusern (DeutscheKrankenhausesellschaft, 2007) bezogen auf 80 Millionen Einwohnern beträgt die Emission von Nanosilber aus in Krankenhäusern eingesetzten Textilien für alle drei Szenarien 3,5% der oben für die privaten Haushalte berechneten Werte .

4.4 Konzentration in der Kläranlage

Für die Berechnung der Konzentration im Ablauf der Kläranlage und im Klärschlamm wurde die vorgegebene Kläranlage entsprechend der Angaben des TGD betrachtet. Die Konzentration wurde dabei auf Grundlage einer „Standard-Kläranlage“ berechnet, die ein Einzugsgebiet von 10.000 Einwohnern, einen Klärschlammzuwachs von 710 kg TS pro Tag und einen Abwasserstrom von 200 L je Einwohner pro Tag in die Kläranlage umfasst. Die einzelnen Annahmen, die bei der Berechnung der Konzentration im Ablauf der Kläranlage und im Klärschlamm berücksichtigt wurden, sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Allgemeine Annahmen zur Berechnung der C_{effluent} und C_{sludge} für Nanosilber aus Textilien

Abk. der Größe	Größe	Wert	Einheit	Quelle
WASTEW _{inh}	Abwasser pro Einwohner pro Tag	200	L · d ⁻¹ · eq ⁻¹	TGD on Risk Assessment
Inh_STP	Anzahl Einwohner pro Kläranlage	10.000	eq	TGD on Risk Assessment
Fstp_water	Anteil der Silbernanopartikel, die im Effluent verbleiben	0,1		Daten aus dem UMSICHT Projekt
Fstp _{sludge}	Anteil der Silbernanopartikel, die an Klärschlamm adsorbieren	0,9		Daten aus dem UMSICHT Projekt
SLUDGERATE	Rate der Klärschlammproduktion bei 10.000 EW	710	kg/d	TGD on Risk Assessment

Auf Basis der folgenden Formeln wurde die Konzentration an Nanosilber aus Textilien im Ablauf der Kläranlage (C_{effluent}) und im Klärschlamm (C_{sludge}) berechnet:

$$C_{\text{effluent}} := \frac{E_{\text{local_water}} \cdot F_{\text{stp_water}}}{\text{WASTEW}_{\text{inh}}} \quad (3)$$

$$C_{\text{sludge}} := \frac{F_{\text{stp_sludge}} \cdot E_{\text{local_water}} \cdot \text{Inh_STP}}{\text{SLUDGERATE}} \quad (4)$$

Die resultierenden Konzentrationen an Nanosilber im Ablauf der Kläranlage und im Klärschlamm, auf die einzelnen betrachteten Szenarien bezogen, sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Die Konzentrationen im Ablauf der Kläranlage rangieren dabei zwischen 0,01 µg/L für Szenario C, in dem das Nanosilber, das in die

Faser inkorporiert wurde, betrachtet wird und 0,16 µg/L für Szenario A, in dem Nanosilber beschichtet auf eine Baumwollfaser betrachtet wird. Die Konzentrationen im Ablauf der Kläranlage werden als PEC-Werte für die Risikoabschätzung in der Kläranlage herangezogen. Die Konzentrationen im Ablauf der Kläranlage gehen des Weiteren in die Ableitung der PEC-Werte des Oberflächengewässers und - daraus resultierend - in die Ableitung der PEC-Werte des Sediments ein.

In den Klärschlämmen rangieren die Konzentrationen zwischen 0,28 mg/kg TS Klärschlamm für Szenario C, in dem das Nanosilber, das in die Faser inkorporiert wurde, betrachtet wird und 3,96 mg/kg TS Klärschlamm für Szenario A, in dem Nanosilber beschichtet auf eine Baumwollfaser betrachtet wird. Die Konzentrationen im Klärschlamm gehen in die Ableitung der PEC-Werte des landwirtschaftlich genutzten Bodens ein.

Tabelle 5: Konzentration für NM-300K aus Textilien in Klärschlamm und Effluent (UMSICHT)

Szenario	Annahme	C _{effluent} [µg/L]	C _{sludge} [mg/kg TS Klärschlamm]
A	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Baumwolle beschichtet, 50 ppm)	0,156	3,96
B	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Polyester beschichtet, 75 ppm)	0,081	2,06
C	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Lyocellvlies inkorporiert, 161 ppm)	0,011	0,28

Der Gehalt an Nanosilber im Klärschlamm kann derzeit mit Routineverfahren nicht bestimmt werden. Messtechniken zur Bestimmung des Anteils von nanopartikulärem Silber am Gesamtsilbergehalt sind nur in Speziallabors möglich. Zusätzlich wird ein Vergleich der berechneten Konzentrationen mit vorliegenden Messwerten dadurch erschwert, dass Silber nicht als Prüfparameter in der Klärschlammverordnung verankert ist. Es liegen daher nur wenige Messdaten zu Silbergehalten in Klärschlämmen vor. Im August 2002 wurde bei bundesweiten Erhebungen der Klärschlamm aus neun kommunalen Kläranlagen jeweils einmal beprobt. Der Klärschlamm wurde auf seinen Silbergehalt untersucht und es zeigte sich, dass der Silbergehalt zwischen 4 mg/kg TS und 26,3 mg/kg TS Klärschlamm lag. Der Mittelwert der Messungen lag entsprechend bei 12,7 mg/kg TS. Im gleichen Zeitraum wurde auch der Silbergehalt in den kommunalen Kläranlagen aus Karlsruhe, Pforzheim und Nürnberg betrachtet. Hier lag der Silbergehalt im Klärschlamm 2007 bei 25 mg/kg TS in Karlsruhe, 45 mg/kg TS in Pforzheim und 12 mg/kg TS in Nürnberg (UBA, 2007). Für die Versuche im Rahmen von UMSICHT wurde auch der Klärschlamm der kommunalen Kläranlage in Schmallenberg untersucht. Dieser Klärschlamm hatte einen Silbergehalt von ca. 1,8 mg/kg TS Klärschlamm. Eine Studie der US EPA zeigt, dass der Silbergehalt im Klärschlamm bei 1,94 – 856 mg/kg TS Klärschlamm liegt (United States Environmental Protection Agency, 2009). In diesem Fall wurden allerdings die verschiedensten Standorte untersucht und nicht nur kommunale Kläranlagen ohne signifikanten industriellen Silbereintrag.

In ihrer Abschätzung von PEC-Werten für verschiedene Nanomaterialien und Umweltkompartimente haben Gottschalk et al. (2009) berechnet, dass der Gehalt an Nanosilber in Klärschlamm bei ca. 1,68 mg/kg TS Klärschlamm in Europa und bei 1,55 mg/kg TS Klärschlamm in den USA liegt.

4.5 Umweltkonzentration (PEC) in Oberflächengewässern und Sedimenten

Nur ca. 10% des in die Kläranlage eingeleiteten Nanosilbers aus Textilien verlässt die Kläranlage über den Kläranlagenauslauf in den Vorfluter und anschließend in das Oberflächengewässer. Auch dies konnte mit

Hilfe von Kläranlagensimulationen (OECD 303A) im Rahmen des BMBF Projektes UMSICHT für das Silbernanopartikel NM-300K gezeigt werden (Schlich 2013). In welcher Form das Silber die Kläranlagen verlässt, wurde nicht untersucht. Es wird angenommen, dass die restlichen <10 % Silber gebunden an Schwebstoffe und/ oder in transformierter Form in das Oberflächengewässer gelangen und je nach den Bedingungen im Gewässer früher oder später sedimentieren. Da entsprechende Untersuchungen ausstehen, wird hier vereinfachend davon ausgegangen, dass das Silber weiterhin als Nanosilber vorliegt.

Die Literaturrecherche hat gezeigt, dass gerade aquatische Organismen sehr sensitiv auf nanopartikuläres Silber reagieren. Entsprechend wurde auch für das Projekt UMSICHT die Umweltkonzentration für die Kompartimente Oberflächengewässer und Sediment bestimmt. In Tabelle 6 (Oberflächengewässer) und Tabelle 7 (Sediment) wurden die einzelnen Parameter aufgeführt, nach denen die Umweltkonzentrationen berechnet wurden. Die berechneten Umweltkonzentrationen für Nanosilber aus Textilien wurden für die Bereiche Oberflächengewässer und Sediment in Tabelle zusammengefasst.

Es ist zu beachten, dass aus Gründen der Komplexität eine evtl. schon im aquatischen Kompartiment vorhandene Hintergrundbelastung an Nanosilber oder anderen Silberspezies in dieser Risikoabschätzung nicht berücksichtigt wurde.

Tabelle 6: Annahmen zur Abschätzung der Umweltkonzentrationen in Oberflächengewässern

Abk. der Größe	Größe	Wert	Einheit	Quelle
Fstp_water	Anteil der Silbernanopartikel, die im Effluent verbleiben	0,1	--	Daten aus dem UMSICHT Projekt
WASTEW _{inh}	Abwasser pro Einwohner pro Tag	200	L · d ⁻¹ · eq ⁻¹	TGD on Risk Assessment
DILUTION	Verdünnung des Abwassers aus der Kläranlage im Vorfluter	10	--	TGD on Risk Assessment

Oberflächengewässer

Die Berechnung der Umweltkonzentrationen von Nanosilber aus Textilien im Oberflächengewässer „PEC_{surfacewater}“ erfolgte anhand folgender Formel:

$$PEC_{\text{surfacewater}} := \frac{E_{\text{local_water}} \cdot F_{\text{stp_water}}}{WASTEW_{\text{inh}} \cdot DILUTION} \quad (5)$$

Für das Kompartiment Oberflächengewässer ergab sich eine PEC_{surfacewater} von 15,63 ng/L Wasser für das Szenario mit beschichteter Baumwolle, die auch die höchste PEC darstellte. Geringere Umweltkonzentrationen von 8,13 ng/L Wasser (Polyester, beschichtet) und 1,09 ng/L Wasser (Lyocell, inkorporiert) wurden für die weiteren Szenarien berechnet.

Gottschalk et al. (2009) modellierten eine Umweltkonzentration an Nanosilber aus den verschiedensten Anwendungen (nicht Textil-spezifisch) von 0,764 ng/L für Oberflächengewässer in Europa. Auch die Nanosilberkonzentrationen (aus Textilien), die im Rahmen dieser Umweltbewertung berechnet wurden, weisen im Auslauf der Kläranlage äußerst geringe Konzentrationen im Nanogramm-Bereich auf. Dessen ungeachtet darf die Betrachtung dieses Bereichs nicht vernachlässigt werden, da sich klar gezeigt hat, dass

gerade aquatische Organismen schon bei sehr geringen Konzentrationen an Nanosilber stark beeinflusst werden.

Sediment

Nachdem ca. 10% des Nanosilbers die Kläranlage verlassen können, muss davon ausgegangen werden, dass Teile des Nanosilbers im Oberflächengewässer sedimentieren und in dem vorliegenden Sediment akkumulieren. Auf Basis des TGD for Risk Assessment wurden die Umweltkonzentrationen an Nanosilber im Sediment abgeschätzt. Die Abschätzung erfolgte anhand der Annahme, dass sich das Adsorptionsgleichgewicht in fester und flüssiger Phase eingestellt hat.

Für die Berechnung der Umweltkonzentrationen im Sediment wird nach TGD ein Adsorptionskoeffizient für Sediment benötigt. Dieser Adsorptionskoeffizient für NM-300K liegt für das Sediment nicht vor, wodurch für die Bestimmung der Umweltkonzentrationen ein anderer Weg gewählt werden musste. In dem Projekt UMSICHT wurden für eine Vielzahl an Böden (n=24) Retentionskoeffizienten (K_r) für NM-300K erstellt. Diese Böden variierten sowohl in ihrem C_{org} -Gehalt als auch dem pH-Wert und dem Tonanteil. Auch die K_r variiert in Abhängigkeit der Tonanteile der Böden stark. Es wurde der Mittelwert dieser Retentionskoeffizienten in Böden für die Bestimmung der Umweltkonzentrationen im Sediment genutzt (257,7 L/kg; Input K_{p_susp} in Tabelle 7). Die Wahl des Mittelwertes soll sicherstellen, dass das Gesamtszenario nicht unrealistisch konservativ wird, da bereits bei der Emission (siehe Tabelle 4) mehrere konservative Inputs gewählt wurden, insbesondere die Emission von AgNP aus den Textilien als auch die Anzahl angenommener Waschgänge pro Tag.

In dem Kapitel 8.2 wird noch einmal detaillierter auf das Problem des fehlenden Adsorptionskoeffizienten für Sediment hingewiesen.

Tabelle 7: Annahmen zur Abschätzung der Umweltkonzentrationen in Sedimenten

Abk. der Größe	Größe	Wert	Einheit	Quelle
F _{water_susp}	Volumenanteil Wasser in Schwebstoffen	0,9	-	TGD on Risk Assessment
F _{solid_susp}	Volumenanteil Feststoff in Schwebstoffen	0,1	-	TGD on Risk Assessment
K _{p_susp}	Retentionskoeffizient Schwebstoff	257,7	L · kg ⁻¹	Mittelwert der K_r -Werte für Böden (UMSICHT)
RHO _{solid}	Dichte der Feststoffphase	2.500	kg · m ⁻³	TGD on Risk Assessment
RHO _{susp}	Raumdichte der Schwebstoffe (feucht)	1.150	kg · m ⁻³	TGD on Risk Assessment
CONV _{susp}	Umrechnungsfaktor: Sediment (FM) zu Sediment (TM)	4,6	-	Berechnet nach TGD on Risk Assessment

Auf Basis der folgenden Formeln wurde die Umweltkonzentrationen an Nanosilber aus Textilien im Sediment „ PEC_{sed_wet} “ berechnet:

$$PEC_{sed_wet} := \frac{K_{susp_water}}{RHO_{susp}} \cdot PEC_{surfacewater} \quad (6)$$

$$K_{susp_water} := F_{water_susp} + F_{solid_susp} \cdot K_{p_susp} \cdot RHO_{solid} \quad (7)$$

Für die Umrechnung der Sedimentkonzentration von Feucht- auf Trockengewicht gilt:

$$PEC_{\text{sed_dry}} := PEC_{\text{sed_wet}} \cdot CONV_{\text{susp}} \quad (8)$$

Die Umweltkonzentrationen an Nanosilber aus Textilien im Oberflächengewässer gehen in die Berechnung der Umweltkonzentrationen im Sediment mit ein. Da die $PEC_{\text{surfacewater}}$ im niedrigen Nanogramm-Bereich liegt, ergibt sich für die $PEC_{\text{sed_dry}}$ ebenso eine sehr geringe Konzentration. Über den Volumenanteil an Wasser und Feststoff in den Schwebstoffen, den Retentionskoeffizienten für AgNP und die Dichte der Feststoffphase wurde die Konzentration von Nanosilber im trockenen Sediment unter Berücksichtigung der Verteilung zwischen fester – und wässriger Phase berechnet. Hierdurch ergaben sich für die drei Szenarien Umweltkonzentrationen für das Sediment von 4,08 µg/kg TM Sediment in Szenario A in dem eine Baumwollfaser mit NM-300K beschichtet wurde bis zu einer $PEC_{\text{sed_dry}}$ von 0,29 µg/kg TM Sediment für das Szenario mit der Lyocellfaser (Tabelle). Im Rahmen der Untersuchungen von Gottschalk et al. (2009) ergaben sich für den Bereich Sediment Umweltkonzentration $PEC_{\text{sed_dry}}$ von 241 ng/kg TM Sediment.

Tabelle 8: Umweltkonzentrationen für NM-300K aus Textilien in Oberflächengewässern und Sedimenten (UMSICHT)

Szenario	Annahme	$PEC_{\text{surfacewater}}$ [ng/L]	$PEC_{\text{sed_dry}}$ [µg/kg TM Sediment]
A	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Baumwolle beschichtet 50 ppm)	15,63	4,08
B	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Polyester beschichtet 75 ppm)	8,13	2,12
C	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Lyocellvlies inkorporiert 161 ppm)	1,09	0,29

4.6 Umweltkonzentration (PEC_{soil}) in Böden (über Klärschlamm)

Ein direkter Eintrag von Nanosilber aus Textilien in Böden ist nicht zu erwarten. Abschätzungen zum Gehalt an Nanosilber in Böden liegen für Europa bei ca. 22,7 ng/kg TM Boden im Jahr (Gottschalk et al., 2009). Der einzige relevante Eintragspfad für Nanosilber aus Textilien in Böden ist die landwirtschaftliche Nutzung von Klärschlamm als Dünger. Entsprechend wird hier nur dieser Eintragspfad betrachtet.

Im Rahmen des BMBF Projekts UMSICHT hat sich auch für das Nanopartikel NM-300K in Laborkläranlagen bestätigt, dass ein Großteil des Nanosilbers (>90%) bei umweltrelevanten Einlaufkonzentrationen im Klärschlamm verbleibt. Daraus resultiert, dass Böden, auf die Klärschlamm zu Düngezwecken aufgebracht wird, am stärksten mit Nanosilber exponiert werden. Allgemein dürfen auf Grundlage der deutschen Klärschlammverordnung für eine landwirtschaftliche Nutzung 5 t Trockensubstanz Klärschlamm pro Hektar innerhalb von 3 Jahren aufgebracht werden. Bei der Berechnung der PEC wurde in dieser Umweltbewertung angenommen, dass die maximale Menge an Klärschlamm einmalig auf die landwirtschaftliche Fläche aufgebracht wird. Zusätzlich wurden für die Aufbringung des Klärschlammes für den Ackerboden eine Bodendichte von 1,5 g/cm³ und eine Bodentiefe von 0,2 m in Anlehnung an das TGD II festgelegt. In Tabelle 8 sind die einzelnen Parameter, die für die Berechnung der PEC_{soil} verwendet wurden nochmals aufgeführt. Die Bezeichnung PEC_{soil} steht hierbei für die Umweltkonzentrationen, die durch die Applikation von Klärschlamm auf landwirtschaftlich genutztem Boden erzeugt wird.

