



Umweltrisiken der Nanotechnologie: Sicherung der Kreislaufwirtschaft mit biologischen Testverfahren

Julian Rubach
Gernot Federspiel
Viktoria Fangrat
Ralf Kott
Susanne Nischwitz
Jadranka Grganovic
Dr. Dieter Tronecker
Dr. Klaus Hoppenheidt

finanziert durch
Bayerisches Staatsministerium für
Umwelt und Verbraucherschutz



Impressum

Alle Rechte (insbesondere das Recht der Vervielfältigung und Verbreitung sowie der Übersetzung) sind vorbehalten. Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Kein Teil der bifa-Texte darf in irgendeiner Form ohne Genehmigung der Herausgeber reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme gespeichert, verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Herausgeber
bifa Umweltinstitut GmbH
Am Mittleren Moos 46
86167 Augsburg

Verfasser
Julian Rubach
Gernot Federspiel
Viktoria Fangrat
Ralf Kott
Susanne Nischwitz
Jadranka Grganovic
Dr. Dieter Tronecker
Dr. Klaus Hoppenheidt

Im Auftrag des Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz

Druck
Klicks GmbH

1. Auflage 2016
© bifa Umweltinstitut GmbH

Umweltrisiken der Nanotechnologie: Sicherung der Kreislaufwirtschaft mit biologischen Testverfahren

Julian Rubach
Gernot Federspiel
Viktoria Fangrat
Ralf Kott
Susanne Nischwitz
Jadranka Grganovic
Dr. Dieter Tronecker
Dr. Klaus Hoppenheidt

Finanziert durch Bayerisches Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Zusammenfassung.....	1
2.	Aufgabenstellung und Ziel des Vorhabens.....	4
2.1	Nanomaterialien – große Chancen und unbekannte Risiken.....	4
2.2	Untersuchungsansatz.....	6
3.	Ablauf der Arbeiten.....	8
4.	Ergebnisse	9
4.1	Recherche der für die Bioabfallverwertung relevanten Nanomaterial-basierten Produkte.....	9
4.2	Bearbeitungsgrundlagen.....	11
4.3	Wachstumshemmung Kompost-relevanter Mikroorganismen	18
4.4	Einfluss auf die Atmungsaktivität von Bioabfallkompost.....	26
4.5	Einfluss auf die Biogasbildung	42
4.6	Phytotoxizität von ausgewählten Nanomaterialien.....	49
5.	Literatur	60
6.	Anhang.....	66
6.1	Ergänzende Ergebnisdarstellungen zum Abschnitt 4.3.1	66
6.2	Ergänzende Angaben zum Abschnitt 4.3.2	67
6.3	Ergänzende Angaben zum Abschnitt 4.4.1	72
6.4	Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.5	81
6.5	Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.6	90

1. Zusammenfassung

Nanomaterialien enthaltende Produkte drängen seit einigen Jahren in einem stark ansteigenden Ausmaß auf den Markt. Einer orientierenden Abschätzung zufolge sollen 63 – 91 % der global produzierten Nanomaterialien letztlich in den Bereich der Abfallwirtschaft gelangen. In verschiedenen Studien wird deshalb empfohlen, den Verbleib von Nanomaterialien im Bereich der Abfallwirtschaft mit hoher Priorität aufzuklären. Offene Fragen betreffen u. a. den Arbeits- und Umweltschutz sowie die Produktsicherheit.

Den Zielsetzungen der Abfallwirtschaft folgend sollen Abfälle vorzugsweise stofflich verwertet werden, damit eine ressourcenschonende Kreislaufwirtschaft realisiert wird. In Deutschland wurden 2010 bereits 63 % der Haushaltsabfälle stofflich verwertet. Der größte, stofflich genutzte Anteil der Haushaltsabfälle umfasst den Bioabfall. Verfahren der biologischen Abfallverwertung (Kompostierung, Biogasproduktion) basieren auf biologischen Stoffwechselaktivitäten. Zur Aufrechterhaltung der Leistungsfähigkeit und Prozessstabilität entsprechender Verfahren sind Kenntnisse erforderlich, ab welchen Konzentrationen störende Einflüsse von Nanomaterialeinträgen zu beachten sind.

Eine Literaturrecherche (4.1) ergab zahlreiche Entwicklungsansätze (Dünge- und Pflanzenschutzmittel, Nahrungsmittelzusätze, Verpackungen), die zukünftig entlang der gesamten Prozesskette der Biomasseproduktion und -nutzung Einträge von Nanomaterial-basierten Hilfs- und Wirkstoffen erwarten lassen. Bisher sind jedoch erst wenige Einsatzbereiche bekannt, bei denen gezielt künstlich hergestellte Nanomaterialien in den Biomasse-Stoffstrom eingetragen werden. Einige Nanomaterialien werden wegen ihrer antimikrobiellen Wirkungen entwickelt. Bei anderen Nanomaterialien ist unbekannt, ob sie direkt oder durch Folgereaktionen antimikrobielle Wirkungen oder Limitierungen der Stoffwechselaktivitäten erzielen.

Mit verschiedenen biologischen Testverfahren wurde deshalb die Wirkung ausgewählter Nanomaterialien (Ag, verschiedene Metalloxide, MWCNT) auf aerobe und anaerobe Abbauvorgänge orientierend untersucht. Zunächst wurden Wachstumshemmtests (4.3, 4.5.1) mit in Bioabfall häufig vorkommenden grampositiven (*Bacillus subtilis*) und gramnegativen (*E. coli*) Bakterien sowie Hefen (*Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae*) in definierten Kulturmedien durchgeführt. Die Untersuchungen sollten dazu dienen, antimikrobielle Wirkbereiche unter definierten Prüfbedingungen einzugrenzen. Anschließend wurde die Matrix des Prüfmediums durch Substanzen angereichert, die wasserlösliche Bioabfallbestandteile repräsentieren (Stärke, Cellobiose, Methylcellulose, Rinderserumalbumin (BSA), huminstoffreiches Komposteluat). Die Substanzen beeinflussten die Wirkpotenziale der untersuchten Nanomaterialien in komplexer Weise: Gleiche Kombinationen von Nanomaterial und Matrix des Prüfmediums waren bei einem Prüfkeim wirkungsverstärkend und bei anderen Prüfkeimen wirkungsabschwächend. Prüfungen mit Reinkulturen ermöglichen es, Konzentrationsbereiche zu ermitteln, bei denen die Prüfsubstanz die Aktivität einzelner Mikroorganismenarten verändert. Da Bioabfälle eine unüberschaubare Vielfalt unterschiedlicher Mikroorganismen und Bioabfallkomponenten enthalten, ist zu erwarten, dass das Wirkpotenzial im Bioabfall geringer ausgeprägt ist. Weitergehende Untersuchungen wurden deshalb direkt mit Bioabfallkomposten und Faulschlamm durchgeföhrt, die mit unterschiedlichen Nanomaterial-Suspensionen dotiert wurden.

Einflüsse von Nanomaterialien auf die Basis- und die Substrat-induzierte Atmung von Bioabfallkompost wurden mithilfe eines Forschungsrespirometers untersucht (4.4). Dabei konnten erstmals dosisabhängige Hemmungen der biologischen Aktivität von Bioabfallkomposten durch fast alle untersuchten Nanomaterialien aufgezeigt werden. Hemmungen der Kompostatmung wurden vereinzelt bereits bei

Dosierungen von 50 mg/kg Trockensubstanz (TS) beobachtet. Bei anderen Nanomaterialien wirkten erst hohe Dosierungen (MWCNT: > 8 g/kg TS) hemmend¹. Selbst sehr hohe Dosierungen bewirkten keine vollständige Hemmung der Kompostatmung. Die Stoffumsetzungen können aber durch Einträge von Nanomaterialien verzögert werden. Klärungsbedürftig ist, inwieweit die Hemmwirkung langfristig bestehen bleibt: Komposte werden auf Böden aufgebracht und durch Anreicherung könnten sich unerwünschte Wirkungen verstärken. Bei der Untersuchung einiger Nanomaterialien (CuO, MgO, ZnO) wurden jedoch Effekte beobachtet, die darauf hindeuten, dass das mikrobiell erzeugte Kohlendioxid die Metalloxid-Nanomaterialien auflöst und/oder als Carbonat ausfällt.

Der Einfluss der Nanomaterialien auf anaerobe Stoffwechselvorgänge wurde zunächst orientierend mit der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* untersucht. Die Gärung der Hefe wurde bereits durch 10 mg/L Nano-CuO deutlich gehemmt; gering ausgeprägt war die Hemmung durch Nano-MgO und -ZnO (4.5.1). Selbst Nano-Ag-Konzentrationen von 150 mg/L hemmten die Gärung der Hefe nicht. Die Biogasbildung wurden mit Nanomaterial-Dosierungen bis maximal 100 mg/L bzw. 4,6 g pro kg Trockensubstanz des Faulschlammes untersucht (4.5.2). Es wurden keine signifikanten Einflüsse auf die Biogasbildung des Faulschlammes beobachtet. Faulschlämme enthalten vergleichsweise hohe H₂S-Gehalte, die das Wirkpotenzial metallischer Nanopartikel durch Sulfidbildung abschwächen. Klärungsbedarf besteht, inwieweit die Hemmwirkung reaktiviert wird, wenn die Sulfide bei der Kompostierung der Gärreste oxidiert werden.

