

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR MOLEKULARBIOLOGIE  
UND ANGEWANDTE OEKOLOGIE IME

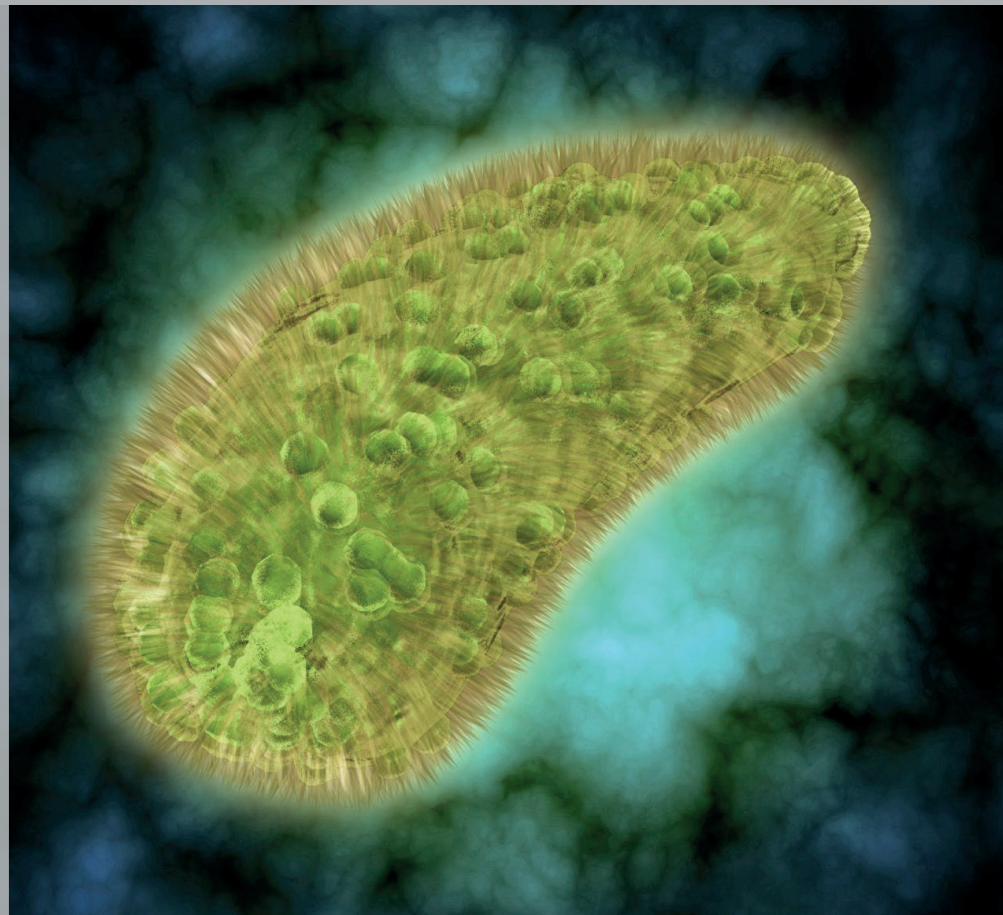
## Sehr geehrte Partner und Freunde des Fraunhofer IME,

in diesem Jahr feiert das Fraunhofer IME seinen 60. Geburtstag – das sind 60 Jahre Forschung zur Umweltrisikoprüfung von Stoffen und zur Verbraucherexposition. Mit der Umweltwirkung von Nanomaterialien beschäftigen wir uns seit fast 20 Jahren – durch praktische Untersuchungen und durch Mitwirkung bei der Entwicklung internationaler Richtlinien. Mit unserem umfassenden Wissen entwickeln wir Lösungsansätze und geben Antworten auf aktuelle Fragen. In diesem Newsletter finden Sie Beispiele sowie das Porträt von Dr. Kerstin Hund-Rinke, die die Forschung zur Ökotoxikologie von Nanomaterialien am Fraunhofer IME seit den Anfängen sehr erfolgreich vorantreibt.