Es ist zu beachten, dass aus Gründen der Komplexität eine evtl. schon im terrestrischen Kompartiment vorhandene Hintergrundbelastung an Nanosilber oder sonstigen Silberkomponenten in dieser Risikoabschätzung nicht berücksichtigt wurde.

Tabelle 8: Annahmen zur Abschätzung der Umweltkonzentrationen in Böden PEC_{soil} , eingetragen über Klärschlamm

Abk. der Größe	Größe	Wert	Einheit	Quelle
APPL _{sludge}	Applikationsrate an Klärschlamm-TS pro Hektar in 3 Jahren	5	t · ha ⁻¹	AbfKlärV
RHO _{soil}	Bodendichte (trockener Boden)	1,5	g · cm ⁻³	TGD on Risk Assessment
DEPTH _{soil}	Bodentiefe	0,2	m	TGD on Risk Assessment

$$PEC_{soil} := \frac{C_{sludge} \cdot APPL_{sludge}}{DEPTH_{soil} \cdot RHO_{soil}} \quad (9)$$

Die PEC_{soil} wurde für das Szenario A (Baumwolle; beschichtet) mit 6,62 µg/kg TM Boden berechnet und war wie bei allen anderen PEC-Berechnungen am höchsten. In dem Szenario mit Nanosilber beschichteten Polyesterfasern wurde eine PEC_{soil} von 3,44 µg/kg TM Boden berechnet. Die Lyocellfasern mit der geringsten Nanosilberfreisetzung führten zu einer Umweltkonzentration von 0,46 µg/kg TM Boden. Diese Werte gelten für eine einmalige Applikation von 5 t nanosilberhaltigem Klärschlamm auf landwirtschaftliche Flächen (Tabelle 9). In Gottschalk et al. (2009) wurde die Exposition von Boden mit Silbernanopartikeln über den Klärschlamm Pfad modelliert. Für Silbernanopartikel ergab sich dabei eine PEC für Boden, auf den Klärschlamm aufgebracht wurde, von 1,5 µg/kg TM Boden im Jahr für Europa. Für den Bereich der USA wurde errechnet, dass der Gehalt an Silbernanopartikeln in Böden zwischen 2008 und 2012 von 2,3 auf 7,4 µg/kg TM Boden anstieg. Der Gehalt an Silbernanopartikeln stieg damit durchschnittlich im Jahr um ca. 1 µg/kg TM Boden.

In der Praxis kann zwischen zwei Fällen differenziert werden: (I) die maximale Menge an Klärschlamm wird einmalig innerhalb von 3 Jahre auf landwirtschaftliche Flächen aufgetragen, oder (II) mehrmalige Applikation kleinerer Mengen an Klärschlamm, bis die maximal zulässige Menge erreicht ist. In diesem Zusammenhang wurde auch die Mobilität von Nanosilber in Böden im Rahmen des BMBF Projektes UMSICHT an der Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe (BGR) untersucht, wobei zwischen den beiden genannten Fällen nicht differenziert wurde. In der Stellungnahme der BGR zur Mobilität von Nanosilber in Böden heißt es dazu:

„Aus Batchversuchen mit Schwermetallen (Zugabe als Ionen) können substratübergreifende Adsorptionsisothermen abgeleitet werden (Utermann et al., 2005). Diese Ergebnisse lassen sich auf den Feldmaßstab übertragen und können somit für eine Risikoabschätzung hinsichtlich des Pfads Boden Grundwasser eingesetzt werden (Heidkamp, 2005). Ergebnisse aus Säulenversuchen zeigen eine geringere Remobilisierbarkeit des NM-300K. Batchversuche hatten für Böden teilweise eine hohe Mobilität erwarten lassen. Bezogen auf den momentanen Wissensstand erscheint es fraglich, ob sich Batchversuche mit NM-300K quantitativ auf den Feldmaßstab übertragen lassen, auch wenn erste Auswertungen von Säulenversuchen die höhere Mobilität von NM-300K gegen Ag-Ionen qualitativ bestätigen.“

In Säulenversuchen wurde für das Silbernanopartikel NM-300K eine geringe Mobilität gezeigt. Hierdurch kann es zu einer Akkumulation des Nanosilbers kommen. Im Rahmen dieser Umweltbewertung wurde deshalb die Entwicklung der Umweltkonzentrationen im Boden über einen Zeitraum von 100 Jahren, gleichbedeutend mit 33 Klärschlammausbringungen (bei Anwendung der deutschen AbfKlärV), betrachtet. Die berechneten Umweltkonzentrationen nach 100 Jahren wurden in Tabelle 9 aufgeführt. Die hier dargestellten Werte wurden gerundet. Es ergab sich eine PEC_{soil_100a} für Szenario A (Baumwolle; beschichtet) von 218,31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM Boden. Bei Szenario B (Polyester; beschichtet) ergibt sich eine PEC_{soil_100a} von 113,52 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM Boden und in Szenario C (Lyocell; inkorporiert) von 15,28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM Boden.

Tabelle 9: Umweltkonzentrationen für NM-300K aus Textilien in Böden, eingetragen über Klärschlamm (UMSICHT)

Szenario	Annahme	PEC_{soil} [$\mu\text{g}/\text{kg}$ TM Boden]	PEC_{soil_100a} ^a [$\mu\text{g}/\text{kg}$ TM Boden]
A	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Baumwolle beschichtet 50 ppm)	6,62	218,31
B	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Polyester beschichtet 75 ppm)	3,44	113,52
C	Silbernanopartikelgehalt aus dem Textil (Lyocellvlies inkorporiert 161 ppm)	0,46	15,28

^a: nach ~33 Applikationen über 100 Jahre unter der Annahme, dass AgNP nicht mobil ist

4.7 Zusammenfassung der berechneten Umweltkonzentrationen (Technologiebasiertes Szenario)

In diesem Kapitel werden die einzelnen berechneten Umweltkonzentrationen für die Szenarien A, B und C nochmals zusammengefasst. Zusätzlich werden auch die aus der Literatur bekannten, modellierten Umweltkonzentrationen aufgeführt. Auf diese Weise sind ein Vergleich und eine erste Bewertung der berechneten PEC-Werte möglich. In den Szenarien A bis C wurde lediglich Nanosilber, welches aus Textilien freigesetzt wurde, betrachtet. In den Angaben der Literaturrecherche wurde Nanosilber aus den verschiedensten Anwendungen mit in die Berechnungen einbezogen. Die relevanten Daten sind in Tabelle 10 dargestellt. Bei einem Vergleich der PEC-Werte aus der Literatur mit jenen der Szenarien A bis C muss unterschieden werden, dass es sich bei den Literaturwerten um Werte aus einer globalen Betrachtung auf Basis von Tonnageabschätzungen handelt, während die PEC-Werte der Szenarien A bis C aus einer lokalen Betrachtung hervorgehen.

Tabelle 10: Übersichtstabelle der berechneten Konzentrationen für Belebtschlamm und Umweltkonzentrationen an Nanosilber

Kompartiment	PEC Szenario A (UMSICHT)	PEC Szenario B (UMSICHT)	PEC Szenario C (UMSICHT)	PEC (Literatur) ^a
Klärschlamm	3,96 mg/kg TS	2,06 mg/kg TS	0,28 mg/kg TS	1,68 mg/kg TS
Oberflächengewässer	15,63 ng/L	8,13 ng/L	1,09 ng/L	0,764 ng/L
Sediment	4,08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM	2,12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM	0,29 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM	0,241 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM ^b
Boden	6,62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM	3,44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM	0,46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM	1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TM pro Jahr ^b (Europa) (Boden gesamt: 22,7 ng/kg TM pro Jahr ^b)

Kompartiment	PEC Szenario A (UMSICHT)	PEC Szenario B (UMSICHT)	PEC Szenario C (UMSICHT)	PEC (Literatur) ^a
Boden (100 Jahre)	218,31 µg/kg TM	113,52 µg/kg TM	15,28 µg/kg TM	150 µg/kg TM (Hochrechnung)

^a: Daten aus Gottschalk et al. (2009); ^b: Darstellung der jährlichen Zunahme!

4.8 Umweltkonzentrationen für das Tonnage-basierte Szenario

Die Input – Werte zur Berechnung der lokalen Emission in die Kläranlage (Waschen von Nanosilber – haltigen Textilien) für das auf Tonnage basierende Szenario nach TGD werden in Tabelle 13 aufgeführt.

Tabelle 11: Annahmen zur Berechnung der Emission in die Kläranlage für das auf Tonnage basierende Emissionsszenario

Abk. der Größe	Größe	Wert	Einheit	Quelle
Q _{AgNP_EU}	Jährliche Tonnage in der EU	1200	kg	UMSICHT, AP 3.1
F _{reg}	Vorgabe-Umrechnungsfaktor auf die Region	0,1	--	TGD
F _{mainsource}	Vorgabe-Umrechnungsfaktor auf die lokale Ebene	0,002	--	TGD
F _{AgNP}	Emissionsfaktor für AgNP (Servicezeit: 1 Jahr)	1	--	TGD
T _{emission}	Anzahl der Emissionstage	365	d	TGD

Für die mit Nanosilber ausgerüsteten Textilien wird von einer Servicezeit von einem Jahr ausgegangen, d.h. die komplette Menge an AgNP wird innerhalb eines Jahres für die EU und somit anteilig auch für die lokale Kläranlage emissionsrelevant. Es wird somit von einer 100% Auswaschung des Nanosilbers aus den Textilien innerhalb eines Jahres ausgegangen.

$$E_{\text{stp}} := \frac{Q_{\text{AgNP_EU}} \cdot F_{\text{reg}} \cdot F_{\text{mainsource}} \cdot F_{\text{AgNP}}}{T_{\text{emission}}} \quad (10)$$

Die mit obiger Beziehung berechnete Emission beträgt 0,658 g d⁻¹, bzw. einwohnerspezifisch 65,8 µg inh⁻¹ d⁻¹. Diese auf der Tonnage (abgeleitet in der Lebenszyklusanalyse) basierende Emission fällt in den Bereich der auf technologiespezifischen Daten basierenden Emission (21,9 - 312,5 µg inh⁻¹ d⁻¹), siehe Kap.4.3. Eine Ableitung der Umweltkonzentrationen für die Kompartimente Oberflächengewässer, Sediment, Boden (über Klärschlamm) entsprechend der Kapitel 4.4-4.6 für das technologiebasierte Szenario entfällt daher.

Fazit: Die im Rahmen des Projekts UMSICHT berechneten PECs für NM-300K, freigesetzt aus Textilien in drei verschiedenen Auswasch-Szenarien, bestätigen bei einem direkten Vergleich mit veröffentlichten Messwerten für Silber in Klärschlamm und mit Konzentrationen aus Modellrechnungen (Gottschalk et al., 2009) die Größenordnung der Literaturwerte.

Die hier berechneten lokalen Konzentrationen, welche zur Bewertung der ökotoxikologischen Befunde erforderlich sind, beruhen auf zum Teil konservativen Einzelinputs, welche durchaus zu sehr konservativen PECs führen können. Eine direkte Vergleichbarkeit mit den PEC-Werten, die aus der in UMSICHT abgeleiteten Lebenszyklusanalyse (AP3.1) resultieren (siehe Bericht Partner ÖKO), ist hier nicht gegeben,

da die letzteren Mittelwerte der Konzentrationen wiedergeben, die man durch Verdünnung im Gesamtkompartiment erhält und somit eine eher mittlere regionale Konzentration widerspiegeln.

5 Wirkkonzentrationen

Für die Anfertigung der Umweltbewertung für Nanosilber aus Textilien wurden in diesem Kapitel die in UMSICHT ermittelten EC_{10^-} , EC_{50^-} und NOEC-Werte zusammengefasst. Neben den Wirkkonzentrationen des Silbernanopartikels NM-300K für die Bereiche Kläranlage, Boden (via Klärschlamm), Oberflächengewässer und Sediment wurden auch Literaturwerte zur Wirkung von Nanosilber auf verschiedene Organismen herangezogen. Alle Ergebnisse, die in Versuchen nach standardisierten Richtlinien erfolgten, sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Zusätzlich wurde eine Literaturrecherche zu Wirkkonzentrationen, die mit verschiedenen anderen Silbernanopartikeln ermittelt wurden, durchgeführt. Die einzelnen Wirkkonzentrationen, die sich aus dieser Recherche ergaben, sind im Detail in Tabelle 13 aufgeführt. Es zeigt sich, dass die Toxizität in den meisten Fällen mit der von NM-300K vergleichbar ist. Einschränkend muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Literatur im Rahmen dieses Vorhabens keiner Kontrolle auf die Validität der Ergebnisse und Bewertung unter Zugrundelegung der Klimisch-Kriterien unterzogen wurde. Auf einen detaillierten Vergleich wurde daher verzichtet, da dies für die Risikobewertung nicht zielführend wäre. Die Risikobewertung wurde somit auf Grundlage des umfangreichen Datensatzes, der in UMSICHT zu Wirkung des Nanosilbers (NM-300K) erstellt wurde, angefertigt.

5.1 NM-300K: Wirkkonzentrationen im Belebtschlamm

Die Mikroorganismen in der Kläranlage reagieren am wenigstens sensitiv auf Nanosilber. Es wurden Versuche mit Protozoen und Belebtschlamm durchgeführt, welche Aussagen über eine mögliche Beeinträchtigung der Funktionsweise einer Kläranlage liefern.

Beim Belebtschlamm zeigte sich nach einer 3-stündigen Kontaktzeit eine 50%ige Hemmung der Atmungsaktivität erst bei 43,0 mg/L für NM-300K. In diesem Versuch konnte eine NOEC von 9,0 mg/L berechnet werden (Tabelle 12). Bis zu dieser Konzentration lagen die Atmungsraten sogar oberhalb der Raten der Kontrollen.

In dem Versuch mit Protozoen ergab sich nach einer 22-stündigen Kontaktzeit eine Wirkkonzentration (EC_{50}) von 18,37 mg/L, eine NOEC ließ sich hier nicht berechnen.

Fazit: Der Belebtschlamm-Atmungshemmtest wurde zwar nach alter Richtlinie von 1984, mit deutlich geringerer Kontroll- und Replikatzahl als nach aktueller Guideline (2010) vorgeschrieben, durchgeführt, stellt aber innerhalb von UMSICHT einen geeigneten Screening-Test dar. Eine Untersuchung der Wirkung von NM-300K auf die als besonders empfindlich geltenden Nitrifikanten erfolgte nicht. Die Durchführung einer Studie nach DIN EN ISO 9509 (Nitrifikationshemmtest im Belebtschlamm) wird daher aus Sicht des UBA empfohlen.

Die Versuche mit Protozoen werden in dem TGD II noch nicht aufgeführt und sind noch nicht Gegenstand der Bewertungspraxis im UBA. Es existiert bisher nur ein Draft Guidance Document (OECD TG „Protozoa Activated Sludge phagocytosis inhibition Test“), welches sich aktuell in der Ringtestung befindet. Noch ist unklar, wie verlässlich die danach gewonnenen Werte sind und inwieweit Validitätskriterien geeignet sind und erfüllt werden können. Da die Protozoen eine für die Funktion der Kläranlagen wichtige

Organismengruppe darstellen, welche sonst keine Berücksichtigung finden würden, werden diese Daten in der aktuellen Risikobewertung aufgeführt. Nach Vorliegen eines validierten und akzeptierten Guidance Documents müssen die Ergebnisse ggfls. noch einmal überprüft werden.

Aus diesem Grund werden für die Bewertung des Risikos für die Kläranlage die Daten aus den Versuchen mit Belebtschlamm nach OECD TG 209 (1984) genutzt, auch wenn es sich hierbei grundsätzlich nicht um den empfindlichsten Test handelt. Eine Untersuchung der Wirkung auf anaerobe Mikroorganismen (Faulschlamm) erfolgte nicht.

5.2 NM-300K: Wirkkonzentrationen in Oberflächengewässern

Im Bereich der Organismen, die für die Bewertung des Oberflächengewässers herangezogen werden, wurde die Wirkung von NM-300K auf das Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae*, die Grünalge *Desmodesmus subspicatus*, *Daphnia magna*, die Wasserlinse *Lemna minor*, die Makrophyte *Myriophyllum spicatum* und den Zebraäbrbling *Danio rerio* untersucht. Die Wirkung auf *Danio rerio* wurde anhand des Fisch-Embryo-Tests (FET) bestimmt. Der Effekt von NM-300K auf *Myriophyllum spicatum* wurde in einem Versuch ohne Sediment durchgeführt und wird daher auch zu den Organismen für die Bewertung des Risikos auf Oberflächengewässern gewertet. Des Weiteren wurde die Wirkung von NM-300K in einem Fisch Early Life Stage Test untersucht. Diese Ergebnisse stammen aus dem UFOPLAN Vorhaben FKZ 3709 65 418 (Schäfers and Weil, 2012). Bei dem in diesem Vorhaben genutzten Nanosilbermaterial handelt es sich um ein Material aus dem identischen Batch, der auch im Projekt UMSICHT genutzt wurde.

Auf Grundlage der nominal eingesetzten Konzentrationen reagierten Daphnien und das Cyanobakterium *Anabaena flos-aquae* am sensitivsten auf Nanosilber. Im Daphnien Reproduktionstest wurden die niedrigsten Werte errechnet. Hierbei ergab sich eine NOEC von 0,16 µg/L. In den Versuchen mit Cyanobakterien (*Anabaena flos-aquae*) ergab sich ein E_yC_{10} von 0,8 µg/L und ein E_rC_{10} von 1,2 µg/L. Eine NOEC konnte hierbei nicht bestimmt werden (Tabelle 12).