Ergänzend wurden die Einflüsse von Nanomaterialien auf die Keimung und das Wachstum von zwei Indikatorpflanzen (Kresse, Sommergerste) orientierend untersucht. Die Pflanzen werden auch im Rahmen der Güteüberwachung von Komposten genutzt. Die Keimung von Kressesamen wurde ab einer Dosierung von 16 mg Nano-MgO, 70 mg Nano-CuO und 110 mg MWCNT pro g Kressesamen deutlich gehemmt (4.6.1), wenn die Nanomaterialien direkt auf das Saatgut einwirkten. Wenn die Nanomaterialien zu einem Kultursubstrat (Einheitserde) dosiert wurden, war keine Hemmung des Wachstums der Indikatorpflanzen durch praxisrelevante Konzentrationen der untersuchten Nanomaterialien nachweisbar. Erst bei Dosierungen von > 31,5 mg/kg Nano-Ag wurde der Frischmasseertrag von Kresse um mehr als 20 % reduziert. Das Wachstum der Sommergerste wurde selbst durch Dosierungen von 500 mg/kg Nano-Ag nicht beeinflusst. Die im Rahmen der Güteüberwachung von behandelten Bioabfällen verwendeten Indikatorpflanzen sind damit nicht geeignet, in Bioabfällen eingetragene Nanomaterialien hinreichend sensitiv zu erfassen. Die Unterschiede in der Sensitivität deuten jedoch an, dass andere Pflanzen empfindlicher auf Nanomaterialien reagieren und sich als Indikatorpflanzen eignen könnten. So beobachteten Colman et al. (2013) nach Dosierung von nur 0,14 mg/kg eines Nano-Ag-Produktes eine messbare Minderung des Wachstums des Grases *Microstegium vimineum*.

Die Ergebnisse zeigen, dass in den genutzten Testsystemen erst vergleichsweise hohe Nanomaterialdosierungen Effekte erkennen ließen. Die Prüfungen beschränkten sich jedoch auf kurzfristig beobachtbare Effekte. Inwieweit Nanomaterialeinträge langfristig Einfluss auf die Zusammensetzung mikrobieller Biozönosen haben, konnte im Rahmen des Vorhabens nicht untersucht werden. Entsprechende Veränderungen können sich z. B. auf die Prozessstabilität von Vergärungsanlagen oder die mikrobiellen Umsetzungsvorgänge im Boden auswirken, auf den behandelte Bioabfälle meist ausgebracht werden.

¹ Hinweis: Im Rahmen der Gütesicherung werden behandelte Bioabfälle (Komposte, Gärreste) auf Gehalte ausgewählter Schwermetalle (Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) untersucht. Einträge von Nanomaterialien, die diese Elemente enthalten, wären durch die Grenzwertvorgaben beschränkt. Viele Nanomaterialien enthalten jedoch Elemente, die nicht überwacht werden (z. B. Ag).

Zur Klärung dieser Fragestellung wären weiterführende, molekularbiologische Untersuchungen notwendig.

Derzeit existieren zudem keine analytischen Nachweisverfahren für Nanomaterialien in den verschiedenen Stoffströmen der Abfallwirtschaft. Entsprechende Verfahren wären notwendig, um Einträge von Nanomaterialien unterhalb biologischer Wirkschwellen erkennen zu können. Außerdem wären entsprechende Nachweisverfahren hilfreich, um den Verbleib von Nanomaterialien in Abfällen beurteilen zu können: Kenntnisse zum Einfluss von biologischen Aktivitäten auf die Umweltstabilität von Nanomaterialien können dazu beitragen, besonders umweltrelevante, persistente Nanomaterialien zu identifizieren.

Der Einfluss von Nanomaterialeinträgen in den Stoffstrom von Abfällen ist für verschiedene Akteure von Bedeutung. Hersteller von Nanomaterial-basierten Produkten können ihrer Produktverantwortung nur gerecht werden, wenn sie unerwünschte Folgen ihrer Produktanwendung ausschließen können. Für die Umweltüberwachung verantwortliche Fachbehörden benötigen entsprechende Kenntnisse u. a. im Rahmen der Genehmigung bestimmter Abfallverwertungswege. So sehen aktuelle Empfehlungen zur Bewertung der Gefährlichkeit von Abfällen weder Einflüsse von Nanomaterialien noch Prüfungen der Einflüsse auf konkrete Abfallverwertungsverfahren vor. Betreiber von Verwertungsanlagen benötigen Informationen, inwieweit Nanomaterialeinträge die Aktivität und Stabilität ihrer Verwertungsprozesse beeinflussen. Im Rahmen des Projektes genutzte biologische Testverfahren bieten Lösungsansätze für die skizzierten Fragestellungen.

2. Aufgabenstellung und Ziel des Vorhabens

2.1 Nanomaterialien – große Chancen und unbekannte Risiken

Taniguchi hat den Begriff Nanotechnologie bereits 1974 für ein neues Arbeitsfeld eingeführt, das sich mit Vorgängen im Nanometermaßstab beschäftigt. Bis heute fehlen noch immer international abgestimmte Definitionen der Begriffe Nanotechnologie und Nanomaterial. Die Nanokommission der Bundesregierung hat 2008 folgende Definition vorgeschlagen: „Der Begriff der Nanotechnologien umfasst verschiedene Verfahren zur Untersuchung und zur gezielten Herstellung und Anwendung von Prozessen, Strukturen, Systemen oder molekularen Materialien, die in mindestens einer Dimension typischer Weise unterhalb von 100 Nanometern ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) liegen.“

Für den Begriff Nanomaterial hat die EU-Kommission 2011 eine vorläufige Definition vorgestellt²: „Nanomaterial“ ist ein natürliches, bei Prozessen anfallendes oder hergestelltes Material, das Partikel in ungebundenem Zustand, als Aggregat oder als Agglomerat enthält, und bei dem mindestens 50 % der Partikel in der Anzahlgrößenverteilung ein oder mehrere Außenmaße im Bereich von 1 nm bis 100 nm haben. In besonderen Fällen kann der Schwellenwert von 50 % für die Anzahlgrößenverteilung durch einen Schwellenwert zwischen 1 % und 50 % ersetzt werden, wenn Umwelt-, Gesundheits-, Sicherheits- oder Wettbewerbserwägungen dies rechtfertigen.“

Diesen Definitionen entsprechende Nanomaterialien weisen meist ein sehr hohes Oberflächen-Volumen-Verhältnis von $> 60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$ auf, das dazu beiträgt, dass Nanomaterialien neuartige physikalische (Härte, elektrische Leitfähigkeit, Farbe, Transparenz, Magnetismus) und chemische (Reaktivität, Schmelz- und Siedepunkte) Eigenschaften haben können. Die neuartigen Eigenschaften vieler Nanomaterialien bieten ein großes Potenzial für die Optimierung bisheriger und die Entwicklung innovativer Verfahren und Produkte. Die Nanotechnologie gilt deshalb als eine Schlüsseltechnologie für innovative Entwicklungen in zahlreichen Bedarfsfeldern, darunter Klima/Energie, Gesundheit/Ernährung, Mobilität und Sicherheit³.

Eine Auswertung der US EPA (2009) ergab, dass zum Untersuchungszeitpunkt rund 250 chemische Substanzen in nanoskaliger Form verfügbar waren. Allein von diesen Stoffen sollen über 2.000 Modifikationen (Partikelform und -größe, Oberflächenbehandlung, u. a.) unterscheidbar gewesen sein (Möller et al., 2013). Der überwiegende Anteil dieser Stoffe wurde aber erst in geringen Mengen hergestellt. Auch aktuelle Schätzungen zeigen, dass weltweit erst geringe Produktionskapazitäten für Nanomaterialien zur Verfügung stehen: Die 10 mit den höchsten Produktionsmengen hergestellten Nanomaterialien (TiO_2 , SiO_2 ; ZnO , CeO_2 , Al_2O_3 ; Nano-Ag, Nano-Cu, Nano-Fe, Carbon Nanotubes, Nanoclays) sollen 2010 zusammen eine Produktionsmenge von 206.000 – 309.000 Mg gehabt haben (Keller et al., 2013).