Herzlich, Ihr



Prof. Dr. Christoph Schäfers



## GRUPPIEREN STATT TESTEN – SO GEHT'S

Durch Gruppierung von Nanomaterialien den Umfang ökotoxikologischer Tests überschaubar machen

Nanomaterialien (NM) werden in einer enormen Vielfalt an Modifikationen hergestellt. Nicht alle können umfassend auf ihre ökotoxikologische Wirkung untersucht werden. Die europäische Chemikalienverordnung (REACH) ermöglicht es, Daten von einem getesteten Nanomaterial auf ein anderes, nicht getestetes, zu übertragen (Read-Across). Auf Basis einer systematischen Testung haben wir relevante Eigenschaften für Metalle und metalloxidische NM identifiziert, die bei einer Übertragung von Daten vergleichbar sein sollten.

Aufgrund der starken Variabilität des Testdesigns haben sich Literaturdaten als unzureichend für die Identifikation relevanter Eigenschaften erwiesen. Als zielführender erwies sich eine systematische Testung von 25 Metallen und metalloxidischen Nanomaterialien. Für diese Substanzklassen kristallisierten sich die Eigenschaften »Freisetzung toxischer Ionen« ▶

Titelbild: Grünalge | © Panthermedia.net: Ryan Rossotto

Lesen Sie in dieser Sonderausgabe zum Thema Nanomaterialien:

- Gruppieren statt testen – so geht's
- Bioakkumulieren Nanomaterialien in Muscheln?
- Den Zwergen auf der Spur
- Im Porträt:  
Dr. Kerstin Hund-Rinke

(z. B. Ag, Zn, Cu), »Reaktivität« und »Form« heraus. Die Toxizität für Daphnien etwa wird speziell durch die Form signifikant beeinflusst. Bei Algen bestimmt zusätzlich das Anlagerungsverhalten maßgeblich die Toxizität. So können beispielsweise einzelne Modifikationen von nanopartikulärem  $\text{CeO}_2$  oder  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  ein hohes Anlagerungsvermögen aufweisen und damit die Algentoxizität beeinflussen. Modifikationen, die die Anlagerungsneigung erhöhen, führen auch zu einer verstärkten Toxizität. Unser neu entwickeltes Testdesign erlaubt eine schnelle mikroskopische Erfassung der Anlagerungsneigung.

### Gruppierung ermöglicht die Übertragung aquatischer ökotoxikologischer Daten von getesteten Nanomaterialien auf andere.

Auf Basis der systematischen Tests konnten wir die untersuchten Nanomaterialien anhand der Parameter

»Freisetzung toxischer Ionen«, »Reaktivität«, »Form« und »Anlagerungsneigung« hinsichtlich ihrer aquatischen Ökotoxizität gruppieren.

Innerhalb der Cluster unterscheidet sich die Toxizität für den empfindlichsten Organismus um maximal einen Faktor von 10. Ferner ist die Reihung der Testorganismen Alge, Daphnien und Fischembryo hinsichtlich ihrer Sensitivität gegenüber den NM identisch. Die Cluster selbst hingegen unterscheiden sich bezüglich dieser Kriterien.

Im Boden scheinen viele Eigenschaften von Nanomaterialien durch Bodeneigenschaften überlagert zu werden. Bisher können wir zwei Cluster unterscheiden: nicht toxische NM wie  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{CeO}_2$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  und  $\text{SiO}_2$  sowie solche, die toxische Ionen freisetzen und für Bodenorganismen toxisch sind. Damit ist ein Grundstein gelegt, um ökotoxikologische Daten von getesteten Nanomaterialien begründet auf andere zu übertragen. ■