Die Mobilität der Daphnien wurde im Rahmen des Immobilisationstest nach OECD 202 untersucht. Hier ergab sich eine NOEC von 28 µg/L und ein EC_{50} von 41 µg/L (Tabelle 12). Im Fisch Early Life Stage Test zeigte sich, dass die Überlebensrate der Larven bei ≥ 47 µg/L signifikant reduziert war. Die NOEC wurde hier mit 23 µg/L berechnet. Den empfindlichsten Endpunkt in diesem Versuch stellte jedoch das Wachstum mit einer NOEC von 5,9 µg/L dar. In den Versuchen mit *Lemna minor*, *Myriophyllum spicatum* und im Fischembryotest mit *Danio rerio* war die Wirkung von NM-300K am wenigsten stark ausgeprägt. Hier ergab sich eine EC_{50} von 0,78 mg/L im FET. Der EC_{50} in den Versuchen mit Wasserpflanzen lag zwischen 0,7 mg/L (EC_{50} ; Biomasse) und 2,6 mg/L (EC_{50} , Wachstumsrate Anzahl Fronds) bei *Lemna minor* (Tabelle 12). In einem vergleichbaren Bereich lag auch die Wirkung von NM-300K im Versuch mit *Myriophyllum spicatum*. Es wurden Wirkkonzentrationen (EC_{50}) je nach Endpunkt von 0,24 mg/L (Frischgewicht) bis 4,9 mg/L (Hauptspießlänge) berechnet.

Fazit: Die Daphnien reagierten im Reproduktionstest am sensitivsten auf NM-300K. Die Wirkkonzentratione (NOEC) aus diesem Test geht somit in die Effektbewertung für die Organismen des Oberflächengewässers im Sinne der Ableitung der PNEC mit ein. Zu beachten ist hierbei, dass die Ergebnisse jeweils auf Grundlage der Nominalkonzentrationen berechnet wurden. Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass die berechnete NOEC des Reproduktionstests mit Daphnien wegen der unüblichen Dosis-Wirkungsbeziehung unsicher ist. Die PNEC für das Oberflächengewässer wird dann in der Risikobewertung der PEC für das Oberflächenwasser gegenüber gestellt.

Empfehlung: Es wäre sinnvoll den Daphnien-Reproduktionstest zu wiederholen. Bei diesem Test sollten in den Testlösungen die Realkonzentrationen von Nanosilber und gelöstem Silber getrennt bestimmt werden.

5.3 NM-300K: Wirkkonzentrationen in Sedimenten

Die Effektbewertung für Nanosilber (NM-300K) in Sedimenten erfolgt auf Basis der Ergebnisse mit *Chironomus riparius* nach OECD TG 219 (spiked water). Hierbei wurde zwar das Nanosilber in die Wasserphase zugegeben, es zeigte sich anhand der Analytik jedoch, dass das gesamte Nanosilber in kürzester Zeit (<24 Stunden) sedimentiert war. Hierdurch ist es möglich, die berechneten Wirkkonzentrationen aus der Wasserphase auf das Sediment zu beziehen.

Der EC₅₀ bei *Chironomus riparius* liegt zwischen 1,83 mg/L bei dem Endpunkt (Emergenz der weiblichen Mücken) bis 15,37 mg/L für den Endpunkt (Entwicklungsrate der weiblichen Mücken). Die NOEC in diesem Test lag für den Endpunkt der Emergenz bei 1,25 mg/L und für die Entwicklungsrate bei 0,625 mg/L.

Die dargestellten Ergebnisse stammen aus dem UFOPlan Vorhaben FKZ 3709 65 416 (Hund-Rinke and Klawonn, 2012). Bei dem in diesem Vorhaben genutzten Nanosilbermaterial handelt es sich um ein Material aus dem identischen Batch, der auch im Projekt UMSICHT genutzt wurde.

Fazit: Für die Bewertung des Kompartimentes Sediment wird die PNEC basierend auf dem NOEC für *Chironomus riparius* abgeleitet und in der Risikobewertung der entsprechenden PEC Sediment gegenübergestellt.

Tabelle 12: Datensatz aus UMSICHT zu Wirkkonzentrationen von NM-300K

Daten UMSICHT	NM-300K					
Oberflächengewässer, Sediment, Belebtschlamm						
Trophiestufe	Organismus (Richtlinie)	Endpunkt	NOEC [mg/L]	EC ₁₀ Werte [mg/L]	EC ₅₀ Werte [mg/L]	Kommentar
Aquatische Cyano-bakterien und Algen	<i>Anabaena flos-aquae</i> (OECD TG 201)	Yield	< 0,0005	0,0007 [0,0004-0,001]	0,0015 [0,0012-0,0018]	Auswertung ohne den Außreißer bei der Konzentration 1,3 µg/L
		Wachstumsrate	0.0013 (Bonferroni-t-test)	0,0012 [0,0010-0,0015]	0,0021 [0,0018-0,0023]	
	<i>Desmodesmus subspicatus</i> (OECD TG 201)	Yield	0,017 Geometrisches Mittel von 0,024; 0,020; 0,010	0,018 Geometrisches Mittel von 0,028; 0,025; 0,009	0,031 Geometrisches Mittel von 0,050; 0,037; 0,022; 0,023	Geometrische Mittel aus 3 bis 4 Versuchen ¹
		Wachstumsrate	0,021 Geometrisches Mittel von 0,048; 0,020; 0,010	0,025 Geometrisches Mittel von 0,040; 0,032; 0,012	0,068 ¹ Geometrisches Mittel von 0,057; 0,081	
Aquatische invertebraten	<i>Daphnia magna</i> (OECD TG 211)	Reproduktion	0,00016	-	-	untypische Dosis-Wirkungs-Beziehung - bei Konzentrationen von 0,51; 1,64 und 5,24 µg/L traten ähnliche Hemmungen von ca. 15% auf.
	<i>Daphnia magna</i> (OECD TG 202)	Immobilisation	0,028 Geometrisches Mittel von 0,032; 0,031; 0,020; 0,030	0,028 Geometrisches Mittel von 0,031; 0,027; 0,021; 0,035	0,041 Geometrisches Mittel von 0,059; 0,043; 0,024; 0,046	Geometrische Mittel aus 4 Versuchen
	<i>Daphnia magna</i> (OECD TG 202)	Immobilisation (4 d)	0,02	0,015 [0,003-0,024]	0,031 [0,018-0,042]	Verlängerter akuter Test
	<i>Chironomus riparius</i> (OECD TG 219)	Emergenz (männlich und weiblich)	1,25	1,58 [1,35– 1,75]	2,20 [2,04 – 2,35]	Spiked water Die Fütterung erfolgte über das Wasser.
	Emergenz (männlich)	1,25	2,06	2,41]		
	Emergenz (weiblich)	1,25	1,05 [0,82 – 1,24]	1,83 [1,61 – 2,09]		
	Entwicklungsrate (männlich und weiblich)	0,625	0,925	7,51		
	Entwicklungsrate (männlich)	0,625	0,994]	5,83]		
	Entwicklungsrate (weiblich)	n.d.	0,934 [-]	15,37 [-]		

Daten UMSICHT	NM-300K					
Fische	<i>Danio rerio</i> (Fisch embryo test) (OECD Entwurf, 2006)	Mortalität	0,43 Geometrisches Mittel von 0,8; 0,5; 0,75; 0,5; 0,1	0,46 Geometrisches Mittel von 0,7; 0,46; 0,74; 0,52; 0,17	0,78 Geometrisches Mittel von 0,7; 1,67; 1,12; 0,29)	Geometrische Mittel aus 5 Versuchen
	<i>Danio rerio</i> (Fisch Early Life Stage) (OECD TG 210)	Überlebensrate der Larven Wachstum	0,023 0,0059	- -	- -	Die Ergebnisse sind auf die mittlere gemessene Konzentration bezogen
Aquatische Pflanzen	<i>Lemna minor</i> (Draft OECD 221)	Anzahl Fronds	0,036 Geometrisches Mittel von 0,036; 0,036	0,3 Geometrisches Mittel von 0,3; 0,2; 0,5	1,5 Geometrisches Mittel von 1,5; 1,8; 1,2; 1,4; 1,9	Geometrische Mittel aus 2 bis 5 Versuchen, ¹ Ergebnisse von zwei Prüfinstituten
		Wachstumsrate (Anzahl Fronds)	0,036 Geometrisches Mittel von 0,036; 0,036	0,9 Geometrisches Mittel von 0,9; 0,9	2,6 Geometrisches Mittel von 3; 3; 2,4; 2,2	Bei NOEC und EC50 (Biomasse) Effekte durch Dispersant.
		Biomasse	0,006 Geometrisches Mittel von 0,006; 0,006	0,1 Geometrisches Mittel von 0,04; 0,04; 0,07; 0,77 ⁹	0,7 Geometrisches Mittel von 0,5; 0,5; 0,5; 1,25 ⁹ ; 1,2 ⁹	Dispersant: Anzahl Fronds: NOEC > 68969 mg/L Biomasse: NOEC = 0,053 mg/L; EC50 = 4,3 mg/L
	<i>Myriophyllum spicatum</i> (durchgeführt nach Maletzki et al., 2010)	GSP (Gesamtsproßlänge) Wachstumsrate GSP HPS (Hauptsproßlänge) Wachstumsrate HPS Frischgewicht Trockengewicht Seitentriebe	- - - - n.d. 0,1 [0 – 0,34] n.d.]	0,23 [0,01-0,45] 0,243 [0,146 – 0,341] 0,28 [0,25-0,31] 0,44 [0,42-0,46]	0,82 [0,37-1,01] 1,38 [1,15 – 1,68] 1,21 [1,17-1,26] 1,77 [1,73-1,82] 0,24 [0,01 – 5,84] 0,88 [0,17 – 4,26] 0,3 [0,15 – 0,72]	
	<i>Myriophyllum spicatum</i>	HPS (Hauptsproßlänge)	n.d.	0,5 [0,06 – 1,1]	4,9 [2,9 – 11,1]	
Kläranlage	Protozoen (Draft OECD TG „Protozoa Activated Sludge phagocytosis inhibition Test“)	Phagocytose	-	4,98 [3,09 – 6,63]	18,37 [16,13 – 21,13]	Daten nach Inkrafttreten des Guidance Documents validieren

Daten UMSICHT	NM-300K					
	Belebtschlamm (OECD TG 209, 1984)	Atmungshemmung	9,0	27,90 [24,00 – 30,90]	43,00 [40,50 – 45,30]	Alte TG: nur geringe Anzahl an Kontrollen und Replikaten, keine Untersuchung der Nitrifikation
Boden						
Trophiestufe	Organismus (Richtlinie)	Endpunkte	NOEC [mg/kg TM Boden]	EC ₁₀ Werte [mg/kg TM Boden]	EC ₅₀ Werte [mg/kg TM Boden]	
Boden Makroorganismen	<i>Eisenia andrei</i> (OECD TG 222)	Reproduktion	15	24 [0-51]	146 [86-741]	Im Vergleich zur Kontrolle mit Dispersant
Terrestrische Pflanzen	<i>Phaseolus aureus</i> (Bohne) (OECD TG 208)	Biomasse	1,5		107	
	<i>Avena sativa</i> (Hafer) (OECD TG 208)	Biomasse	10			Range Finder
Bodenmikroorganismen	Mikrobielle Biomasse (OECD TG 217)	Biomasse	1,67	1,0 [-]	5,0 [-]	Multispezies-Funktionstest
	Nitrifikanten (Boden) (ISO 15685)	Ammoniumoxidation/ Nitritbildung	< 0,56	0,5 [0,0 – 1,0]	1,6 [0,5 – 4,8]	Multispezies-Funktionstest, nur 1. Stufe der Nitrifikation

¹ Es wurden nicht immer alle Endpunkte in jeden Versuch bestimmt bzw. manchmal lagen die Effektkonzentrationen so, dass es statistisch nicht sinnvoll war eine EC₁₀ oder EC₅₀ zu bestimmen.

Tabelle 13: Literaturdaten zu Wirkkonzentrationen von Nanosilber

Organismus	Nanosilber	Ökotoxikologische Effekte	Referenz
<i>Daphnia magna</i>	a) Citrat-stabilisierte AgNP Kolloide (Durchschnittl. Partikelgröße: 13,3 nm) b) AgNP Pulver (Primärpartikelgröße: 60 – 100 nm)	a) EC ₅₀ : 7,98 µg/L [95% CI = 7,04 – 9,0] b) EC ₅₀ : 0,75 µg/L [95% CI = 0,71 – 0,78]	Lee et al. (2012)
<i>Daphnia magna</i>	a) Kolloid auf Wasserbasis - Sphärische AgNP (Durchschnittl. Partikelgröße: 5-25 nm) b) Kolloid auf Wasserbasis – Sphärische AgNP (Durchschnittl. Partikelgröße: 16.6 nm) c) AgNP Pulver (Durchschnittl. Partikelgröße: 20 nm)	a) EC ₁₀ : 0,003 mg/L; EC ₅₀ : 0,004 mg/L EC ₉₀ : 0,005 mg/L b) EC ₁₀ : 0,0015 mg/L; EC ₅₀ : 0,002 mg/L EC ₉₀ : 0,003 mg/L c) EC ₁₀ : 0,140 mg/L; EC ₅₀ : 0,187 mg/L EC ₉₀ : 0,251 mg/L	Asghari et al. (2012)
<i>Daphnia magna</i>	a) Organisch gecoatete AgNP (<100 nm) b) Organisch ungecoatete AgNP (<150 nm) c) AgNP mit „coffee coating“ d) AgNP mit „citrate coating“	a) LC ₅₀ : 4,4 µg/L (Filtriert) LC ₅₀ : 31,5 µg/L (Nicht filtriert) LC ₅₀ : 176,4 µg/L (Gefüttert) b) LC ₅₀ : 1,4 µg/L (Filtriert) LC ₅₀ : 16,7 µg/L (Nicht filtriert) c) LC ₅₀ : 1,0 µg/L d) LC ₅₀ : 1,1 µg/L	Allen et al. (2010)
<i>Daphnia pulex</i> (neonate); <i>Danio rerio</i> (fish); <i>Ceriodaphnia dubia</i> (neonate); <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (algae)	Range für Partikeldurchmesser (Nominal): 20 – 30 nm	<u><i>Danio rerio</i></u> LC ₅₀ : 7,07 mg/L [6,04 – 8,28] Adulte nach 48 h LC ₅₀ : 7,20 mg/L [5,90 – 8,60] Juvenile nach 48h <u><i>Daphnia pulex</i></u> LC ₅₀ : 0,0040 mg/L [0,0030 – 0,0050] Adulte <u><i>Ceriodaphnia dubia</i></u> LC ₅₀ : 0,067 mg/L <u><i>Pseudokirchneriella subcapitata</i></u> LC ₅₀ : 0,19 mg/L	Griffitt et al. (2008)

Organismus	Nanosilber	Ökotoxikologische Effekte	Referenz
<i>Daphnia magna</i>	Suspension von AgNP mit Partikelgrößen von 60 nm und 300 nm	<u><i>Daphnia magna</i></u> EC ₅₀ (60nm): 1,0 µg/L [95% CI = 0,1 – 1,3] EC ₅₀ (300nm): 1,4 µg/L [95% CI = 0,3 – 2,9] <u><i>Oryzias latipes</i></u> EC ₅₀ (60nm): 28,0 µg/L [95% CI = 23 – 34] EC ₅₀ (300nm): 67 µg/L [95% CI = 45 – 10]	Kim et al. (2011)
<i>Daphnia magna</i>	Carbonat gecoatetes AgNP (Partikelgröße ca. 20 nm)	NOEC (Mortalität) = 50 µg/L (21 d) NOEC (Reproduktion) = 5 µg/L (21 d) NOEC (Länge) < 5 µg/L (21 d)	Zhao et al. (2011)
<i>Oryzias latipes</i>	Partikelgröße: 49,6 nm (TEM); ZP der Stammlösung: -29,9 ± 3,55 mV (bei pH 7,5)	LC ₅₀ : 34,6 ± 0,9 µg/L	Chae et al. (2009)
<i>Pimephales promelas</i>	Zwei AgNP Dispersionen a) gerührt und b) nach Ultraschallbehandlung der Stammdispersion	a) LC ₅₀ (gerührt): 9,4 mg/L LC ₅₀ (Ultraschall): 10,6 mg/L b) LC ₅₀ (gerührt): 1,25 mg/L LC ₅₀ (Ultraschall): 1,36 mg/L	Laban et al. (2010)
<i>Danio rerio</i>	PVP-gecoatete AgNP (Partikelgröße 30 – 40 nm)	LC ₅₀ : 84 µg/L	Bilberg et al. (2012)
<i>Danio rerio (embryos)</i>	AgNP Suspensionen mit a) 12 nm und b) 21 nm Partikelgröße	a) LD ₅₀ : 15,8 mg/L EC ₅₀ : 12,6 mg/L b) LD ₅₀ : 50,1 mg/L EC ₅₀ : 5,0 mg/L	Cowart et al. (2011)