² EMPFEHLUNG DER KOMMISSION vom 18. Oktober 2011 zur Definition von Nanomaterialien (2011/696/EU)

³ BMBF (2011): Aktionsplan Nanotechnologie 2015

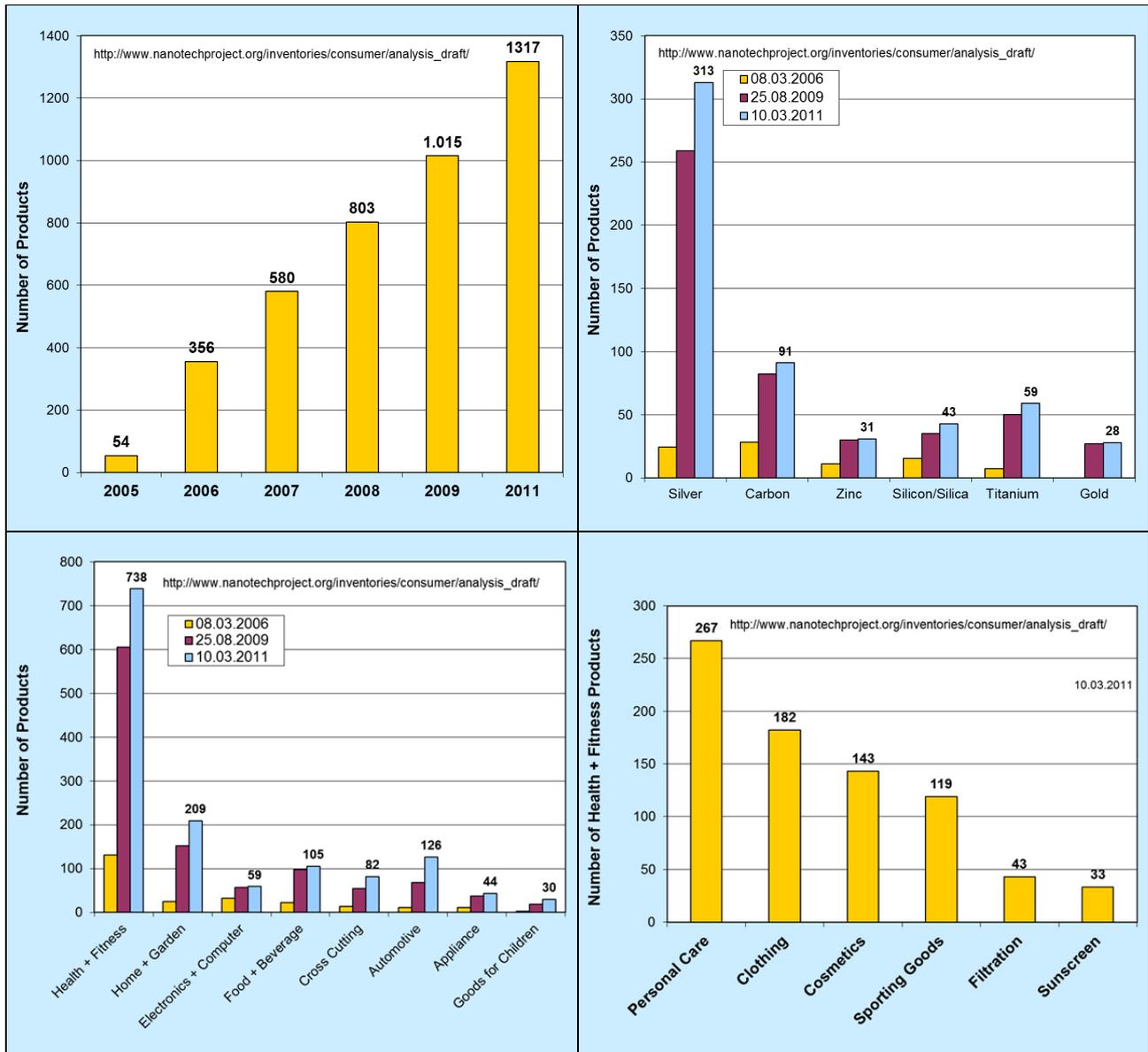


Abbildung 2.1: Aktueller Bestand von Konsumgütern mit Bestandteilen aus Nanomaterialien

Oben links: Nanotech-Produkte insgesamt; oben rechts: Stoffbasis der Nanomaterialien

unten links: Einsatzbereiche insgesamt; unten rechts: Einsatzfelder im Bereich Gesundheit/Fitness

Quelle: <http://www.nanotechproject.org/>; abgerufen: 11.08.2013

Die Anzahl der auf dem Markt befindlichen Produkte mit Nanomaterialbestandteilen ist wegen der rasanten Zunahme und wegen fehlender Kennzeichnungspflichten nur unvollständig erfasst. Die umfangreichste Datenbank von Konsumprodukten mit Nanomaterialbestandteilen stellen das Woodrow Wilson International Center for Scholars und die Pew Charitable Trusts zur Verfügung. Abbildung 2.1 ist zu entnehmen, dass nach Jahrzehnten der Grundlagenforschung immer größere Anzahlen von Produkten mit Nanomaterialbestandteilen auf den Markt gelangen. Die Einsatzbereiche von Produkten mit Nanomaterialbestandteilen decken inzwischen praktisch den gesamten Konsumgütersektor ab. Schwerpunkte sind derzeit Anwendungen im Bereich Health/Fitness und hier insbesondere Anwendungen in den Bereichen Körperpflege, Kleidung und Kosmetika. In Deutschland versucht der BUND mit

dem Portal nanowatch.de Nanomaterialien enthaltende Produkte zu erfassen; Anfang 2013 enthielt die Datenbank mehr als 1.000 Einträge.

Die neuartigen Stoffeigenschaften vieler Nanomaterialien sind die Basis für die positiven Erwartungen, sie für eine unübersehbare Vielzahl innovativer technischer Entwicklungen nutzen zu können. Gleichzeitig setzte mit der Erwartung einer stärkeren Vermarktung von Nanomaterial-basierten Produkten ein intensiver Diskussionsprozess zu den möglichen Risiken der „Winzlinge mit den großen Wirkungen“ ein (Helland, 2004; Krug, 2005; Oberdörster et al., 2005; Buzea et al., 2007). Zahlreiche Gremien, darunter auch Versicherungskonzerne wie die Swiss Re (Hett, 2008) oder die Allianz/OECD (2005) wiesen übereinstimmend auf die Unsicherheiten bei der Bewertung der Gefahren der Nanomaterialien für Mensch und Umwelt hin (NNI, 2003; BAuA/BfR/UBA, 2007; BMBF, 2008; Galloway, 2008; Handy et al.; 2008; NanoKommission, 2008; Aitken et al.; 2009).

Seitdem wird auf nationaler und internationaler Ebene versucht, die bestehenden Unsicherheiten in den Bereichen des Arbeitsschutzes, des Verbraucherschutzes und des Umweltschutzes auszuräumen. Beispielhaft erwähnt seien einige in der Projektlaufzeit getroffene Regelungen: Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat 2011 einen Leitfaden zur Risikobewertung von technisch hergestellten Nanomaterialien für die Verwendung in Lebens- und Futtermitteln veröffentlicht. Die Lebensmittelinformationsverordnung (EG 1169/2011) schreibt ab 2014 eine Kennzeichnung aller Zutaten in Lebensmitteln vor, die in Form technisch hergestellter Nanomaterialien vorhanden sind. In Europa müssen in Kosmetika enthaltene Nanomaterialien seit Juli 2013 deklariert werden. Im Mai 2013 hat die Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin die BekGS 527 veröffentlicht, die den Arbeitsschutz bei Tätigkeiten mit „hergestellten Nanomaterialien“ sicherstellen soll.

Trotz der umfangreichen Bemühungen zur Schließung der Kenntnislücken wurden in einer aktuellen Studie zahlreiche klärungsbedürftige Fragestellungen identifiziert (Möller et al., 2013). Dazu gehören auch Auswirkungen von Nanomaterial-Einträgen in natürliche und anthropogene Stoffkreisläufe.

2.2 Untersuchungsansatz

Abbildung 2.2 veranschaulicht einige der sich beim Umgang mit Nanomaterialien (und anderen neuartigen Stoffen) ergebenden Fragestellungen. Bei der Herstellung der Nanomaterialien und der Nanomaterial-basierten Produkte müssen Gesundheitsgefahren am Arbeitsplatz sowie Emissionen in die Umwelt vermieden werden. Während der Nutzung der Nanomaterial-basierten Produkte müssen Gesundheitsgefahren für die Verbraucher und die Umwelt ausgeschlossen werden.



Abbildung 2.2: Stoffstrom von Nanomaterialien (BMBF, 2008)

Nach der Nutzungsphase werden die Produkte der Abfallwirtschaft übergeben. Eine aktuelle Abschätzung von Keller et al. (2013) belegt, dass 63 – 91 % der global produzierten Nanomaterialien letztlich in den Bereich der Abfallwirtschaft gelangen werden; die Autoren schätzen zudem, dass 8 – 28 % der Nanomaterialien in den Boden, 0,4 – 7 % in Wasser und 0,1 – 1,5 % in die Luft eingetragen werden. Diese Daten stützen die Forderung verschiedener Autoren, den Klärungsbedarf zum Verbleib von Nanomaterialien im Bereich der Abfallwirtschaft mit hoher Priorität zu bearbeiten (Musee, 2011; SRU, 2011; OECD, 2012b; Möller et al., 2013).

Stofflich nicht verwertbare Abfälle werden in Deutschland vorzugsweise energetisch verwertet. Dabei ist eine Freisetzung von Nanomaterialien unerwünscht. Untersuchungen von Walser et al. (2012) zeigten jedoch, dass auch bei der Abfallverbrennung eine Freisetzung von Nanomaterialien auftreten kann.