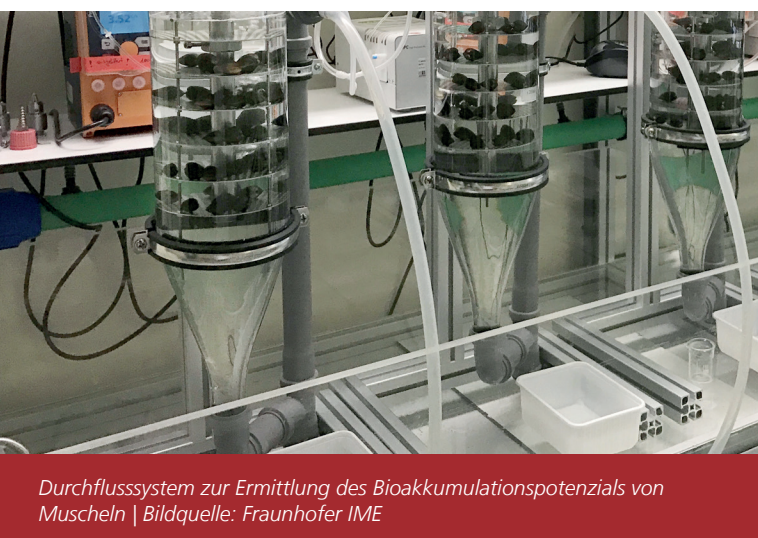
## BIOAKKUMULIEREN NANOMATERIALIEN IN MUSCHELN?

### Neues Testsystem ermöglicht die Abschätzung der Bioakkumulation von Nanomaterialien in aquatischen Systemen.

Die mögliche Anreicherung (Bioakkumulation) von Chemikalien in Organismen und folglich in der Nahrungskette wird standardmäßig anhand des Fisch-Durchflusstests ermittelt. Da mit diesem Testverfahren gelöste Stoffe untersucht werden, ist es für

Partikel ungeeignet. Mit Einsatz eines neuen Testsystems konnten wir das Bioakkumulationspotenzial verschiedener Nanomaterialien in Süßwassermuscheln untersuchen.

Durch zunehmende Verwendung gelangen Nanomaterialien (NM) vermehrt in die Umwelt. Daher muss eine mögliche Umweltgefährdung aufgrund von Persistenz (P), Bioakkumulation (B) oder Toxizität (T) ausgeschlossen werden. Der Bioakkumulationstest nach OECD-Richtlinie 305 (Fisch-Durchflusstest) ist ein etabliertes Tool, um das Bioakkumulationspotenzial von Chemikalien abzuschätzen. Für Nanomaterialien ist das Testsystem jedoch nicht geeignet, da keine stabilen Expositionsbedingungen hergestellt werden können. Wir haben die filtrierende Süßwassermuschel *Corbicula fluminea*, die Nanopartikel aus dem Wasser aufnimmt und akkumuliert, auf ihre Eignung als Testorganismus für Bioakkumulationsstudien untersucht. Dazu haben wir ein Durchflusssystem entwickelt, mit dem die Muscheln unter konstanten Bedingungen Nanomaterialien ausgesetzt werden können.



Durchflusssystem zur Ermittlung des Bioakkumulationspotenzials von Muscheln | Bildquelle: Fraunhofer IME

### *C. fluminea* als geeigneter Testorganismus zur Ermittlung der Bioakkumulation

Mit *C. fluminea* als Testorganismus haben wir das Bioakkumulationspotenzial von NM unterschiedlicher Eigenschaften ermittelt. Stellvertretend für ein gut dispergierendes, Ionen freisetzendes NM haben wir den Silbernanopartikel NM 300K getestet. Um die Bioakkumulation von gelöstem  $Ag^+$  mit Ag aus Quellen nanopartikelären Silbers zu vergleichen, wurde *C. fluminea*  $AgNO_3$  als Quelle für gelöstes  $Ag^+$  ausgesetzt. Zusätzlich haben wir das Titandioxid NP NM 105

repräsentativ für ein nicht Ionen freisetzendes NM sowie den, einen Fluoreszenzfarbstoff enthaltenden, Polystyrolnanopartikel Fluoro-Max™ als Beispiel für ein auf organischen Polymeren basiertes NM getestet. Sowohl die ermittelten Bioakkumulationsfaktoren als auch die organspezifischen Verteilungsfaktoren zeigten eindeutig, dass die getesteten NM von den Muscheln lediglich aufgenommen, in der Regel aber nicht bioakkumuliert wurden.