Organismus	Nanosilber	Ökotoxikologische Effekte	Referenz
<i>Lemna minor</i>	Zwei Citrate gecoatete AgNP a) TEM: 29,2 ± 10,9 nm; DLS: 15,92 ± 2,1 nm b) TEM: 93,52 ± 48,6 nm; DLS: 84,1 ± 11,8 nm	a) EC ₅₀ [µg/L]: Trockengewicht (7d): 63,71 µg/L Trockengewicht (14d): 19,06 µg/L Anzahl Fronts (7d): 139,5 µg/L Anzahl Fronts (14d): 38,06 µg/L b) EC ₅₀ [µg/L]: Trockengewicht (7d): 61,64 µg/L Trockengewicht (14d): 19,15 µg/L Anzahl Fronts (7d): 125,29 µg/L Anzahl Fronts (14d): 42,51 µg/L	Gubbins et al. (2011)
<i>Nereis diversicolor</i>	PVP-gecoatete AgNP (Partikelgröße < 100 nm)	a) Kein Effekt auf Mortalität und Wachstum	Cong et al. (2011)
<i>Bodenmikroflora</i>	Kommerziell erhältliches Nanosilberspray „Nano-Argentum 10“ (Pflanzenwachstumstonikum)	Signifikante Hemmung der mikrobiellen Biomasse bei 320 µg/kg TM Boden	Hänsch and Emmerling (2010)
<i>Eisenia fetida</i>	Nanosilber Pulver mit zwei verschiedenen Größen: a) Primärpartikeldurchmesser: 10 nm (TEM: 40,88 nm) z-Average: 114,3 nm ZP: - 49,5 mV b) Primärpartikeldurchmesser: 30 - 50 nm (TEM: 56,35 nm) z-Average: 154,8 nm ZP: - 35,9 mV	Nach OECD TG 222 in natürlichem Boden a) Hemmung der Reproduktion bei einer Konzentration von 801,0 ± 74,9 mg/kg TM Boden b) Hemmung der Reproduktion bei einer Konzentration von 773,3 ± 11,2 mg/kg TM Boden	Shoults-Wilson et al. (2011b)
<i>Eisenia fetida</i>	Nanosilber Pulver mit zwei verschiedenen Coatings: a) Primärpartikeldurchmesser: 30 - 50 nm (TEM: 40,88 nm) Coating: Oelic acid b) Primärpartikeldurchmesser: 30 - 50 nm (TEM: 56,35 nm) Coating: PVP	Nach OECD TG 222 in natürlichem Boden a) Hemmung der Reproduktion bei einer Konzentration von 727,6 mg/kg TM Boden b) Hemmung der Reproduktion bei einer Konzentration von 773,3 mg/kg TM Boden	Shoults-Wilson et al. (2011a)

Organismus	Nanosilber	Ökotoxikologische Effekte	Referenz
<i>Enchytraeus albidus</i>	PVP gecoatetes Nanosilber: Mittlerer Durchmesser 30 – 50 nm TEM: 82,2 nm; DLS: 235 nm	<u>Reproduktion</u> EC ₁₀ : 70 mg/kg TM Boden [31 – 149 mg/kg TM Boden] EC ₂₀ : 106 mg/kg TM Boden [59 – 189 mg/kg TM Boden] EC ₅₀ 225 mg/kg TM Boden [161 – 313 mg/kg TM Boden]	Gomes et al. (2012)
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Zwei AgNP; Durchschnittlicher Primärpartikeldurchmesser: a) 1 nm; kein Coating b) 28 nm; PVP gecoatet	Nach Zugabe von Ampicillin zur Unterdrückung des Bakterien-wachstums. a) LC ₅₀ : 13,9 mg/L EC ₅₀ : 2,1 mg/L b) LC ₅₀ : 2,8 mg/L EC ₅₀ : 0,7 mg/L	Ellegaard-Jensen et al. (2012)

5.4 NM-300K: Wirkkonzentrationen in Böden

Die Ergebnisse aus den Versuchen zur Wirkung von NM-300K in terrestrischen ökotoxikologischen Testverfahren aus dem Projekt UMSICHT sind in Tabelle 12 dargestellt. Auch hier wurden die Versuche nach standardisierten Richtlinien durchgeführt.

Die sensitivste Organismengruppe im Boden waren die Nitrifikanten. Hier ergab sich für NM-300K nach 28 Tagen eine EC_{10} von 0,5 mg/kg TM Boden und eine EC_{50} von 1,6 mg/kg TM Boden. Die NOEC lag bei < 0,56 mg/kg TM Boden. In den Pflanzenwachstumstests mit der Bohne *Phaseolus aureus* wurde eine EC_{50} von 107 mg/kg TM Boden ermittelt. Im Regenwurm-Reproduktionstest mit *Eisenia andrei* lag die EC_{50} bei 146 mg/kg TM Boden und die EC_{10} bei 24 mg/kg TM Boden für NM-300K.

Der Versuch mit den Nitrifikanten des Bodens wurden auf Grundlage einer Kombination der OECD Richtlinie 216 und der ISO Richtlinie 15685 durchgeführt. Der Versuch (z.B. die Inkubation und Messzeitpunkte) wurde nach OECD Richtlinie 216 durchgeführt. In der OECD Richtlinie 216 wird die Aktivität der Nitrifikanten durch die Messung des Nitratgehaltes nach verschiedenen Inkubationsperioden erfasst. Durch die Aktivität der Mikroorganismen steigt der Nitratgehalt an. Dieser Anstieg wird durch die Zugabe von Klärschlamm und einer daraus resultierenden starken Erhöhung des Nitratgehaltes in der Probe überlagert. Daher wurde entschieden, die Wirkung von NM-300K auf die Nitrifikanten durch die Messung der potentiellen Ammoniumoxidation nach ISO Richtlinie 15685 zu bestimmen. Im Vergleich zur OECD Richtlinie werden in der ISO Richtlinie evtl. Effekte auf den zweiten Teilprozess der Nitrifikation (Nitrit zu Nitrat) nicht erfasst.

Anhand der Literaturrecherche hat sich gezeigt, dass die für NM-300K ermittelten Effektkonzentrationen mit denen aus der Literatur für verschiedenste Nanosilber vergleichbar sind. Die Datenlage für die Wirkung von Nanosilber in terrestrischen Testsystemen ist allerdings wesentlich schwächer ausgeprägt als dies für aquatische Testsysteme ist.

Fazit: Für die Bewertung des Kompartimentes Boden wird die PNEC basierend auf der EC_{10} von 0,5 mg/kg TM Boden aus dem Nitrifikationstest abgeleitet.

6 Risikoabschätzung

In diesem Kapitel werden die in Kapitel 4 berechneten Umweltkonzentrationen in das Verhältnis mit den in Kapitel 5 beschriebenen Wirkkonzentrationen/Sicherheitsfaktoren gesetzt. Liegt der dabei gebildete Quotient bei einem Wert größer als 1, so bedeutet dies, dass ein Risiko vorliegt. Bei Quotienten, die einen Wert kleiner als 1 haben, kann ein Risiko durch aus Textilien freigesetztes NM-300K ausgeschlossen werden.

Die Umweltbewertung für aus Textilien freigesetztes NM-300K wurde anhand des TGD II (2003) und den Erfahrungen des Umweltbundesamtes durchgeführt. In 12 bis 17 sind jeweils die „predicted environmental concentrations“ (PECs, vorhergesagte Umweltkonzentrationen) und die „predicted no observed effect concentrations“ (PNECs, vorhergesagte Konzentration ohne Effekte), sowie die resultierenden Quotienten für die einzelnen Umweltkompartimente aufgeführt. Bei der Risikobewertung werden Ergebnisse von Monospezies-Tests (außer Kläranlagenkompartiment und Bodenmikroorganismen) aus dem Labor genutzt, um vorherzusagen, bei welcher Konzentration keine unerwünschten Effekte in Multispezies-Ökosystemen auftreten. Die PNECs werden auf Grundlage des niedrigsten Effektwertes berechnet. Dieser Effektwert wird durch einen Sicherheitsfaktor geteilt. Die Höhe des Sicherheitsfaktors hängt von den vorliegenden Tests ab- und spiegelt den Grad der Unsicherheit bei der Extrapolation von den Labordaten zur realen Umwelt wieder. Die hier vorgenommene Ableitung der Sicherheitsfaktoren erfolgte nach dem TGD II (2003).

Tabelle 18 gibt eine generelle Übersicht über die Datenlage, auf deren Basis die Umweltbewertung durchgeführt wurde, und über die verwendeten Sicherheitsfaktoren.

6.1 Abschätzung für Kläranlagen

Empfindlichster Organismus: Belebtschlamm (zu verwenden gemäß TGD II)

OECD Richtlinie: 209 (1984)

Betrachteter Endpunkt: Atmungshemmung

Bemerkung: Bei der Berechnung der $PNEC_{(Kläranlage)}$ wird ein Sicherheitsfaktor von 10 auf die NOEC bzw. von 100 auf die EC_{50} angesetzt. Der geringere der beiden Werte wird als $PNEC_{(Kläranlage)}$ verwendet. In diesem Fall ergibt sich eine $PNEC_{(Kläranlage)}$ von 0,43 mg/L.

Sicherheitsfaktor: 100

EC_{50} : 43,0 mg/L, entspricht bei einem Trockensubstanzgehalt im Versuch von 1,5 g TS Klärschlamm pro Liter einer Konzentration von 28,6 g/kg TS Klärschlamm

$PNEC_{(Kläranlage)}$: 0,43 mg/L bzw. 286 mg/kg TS Klärschlamm

Tabelle 14: Risikobewertung für Kläranlagen

Parameter	Szenario A (Baumwolle; beschichtet)	Szenario B (Polyester; beschichtet)	Szenario C (Lyocell; inkorporiert)
PEC _{stp}	0,156 µg/L	0,081 µg/L	0,011 µg/L
PNEC		430 µg/L	
PEC/PNEC	0,000363	0,000188	0,0000256
Risiko ja/nein	nein	Nein	nein

Fazit: Ein Risiko für den Betrieb der Kläranlage durch das Nanosilber NM-300K, das auf Grundlage der für diese Bewertung zu Grunde gelegten Daten und Szenarien aus Textilien freigesetzt wurde, ist in keinem der drei erstellten, sehr konservativen Szenarien A, B und C zu erwarten. Allerdings wurde die Wirkung auf die als am empfindlichsten geltenden Nitrifikanten z.B. in einem Nitrifikationshemmtest nach DIN EN ISO 9509 nicht untersucht. Auch eine Wirkung auf die für die Schlammfäulung und Schlammstabilisierung zuständigen anaeroben Mikroorganismen im Faulturn wurde nicht untersucht und kann daher in der Bewertung nicht berücksichtigt werden.

6.2 Abschätzung für Oberflächengewässer

Empfindlichster Organismus:	<i>Daphnia magna</i>
OECD Richtlinie:	211
Betrachtete Endpunkt:	Anzahl der Nachkommen
Sicherheitsfaktor:	10
NOEC:	0,16 µg/L
PNEC _(Oberflächengewässer) :	0,016 µg/L bzw. 16 ng/L

Tabelle 15: Risikobewertung für das Oberflächengewässer

Parameter	Szenario A (Baumwolle; beschichtet)	Szenario B (Polyester; beschichtet)	Szenario C (Lyocell; inkorporiert)
PEC	15,63 ng/L	8,13 ng/L	1,09 ng/L
PNEC	16 ng/L		
PEC/PNEC	0,9769	0,5081	0,0681
Risiko ja/nein	nein	nein	nein

Fazit: Ein Risiko für Organismen des aquatischen Ökosystems (Oberflächengewässer) durch das Nanosilber NM-300K, das auf Grundlage der für diese Bewertung zu Grunde gelegten Daten und Szenarien aus Textilien freigesetzt wurde, ist bei keinem der Szenarien zu erwarten. Obwohl der Quotient in Szenario A unter 1 liegt, ist er mit 0,9769 dennoch sehr hoch. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass durch die Verwendung der konservativen Szenarienwahl bereits eine Sicherheitsmarge einbezogen wurde. Ein Refinement durch Modifikation der PEC (Modifikation der Szenarien) kann den Quotienten aus PEC und PNEC weiter senken. Es wird erneut darauf hingewiesen, dass die zur Ableitung des PNEC genutzte NOEC des Reproduktionstests mit Daphnien mit einer gewissen Unsicherheit behaftet ist (s.o.).

6.3 Abschätzung für Sedimente

Empfindlichster Organismus:	<i>Chironomus riparius</i>
OECD Richtlinie:	219
Betrachteter Endpunkt:	Entwicklungsrate (männlich und weiblich)
Sicherheitsfaktor:	100
NOEC:	0,625 mg/L. In dem Testsystem befinden sich 490 g FM bzw. 370 g TM Sediment, dem 1 L mit AgNP versetztes Wasser zugegeben wird. Die NOEC von 0,625 mg/L ist auf 370 g TM Sediment zu beziehen. Auf diesem Weg ergibt sich eine NOEC von 1,69 mg/kg TM Sediment.
PNEC _(Sediment) :	0,0169 mg/kg TM Sediment bzw. 16,9 µg/kg TM Sediment

Tabelle 16: Risikobewertung für Sediment

Parameter	Szenario A (Baumwolle; beschichtet)	Szenario B (Polyester; beschichtet)	Szenario C (Lyocell; inkorporiert)
PEC	4,08 µg/kg TM	2,12 µg/kg TM	0,29 µg/kg TM
PNEC	16,9 µg/kg TM		
PEC/PNEC	0,2414	0,1254	0,0171
Risiko ja/nein	nein	nein	nein

Fazit: Ein Risiko für Sedimentorganismen durch das Nanosilber NM-300K, das auf Grundlage der für diese Bewertung zu Grunde gelegten Daten und Szenarien aus Textilien freigesetzt wurde, ist in keinem der drei erstellten, sehr konservativen Szenarien A, B und C zu erwarten. Allerdings ist eine Akkumulation von Silber in Form von AgNP bzw. transformierten Silberspezies im Sediment wahrscheinlich.

6.4 Abschätzung für Böden (via Klärschlamm)

Empfindlichste Organismengruppe:	Nitrifikanten (Boden)
ISO Richtlinie:	15685
Betrachtete Endpunkt:	Ammoniumoxidation/ Nitritproduktion (nach 28 Tagen)
Sicherheitsfaktor:	10
EC ₁₀ :	0,5 mg/kg TM Boden
PNEC _(Boden) :	0,05 mg/kg TM Boden bzw. 50 µg/kg TM Boden

Tabelle 17: Risikobewertung für Boden via Klärschlamm

Parameter	Szenario A (Baumwolle; beschichtet)	Szenario B (Polyester; beschichtet)	Szenario C (Lyocell; inkorporiert)
PEC	6,62 µg/kg TM	3,44 µg/kg TM	0,46 µg/kg TM
PNEC	50 µg/kg TM		
PEC/PNEC	0,1324	0,0688	0,0092
Risiko ja/nein	nein	nein	nein

Anmerkung: Nanosilber aus Textilien kann über eine landwirtschaftliche Klärschlammverwertung in den Boden gelangen. Daher muss im vorliegenden Fall betrachtet werden, wie viel (Nano-)Silber in dem Klärschlamm enthalten sein darf. Zunächst wird von einer einmaligen Aufbringung der maximalen Klärschlammmenge gemäß AbfKlärV (5 Tonnen pro Hektar in 3 Jahren) ausgegangen. Die PEC wurde nur für dieses Szenario erstellt, wobei für die Umrechnung der Fracht in eine Bodenkonzentration eine Bodentiefe von 20 cm und eine Bodendichte von 1,5 g/cm³ zugrunde gelegt wurde.

Unter der Annahme einer geringen Mobilität von des Nanosilbers NM-300K in Böden würde dies bedeuten, dass die PNEC von 50 µg/kg TM Boden nach 23 (Szenario A) bis 326 (Szenario C) Jahren bzw. bei 7,5

(Szenario A) bis 108 (Szenario C) einmaligen Applikationen der maximal erlaubten Klärschlammmenge erreicht werden würde.

Fazit: Ein Risiko für Bodenorganismen durch das Nanosilber NM-300K, das auf Grundlage der für diese Bewertung zu Grunde gelegten Daten und Szenarien aus Textilien freigesetzt und über Klärschlamm in den Boden eingebracht wurde, ist kurzfristig in keinem der drei erstellten, sehr konservativen Szenarien A, B und C zu erwarten. Allerdings ist eine Akkumulation von Silber in Form von AgNP bzw. transformierten Silberspezies durch eine sorgsam abgewogene Klärschlammausbringung möglichst zu vermeiden.

6.5 Ansatz zur Bestimmung von Grenzwerten von Nanosilber im Belebtschlamm

Im Rahmen einer Dissertation von Schlich (2013) zu dem Thema der Wirkung von Nanosilber in Böden eingebracht über Klärschlamm wurden Untersuchungen mit NM-300K-haltigem Klärschlamm, über 140 bzw. 180 Tage durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Langzeitversuche zeigen, dass der Silbergehalt im Boden mit zunehmender Versuchsdauer und einhergehendem Abbau des Klärschlammes zunahm und es zu einer hemmenden Wirkung auf die untersuchten Bodenmikroorganismen kam. Eine hemmende Wirkung wurde beobachtet, wenn die Ansätze aus Boden und NM-300K-haltigem Klärschlamm zwischen 60 und 180 Tagen gelagert wurden. Diese Aussage gilt nur für entwässerten, nicht gefaulten Klärschlamm. Es zeigte sich, dass die Nitrifikanten am sensitivsten auf die Freisetzung von Silber reagierten, dass aber auch die mikrobielle Biomasse erheblich beeinträchtigt wurde.

Die zum Ende der Versuche festgestellten Wirkungen auf Nitrifikanten, mikrobielle Biomasse und auch Pflanzenwachstum waren vergleichbar mit denen, die in Versuchen mit pristinem Nanosilber über 28 Tage erzielt wurden. Aufgrund dieser Vergleichbarkeit wurde die Risikoabschätzung für NM-300K-haltigen Klärschlamm, der als Dünger auf landwirtschaftlich genutzte Flächen aufgetragen wird, auf Basis der Ergebnisse mit pristinem NM-300K durchgeführt.

Zur Durchführung der Risikocharakterisierung wurden die NOEC und EC_{10} aus den Versuchen zur Wirkung von NM-300K auf Nitrifikanten und die mikrobielle Biomasse, auf die Reproduktion von *Eisenia andrei* und auf das Pflanzenwachstum von *Phaseolus aureus* (Tabelle 12) verwendet. Es wurde somit sowohl die Wirkung von NM-300K auf primäre und sekundäre Destruenten (Bodenmikroorganismen, Kompostwurm), als auch auf Produzenten (Pflanze) für die Risikocharakterisierung betrachtet.