Den aktuellen Zielsetzungen der Abfallwirtschaft entsprechend sollen Abfälle aber vorzugsweise einer stofflichen Verwertung zugeführt und eine ressourcenschonende Kreislaufwirtschaft realisiert werden. Dieser Aspekt war in der Darstellung des BMBF (2008) noch nicht berücksichtigt und wurde im bearbeiteten Vorhaben für den Bereich der Bioabfallverwertung aufgegriffen. In Deutschland wurden 2010 bereits 79 % der Haushaltsabfälle stofflich (63 %) oder energetisch (16 %) verwertet⁴. Der größte, stofflich genutzte Teilstrom der Haushaltsabfälle sind die Bioabfälle: 2011 wurden bereits mehr als 9,7 Mio. Mg Bioabfälle in etwa 1.000 Kompostierungs- und 100 Bioabfallvergärungsanlagen zu Komposten und Gärprodukten verarbeitet. Da bis zum Jahr 2015 eine getrennte Erfassung und Verwertung von Bioabfällen möglichst bundesweit etabliert werden soll, ist mit einem weiteren Ansteigen der Abfall-

⁴ <http://www.umweltbundesamt-daten-zur-umwelt.de>

mengen zu rechnen, die in den Bereich der Bioabfallverwertung gelangen. Die Verwertungsprodukte (Kompost, Gärrest) werden bei der Anwendung in der Landwirtschaft und im Gartenbau letztlich in den Boden eingetragen.

Biologische Abfallverwertungsverfahren basieren auf der technischen Nutzung natürlicher, mikrobieller Abbau- und Umbauprozesse. Im Naturhaushalt sind diese Prozesse überwiegend daran beteiligt, die jährlich entstehenden 120 bis 130 Milliarden Tonnen pflanzlicher Biomasse abzubauen. Vor allem Bakterien und Pilze (neben tierischen Kleinstlebewesen) zersetzen Abfallbiomassen durch komplexe, aerobe und anaerobe Nahrungsketten. Dabei werden die in Bioabfällen vorhandenen Kohlenhydrate (vor allem Cellulose), Proteine und Fette zersetzt und mit schwerer abbaubaren Bestandteilen (wie Lignin) zu humus- und nährstoffreichen Produkten (Kompost, Gärprodukt) umgewandelt. Die mehrstufigen, mikrobiellen Ab- und Umbauprozesse können durch den Eintrag von Stoffen beeinträchtigt werden, die die Aktivität von Bakterien und Pilzen be- oder gar verhindern: Als Ursache von Störungen in Biogasanlagen sind Einträge von verschiedensten Hemmstoffen (Schwermetalle, Antibiotika, Biozide, Reinigungsmittel, u. a.) bekannt.

Zahlreiche Nanomaterialien haben sich als antimikrobiell wirksam erwiesen und sie werden oft auch wegen dieses Wirkpotenzials genutzt (Ciofi u. Rai, 2012). Die vorliegende Untersuchung sollte deshalb aufzeigen, ob Einträge von ausgewählten Nanomaterialien die mikrobiellen Aktivitäten von aeroben und anaeroben Bioabfallverwertungsverfahren beeinflussen können.

3. Ablauf der Arbeiten

Das Vorhaben war in zeitlich aufeinander aufbauende Module gegliedert. Zu Beginn wurde eine Recherche der für die Bioabfallverwertung relevanten Nanomaterial-basierten Produkte durchgeführt (4.1). Anschließend wurde ein Spektrum von Nanomaterialien beschafft und für Prüfungen mit verschiedenen biologischen Testverfahren genutzt. Die OECD hatte in ihrem 2007 begonnenen Prüfprogramm 13 Nanomaterialien ausgewählt⁵, von denen angenommen wurde, dass sie in Kürze eine größere wirtschaftliche Bedeutung bekommen werden. Hierzu gehören: Fullerene (C60); Single-walled (SWCNTs) und Multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs), Ag, Fe, TiO₂; Al₂O₃, CeO₂, ZnO, SiO₂, Dendri-mere, Nanoschichtsilikate und Goldpartikel. Aus dieser Liste wurden Vertreter (fett markiert) ausgewählt, von denen ein antimikrobielles Wirkpotenzial bekannt war. Weitere Substanzen mit bekanntem antimikrobiellem Wirkpotenzial wurden ergänzend untersucht. Die im Rahmen des Prüfprogramms der OECD verwendeten Nanomaterialien waren lange Zeit nicht am Markt verfügbar; deshalb wurden andere, beim Projektbeginn kommerziell erhältliche Nanomaterialien untersucht (4.2.1).

Anschließend wurde überprüft, ob die ausgewählten Nanomaterialien die für die Kompostierung wichtigen aeroben Abbauvorgänge beeinflussen. Zunächst wurde untersucht, inwieweit Nanomaterialien das Wachstum von Kompost-relevanten Reinkulturen beeinflussen (4.3). Ergänzend wurde untersucht, inwieweit typische wasserlösliche Bioabfallkomponenten (Kohlenhydrate, Protein, Komposteluat) das antimikrobielle Wirkpotenzial der Nanomaterialien beeinflussen. Anschließend wurden umfangreiche respirometrische Untersuchungen durchgeführt, um die Einflüsse von Nanomaterialien auf die Basis-Atmung und die Substrat-induzierte Atmung zu ermitteln (4.4).

⁵ http://www.oecd.org/env/ehs/nanosafety/List_of_representative_MN_for_testing_Nov_2012.pdf

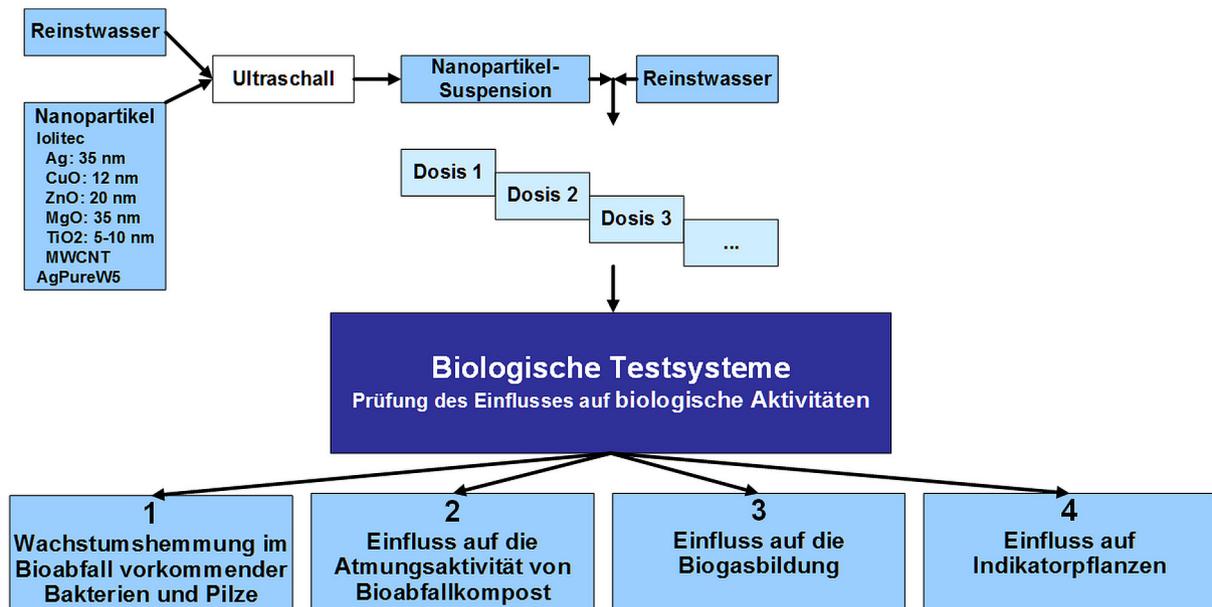


Abbildung 3.1: Übersicht der im Projekt bearbeiteten biologischen Testverfahren

In einem weiteren Projektmodul wurde untersucht, ob die ausgewählten Nanomaterialien die für die Biogasbildung notwendigen anaeroben Abbauvorgänge beeinflussen (4.5). Behandelte Bioabfälle (Komposte, Gärprodukte) werden als nährstoffreiches Bodenverbesserungsmittel genutzt. Deshalb wurde abschließend überprüft, ob die untersuchten Nanomaterialien die im Rahmen der Güteüberwachung von Komposten genutzten Indikatorpflanzen beeinflussen (4.6).