Unser Testsystem bietet sich als neues Screening Tool innerhalb einer abgestuften Teststrategie zur Bioakkumulation von Nanomaterialien an, mit der zusätzliche Vertebratentests vermieden werden könnten. ■

## DEN ZWERGEN AUF DER SPUR

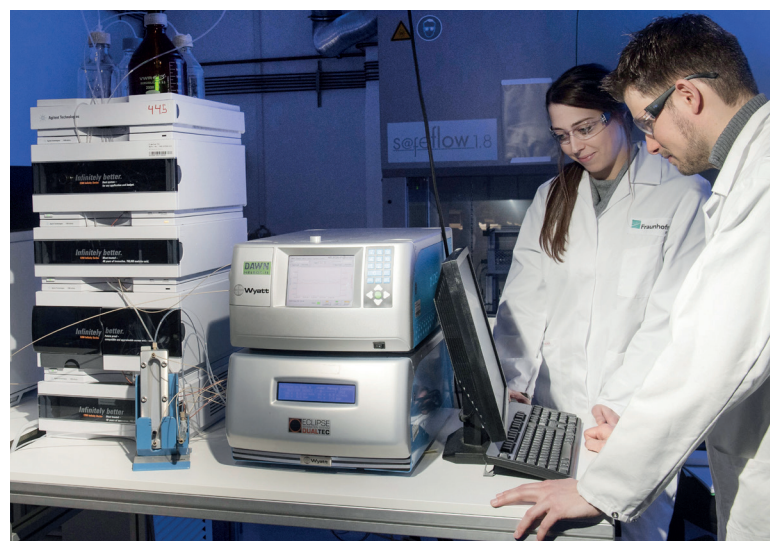
### Nanopartikel in Umweltmatrices mit komplexen Methoden nachweisen

Nanomaterialien (NM) können über verschiedene Pfade in die Umwelt gelangen. So können sie über Kläranlagen die aquatische Umwelt erreichen oder infolge landwirtschaftlicher Verwertung von Klärschlamm auf den Boden gelangen. Am Fraunhofer IME werden komplexe Methoden für Nachweis und Charakterisierung von NM in Umweltproben entwickelt.

Zur Abschätzung eines möglichen Umweltrisikos muss neben der Konzentration auch die Größenverteilung von NM bestimmt werden. Dazu werden die Partikel aus der jeweiligen Matrix in eine wässrige Suspension überführt, möglichst unter Beibehaltung ihrer partikulären Beschaffenheit. Wir verwenden für unterschiedliche Matrices, etwa Boden oder Gewebeproben, spezielle Verfahren wie die kolloidale Extraktion oder die gezielte Auflösung der Matrix mit Enzymen. Bei anorganischen Materialien wenden wir beispielsweise die Einzelpartikel-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppelten Plasma an. So können neben der Bestimmung des Gesamtgehalts in wässrigen Proben auch einzelne Partikel erfasst, gezählt und eine anzahlbasierte Größenverteilung ermittelt werden.

Für weniger empfindliche Fragestellungen kommen schonende Trenntechniken wie die asymmetrische Fluss-Feldflussfraktionierung (AF4) zum Einsatz, mit der Partikel in komplexen Proben nach Größe abgetrennt werden können. Mit der Kopplung der AF4 an unterschiedliche, etwa optische oder elementselektive Detektoren (ICP-MS), können wir eine

Vielzahl größenabhängiger Informationen erfassen. Für die Bestimmung des Gesamtgehalts werden elementspezifische Verfahren wie ICP-MS oder ICP-OES benötigt. Diese Verfahren erfordern eine Auflösung der Partikel, d.h. für unterschiedliche Partikel müssen unterschiedliche Aufschlussmethoden entwickelt werden. Der Aufschluss erfolgt in der Regel bei hohen Temperaturen in einem Mikrowellenaufschlussgerät. Partikel können von der gelösten Fraktion über Ultrafiltration (z.B. 3 kDa Filter) abgetrennt und mittels ICP-MS oder ICP-OES quantifiziert werden.