Es zeigte sich, dass die Nitrifikanten in der potentiellen Ammoniumoxidation am sensitivsten auf NM-300K reagierten. Es wurden eine NOEC von $< 0,56$ mg/kg TM Boden und eine EC_{10} von $0,5$ mg/kg TM Boden mit einem sehr engen 95% Vertrauensintervall von $0 - 1,0$ mg/kg TM Boden berechnet (Tabelle 12). Die mikrobielle Biomasse wurde in einem vergleichbaren Maß durch NM-300K gehemmt, eine Wirkung auf die Regenwurm-Reproduktion und auf das Pflanzenwachstum ergab sich erst ab höheren Bodengehalten.

Der Charakterisierung lagen NOEC und EC_{10} Werte von mindestens drei Versuchen mit drei verschiedenen Organismengruppen vor, wodurch sich ein Sicherheitsfaktor von 10 ergab. Auf dieser Grundlage wurde eine PNEC im Boden von $0,05$ mg/kg TM Boden für NM-300K berechnet. An dieser Stelle ist anzumerken, dass es sich bei der Untersuchung der Wirkung auf die Nitrifikanten nicht um einen klassischen Ökotoxizitätstest mit einer Einzelspezies sondern um einen Funktionstest handelt, in dem vorrangig untersucht wird, ob die erste Stufe der Nitrifikation funktionsfähig bleibt. Dabei ist es egal, welche der an der ersten Stufe der Nitrifikation beteiligten Bakterienarten die Ammoniumoxidation übernehmen und ob einzelne Arten evtl. kurz- oder längerfristig durch deutlich niedrigere Konzentrationen an NM-300K gehemmt werden und es zu einer Verschiebung der Zusammensetzung der Arten kommt. Auch können mit diesem Test keine Effekte auf die Nitrifikanten der zweiten Stufe untersucht werden. Genau genommen wurden demnach nicht die Effekte auf

Nitrifikanten sondern auf die Ammoniumoxidation/ Nitritbildung im Boden untersucht. Die berechnete PNEC wurde auf den Klärschlammfad übertragen. Auf Grundlage der AbklärV dürften über den Klärschlammfad 1,67 g TS Klärschlamm/kg TM Boden aufgebracht werden. Bei einer PNEC für Boden von 0,05 mg/kg TM Boden an NM-300K entspricht dies einem Gehalt von 29,94 mg/kg TS Klärschlamm für NM-300K bei einmaliger Applikation.

Bezogen auf einen Zeitraum von 100 Jahren würde es zu ca. 33 Ausbringungen an Klärschlamm auf die landwirtschaftlich genutzte Fläche (bei Anwendung der deutschen AbklärV) kommen. Unter der Annahme, dass aufgrund geringer Mobilität eine Akkumulation im Boden erfolgt und die Bioverfügbarkeit von Nanosilber nicht zurückgeht, würde dies bedeuten, dass Klärschlamm nur dann auf die Fläche aufgebracht werden darf, wenn der Gehalt an Nanosilber 0,94 mg/kg TS Klärschlamm unterschreitet.

Fazit: Mit diesem Ansatz wird die Menge an Nanosilber in Klärschlamm berechnet, ab der es bei einer einmaligen Applikation des Klärschlammes auf landwirtschaftliche Flächen zu einer hemmenden Wirkung auf die Bodenmikroorganismen kommt. Ebenso kann auf diese Art und Weise unter der Annahme einer geringen Mobilität von Nanosilber in Böden eine Konzentration an Nanosilber in Klärschlamm berechnet werden, bei der es über einen Zeitraum von 100 Jahren zu keiner Überschreitung der PNEC kommen wird.

Tabelle 18: Auflistung der durchgeführten Versuche, vorhandene Wirkkonzentrationen und die daraus resultierenden Sicherheitsfaktoren für die Risikoabschätzung

Kompartiment	Richtlinie	NOEC	EC ₁₀	EC ₅₀	Anmerkungen	Sicherheitsfaktor
Kläranlage	OECD 209 (1984) (Möglichkeit 1)*	X	-	-	-	10
	OECD 209 (1984) (Möglichkeit 2)*	-	-	X	-	100
	OECD Entwurf (Protozoen)	-	X	X	Nicht relevant laut TGD II, noch keine anerkannte Guideline	
Oberflächengewässer	OECD 201 (Alge)	X	X	X	Long term; Mit 2 Organismen durchgeführt	10
	OECD 202 (Daphnie)	X	X	X	Short term	
	OECD 211 (Daphnie)*	X	-	-	Long term	
	OECD Entwurf, 2006 (Fischembryo)	X	X	X	Short term	
	OECD 210 (Fish Early Life Stage)	X	-	-	Long term	
	OECD 221 (Lemna)	X	X	X	Short term (nur Wachstum)	
	OECD Draft TG (Makrophyten)	-	X	X	Short term (nur Wachstum)	
Sediment	OECD 219 (Chironomiden)*	X	X	X	Long term	100
Boden	OECD 222 (Regenwurm)	(X)	-	X	Long term	10 (da drei Organismengruppen aus drei trophischen Ebenen mit Langzeittests)
	OECD 208 (Pflanze)	X		X	Als Long term gewertet, da Keimung und Wachstum enthalten; Mit 2 Pflanzen (Hafer, Bohne); zwei Pflanzen als akzeptabel angesehen, da Pflanzen keine Zielorganismen und Nitrifikanten deutlich empfindlicher sind	
	OECD 217 (Mikroorganismen; C-Transformation)	X	X	X	Long term (aufgrund 28 d Inkubation des Bodens mit Ag-NP) (Multispezies-Funktionstest)	
	ISO 15685 (Mikroorganismen; potentielle Ammoniumoxidation, da für Ag-NP besser geeignet als OECD 216, N-Transformation)*	(X)	X	X	Long term (aufgrund 28 d Inkubation des Bodens mit Ag-NP) (Multispezies-Funktionstest)	

*: Versuche, die für die Ableitung der PNEC gewählt wurden.

7 Zusammenfassung der Umweltbewertung

Szenarienwahl

Die lokalen technologiebasierten Szenarien, denen diese Risikobewertung zu Grunde liegt, wurden bewusst konservativ gewählt. Der alternative default-Ansatz nach TGD, der von einer Tonnage ausgeht, liefert lokale PECs für AgNP, die im Wertebereich der dargestellten PECs für die technologiebasierten Szenarien liegen. Beide Szenariotypen sind, auf die Input-Werte bezogen, unabhängig voneinander.

Die hier berechneten Umweltkonzentrationen sind der Größenordnung nach vergleichbar mit vorhandenen Literaturdaten, die für das gesamte in Europa verfügbare Nanosilber und für eine Vielzahl an Anwendungen und Einsatzgebiete, berechnet wurden. Somit ist ein direkter Vergleich der Umweltexpositionen nur eingeschränkt möglich, da lokale Expositionsszenarien höhere PECs liefern als regionale Szenarien, die eine mittlere gleichmäßige Exposition der Umwelt wiedergeben.

Fazit: Auf Basis der Szenarien ergibt sich in der dargelegten Risikobewertung, dass unter den vorausgesetzten Bedingungen mit keinem Risiko für Organismen der verschiedenen Umweltkompartimente gerechnet werden muss. Der Risikoquotient aus PEC und PNEC für das Oberflächengewässer in Szenario A liegt mit 0,9769 zwar sehr nah an 1, doch ist dabei zu berücksichtigen, dass durch die Wahl konservativer Szenarien bereits Sicherheitsmargen einbezogen wurden. Eine PEC-Verfeinerung wäre eine Möglichkeit, weitere Szenarien zu erstellen und die berechneten PECs realistischer zu gestalten. Es besteht jedoch keine Verpflichtung eines „Refinements“, da der Risikoquotient nicht größer oder gleich 1 ist. Zudem sind zur PEC-Verfeinerung verlässliche und repräsentative Daten erforderlich.

Risiko für Böden via Klärschlamm

Die klassische Risikobewertung hat gezeigt, dass bei Anwendung der deutschen AbfKlärV je nach Szenario nach 23 bis 326 Jahren, in denen nanosilberhaltigem Klärschlamm auf landwirtschaftliche Flächen aufgebracht wird, die ermittelte $PNEC_{(\text{Boden_via_Klärschlamm})}$ von 50 µg/kg TM Boden überschritten wird.

In einem alternativen Ansatz zur Bestimmung eines Grenzwertes von Nanosilber in Klärschlamm wurde gezeigt, dass einmalig Klärschlamm mit einer Nanosilberkonzentration von 29,94 mg/kg TS Klärschlamm aufgebracht werden darf. Unter Annahme einer sehr geringen Nanosilbermobilität in Böden und einer mehrmaligen Aufbringung an Klärschlamm gemäß der AbfKlärV über 100 Jahre würde dies bedeuten, dass Klärschlamm mit 0,94 mg/kg TS Klärschlamm aufgebracht werden dürfte. Hierbei wird von einer Applikation der maximalen Klärschlammmenge alle 3 Jahre ausgegangen.

Die Konzentration im Klärschlamm in den drei hier gewählten Szenarien liegt zwischen 0,28 (Szenario C) und 3,96 (Szenario A) mg/kg TS Klärschlamm. In den Szenarien A und B würde die Grenze für Nanosilber in Klärschlamm bei Betrachtung eines Zeitraums von 100 Jahren (0,94 mg/kg TS Klärschlamm) bereits überschritten werden. Auch hier muss darauf hingewiesen werden, dass die Szenarien sehr konservativ angelegt wurden. Unter dem Gesichtspunkt, dass der Gebrauch von Nanosilber in den verschiedensten Produkten zunimmt, erhöht sich die Konzentration unweigerlich, wodurch der Grenzwert von 0,94 mg/kg TS Klärschlamm schneller überschritten werden könnte.

Fazit: Hieran zeigt sich, dass gerade das Umweltkompartiment Boden und die Düngung von Böden mit Klärschlämmen aus kommunalen Kläranlagen auch im Hinblick auf Nanosilber im Klärschlamm sehr genau beobachtet werden muss.

Klärschlammanalytik

Eine Differenzierung zwischen Silbernanopartikeln, -ionen und nicht nanopartikulärem Silber ist derzeit in Boden und Klärschlamm nicht routinemäßig möglich. Die deutsche Klärschlammverordnung sieht keine Messung des Gesamtsilbergehaltes vor. Die Messung des Gesamtsilbergehaltes würde allerdings einen ersten Parameter darstellen, über den sich auch Aussagen zu einem Anstieg des Nanosilbergehaltes treffen lassen könnten. Auf diese Weise wäre es möglich, auf einen Anstieg unmittelbar zu reagieren und Klärschlamme mit einem erhöhten Silbergehalt nicht auf landwirtschaftlichen Flächen zu verwerten. Dies setzt jedoch eine Novellierung der AbfKlärV voraus. Die Relevanz dieser Forderung wird deutlich mit der Aussage der schwedischen Chemikalienagentur KEMI, nach der die Silberkonzentrationen im Klärschlamm seit einigen Jahren nicht mehr abnehmen, was der Fall mit abnehmender Nutzung der traditionellen Fotografie war (KEMI, 2012).

Fazit: Die Einführung des Gesamtgehaltes an Silber als Messparameter für Klärschlamme vor deren Applikation auf Böden könnte ein potentiell Risiko für terrestrische Organismen senken.

8 Diskussion

8.1 Umweltbewertungen für Nanosilber in der Literatur

Die in dieser Arbeit ermittelten Konzentrationen von Nanosilber im Belebtschlamm, Oberflächengewässer, Sediment und Boden, sowie die ökotoxikologischen Effektkonzentrationen in den genannten Umweltkompartimente wurden mit in der Literatur vorhandenen Daten verglichen (Tabelle 11 und 14). An dieser Stelle soll nun ein Vergleich mit bereits publizierten Umweltbewertungen von Nanosilber erfolgen. Ein solcher Vergleich ist nur bedingt zulässig, da zum Einen die erarbeiteten PECs auf unterschiedlichen Grundannahmen und/oder Szenarien beruhen, die Ableitungen der PNECs auf Grundlage verschiedener Silbermaterialien erfolgte.

Der Nachweis von Nanosilber in der Umwelt und damit die Ableitung von PECs ist – wie bei anderen Nanomaterialien auch – derzeit noch sehr schwierig. Es liegen kaum quantitative Daten vor. Die wenigen Studien, die sich mit dem Thema befassen, beruhen daher auf Modellierungen zur Abschätzung der Umweltkonzentration mit den entsprechenden Unsicherheiten (Blaser et al., 2008; Gottschalk et al., 2009; Mueller and Nowack, 2008).

Die Ableitung von PNECs für Nanomaterialien ist in bisherigen Veröffentlichungen aufgrund des unzureichenden Umfangs an validen Studien noch durch die Anwendung hoher Sicherheitsfaktoren geprägt. Eine Verfeinerung anhand von Effektwerten aus Studien über mehrere Trophiestufen, sowie mehr Daten zu chronischer Toxizität, aber auch die Identifizierung der toxikologisch wirksamen Silberspezies sind notwendig (Mikkelsen et al., 2011; Stone et al., 2010). Die im UMSICHT Projekt erfolgten, umfangreichen ökotoxikologischen Studien ermöglichten die Wahl von Sicherheitsfaktoren von 10 oder 100.

Im ENHRES Projekt (Stone et al., 2010) erfolgte auf Grundlage von Literaturdaten eine grobe quantitative Risikoabschätzung für Nanosilber in Oberflächengewässer. Eine Bewertung der Situation im terrestrischen Kompartiment wurde nicht vorgenommen, da zum Zeitpunkt der Analyse nicht ausreichend ökotoxikologische Daten vorlagen. Die Autoren nutzten verschiedene PECs aus der Literatur (10-80 ng/L, (Boxall et al., 2007; Mueller and Nowack, 2008), wiesen aber darauf hin, dass diese mit hohen Unsicherheiten behaftet sind. Der PNEC wird mit 40 ng/L abgeleitet und resultiert aus dem LC50 von 40 µg/L aus einem akuten Toxizitätstest mit *Daphnia pulex* (Griffitt et al., 2008) und einem Sicherheitsfaktor von

1000. Die Autoren gelangten so zu Risikoquotienten von 0,25 bis 2 und kamen zu dem Schluss, dass eine Verfeinerung der Bewertung notwendig ist, für die verbesserte Informationen zur Exposition, als auch Langzeitdaten zur Ökotoxizität erforderlich sind. Die PNEC für Oberflächengewässer aus dem UMSICHT Projekt liegt mit 16 ng/L unter Verwendung eines Sicherheitsfaktor von nur 10 in einem ähnlichen Bereich (Erneut wird hiermit aber darauf hingewiesen, dass aufgrund identifizierter Limitationen eine Wiederholung des zur Ableitung des PNEC genutzten Tests empfohlen wird.).

Toenning et al. haben 2012 eine Bewertung von Nanosilber aus Textilien vorgelegt, die auch eine Ableitung von PECs und Vergleich mit Literatur-basierten ökotoxikologischen Daten beinhaltet (Danish Ministry of the Environment, 2012). Diese Studie geht ebenso von einem ausschließlichen Eintrag von Nanosilber in die Umwelt über den Kläranlagenpfad aus. Die allgemeinen Annahmen zur Freisetzung von Nanosilber aus Textilien während des Waschvorgangs sind dem dieser Studie auf qualitativer Ebene sehr ähnlich, die einzelne Parameter sind aber konservativer gewählt. Die Betrachtung beinhaltet neben dem Eintrag über Auswaschung aus Textilien in der Waschmaschine auch die Auswaschung von Nanosilber aus Duschvorhängen während des Duschens. Die Autoren leiten danach für Oberflächengewässer eine PEC von 190 ng/L ab, was den hier präsentierten Werten von 1-15 ng/L je nach Szenario entgegen steht. Die Konzentration im Klärschlamm wird mit 300 mg/kg bestimmt (UMSICHT: 0,28-3,96 mg/kg), was in einer PEC für den landwirtschaftlich genutzten Boden von 100 µg/kg TM (UMSICHT:0,46-6,62 µg/Kg TM) resultiert.

Diese abgeleiteten PEC-Werte werden von den Autoren mit ökotoxikologischen Daten aus der Literatur verglichen. Als sensitiver Endpunkt wurde auch hier die chronische Toxizität von *Daphnia magna* identifiziert (Zhao and Wang, 2011): 21-Tage NOEC (Wachstum) < 5 µg/l und NOEC (Reproduktion) = 5 µg/L.

Toenning et al. kommen zu dem Schluss, dass basierend auf ihrem sehr konservativen Expositionsszenario und den Literaturdaten zur Ökotoxizität derzeit kaum ein Risiko für aquatische Organismen besteht. Ein Vergleich der abgeleiteten PECs für Nanosilber in mit Klärschlamm versorgten Böden mit Daten zur Effektkonzentrationen in bodenlebenden Organismen findet nicht statt. Aus Sicht der Autoren ist ein solcher Vergleich zum Zeitpunkt der Studie nicht empfehlenswert, da die entsprechenden ökotoxikologischen Daten nicht vorliegen. Mit u. a. dem UMSICHT-Projekt wurden in den letzten Jahren hierzu allerdings erste Daten generiert, so dass dieser Vergleich im Rahmen der vorliegenden Studie nun erfolgte.

Auch Toenning et al. weisen darauf hin, dass kumulierte Effekte verschiedener Formen und Quellen von Silber zur Ableitung eines möglichen Umweltrisikos nicht berücksichtigt wurden, wie es auch in dieser Studie der Fall war.

8.2 Limitierende Faktoren

Im Rahmen der Umweltrisikobewertung für Nanosilber NM-300K, das auf Grundlage der für diese Bewertung zu Grunde gelegten Daten und Szenarien aus Textilien freigesetzt wird, lassen sich einige dominante Punkte identifizieren, die derzeit eine umfassende Risikobewertung von Nanosilber unmöglich machen bzw. die Aussagekraft der Bewertungen erheblich erschweren.