4. Ergebnisse

4.1 Recherche der für die Bioabfallverwertung relevanten Nanomaterial-basierten Produkte

Die Literaturrecherche sollte wichtige Eintragspfade für Nanomaterialien in den Stoffstrom von Biomassen identifizieren. Sehr aufschlussreich war die Auswertung der Technologie-Folgenabschätzung von Möller et al. (2009), die den Stand des Einsatzes von Nanomaterialien im Lebensmittelbereich zusammenfasste. Die Studie zeigte, dass Zusatzstoffe, die schon länger im Lebensmittelbereich verwendet werden, inzwischen häufiger als Nanomaterialien eingesetzt werden (Greßler et al., 2008). Das Spektrum dieser Stoffe ist aufgrund der lebensmittelrechtlichen Vorgaben derzeit noch gering (darunter finden sich verschiedene Nanometalle, Titandioxid, Kieselgur, Nanocluster u. a.). Eine Debatte im EU-Parlament hatte außerdem zum (inzwischen umgesetzten) Ziel, dass neue Nanomaterialien erst nach umfassenden Risikobewertungen im Nahrungsmittelbereich eingesetzt werden sollen⁶. Dagegen sollen einige im Ausland erzeugte Nahrungsmittel, die durch den internationalen Handel auch auf dem deutschen Markt angeboten werden, bereits eine größere Bandbreite von Nanomaterialien zugesetzt

⁶ <http://www.europarl.europa.eu/en/pressroom/content/20100503IPR74029/>

werden. Im Einzelfall ist jedoch nicht immer klar, ob entsprechend beworbene Produkte tatsächlich auch Nanomaterialien enthalten (Möller et al., 2013).

In einem Beitrag von Selke (2007) wurde darauf verwiesen, dass im Jahre 2004 bereits 250 verschiedene Verpackungen mit Nanokomponenten auf dem Markt waren. Danach waren Verpackungen als weiterer wichtiger Eintragspfad für Nanomaterialien in den Biomassestoffstrom zu betrachten (Brody et al., 2008; Simon et al., 2008). Diese Aussage bestätigten verschiedene Fachveranstaltungen⁷, die die Bandbreite der Entwicklungen im Bereich Nanomaterial-optimierter Verpackungen aufzeigten. Ein wichtiges Ziel ist es, den mikrobiellen Verderb des Schutzgutes zu verhindern bzw. zu verlangsamen. Auch der Trend zu Verpackungsmaterialien aus bioabbaubaren Werkstoffen, die nach ihrer Nutzung kompostiert oder vergoren werden, sind als Eintragspfad für Nanomaterialien in Betracht zu ziehen, da gerade für diese neuartigen Werkstoffe Nanomaterialien zur Optimierung der Materialeigenschaften zum Einsatz kommen (sollen) (de Azeredo, 2009).

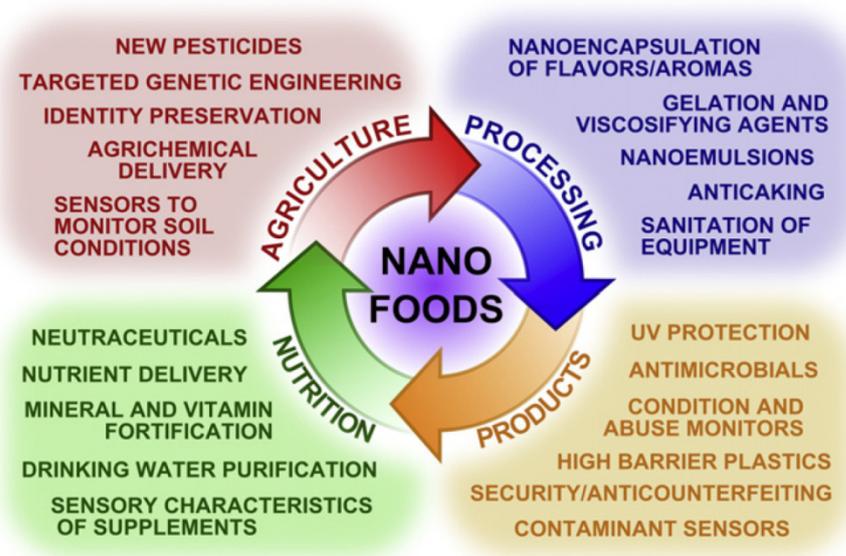


Abbildung 4.1: Vielfalt möglicher Nanomaterialeinträge in den Biomasse-Stoffstrom (Duncan, 2011)

Die gesamte Bandbreite der aktuell diskutierten bzw. entwickelten Einsatzmöglichkeiten für Nanomaterialien im Nahrungsmittelbereich fasst Abbildung 4.1 zusammen. Bereits bei der landwirtschaftlichen Produktion können Nanomaterial-basierte Hilfs- und Wirkstoffe zum Einsatz kommen (Kuzma u. Verhage, 2006; Gogos et al., 2012). Nanomaterialien können bei der Weiterbearbeitung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse, bei der Nahrungsmittelproduktion und im Nahrungsmittel selbst zum Einsatz kommen. Insofern haben die Recherchen die Ausgangshypothese bestätigt: Es gibt zahlreiche Ansätze, die zukünftig einen verstärkten Eintrag von Nanomaterialien in den Biomassestoffstrom und damit auch in die Bioabfallverwertung erwarten lassen. Diese Einschätzung entspricht dem Fazit eines Expertenworkshops der WHO/FAO (2010): „Nanotechnology-based food and health food products, and food packaging materials, are available to consumers in some countries already and additional products and applications are currently in the research and development stage, and some may reach the

⁷ Nanotechnologie in der Papierindustrie, Meeting der Cluster Nanotechnologie und Ernährung am 28.01.2010, PTS, München / Branchendialog Nanopackaging - Nanotechnologie und Neue Materialien für die Verpackungsindustrie. Düsseldorf, 16.05.2011 / ILSI Expert Workshop on Nanotechnologies for Food Packaging, Brüssel, 08-10.02.2012

market soon. In view of such progress, it is expected that nanotechnology-derived food products will be increasingly available to consumers worldwide in the coming years."

Suppan (2013) stellt in einem aktuellen Bericht den vorschnellen Einsatz von Nanomaterialien im Bereich der landwirtschaftlichen Produktion infrage: Erhebliche Kenntnislücken verhindern es derzeit, die Einflüsse von Nanomaterialien auf die Funktionalität und Fruchtbarkeit von Böden zu bewerten.

Auf Basis der oben skizzierten Recherche wurde festgehalten, dass für die hier interessierende Fragestellung Nanomaterialien mit bekannter antimikrobieller Wirksamkeit von größter Bedeutung waren. Entsprechende Nanomaterialien wurden nachfolgend ausgewählt und für die biologischen Prüfungen verwendet.

4.2 Bearbeitungsgrundlagen

4.2.1 Eingesetzte Nanomaterialien

Beim Beginn des Projektes im Jahr 2009 wurden in der Literatur Hinweise zu bekannten antimikrobiellen Wirkpotenzialen von Nanomaterialien recherchiert. Ren et al. (2009) hatten mit verschiedenen humanpathogenen Bakterien die bakteriziden Wirkpotenziale von Nanopartikeln aus Ag, ZnO, Cu₂O, CuO und Cu untersucht und minimale Hemmkonzentrationen ab 100 mg/L nachgewiesen. Auch Jones et al. (2008) konnten mit ZnO-Nanopartikeln eine antibakterielle Wirkung gegenüber einigen humanpathogenen Keimen nachweisen. Stoimenov et al. (2002) haben für MgO- und MgO-Halogen-Komplex-Nanopartikel eine bakterizide Wirkung dokumentiert. Haggstrom et al. (2010) konnten für Nano-TiO₂ und andere Metalloxide sowie entsprechende Metalloxid-Halogenide eine starke bakterizide Wirkung gegenüber E. coli und verschiedenen Bacillus-Arten zeigen. Simon-Deckers et al. (2009) erfassten mit E. coli und Cupriavidus metallidurans das bakterizide Wirkpotenzial von multi-walled carbon nanotubes und verschiedenen Metalloxid-Nanopartikeln (darunter TiO₂). Diese „Nano-Antimicrobials“ werden deshalb auch gezielt für antimikrobielle Anwendungen genutzt oder erprobt (Cioffi u. Rai, 2012).

Zum Beginn des Vorhabens waren erst wenige Nanomaterialien kommerziell verfügbar. Deshalb wurden basierend auf den Literaturhinweisen und unter Berücksichtigung der kommerziellen Verfügbarkeit die in Tabelle 4.1 aufgeführten Nanomaterialien als Untersuchungsmaterialien ausgewählt.

Daneben haben Hu et al. (2010) ein mit Nano-Graphen dotiertes Papier mit antibakterieller Wirkung beschrieben. Nach Kontaktaufnahme zu den Autoren wurde ein Produktmuster (ca. 24 mg) zur Verfügung gestellt.