AF4-Gerätesystem.  
Bildquelle: Fraunhofer IME



## Dr. Kerstin Hund-Rinke...

... leitet seit 2002 die Arbeitsgruppe Terrestrische Ökotoxikologie, Bodenschutz und Nanomaterialien. »Pragmatische Ansätze entwickeln, um eine Umweltgefährdung durch Nanomaterialien in all ihrer Vielfalt abschätzen zu können und dabei die Sichtweise von Regulatoren, Industrie und Wissenschaft berücksichtigen – dieser Herausforderung stelle ich mich besonders gern.«

// *Unterschiedliche Sichtweisen auf den Lebenszyklus von Substanzen führen zu Synergien und kreativen Lösungsansätzen.*

Kerstin Hund-Rinke studierte an der Universität (LMU) München Diplombiologie und promovierte an der TU München und bei der GSF, dem heutigen Helmholtz Zentrum – Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt in München zu bodenmikrobiologischen Fragestellungen in der Ökotoxikologie. Am Fraunhofer IME ist sie seit 1988 in verschiedensten Fragestellungen zu aktuellen Umweltproblemen involviert. So entwickelte sie Methoden und Testsysteme im Rahmen der ökologischen Beurteilung der Bodenqualität, der mikrobiellen Biodiversität und der Bioverfügbarkeit von Schadstoffen. Ihr langjähriger Forschungsschwerpunkt im Bereich der Risikoabschätzung von Stoffen ist die Umwelttoxizität von Nanomaterialien. Zu dieser Thematik veröffentlichte sie den ersten Artikel unter Berücksichtigung regulatorischer Aspekte.

Die Regulierung von Chemikalien erfordert standardisierte Prüfverfahren. Doch wie können standardisierte Testsysteme an die Besonderheiten von Nanomaterialien (NM) angepasst werden? Müssen alle Modifikationen eines NMs untersucht werden oder können Daten von einem NM auf ein anderes übertragen werden? Sind Laboruntersuchungen geeignet, um langfristig Umweltverhalten und -wirkung zu prognostizieren? Mit diesen Fragen beschäftigen sich Kerstin Hund-Rinke und ihr Team: »Die Simulation von Vorgängen wie sie in der Kläranlage, im Faulturm, in der Reststoffdeponie, in Böden oder Gewässern stattfinden helfen uns, Möglichkeiten und Grenzen zur Abschätzung der Ökotoxizität von Nanomaterialien zu ermitteln – im Labor oder Technikumsmaßstab. Dass die Sulfidierung von Silbernanomaterialien in der Kläranlage nicht zur erwarteten Detoxifizierung führt, sondern die NM bei der Klärschlammasubstraktion langfristig im Boden bioverfügbar sind konnten wir ebenso zeigen wie die Abhängigkeit der Toxizität im Algentest vom Anlagerungsverhalten der NM – ein besonders wichtiges Kriterium beim Read-Across«.

### NETZWERKE – WISSEN EINBRINGEN UND VERTIEFEN

Kerstin Hund-Rinke ist sowohl in nationalen als auch in internationalen wissenschaftlichen Gremien vertreten. Unter anderem ist sie stellvertretende Vorsitzende im Wissenschaftlichen Beirat für Düngungsfragen, Mitglied der deutschen Delegation bei der »OECD Working Party for Manufactured Nanomaterials (WPMN)« und im Fachbeirat zum Masterstudiengang »Boden, Gewässer, Altlasten« an der Hochschule Osnabrück.

*Lesen Sie mehr über unsere Forschungsaktivitäten auf [www.ime.fraunhofer.de](http://www.ime.fraunhofer.de)*

## IMPRESSUM

### Herausgeber

Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie  
und Angewandte Oekologie IME

Angewandte Oekologie  
Auf dem Aberg 1  
57392 Schmallenberg

Telefon +49 2972 302-0  
Fax +49 2972 302-319

### Institutsleitung

Prof. Dr. Christoph Schäfers  
[christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de](mailto:christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de)

### Redaktion

Brigitte Peine  
Presse- und Öffentlichkeitsarbeit

### Layout und Satz

die Medialisten, Aachen

### Druck

Schäfers Druck GmbH, Schmallenberg