Eingeschränkte Informationslage und Szenarienwahl

Die Wahl eines realistischen Szenarios für die Umweltexposition von Nanosilber aus Textilien über den Pfad der Kläranlage auf Basis gesicherter Informationen hat sich als äußerst schwierig erwiesen. Genaue Informationen über den Gebrauch, die eingesetzten Konzentrationen und die Freisetzungsraten von Nanosilber in Textilien sind oft nicht verfügbar. In einer dänischen Studie (Danish Ministry of the Environment, 2012) hat sich hierzu gezeigt, dass nicht zwangsläufig in mit Nanosilber beworbenen

Produkten auch Nanosilber vorhanden sein muss. Zusätzlich zeigte sich, dass der Nanosilbergehalt in den vorhandenen Produkten stark schwankte.

Die betrachtete Freisetzung beschränkt sich auf Auswaschungsprozesse in Waschmaschinen privater Haushalte. Freisetzungen über gewerbliche Wäsche oder Krankenhauswäsche ist nicht berücksichtigt. Je nach Marktentwicklung könnten diesen Emissionspfaden größere Bedeutung zukommen. Um dieses abschätzen zu können, fehlt es an spezifischen Informationen.

Für die Wahl realistischer Szenarien werden somit weitere Informationen benötigt. Hierzu zählen beispielsweise:

- Marktübersicht für nanopartikelspezifische Produktionsmengen,
- Art der Verarbeitung, Konzentration und Freisetzung der Partikel,
- valide Angaben zu Verbrauchszahlen von Nanosilber in Textilien,
- Anteil AgNP-funktionalisierte Textilien in Gebrauch,
- realistische Werte zu Abrieb und Auswaschung,
- Daten zum Verbraucherverhalten beim Waschen (z.B. Waschmittel, Waschprogramm) von mit NanoAg ausgerüsteten Textilien.

Für die hier vorgestellte Risikobewertung wurden drei Szenarien A, B und C erstellt. Die gewählten Szenarien sollten hierbei aufgrund limitierter Informationen bewusst konservativ sein. Auf Basis der drei Szenarien und unter Berücksichtigung der Erkenntnisse aus UMSICHT wurden Umweltkonzentrationen für ein spezielles Nanosilber (NM-300K) berechnet. Hierbei wurde mit der Freisetzung von Nanosilber aus Textilien nur der Expositionsweg über Auswaschung und Austrag über die Kläranlage betrachtet. Ein Vergleich der dabei berechneten konservativen Umweltkonzentrationen mit verfügbaren Werten aus der Literatur zeigt, dass die in den gewählten Szenarien berechneten Umweltkonzentrationen für nur ein Nanosilber (NM-300K) und eine Nanosilber-Anwendung (Textilien) teils größer sind, als jene, die für das europaweit in verschiedenen Produkten eingesetzte Nanosilber modelliert wurden.

Fazit: Die Wahl eines sehr konservativen Szenarios zur Bewertung des Risikos von Nanosilber aus Textilien war aufgrund der eingeschränkten Informationslage ein notwendiger Schritt. Weitergehende Informationen würden die Wahl realistischer Szenarien ermöglichen und den Risikoquotienten möglicherweise relativieren.

Quantifizierung der Silberspezies in der Kläranlage, in Oberflächengewässer, in Böden und Sedimenten

Derzeitigen Studien zufolge wird Nanosilber unter anaeroben Konditionen und bei Gegenwart von Sulfaten schnell in stabiles Silbersulfid umgewandelt wird (Kaegi et al., 2011; Kim et al., 2010b; Levard et al., 2011). Das Ausmaß der Sulfidierung hängt dabei von der Größe der Primärpartikel, sowie von der Verfügbarkeit von Sulfiden in der Kläranlage ab (Kaegi et al., 2011). Unklar ist dabei allerdings, wie groß der Anteil des in Silbersulfid konvertierten Nanosilbers in den Kläranlagen ist und wie sich nicht-sulfidiertes Nanosilber in der Kläranlage weiter verhält bzw. welches Schicksal Silbersulfid nimmt, wenn es auf aerobe Bedingungen trifft. In welchen Formen das Silber die Kläranlage über den Kläranlagenauslauf in den Vorfluter und anschließend in das Oberflächengewässer verlässt und welchen weiteren Transformationen es dort unterliegt, ist ebenso nicht hinreichend untersucht, um daraus pauschale Ableitungen für die Risikobewertung vornehmen zu können.

Dieser Punkt ist insbesondere für die Behandlung des Klärschlammes vor der Ausbringung auf die Böden relevant. In der Dissertation von Schlich (Schlich, 2013) wurde in den Abbaueversuchen mit entwässertem

und nicht gefaultem Klärschlamm deutlich, dass Nanosilber nach Abbau des Klärschlammes im Boden seine Wirkung auf terrestrische Organismen wieder entfaltet. Diese Aussage gilt nur für entwässerten und nicht gefaulen Klärschlamm. Bei einer Faulung des Klärschlammes unter anaeroben Bedingungen ist demnach eine intensive abiotische Transformation von Nanosilber in stabile und nicht bioverfügbare Silberverbindungen wahrscheinlich. Die genauen Ursachen sollen weiter untersucht werden.

Gleiches dürfte für anaerobe Bereiche in Böden und Sedimenten gelten. Untersuchungen zu Verbleib und Verhalten der abiotisch entstehenden Silberverbindungen in aeroben und anaeroben Wasser-Sediment-Systemen und Böden wären sinnvoll.

Fazit: Aus diesem Grund wurde in dieser Studie als konservativer Ansatz davon ausgegangen, dass es sich sowohl bei den errechneten Mengen an Silberspezies im Klärschlamm, als auch im Oberflächengewässer um ausschließlich Nanosilber handelt.

Berechnung PEC(Sediment)

Bei der Berechnung der Umweltkonzentrationen für NM-300K aus Textilien in Sedimenten ist es als limitierend anzusehen, dass keine Adsorptionskoeffizienten für NM-300K für Sedimente vorliegen. Bei fehlenden Adsorptionskoeffizienten für Sedimente werden stattdessen oft die Adsorptionskoeffizienten genutzt, die für Böden erstellt wurden. Die Vergleichbarkeit dieser beiden Parameter (Adsorptionskoeffizient Boden vs. Sediment) ist jedoch fragwürdig. Darüber hinaus werden für die Berechnung der Umweltkonzentrationen in Böden/Sedimenten Adsorptionsisotherme nach Freundlich (K_f und $1/n$) herangezogen. In den Versuchen mit NM-300K hat sich jedoch gezeigt, dass sich das Retentionsverhalten von NM-300K nicht nach Freundlich beschreiben lässt. Die Nanopartikel verhalten sich somit im Boden anders, als dies von vielen Standardchemikalien bekannt ist. Hierdurch wird der Übertrag von Adsorptionskoeffizienten für Nanomaterialien, die für Böden erstellt wurden, auf das Kompartiment Sediment zusätzlich herabgesetzt.

Fazit: Die in dieser Bewertung berechnete Konzentration im Sediment wurde auf Basis des Mittelwertes aus 24 vorhandenen Retentionskoeffizienten für NM-300K in den verschiedensten Böden berechnet. Die Ergebnisse dieser Berechnung müssen äußerst differenziert betrachtet werden, denn die Vorgehensweise kann zu Resultaten führen, die mit hohen Fehlern behaftet sind. Für weitere Studien ist es aber äußerst wichtig, dass auch das Verhalten von Nanomaterialien im Sediment betrachtet wird. Es gilt daher zu prüfen, auf welcher Grundlage Adsorptionskoeffizienten für Nanomaterialien im Sediment abgeleitet werden können.

Fehlende Messmethodik in komplexen Medien

Die Risikobewertung für Nanosilber wird derzeit durch ein fehlendes Verständnis von Verbleib, Transport und Wirkung von Nanopartikeln sowie fehlende geeignete Techniken zur Messung und Quantifizierung der Nanomaterialien bei umweltrelevanten Konzentrationen in komplexen Medien erschwert (von der Kammer et al., 2012). Derzeit ist es bei routinemäßigen Kontrollen lediglich möglich, die Bestimmung des Gesamtgehaltes an Silber in komplexen Medien wie beispielsweise Klärschlamm, Boden oder Sediment durchzuführen. Eine Differenzierung zwischen Silber, Silbernanopartikeln und Silberionen ist mit einer aufwendigen Messmethodik (Energiedispersive Röntgenspektroskopie; Single-Particle-ICP-MS; Flow-Field-Flow-Fractionation etc.) verknüpft und für die routinemäßige Kontrolle z.B. des Klärschlammes ungeeignet. Aufgrund dieser fehlenden Messmethodik können Umweltkonzentrationen derzeit lediglich modelliert bzw. berechnet werden.

Fazit: Fehlende Messmethoden erschweren die Bestimmung eines validen PEC auf Basis von in der Umwelt gemessenen Werten (MEC), wodurch die Bewertung des Risikos, das von Nanosilber und auch anderen Nanomaterialien ausgehen könnte, erschwert wird.

Ausstehende und ergänzende Studien

Im Rahmen von UMSICHT war es nicht möglich, sämtliche Studien nach aktuellen OECD-Guidelines oder gar GLP durchzuführen. Einige Studie erfüllen damit zwar nicht die hohen Anforderungen, die üblicherweise an die Umweltrisikobewertung von Industriechemikalien, Bioziden, Arzneimitteln und Pflanzenschutzmitteln gestellt werden. Sie stellen aber eine gute Basis dar, auf welche weitere Untersuchungen aufbauen können.

Darüber hinaus war es nicht möglich, alle relevanten Organismen und Endpunkte im zeitlich und finanziell beschränkten Rahmen von UMSICHT zu untersuchen. Es bleibt genügend Diskussionsstoff, welche Organismen und Endpunkte weiterer Untersuchung bedürfen. Ausstehend sind so z.B. Untersuchungen zur Wirkung von NM-300K auf die als besonders empfindlich geltenden Nitrifikanten in der Kläranlage oder auf die anaeroben Mikroorganismen der Schlammfäulung.

Weitere Untersuchungen zur abiotischen Transformation von NM-300K in verschiedene Silberverbindungen unter anaeroben Bedingungen sowie zu deren Verteilung, Stabilität und Bioverfügbarkeit in Wasser-Sediment-Systemen und Böden wären vorteilhaft.

Da eine Akkumulation von NM-300K bzw. dessen Silberverbindungen in Sedimenten und Böden wahrscheinlich ist, können Untersuchungen zur Bioakkumulation bzw. zur Anreicherung in der aquatischen und terrestrischen Nahrungskette (Biomagnifikation) sinnvoll sein (z.B. Sediment → Sedimentorganismus → Fisch; Boden → Regenwurm → Maulwurf). Hierzu liegt bislang unzureichendes Wissen vor. Parallel gilt es zu klären, welchen Transformationen Nanosilber in der Kläranlage und in den verschiedenen Umweltkompartimenten unterliegen, sowie wie das Ausmaß dieser Transformationen ist.

Ableitung von PNECs für Nanomaterialien

Die hier zugrunde gelegten Effektwerte, die zur Ableitung der PNEC verwendet werden, stellen Nominalkonzentrationen dar. Um das toxische Potential des Nanomaterials möglichst realistisch zu beschreiben, sollte die Beschreibung der Konzentrations-Wirkungsbeziehung auf Basis der tatsächlich in den Testsystemen gemessenen Nanomaterialkonzentrationen erfolgen. Die Interpretation von Effektwerten aus ökotoxischen Studien mit Nanomaterialien ist nicht trivial, da sie neben der Belastungskonzentration von einer Vielzahl zusätzlicher Faktoren abhängen. Weitere die Toxizität von Nanosilber beeinflussende Faktoren können neben der Kinetik der Ionenabgabe die Partikelgrößenverteilung, die Agglomeration im Testsystem über die Zeit, die spezifische Oberfläche, die Oberflächenfunktionalisierung bzw. das Coating darstellen. Die Kinetik der Ionenabgabe hängt dabei sehr von der Oberflächenmodifikation des Partikels, als auch vom umgebenden Medium ab und ist daher nicht pauschal abzuleiten. Eine standardisierte Methode hierzu ist nicht etabliert. Die Quali- und Quantifizierung der verschiedenen, in den unterschiedlichen Testsystemen vorhandenen Silberspezies würde aber der Interpretation der Effektwerte dienlich sein.

Fazit: PNECs wurden anhand von Nominalkonzentrationen abgeleitet. Die Überprüfung der Realkonzentrationen wird als notwendig eingeschätzt. Kinetik und Ausmaß der Ionenabgabe des Nanosilbers in den verschiedenen Testsystemen ist nicht bekannt.

8.3 Relevanz der Ergebnisse und Grenzen der Aussagekraft

Auf Basis der gewählten Szenarien ergibt sich im Rahmen dieser Risikobewertung für keines der betrachteten Umweltkompartimente ein Risiko. Es wird darauf hingewiesen, dass diese Risikobewertung exemplarisch ist und damit nur gültig für das betrachtete Nanosilbermaterial NM-300K und für die betrachtete Anwendung in Textilien. Der Einsatz von Nanosilber im Textilbereich macht nach den Abschätzungen zum Lebenszyklus von Nanosilber im AP 3.1 des UMSICHT-Projektes (siehe Bericht des Partners ÖKO) gut 10% der globalen Produktion von Nanosilber aus.

Die PNECs in den einzelnen Umweltkompartimenten wurden für NM-300K berechnet. Im Rahmen dieser Risikoabschätzung wurden PEC-Werte auf Grundlage von verschiedenen Szenarien zur Freisetzung von Nanosilber aus Textilien generiert. Zur Abschätzung des Risikos von aus Textilien freigesetztem Nanosilber für die Umwelt werden diese PEC- und PNEC-Werte betrachtet.

Im Rahmen einer Anwendungs-unabhängigen Betrachtung der Umweltexposition müsste jedoch beachtet werden, dass ebenso Einträge von Nanosilber aus weiteren Anwendungen und Produkten (z.B. Farben und Lacke) möglich sind. Für die Betrachtung des potentiellen Risikos von Nanosilber aus anderen Anwendungen können die PNEC-Werte der hier angefertigten Risikoabschätzung genutzt werden und mit für die jeweilige Anwendung neu berechneten bzw. summierten PEC-Werten verglichen werden.

Eine Betrachtung der Umweltexposition durch Nanosilber über alle derzeit möglichen Anwendungen ist nicht möglich. Für die Ermittlung der PEC-Werte müssten dazu umfangreiche qualitative und quantitative Informationen zu Anwendungsgebieten und möglichen Emissionen über den Lebenszyklus zusammengeführt werden, die nur über stoffbezogene Informationspflichten der Hersteller sowie umfassende und spezifische Stoffstromanalysen zu erhalten wären. Beides liegt derzeit nicht vor.

Diese Informationen wären darüber hinaus notwendig um abzuleiten, ob durch das vermehrte Aufkommen von silber- und nanosilberhaltigen Produkten des alltäglichen Bedarfs ein erneutes Umweltrisiko durch Silber entsteht. In der Vergangenheit waren Gewässer durch Abfälle aus der Fotoindustrie stark mit Silber belastet. Dieser Trend ist durch den Einsatz digitaler Fotografie stark rückläufig. Erste Hinweise bestehen, dass dieser Trend stagniert (KEMI, 2012). Derzeit fehlt es an Methoden für ein routinemäßiges Monitoring von Nanosilber-Konzentrationen in der Umwelt. Um einen potentiellen Anstieg des Eintrages von Nanosilber in der Umwelt nachvollziehen zu können, sollte derweil die Entwicklung der Silberkonzentrationen in Oberflächengewässern, Böden und Sedimenten beobachtet werden, bis adäquate Messmethoden zur Bestimmung von Nanomaterialien zur Verfügung stehen (siehe auch Kapitel 9 zu Gewässergütekriterien).

Derzeit wird in der Wissenschaft diskutiert, ob Nanosilber über die Ionentoxizität hinausgehende Toxizität aufweist. Studien, die dafür und dagegen sprechen existieren (Asghari et al., 2012; Bilberg et al., 2012; Kennedy et al., 2010; Navarro et al., 2008). Im UMSICHT Projekt wurde in den ökotoxikologischen Tests zur Einordnung des toxischen Effekts des Nanosilbers anhand der in den Testrichtlinien abgefragten Endpunkte zusätzlich Silbernitrat untersucht. Der Vergleich der Toxizität beider Silberspezies ist nicht trivial, sofern nicht die genaue Löslichkeitskinetik des untersuchten Nanomaterials bekannt ist. Zusätzliche Endpunkte, die nicht mit den standardisierten Testrichtlinien abgefasst werden und ggf. Wirkungen auf Grundlage des Partikelcharakters von Nanosilber anzeigen könnten, wie z.B. Veränderungen im Verhalten der Testorganismen, wurden im Projekt nicht berücksichtigt. Es gilt aber zu bedenken, dass die Toxizität von Nanosilber auch wenn sie allein auf die Ionenwirkung beruht, nach wie vor die Wirkung eines sehr ökotoxisch relevanten Metalls darstellt.

Das Umweltbundesamt sieht den Einsatz insbesondere von endlichen Edelmetallen und seltenen Materialien in Textilien kritisch. Es ist davon auszugehen, dass Silber als endliche Ressource bei weiter ansteigender Nutzung auch in Gegenständen des alltäglichen Gebrauchs und ausbleibenden Rückgewinnungsmöglichkeiten nicht langfristig nutzbar sein wird. Hinzu kommt, dass entlang des Lebenszyklus wesentliche Umweltbelastungen bei der Gewinnung und Aufbereitung von Silber entstehen. Entwickler, Hersteller und Verbraucher sollten daher den Einsatz von Silber in Alltagsprodukten kritisch hinterfragen (UBA, 2013).