Tabelle 4.1: Eingesetzte Nanomaterialien

CAS-Nr.	Substanz Reinheit / Partikelgröße / spez. Oberfläche		Bestell-Nummer
Hersteller/Lieferant: Ionic Liquids Technologies GmbH			
1317-38-0	Kupfer(II)oxid / 99,5 % / 12 nm / k. A.	CuO	NO-0004-HP-0010
1309-48-4	Magnesiumoxid / 99,9 % / 35 nm / 50 m ² /g	MgO	NO-0012-HP-0025
7782-42-5	Multi-walled carbon nanotubes / 95 % / < 10 nm; Länge: 5-15 µm / 40-300 m ² /g	MWCNT	CP-0005-SG-0005
7440-22-4	Silber / 99,5 % / 35 nm / 30-50 m ² /g	Ag	NM-0023-HP-0005
13463-67-7	Titan(IV)oxid, Anatase / 99,5 % / 5-10 nm / > 50 m ² /g	TiO ₂	NO-0058-HP-0025
1314-13-2	Zinkoxid / 99,5% / 20 nm / k. A.	ZnO	NO-0011-HP-0025
Hersteller/Lieferant: ras materials GmbH			

AgPURE-W5, wässrige Suspension; Hinweise zu Inhaltsstoffen: 5 % Ag-Nanopartikel (D₉₀ < 15 nm), Ammoniumnitrat; weniger als 0,2 % Silberionen

Das National Institute of Standards and Technology hat einen Methodenvorschlag zur Standardisierung der Herstellung von wässrigen Nanomaterialsuspensionen aus Nanomaterialpulver veröffentlicht (Tauruzzi et al., 2010). Danach soll eine maximale Ultraschall-Deagglomeration von Nanomaterialien bei einem Leistungseintrag von $4,2 \times 10^5$ kJ/m³ vorliegen. Mit dem im Vorhaben verwendeten Ultraschallgerät (LABSONIC U, B. Braun Biotech) wurde dieser Leistungseintrag nach 70 s erreicht; routinemäßig wurden Suspensionen in 30 mL Reinstwasser mit 200 Watt über 210 s beschallt. Kontrollmessungen zeigten, dass hierbei ein Leistungseintrag von $1,5 \times 10^6$ kJ/m³ erzielt wird, sodass für die Prüfungen maximal in Reinstwasser deagglomerierte Nanomaterialien eingesetzt worden sind.

Die Ionic Liquids-Produkte werden durch Laserablation gewonnen und sie weisen deshalb eine große Bandbreite an Partikelgrößen auf. Deshalb erscheinen auch mit Ultraschall deagglomerierte Suspensionen meist optisch trüb. Im Unterschied dazu weisen durch Reduktion chemisch gewonnene Silberpräparate (wie AgPure) eine enge Partikelgrößenverteilung im Nanometerbereich auf; die Lösungen sind dann optisch klar. Chemisch hergestellte Nanopartikellösungen haben jedoch den Nachteil, dass sie neben den Partikeln eine Vielzahl weiterer, zumeist unbekannter Stoffe (Reste der Ausgangschemikalien, Suspendierungshilfsmittel u. a.) enthalten können, die Einfluss auf Wirkungsuntersuchungen haben können.

4.2.2 Charakterisierung ausgewählter Nanomaterial-Suspensionen

Während des Vorhabens zeichnete sich im Rahmen der Arbeiten zur Normung toxikologischer und ökotoxikologischer Untersuchungen von Nanomaterialien die Empfehlung ab, dass Untersuchungen von Nanomaterialien möglichst durch physikochemische Charakterisierungen der eingesetzten Prüfsubstanzen ergänzt werden sollten. Inzwischen werden für normierte Prüfungen Substanzcharakterisierungen mit sehr hohem apparativen und monetären Aufwand diskutiert (OECD, 2012a; Lang u. Meyer-Plath. 2013).

Da im Projekt keine Position für derartige Bestimmungen vorgesehen war, wurde versucht, zumindest für drei intensiver genutzte Nanomaterialien orientierende Kenndaten zu erhalten.

Im Rahmen einer Diplomarbeit (Federspiel, 2012) bestand die Möglichkeit, einige Suspensionen von Nanomaterialien am Kompetenzzentrum Mechatronik der Hochschule Augsburg im Raster-Elektronenmikroskop zu untersuchen. Hierbei zeigte sich, dass für die optimale Darstellung der ver-

schiedenen Nanomaterialien methodische Optimierungen der Probenpräparation notwendig wären, die aus Kostengründen im Rahmen des Vorhabens nicht realisierbar waren. Es war jedoch möglich, zumindest orientierende Darstellungen von ausgewählten Nanomaterialien zu erhalten. Hierzu wurden die in Reinstwasser suspendierten Partikel auf zuvor gereinigte Probenträger getropft und getrocknet. Versuchsweise wurden einige Proben mit Gold bedampft und einige Proben wurden unbedampft verwendet, da zumindest Silberpartikel auch unbedampft gut darstellbar waren.

Abbildung 4.2 fasst die Ergebnisse für 3 im Rahmen des Vorhabens intensiver untersuchte Prüfmaterialien zusammen. In den Übersichtsdarstellungen sind bei allen 3 Materialien Partikel unterschiedlichster Größe zu erkennen. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass methodenbedingt nicht unterschieden werden kann, ob die Agglomerate bereits in den Proben vorhanden waren oder erst bei der Trocknung der Probe entstanden sind. In den Detailaufnahmen ist gut zu erkennen, dass in den Suspensionen aller 3 Prüfmaterialien zahlreiche Partikel mit Durchmessern von < 100 nm vorhanden waren. Die kleinsten Partikel enthielt die AgPure-Suspension, gefolgt von der Nano-CuO- und der Nano-Ag-Suspension. Für weiter reichende REM-Auswertungen wären zeit- und kostenaufwendige Methodenoptimierungen erforderlich.

Ergänzend zu den mikroskopischen Auswertungen war es im Rahmen eines Applikationstages möglich, die Partikelgrößenverteilung und das Zetapotenzial der verwendeten Nanomaterialsuspensionen mit dem Zetasizer ZS der Firma Malvern zu untersuchen. Für die Messungen wurden die Suspensionen unverändert verwendet. Mit Unterstützung von Dr. J. Lühmann, Malvern, wurden an frisch in Reinstwasser suspendierten Nanomaterialien 70 Messungen der Partikelgrößenverteilung und des Zetapotenzials durchgeführt.

Bei der Bewertung der in Abbildung 4.3 zusammengefassten Analysen der Partikelgrößenverteilungen ist zu berücksichtigen, dass kleine Partikel bei gleicher Anzahl ein wesentlich geringeres Volumen (Masse) haben als große Partikel (vergl. Abbildung 4.3 unten rechts). Dementsprechend können selbst in hohen Anzahlen vorkommende kleine Partikel nur wenig zur Gesamtpartikelmasse einer Probe beitragen, falls diese zusätzlich wenige große Partikel enthält.

Die AgPure W5-Suspension zeigte eine Partikelanzahlenverteilung mit einem Peak bei 2,3 nm auf. Bei der Nano-Ag-Suspension wurde eine zweigipflige Verteilung beobachtet: Die kleineren Partikel hatten einen Gesamtanteil von 91 % und der Peak lag bei 108 nm. Auch bei der Nano-CuO-Suspension wurde eine zweigipflige Verteilung der Partikelgrößen beobachtet: Der Flächenanteil der kleineren Partikel erreichte 41 % und der Peak lag bei 120 nm. Insgesamt bestätigen diese Untersuchungen den Eindruck der mikroskopischen Befunde, dass die Nano-Ag- und CuO-Suspensionen auch deutlich größere Partikel enthalten als das AgPure-Produkt. Gleichzeitig konnte festgestellt werden, dass auch die Nano-Ag- und Nano-CuO-Suspensionen hohe Anteile an Partikeln im 100 nm-Größenbereich enthielten.