8.4 Empfehlungen zur Verbesserung der Risikobewertung von Nanomaterialien

Es besteht Einigkeit darüber, dass die Grundstruktur der Risikobewertung auch für die Bewertung von Nanomaterialien anwendbar ist. Allerdings ist es notwendig die Datengrundlage insbesondere auf der Expositionsseite, aber auch auf der Effektseite zu verbessern. Darüber hinaus gilt es, die Anwendbarkeit von Methoden, die bei der Umweltrisikobewertung zum Tragen kommen, an die Bewertung von Nanomaterialien anzupassen. Es bestehen bereits Studien zur Risikobewertung von Nanomaterialien, die aber – wie auch in dieser Studie – aufgrund fehlender Daten und hoher Unsicherheiten bezüglich der vorliegenden Informationen keine abschließenden Aussagen treffen und somit der Nutzung zu regulatorischen Zwecken nicht gerecht werden können. Im Rahmen dieser Arbeit zur exemplarischen Umweltrisikobewertung von Nanosilber über die Ergebnisse zu NM-300K aus dem Projekt UMSICHT können aber folgende Empfehlungen zur Verbesserung der Risikobewertung von Nanomaterialien ausgesprochen werden:

- Verbesserte Informationssituation bezüglich Produktionsmengen, Anwendungsarten, Informationen zur Verarbeitung von Nanomaterialien und deren Formen in Produkten
- Verbesserung der Informationslage hinsichtlich möglicher Emissionen über den gesamten Lebenszyklus
- Entwicklung von standardisierten Messmethoden zur Expositionsmessung von Nanomaterialien in der Umwelt
- Entwicklung von Modellen zur Expositionsabschätzung von Nanomaterialien
- Weiterführende Untersuchungen zum Verhalten von Nanomaterialien in den verschiedenen Umweltkompartimenten zur Analyse, ob die gängigen Berechnungsmethoden und Modelle übertragbar sind oder ob Alternativen entwickelt werden müssen.
- Umfassende Charakterisierung der Nanomaterialien in den ökotoxikologischen Testsystemen zur Aufklärung der realen Expositionssituation
- Berücksichtigung von standardisierten und harmonisierten Arbeitsanweisungen nach international akzeptierten Richtlinien zur Testvorbereitung, Applikation des Testmaterial, Testdurchführung, Analytik und Protokollierung für maximale Vergleichbarkeit ökotoxikologischer Studien
- Anpassung bestehender standardisierter Testrichtlinien an die Erfordernisse zur Untersuchung von Nanomaterialien (wo notwendig), Ergänzung um neue Testrichtlinien oder Leitfäden (wo notwendig)

9 Gewässergütekriterien

Aufgrund der steigenden Nutzung von silberhaltigen Anwendungen (darunter auch solche mit Nanosilber) ist davon auszugehen, dass mit einem Anstieg des Silbers in der Umwelt gerechnet werden muss. Es gilt zu prüfen, ob die bestehende Umweltqualitätsnorm (UQN) für gelöstes Silber eingehalten werden kann. Die Gewässergütekriterien werden in Deutschland in der Oberflächengewässer-Verordnung beschrieben, die

2011 in Kraft getreten ist. Für gelöstes Silber in Oberflächengewässern wurde in der Oberflächengewässer-Verordnung Anlage 5 eine Umweltqualitätsnorm von 0,02 µg/L festgelegt.

Aufgrund fehlender Messverfahren zum routinemäßigen Einsatz in Untersuchungslaboren ist eine Differenzierung zwischen nanopartikulärem und gelöstem ionischen Silber derzeit bei Routinekontrollen der Gewässergüte nicht möglich. Daher wurden für den Vergleich der momentanen Silberkonzentrationen in Oberflächengewässern bzw. der Umweltqualitätsnorm mit den hier berechneten Umwelt- und Wirkkonzentrationen für nanopartikuläres Silber Jahreskennzahlen für gelöstes Silber herangezogen.

Es liegen für den Zeitraum von 2000 bis 2007 Messdaten zur Konzentration an gelöstem Silber aus 11 Bundesländern vor (UBA, 2007). Im Rahmen dieser Arbeit wird jedoch klar darauf hingewiesen, dass die Auswertung der Silbergehalte in gelöster Form, im Schwebstoff und Sediment aufgrund der heterogenen Datenbasis und fehlender Informationen nur eine Annäherung darstellen kann. In Tabelle 19 werden die in dieser Arbeit ermittelten Messdaten für gelöstes Silber in Oberflächengewässern aufgeführt.

Tabelle 19: Mittelwerte für gelöstes Silber in Oberflächengewässern

Jahr	Summe an Einzelmessungen	Mittelwerte für Silber in Schwebstoffe [µg/L]
2000	2879	0,06
2001	3340	0,06
2002	3928	0,06
2003	4181	0,06
2004	4521	0,13
2005	5383	0,31
2006	6838	0,30
2007	342	0,69

(UBA, 2007)

Dem Umweltbundesamt liegen für den Zeitraum von 2009 bis 2011 Messwerte aus 8 Bundesländern vor. Nur wenige dieser Messungen liegen dabei über der Bestimmungsgrenze. An einer größeren Anzahl von Messstellen liegt die Bestimmungsgrenze über der UQN, wodurch eine Prüfung auf Einhaltung bzw. Überschreitung in diesem Fall nicht möglich ist (Tabelle 20). Die Konzentrationen der von 2009 bis 2011 ermittelten Messwerte variieren teils stark, wobei regionale Belastungsschwerpunkte nicht erkennbar sind. Die Jahreskennzahlen für gelöstes Silber von 2009-2011 sind in Tabelle 24 aufgeführt.

Für die Bestimmung des gelösten Silbergehaltes in Oberflächengewässern wird nach Filtration der Probe (<0,22 µm) der Silbergehalt bestimmt. Der Begriff Nanopartikel umfasst Partikel mit einer Größe von 1-100 nm, wodurch auch nanopartikuläres Silber in der Probe vorliegen könnte. Eine Differenzierung zwischen nanopartikulärem und gelöstem ionischen Silber ist im Rahmen dieser Routineuntersuchungen nicht durchzuführen.

Tabelle 20: Vergleich der Jahresmittelwerte an gelöstem Silber mit der Umweltqualitätsnorm (0,02 µg/L) von 2009 bis 2011

Stoffname	Messstellen mit Einhaltung der UQN	Messstellen mit Überschreitung der UQN	Messstellen, an denen eine Überprüfung der UQN nicht möglich ist
Silber, gelöst	82	4	29

Quelle: Umweltbundesamt nach Angaben der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)

Tabelle 21: Jahreskennzahlen für gelöstes Silber

Jahr	Anzahl Messstellen	Minimum [$\mu\text{g/L}$]	höchster Mittelwert* [$\mu\text{g/L}$]	Maximum [$\mu\text{g/L}$]
2009	34	< 0,01	0,031	0,16
2010	56	< 0,01	0,03	0,12
2011	104	< 0,005	0,1	0,39

Quelle: Umweltbundesamt nach Angaben der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA); *höchster Mittelwert = der höchste Wert aller Mittelwerte (Mittelwert=Mittelwert der Messungen an einer Messstelle) des Jahres X

Fazit: Anhand der vorhandenen Daten kann ein Trend zur Konzentration von gelöstem Silber in Oberflächengewässern nur schwer abgelesen werden. Die in dieser Risikobewertung in drei Szenarien konservativ berechneten PECs (1,09 – 15,63 ng/L) überschreiten die derzeit vorhandene UQN für gelöstes Silber nicht.

Aufgrund der fehlenden Differenzierung zwischen Silberspezies ist es nicht möglich, den genauen Anteil an Nanosilber bei den vorhandenen Messwerten zur UQN abzuschätzen.

Im Vergleich der höchsten Mittelwerte von 2009 bis 2011 lässt sich ein Anstieg des Gehaltes an gelöstem Silber erkennen. Auf Grundlage dieses Anstieges ergibt sich, dass Messungen des Silbergehaltes in Oberflächengewässern intensiviert werden sollten, um eine bessere Datenlage zu erlangen und frühzeitig auf Anstiege der Silberkonzentrationen reagieren zu können.

Aufgrund technischer und methodischer Schwierigkeiten ist es derzeit nicht möglich Grenzwerte für synthetische Nanomaterialien in Oberflächengewässern festzulegen (Baun et al., 2009). Die UQN für gelöstes Silber beruht auf ökotoxikologischen Daten zu gelöstem Silber. Bei einem direkten Vergleich der Umweltkonzentrationen von Nanosilber und gelöstem Silber wird davon ausgegangen, dass die Toxizität von Nanosilber sich vor allem über die Wirkung von gelösten Silberionen manifestiert. Hierzu bestehen in der Literatur allerdings widersprüchliche Angaben (Asghari et al., 2012; Bilberg et al., 2012; Kennedy et al., 2010; Navarro et al., 2008).

10 Resistenzen

Die Bildung von Resistenzen verschiedener Bakterien gegenüber Silbernanopartikeln ist ein weiterer Punkt, der im Rahmen der Risikoabschätzung betrachtet werden muss. Berichte über silberresistente Bakterien und Viren sind bereits seit Anfang der fünfziger Jahre des 20. Jahrhunderts zu finden (Annear et al., 1976; Franke, 2007; Gupta et al., 1999; Lok et al., 2007). Das Auftreten von silberresistenten Keimen wird z.B. in Krankenhäusern beschrieben, in denen Silber als Bakterizid eingesetzt wird. Ebenso wurden silberresistente Keime auch aus Umweltmedien, beispielsweise aufgrund der Einleitung von silberhaltigen industriellen Abwässern isoliert. Entsprechende Stämme wurden aber auch gezielt für das Leaching von Silber, für die Detoxifikation von Silbercyanid oder für die Entfernung von Silber aus Abwasser der Fotoindustrie verwendet (Franke, 2007; Lok et al., 2007). Die Silberresistenz kann auf verschiedenen Mechanismen beruhen, wie beispielsweise auf einem Silber-bindenden Protein, auf einem erhöhten Silberaustausch aus den Zellen oder einer geringeren Permeabilität der Zellwand gegenüber Silber (Franke, 2007). Aus einer Stellungnahme des BfR zu Nanosilber in Lebensmitteln und Produkten des täglichen Bedarfs (Bundesanstalt für Risikobewertung, 2010) geht hervor, dass z.B. Woods et al. (2009) eine geringe Prävalenz der Silberresistenz belegen. In 3,5 % von insgesamt 172 Wundisolaten waren Silberresistenz-Determinanten nachweisbar. Die Silberresistenz-Determinanten wurden nur in *Enterobacter cloacae*-Isolaten identifiziert

und die Isolate zeigten eine nur geringfügig erhöhte Silber-Resistenz. Chopra (2007) verweist auf bislang weniger als 20 dokumentierte Fälle einer klinisch relevanten Silberresistenz seit 1975.

Studien zu dem Verhalten von Silbernanopartikeln in der Umwelt zeigen, dass nanopartikuläres Silber z.B. mit Schwefelquellen reagiert (Levard et al., 2011) und im Anschluss weniger toxisch wirkt (Choi et al., 2009). Aber auch Reaktionen mit z.B. Biomakromolekülen, Redox-Reaktionen, Aggregation und die Dissoziation können in ökologischen und biologischen Systemen auftreten (Lowry et al., 2012b), wodurch die toxische Wirkung sich voraussichtlich ebenfalls verändern wird. In komplexen, realitätsnahen Mesokosmen, bestehend aus einem aquatischen, einem sub-aquatischem und einem terrestrischen Kompartiment, konnte die Abhängigkeit der Transformation der Silbernanopartikel vom oxidativen Zustand der Umgebung gezeigt werden (Lowry et al., 2012). Silbernanopartikel, die kontinuierlich anaeroben Bedingungen ausgesetzt waren, wurden in einem stärkeren Ausmaß oxidiert und zu Ag_2S - bzw. zu Ag-Sulfhydryl-Verbindungen transformiert (Lowry et al., 2012a). Die Transformation der Silbernanopartikel in der Umwelt kann zu einer Verminderung der Toxizität bzw. zu einer Detoxifizierung führen. Anhand der für Silbernanopartikel aus Textilien im BMBF-Projekt „UMSICHT“ ermittelten Umweltkonzentrationen zeigt sich, dass eine toxische Wirkung auf die verschiedenen Organismen des aquatischen und terrestrischen Ökosystems aktuell nicht zu erwarten ist. Ist die Konzentration der an Nanomaterialien gebundenen oder der freien Silberionen zu gering, können Bakterien bei nicht bakteriziden Konzentrationen Resistenzen entwickeln (Bundesanstalt für Risikobewertung, 2010). Dieses Thema wird mittlerweile äußerst kontrovers diskutiert. Die „Silver Nanotechnology Working Group (SNWG)“ hat im Mai 2011 eine Gegenstellungnahme zu jener des BfR herausgebracht. Hierbei wird auf eine Studie von Percival et al. (2005) verwiesen, in der betont wird, dass die Bildung von Resistenzen gegen Silber in der Realität sehr gering ist. In dieser Studie wird darauf verwiesen, dass Bakterien nicht bakteriziden Konzentrationen an Silberionen schon seit mehr als vier Milliarden Jahren ausgesetzt sind, ohne, dass sich weitreichende Resistenzen gebildet haben. Zusätzlich wird in der Stellungnahme der „SNWG“ darauf verwiesen, dass Silber in geringen nicht bakteriziden Konzentrationen als natürliches Element in den verschiedensten Umweltkompartimenten, unter anderem auch dem Trinkwasser, zu finden ist, ohne dass sich dabei Resistenzen bilden.

Fazit: Silber ist in allen Bereichen unserer Umwelt in geringen Konzentrationen zu finden, eine großflächige Bildung von Silberresistenzen konnte hingegen noch nicht beobachtet werden. Daher erscheint die Bildung von Resistenzen gegen Nanosilber durch verschiedene Mechanismen (z.B. Silber-bindender Proteine, einem erhöhten Silberaustrag aus den Zellen oder einer geringeren Permeabilität der Zellwand) und auf Basis geringer nicht bakterizider Konzentrationen als eher unwahrscheinlich. Gleichwohl kann eine Resistenzbildung, auch aufgrund dessen, dass vorhandene Silberresistenzen belegt sind, nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Eine nähere Betrachtung durch Studien zu diesem Sachverhalt ist empfehlenswert. Dies können Monitoringuntersuchungen aber auch Laborexperimente sein.

11 Entsorgung auf Deponien

Textilien, die Silbernanopartikel enthalten, werden teils über den Hausmüll entsorgt. Am 1. Juni 2005 wurde in Deutschland in Umsetzung der Technischen Anleitung Siedlungsabfall (TASi)/Abfallablagerungsverordnung flächendeckend die Ablagerung unbehandelter biologisch abbaubarer sowie organikhaltiger Siedlungsabfälle auf Deponien beendet. Nicht mehr verwertbare Restabfälle müssen thermisch oder mechanisch-biologisch behandelt werden, bevor sie deponiert werden dürfen (Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, 2006). Durch Verbrennung wird der Abfall in (weitestgehend) inertes Material umgewandelt. Zugleich werden gesundheitsschädigende Keime abgetötet. Moderne Verbrennungsanlagen ermöglichen es, Schadstoffe in Form von Asche oder

Filterstäuben aus den biologischen und wirtschaftlichen Kreisläufen zu entfernen. Diese werden dann auf einer Deponie gelagert (Thomé-Kozmiensky, 2005).

Gemäß der TA Siedlungsabfall gehören zu den Siedlungsabfällen Hausmüll, Sperrmüll, hausmüllähnliche Gewerbeabfälle, Garten- und Parkabfälle, Marktabfälle, Straßenkehrschutt, Bauabfälle, Klärschlamm, Fäkalien, Fäkalschlamm, Rückstände aus Abwasseranlagen und Wasserreinigungsschlämme. Der Hausmüll definiert sich dabei als Abfälle hauptsächlich aus privaten Haushalten, die von den Entsorgungspflichtigen selbst oder von beauftragten Dritten in genormten, im Entsorgungsgebiet vorgeschriebenen Behältern regelmäßig gesammelt, transportiert und der weiteren Entsorgung zugeführt werden (TA Siedlungsabfall, 1993).

Silbernanopartikel, die nicht aus Textilien ausgewaschen werden, gelangen über den Restmüll zur thermischen Verwertung in Verbrennungsöfen. Moon et al. (2005) haben für Nanosilber gezeigt, dass es bei erhöhter Temperatur (150°C) zum Sintern der Partikel kommt. Die Partikelgröße und die Kristallgröße der Partikel nahmen mit steigender Temperatur zu. Gleichzeitig wurde auch eine Zunahme der Dichte und der elektrischen Leitfähigkeit festgestellt. Für den Fall, dass Nanosilber über den Klärschlamm in Verbrennungsanlagen gelangt, haben Impellitteri et al. (2013) gezeigt, dass nach Verbrennung des nanosilberhaltigen Klärschlammes bei 850°C für vier Stunden die Silbernanopartikel zu Silbersulfur umgewandelt wurden. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass signifikante Mengen des Nanosilbers (30 – 50%) zu elementarem Silber umgewandelt wurden. Im Rahmen der SETAC Europe 2013 wies Kaegi in seinem Vortrag „NanoSilver in Urban Wastewater Systems: Transport, Analysis and Transformations“ auf derzeitige Arbeiten mit silbernanopartikelhaltigem Klärschlamm hin. Unter anderem wurde Klärschlamm verbrannt und die anfallenden Klärschlammaschen mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen untersucht. Es zeigte sich, dass auf der Klärschlammasche nicht genauer spezialisierte Nanopartikel zu finden waren. Hierbei könnte es sich auch um Nanosilber bzw. nanopartikuläres Silbersulfur handeln.