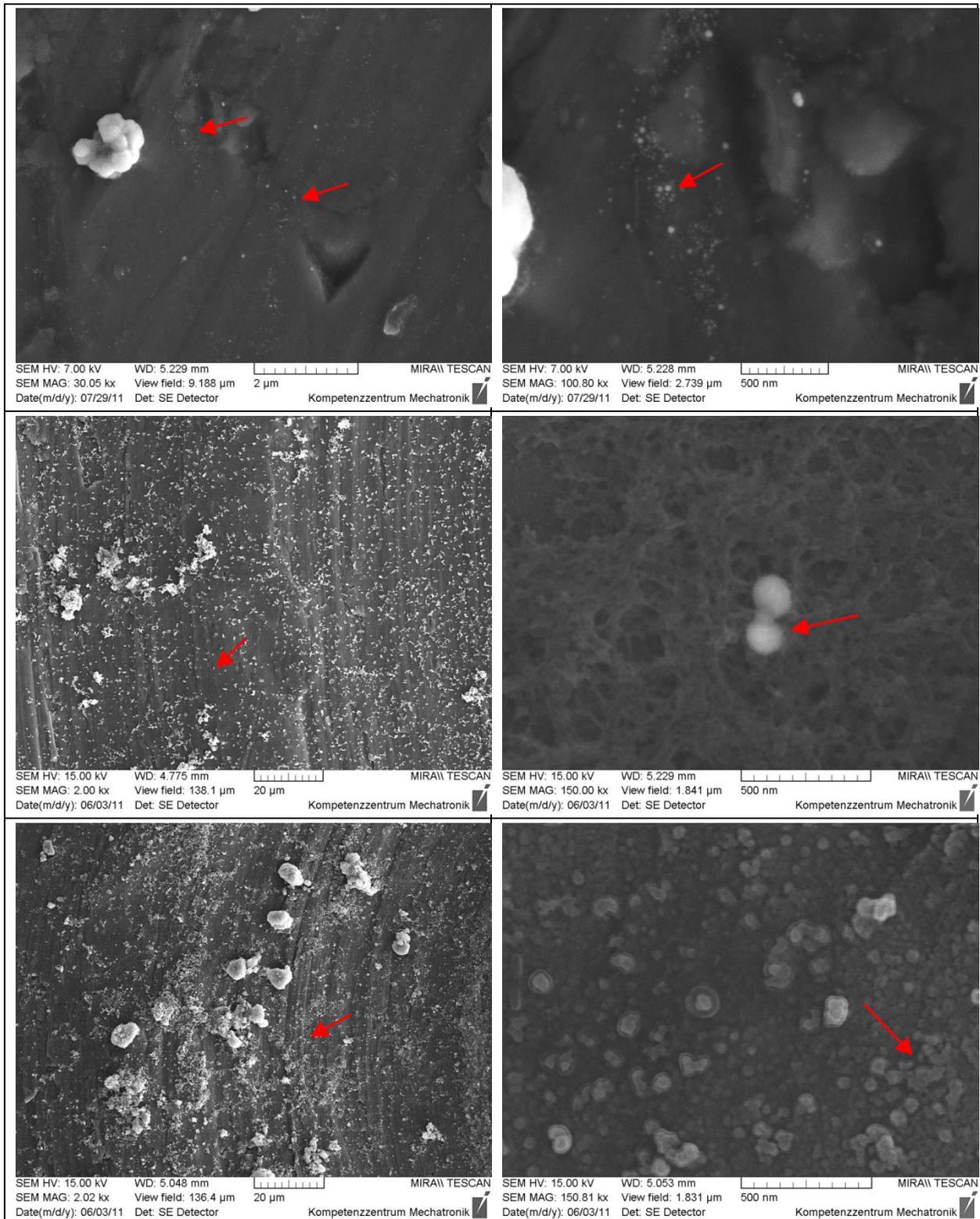


Abbildung 4.2: Rasterelektronenmikroskopische Übersichten (links) und Detailansichten (rechts): AgPure W5 (oben); Nano-Ag (Mitte); Nano-CuO (unten); Bilder: U. Conradi, Hochschule Augsburg

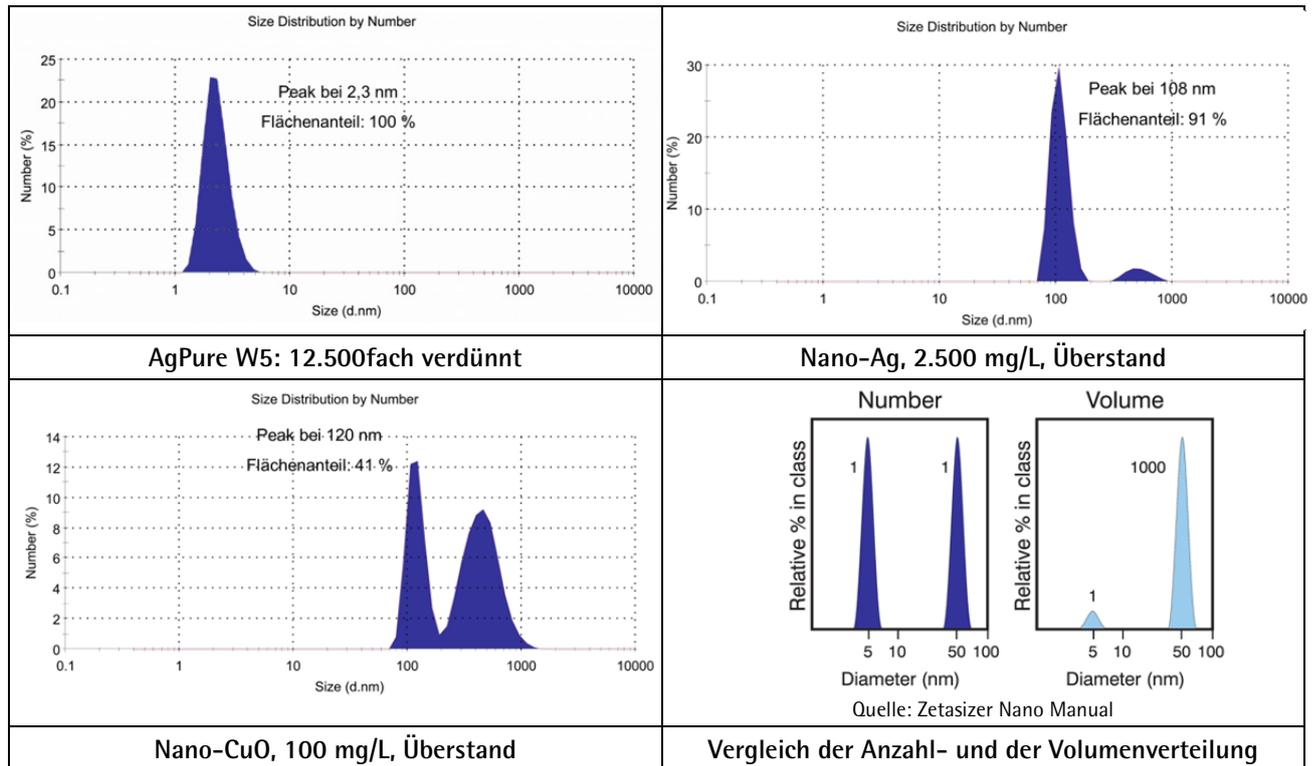


Abbildung 4.3: Resultate der Partikelgrößenanalyse mit dem Zetasizer ZS, Messungen: Dr. J. Lühmann, Malvern

Die Stabilität von Partikelsuspensionen soll besonders stark von der Oberflächenladung der Partikel abhängen. Für stabile Partikelsuspensionen sollten die Partikel möglichst Oberflächenladungen von mehr als 30 mV aufweisen, weil sich die gleichartig geladenen Partikel dann hinreichend stark gegenseitig abstoßen. Der Zetasizer ermöglichte in einem anderen Betriebsmodus auch die Bestimmung der Partikelladungen (Abbildung 4.4).

Die in der AgPure-W5-Suspension vorhandenen Partikel hatten Oberflächenladungen im Bereich von -60 bis +40 mV; das Peakmaximum lag im Bereich von -16,6 mV. Die Partikel der Nano-Ag-Suspension wiesen Ladungen im Bereich von -16 bis -48 mV mit einem Peakmaximum bei -33,3 mV auf. Die Partikel der Nano-CuO-Suspension waren fast durchweg positiv geladen: Die Spanne der Ladungswerte lag zwischen -6 bis +37 mV mit einem Peakmaximum bei +15,3 mV.

Bezogen auf die Oberflächenladung hätte die Suspension der Nano-Ag-Partikel die größte Stabilität haben sollen. Zumindest visuell erschien aber gerade diese Lösung stark getrübt, was jedoch auch die Folge geringer Anzahlen großer Partikel gewesen sein kann.

Anzumerken ist, dass Partikeluntersuchungsmethoden sehr hilfreich für die Charakterisierung der eingesetzten Ausgangssuspensionen sein können. Die ermittelten Ergebnisse können jedoch nicht auf die Situation bei den jeweiligen biologischen Prüfungen übertragen werden. Änderungen des pH-Wertes, des Salzgehaltes, der Konzentrationen organischer Stoffe und der mikrobiellen Biomasse haben einen sehr großen Einfluss auf die Oberflächenladung von Partikeln und der damit korrelierenden Partikelagglomeration. Diese Parameter ändern sich bei mikrobiologischen Kultivierungen z. T. recht stark. Folglich müssten entsprechende Partikelanalysen auch im Kulturverlauf durchgeführt werden. Dies ist jedoch nur bei Flüssigkulturen möglich, nicht jedoch bei Untersuchungen der Einflüsse von Nanomaterialien auf die Aktivitäten von Komposten und Faulschlamm.