Die Klärschlammaschen werden nach der Verbrennung in verschiedenen Produkten eingesetzt. Oftmals werden sie als Baustoffe z.B. im Straßenbau verwertet. Allerdings werden Klärschlammaschen auch in der Landwirtschaft zu Düngezwecken eingesetzt (Kaegi, Setac Vortrag, 2013). Das Verhalten und die Wirkung von Nanosilber, das auf diesem Wege in die Umwelt gelangt, wurden bisher noch nicht betrachtet.

Fazit: Die beiden angegebenen Literaturquellen zeigen, dass Silbernanopartikel bei Verbrennungsprozessen zu großen Teilen ihren nanopartikulären Charakter verlieren. Es gibt aber erste Hinweise drauf, dass in Abhängigkeit von der Behandlungsart (Temperatur und Dauer) einige der Partikel ihre nanopartikuläre Form behalten. Folglich kann es auch bei der Verwendung von Klärschlammaschen als landwirtschaftlichen Dünger zu einer Exposition der Umwelt mit Nanosilber kommen. Die hierbei eingetragene Menge wird aber voraussichtlich in einem sehr niedrigen Bereich liegen und daher kein Risiko darstellen. Eine Freisetzung der Silbernanopartikel aus in Baustoffen eingesetzten Klärschlammaschen, die z.B. im Straßenbau verwertet werden, ist eher unwahrscheinlich. Studien, die diesen Sachverhalt betrachten, gibt es derzeit nicht. Ein Grenzwert für Silber in Aschen im Hinblick auf eine Wiederverwertung würde die Gefahr unerwünschter Nebenwirkungen in der Umwelt reduzieren.

12 Quellenverzeichnis

Ahamed, M., Alsalihi, M.S., Siddiqui, M.K., 2010. Silver nanoparticle applications and human health. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 411, 1841-1848.

Allen, H.J., Impellitteri, C.A., Macke, D.A., Heckmann, J.L., Poynton, H.C., Lazorchack, J.M., Govindaswamy, S., Roose, D.L., Nadagouda, M.N., 2010. Effects from Filtration, Capping Agents, and Presence/Absence of Food on the Toxicity of silver nanoparticles to *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Chem* 29, 2742 - 2750.

- Annear, D.I., Mee, B.J., Bailey, M., 1976. Instability and linkage of silver resistance, lactose fermentation, and colony structure in *Enterobacter cloacae* from burn wounds. *Journal of clinical pathology* 29, 441-443.
- Arora, S., Jain, J., Rajwade, J.M., Paknikar, K.M., 2009. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicology and applied pharmacology* 236, 310-318.
- Asghari, S., Johari, S.A., Lee, J.H., Kim, Y.S., Jeon, Y.B., Choi, H.J., Moon, M.C., Yu, I.J., 2012. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. *Journal of nanobiotechnology* 10, 14.
- AshaRani, P.V., Low Kah Mun, G., Hande, M.P., Valiyaveetil, S., 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS nano* 3, 279-290.
- Baun, A., Hartmann, N.B., Grieger, K.D., Hansen, S.F., 2009. Setting the limits for engineered nanoparticles in European surface waters - are current approaches appropriate? *Journal of environmental monitoring : JEM* 11, 1774-1781.
- Benn, T.M., Westerhoff, P., 2008. Nanoparticle Silver Released into Water from Commercially available Sock Fabrics. *Environ Sci Technol* 42, 4133-4139.
- Bilberg, K., Hovgaard, M.B., Besenbacher, F., Baatrup, E., 2012. In Vivo Toxicity of Silver Nanoparticles and Silver Ions in Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of toxicology* 2012, 293784.
- Blaser, S.A., Scheringer, M., Macleod, M., Hungerbuhler, K., 2008. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *The Science of the total environment* 390, 396-409.
- Boxall, A.B., Tiede, K., Chaudhry, Q., 2007. Engineered nanomaterials in soils and water: how do they behave and could they pose a risk to human health? *Nanomedicine* 2, 919-927.
- Bundesanstalt für Risikobewertung, 2010. BfR rät von Nanosilber in Lebensmitteln und Produkten des täglichen Bedarfs ab. Stellungnahme Nr. 024/2010 des BfR vom 28. Dezember 2009.
- Bundesministerium für Umwelt, N.u.R., 2006. Entsorgung von Siedlungs- und Gewerbeabfällen, in: Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Reaktorsicherheit (Eds.).
- Burkhardt, M., Englert, A., Iten, R., Schärer, S., 2011. Entsorgung nanosilberhaltiger Abfälle in der Textilindustrie - Massenflüsse und Behandlungsverfahren. Forschungsbericht, HSR Hochschule für Technik, Rapperswill, Schweiz.
- Carlson, C., Hussain, S.M., Schrand, A.M., Braydich-Stolle, L.K., Hess, K.L., Jones, R.L., Schlager, J.J., 2008. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *The journal of physical chemistry. B* 112, 13608-13619.
- Chae, Y.J., Pham, C.H., Lee, J., Bae, E., Yi, J., Gu, M.B., 2009. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic toxicology* 94, 320-327.
- Chaloupka, K., Malam, Y., Seifalian, A.M., 2010. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends in biotechnology* 28, 580-588.
- Choi, O., Clevenger, T.E., Deng, B., Surampalli, R.Y., Ross, L., Jr., Hu, Z., 2009. Role of sulfide and ligand strength in controlling nanosilver toxicity. *Water research* 43, 1879-1886.
- Chopra, I., 2007. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 59, 587-590.
- Cong, Y., Banta, G.T., Selck, H., Berhanu, D., Valsami-Jones, E., Forbes, V.E., 2011. Toxic effects and bioaccumulation of nano-, micron- and ionic-Ag in the polychaete, *Nereis diversicolor*. *Aquatic toxicology* 105, 403-411.
- Cowart, D.A., Guida, S.M., Shah, S.I., Marsh, A.G., 2011. Effects of Ag nanoparticles on survival and oxygen consumption of zebra fish embryos, *Danio rerio*. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering* 46, 1122-1128.
- Danish Ministry of the Environment, 2012. Assessment of nanosilver in the textiles on the Danish market. Environmental Project No. 1432.
- DeutscheKrankenhausgesellschaft, 2007. Zahlen, Daten, Fakten.

- Deutschland, B., 1993. TA-Siedlungsabfall - Technische Anleitung zur Verwertung, Behandlung und sonstigen Entsorgung von Siedlungsabfällen.
- Ellegaard-Jensen, L., Jensen, K.A., Johansen, A., 2012. Nano-silver induces dose-response effects on the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and environmental safety* 80, 216-223.
- Fabrega, J., Luoma, S.N., Tyler, C.R., Galloway, T.S., Lead, J.R., 2011. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ.Int.* 37, 517-531.
- Franke, S., 2007. Microbiology of the Toxic Noble Metal Silver, in: Nies, D., Silver, S. (Eds.), *Molecular Microbiology of Heavy Metals*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 343-355.
- Geranio, L., Heuberger, M., Nowack, B., 2009. The Behaviour of Silver Nanotextiles during Washing. *Environ Sci Technol* 43, 8113-8118.
- Gomes, S.I., Novais, S.C., Scott-Fordsmand, J.J., De Coen, W., Soares, A.M., Amorim, M.J., 2012. Effect of Cu-nanoparticles versus Cu-salt in *Enchytraeus albidus* (Oligochaeta): differential gene expression through microarray analysis. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology* : CBP 155, 219-227.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B., 2009. Modeled Environmental Concentrations of Engineered Nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for Different Regions. *Environ Sci Technol* 43, 9216 - 9222.
- Griffitt, R.J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J.-C., Barber, D.S., 2008. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 1972-1978.
- Gubbins, E.J., Batty, L.C., Lead, J.R., 2011. Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environmental pollution* 159, 1551-1559.
- Gupta, A., Matsui, K., Lo, J.F., Silver, S., 1999. Molecular basis for resistance to silver cations in *Salmonella*. *Nature medicine* 5, 183-188.
- Hänsch, M., Emmerling, C., 2010. Effects of silver nanoparticles on the microbiota and enzyme activity in soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173, 554-558.
- Heidkamp, A., 2005. Pedotransfer-Funktionen zur Sorption von Schwermetallen in Waldböden. Dissertation, Institut für Bodenkunde der Universität Hannover, 169.
- Hund-Rinke, K., Klawonn, T., 2012. Investigation of widely used nanomaterials (TiO₂, Ag) and gold nanoparticles in standardized ecotoxicological tests, Final Report, Federal Environment Agency Germany.
- Impellitteri, C.A., Harmon, S., Silva, R.G., Miller, B.W., Scheckel, K.G., Luxton, T.P., Schupp, D., Panguluri, S., 2013. Transformation of silver nanoparticles in fresh, aged, and incinerated biosolids. *Water research*.
- Kaegi, R., Voegelin, A., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Burkhardt, M., Siegrist, H., 2011. Behavior of metallic silver nanoparticles in a pilot wastewater treatment plant. *Environ Sci Technol* 45, 3902-3908.
- KEMI, S.C.A., 2012. Antibacterial substances leaking out with the washing water –analyses of silver, triclosan and triclocarban in textiles before and after washing.
- Kennedy, A.J., Hull, M.S., Bednar, A.J., Goss, J.D., Gunter, J.C., Bouldin, J.L., Vikesland, P.J., Steevens, J.A., 2010. Fractionating nanosilver: importance for determining toxicity to aquatic test organisms. *Environ.Sci.Technol.* 44, 9571-9577.
- Kim, B., Park, C.-S., Murayama, M., Hochella, M.F., 2010a. Discovery and Characterization of Silver Sulfide Nanoparticles in Final Sewage Sludge Products. *Environ Sci Technol* 44, 7509 - 7514.
- Kim, B., Park, C.S., Murayama, M., Hochella, M.F., 2010b. Discovery and Characterization of Silver Sulfide Nanoparticles in Final Sewage Sludge Products. *Environmental Science & Technology* 44, 7509-7514.
- Kim, J., Kim, S., Lee, S., 2011. Differentiation of the toxicities of silver nanoparticles and silver ions to the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and the cladoceran *Daphnia magna*. *Nanotoxicology* 5, 208-214.
- Laban, G., Nies, L., Turco, R., Bickham, J., Sepúlveda, M., 2010. The effects of silver nanoparticles on fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology* 19, 185-195.
- Lee, Y.J., Kim, J., Oh, J., Bae, S., Lee, S., Hong, I.S., Kim, S.H., 2012. Ion-release kinetics and ecotoxicity effects of silver nanoparticles. *Environ Toxicol Chem* 31, 155-159.

- Levard, C., Reinsch, B.C., Michel, F.M., Oumahi, C., Lowry, G.V., Brown, G.E., 2011. Sulfidation processes of PVP-coated silver nanoparticles in aqueous solution: impact on dissolution rate. *Environ Sci Technol* 45, 5260-5266.
- Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P.-H., Chiu, J.-F., Che, C.-M., 2007. Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *J Biol Inorg Chem* 12, 527-534.
- Lorenz, C., Windler, L., von Goetz, N., Lehmann, R.P., Schuppler, M., Hungerbühler, K., Heuberger, M., Nowack, B., 2012. Characterization of silver release from commercially available functional (nano)textiles. *Chemosphere* 89, 817-824.
- Lowry, G.V., Espinasse, B.P., Badireddy, A.R., Richardson, C.J., Reinsch, B.C., Bryant, L.D., Bone, A.J., Deonaraine, A., Chae, S., Therezien, M., Colman, B.P., Hsu-Kim, H., Bernhardt, E.S., Matson, C.W., Wiesner, M.R., 2012a. Long-term transformation and fate of manufactured ag nanoparticles in a simulated large scale freshwater emergent wetland. *Environ Sci Technol* 46, 7027-7036.
- Lowry, G.V., Gregory, K.B., Apte, S.C., Lead, J.R., 2012b. Transformations of nanomaterials in the environment. *Environ Sci Technol* 46, 6893-6899.
- Ma, R., Levard, C., Marinakos, S.M., Cheng, Y., Liu, J., Michel, F.M., Brown, G.E., Lowry, G.V., 2012. Size-controlled dissolution of organic-coated silver nanoparticles. *Environ Sci Technol* 46, 752-759.
- Mikkelsen, S.H., Hansen, E., Christensen, T.B., Baun, A., S.F., H., Binderup, M.-L., 2011. Survey on basic knowledge about exposure and potential environmental and health risks for selected nanomaterials.
- Moon, K.-S., Maric, R., Dong, H., Pothukuchi, S., Hunt, A., Li, Y., Wong, C.P., 2005. Thermal Behavior of Silver Nanoparticles for Low-Temperature Interconnect Applications. *Journal of Electronic Materials* 34.
- Mueller, N.C., Nowack, B., 2008. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ.Sci.Technol.* 42, 4447-4453.
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L., Behra, R., 2008. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ Sci.Technol.* 42, 8959-8964.
- Nowack, B., 2010. Chemistry. Nanosilver revisited downstream. *Science* 330, 1054-1055.
- Percival, S.L., Bowler, P.G., Russell, D., 2005. Bacterial resistance to silver in wound care. *The Journal of hospital infection* 60, 1-7.
- Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S., Nowack, B., 2012. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *Journal of Nanoparticle Research* 14.
- Ratte, H.T., 1999. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 89-108.
- Schäfers, C., Weil, M., 2012. Investigation of widely used nanomaterials (TiO₂, Ag) and gold nanoparticles in standardized ecotoxicological tests, Final Report, Federal Environment Agency Germany.
- Schlich, K., 2013. Untersuchungen zur ökotoxikologischen Wirkung von Silbernanopartikeln – Der Weg von der Kläranlage bis zum Eintrag in landwirtschaftliche Flächen, Fachbereich Geowissenschaften. FU Berlin, Berlin.
- Shafer, M.M., Armstrong, D.E., Overdier, J.T., Walker, M.T., 1998. Removal, partitioning and fate of silver and other metals in wastewater treatment plants and effluent-receiving streams. *Environ Toxicol Chem* 17, 630 - 641.
- Shoultz-Wilson, W.A., Reinsch, B.C., Tsyusko, O.V., Bertsch, P.M., Lowry, G.V., Unrine, J.M., 2011a. Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (*Eisenia fetida*). *Nanotoxicology* 5, 432-444.
- Shoultz-Wilson, W.A., Reinsch, B.C., Tsyusko, O.V., Bertsch, P.M., Lowry, G.V., Unrine, J.M., 2011b. Role of Particle Size and Soil Type in Toxicity of Silver Nanoparticles to Earthworms. *Soil Science Society of America Journal* 75, 365.
- Stone, V., Hankin, S., Aitken, R., Aschberger, K., Baun, A., Christensen, F.M., Fernandes, T.F., Hansen, S.F., Bloch Hartmann, N., Hutchison, G.R., Johnston, H.J., Micheletti, C., Peters, S., Ross, B., Sokull Kluettgen, B., Stark, D., Tran, L., 2010. Engineered nanoparticles: Review of Health and Environmental safety - ENRHES.

- TGD, 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market, Part II updated as ECHA guidance documents on Information Requirements and Chemical Safety Assessment: <http://echa.europa.eu/web/guest/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- Thomé-Kozmiensky, K.J., 2005. Problemfelder in der Abfallwirtschaft bis 2020. Müll-Magazin 18, 8 - 23.
- Tiede, K., Boxall, A.B.A., Wang, X., Gore, D., Tiede, D., Baxter, M., David, H., Tear, S.P., Lewis, J., 2010. Application of hydrodynamic chromatography-ICP-MS to investigate the fate of silver nanoparticles in activated sludge. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25, 1149.
- UBA, 2007. Beurteilung der Gesamtumweltexposition von Silberionen aus Biozid-Produkten, FKZ 36004020, in: Umweltbundesamt (Ed.), Berlin, Deutschland.
- UBA, 2013. Einsatz von Nanomaterialien in Textilien - Datenblatt Nanoprodukte, Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau.
- United States Environmental Protection Agency, 2009. Targeted National Sewage Sludge Survey Statistical Analysis Report in: Veröffentlicht auf http://water.epa.gov/scitech/wastetech/biosolids/upload/TNSSS_stat_appendix-A-Apr-2009.pdf (Ed.).
- Utermann, J., Meyenburg, G., Altfelder, S., Gäbler, H.-E., Duijnsveld, W., Bahr, A., Streck, T., 2005. Entwicklung eines Verfahrens zur Quantifizierung von Stoffkonzentrationen im Sickerwasser auf der Grundlage chemischer und physikalischer Pedotransferfunktionen. BMBF-Forschungsvorhaben 02WP0206, 169.
- von der Kammer, F., Ferguson, P.L., Holden, P.A., Masion, A., Rogers, K.R., Klaine, S.J., Koelmans, A.A., Horne, N., Unrine, J.M., 2012. Analysis of engineered nanomaterials in complex matrices (environment and biota): general considerations and conceptual case studies. *Environ Toxicol Chem* 31, 32-49.
- Wei, L., Tang, J., Zhang, Z., Chen, Y., Zhou, G., Xi, T., 2010. Investigation of the cytotoxicity mechanism of silver nanoparticles in vitro. *Biomedical materials* 5, 044103.
- Windler, L., Height, M., Nowack, B., 2013. Comparative evaluation of antimicrobials for textile applications. *Environment international* 53, 62-73.
- Woodrow Wilson International Center for Scholars, 2011. Project on Emerging Nanotechnologies. Consumer Products Inventory of Nanotechnology Products. www.nanotechproject.org/inventories/consumer.
- Woods, E.J., Cochrane, C.A., Percival, S.L., 2009. Prevalence of silver resistance genes in bacteria isolated from human and horse wounds. *Veterinary microbiology* 138, 325-329.
- Yuan, G., Cranston, R., 2008. Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles. *Textile Research Journal* 78, 60-72.
- Zhao, C.M., Wang, W.X., 2011. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. *Environ.Toxicol.Chem.* 30, 885-892.