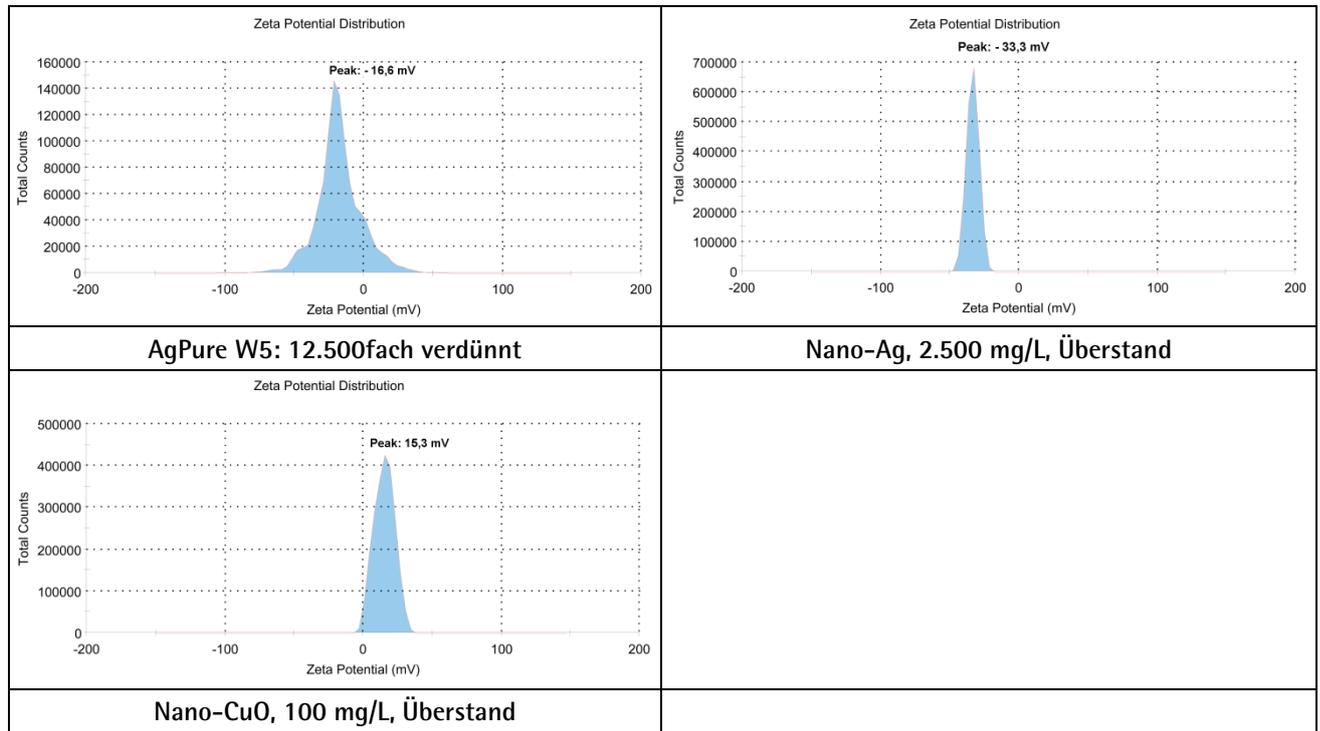


Abbildung 4.4: Resultate der Zetapotenzial-Analyse mit dem Zetasizer ZS, Messungen: Dr. J. Lühmann, Malvern

4.2.3 Auswahl von Prüforganismen

4.2.3.1 Mikroorganismen-Reinkulturen

Bei der Kompostierung werden die im Bioabfall vorhandenen niedermolekularen organischen Bestandteile rasch durch Bakterien abgebaut. Die bei hoher Abbauproduktivität einsetzende „Selbsterhitzung“ bewirkt eine Inaktivierung thermolabiler Keime. Hierzu gehören sehr viele human-, tier- und pflanzenpathogene Erreger. Im Anschluss an diese Heißbrötchen-Phase werden polymere Bioabfallbestandteile durch Bakterien und Pilze ab- bzw. umgebaut und die typische Kompostsubstanz wird aufgebaut. Aufgrund der Komplexität der Kompostbiozönose waren die für die Ab- und Umbauprozesse verantwortlichen Mikroorganismen bisher nur unvollständig bekannt. Erst durch die Verfügbarkeit leistungsfähiger molekularer Nachweisverfahren gibt es tiefere Einblicke in die Biozönosen der Kompostierung. Hultman (2009) und Partanen et al. (2010) konnten zeigen, dass die Vielfalt der Bakterien bei der Kompostierung größer ist als jene der Pilze. Bei der Kompostierung dominieren grampositive Bakterien der Stämme Actinobacteria und insbesondere Firmicutes, wobei aus Letzterem vor allem Vertreter der Gattungen *Bacillus*, *Lactobacillus* und *Clostridium* nachgewiesen wurden. Vergleichbare Beobachtungen machten auch Watanabe et al. (2009). Bemerkenswert ist zudem, dass in allen Phasen der Kompostierung eine Vielfalt an Hefen als dominante Pilz-Vertreter gefunden wurde (Hultman et al., 2010).

In der ersten Projektphase wurde versucht, Einflüsse von Nanomaterialien auf die Aktivität von Reinkulturen von Bakterien und Hefen zu erfassen. Ein wichtiges Auswahlkriterium war hierbei, dass die Keime in einfachen mineralischen Nährmedien mit möglichst nur einer Kohlenstoffquelle hinreichend rasch wachsen konnten. Dies sollte die Vielfalt möglicher Einflussfaktoren auf die Wirksamkeit der Na-

nomaterialien begrenzen. Außerdem war es dadurch möglich, die Nährmedien gezielt mit in Bioabfällen vorkommenden Einzelsubstanzen (Kohlenhydrate, Proteine, Huminstoffe) zu dotieren und die dadurch bedingten Einflüsse zu prüfen. Als Vertreter der grampositiven Bakterien diente *Bacillus subtilis* (DSM 347). Dieses Bakterium wird auch für Prüfungen der bakteriziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln verwendet (DIN EN 12353 – 2006). *Bacillus subtilis* wächst in synthetischen Nährmedien mit nur einer einzigen Kohlenstoffquelle rasch. Das Bakterium wird zudem in der Umwelt häufig auf welkendem Pflanzenmaterial („Heubazillus“) angetroffen, sodass dieses Bakterium ein wichtiger Repräsentant der grampositiven Bakterien der Kompostbiozönose ist. Für Arbeiten in Mikrotiterplatten wirkte sich die Bildung von Biofilmen nachteilig aus. Deshalb wurde eine von Chai et al. (2008) gentechnisch veränderte Variante (*Bacillus subtilis* YC775) verwendet, die bei der Kultivierung keine Flocken mehr bildete.

Als Vertreter der gramnegativen Bakterien wurde *Escherichia coli* K12 (DSM 11250) eingesetzt. Vertreter aus der Enterobacteriaceae sind in Bioabfällen sehr häufig nachweisbar (Watanabe et al., 2009). Diese Gruppe enthält zudem viele Arten, die zu den häufigsten Krankheitserregern des Menschen zählen. Daher wird auch *E. coli* K12 für Prüfungen der bakteriziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln verwendet (DIN EN 12353 – 2006). *E. coli* wächst rasch in mineralischen Nährmedien mit Glucose als einziger Kohlenstoffquelle und war somit gut als Prüfkeim nutzbar.

Frisch angelieferte Bioabfälle enthalten sehr hohe Gehalte an Hefen: Sie sind häufige Besiedler pflanzlicher Oberflächen und reichern sich bei Gärungsprozessen während der Bioabfallsammlung stark an (Hultmann et al. 2010). Deshalb wurden zwei Hefen (*Pichia pastoris*, DSM 70382; *Saccharomyces cerevisiae*, DSM 70449) aus der Klasse der Saccharomycetales als Prüfkeime verwendet, von denen bekannt war, dass sie in Kulturmedien mit einfacher Zusammensetzung vergleichsweise rasch wachsen.

4.2.3.2 Bioabfallkomposte und Faulschlämme

Untersuchungen zum Einfluss von Nanomaterialeinträgen auf die Kompostatmung wurden mit Fertigungskompost der AVA Abfallverwertung Augsburg GmbH durchgeführt. Eine am 04.03.2011 entnommene Charge Bioabfallkompost wurde bei 4 °C gelagert. Sämtliche Untersuchungen mit Komposten wurden mit Aliquoten dieser Kompostcharge durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Probenahme hatte der Bioabfallkompost folgende Kennwerte: Rottegrad V; Wassergehalt: 57,5 % TS; maximale Wasserhaltekapazität: 1,22 mL H₂O/g TS; Rohdichte: 0,85 mL/g. Vor dem Einsatz wurde der Kompost auf < 5 mm abgeseibt; anschließend wurde der Wassergehalt auf 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität eingestellt.

Untersuchungen zum Einfluss von Nanomaterialien auf die Biogasbildung wurden mit Faulschlamm der Kläranlage der Stadt Augsburg durchgeführt. Die Faulschlämme wurden vor dem Einsatz ca. 10 Tage bei 37 °C anaerob gelagert; dadurch wurde die Biogasbildung aus Abwasserbestandteilen reduziert.

4.2.3.3 Indikatorpflanzen

Für Untersuchungen zum Einfluss von Nanomaterialien auf das Wachstum von Indikatorpflanzen wurden Kresse und Gerste ausgewählt. Gartenkresse (*Lepidium sativum*; HILD Samen GmbH) wird häufig als Vertreter zweikeimblättriger Pflanzen bei ökotoxikologischen Untersuchungen verwendet (Formin et al., 2009). Außerdem dient Gartenkresse als Indikatorpflanze zur Beurteilung der Pflanzenverträglichkeit von Komposten.

Sommergerste (*Hordeum vulgare*, Sorte: Catamaran; KWS Lochow) ist ein Vertreter der einkeimblättrigen Pflanzen. Die Pflanze wird zur Bewertung der Pflanzenverträglichkeit von gütegesicherten Komposten verwendet.

4.3 Wachstumshemmung Kompost-relevanter Mikroorganismen

Die zu Projektbeginn vorliegenden Informationen deuteten an, dass die Eigenschaften von Nanomaterialien sehr stark von physikochemischen Randbedingungen (Temperatur, Redoxpotenzial, pH-Wert, Leitfähigkeit, mineralische und organische Inhaltstoffe) abhängen. Diese Randbedingungen sind bei biologischen Abfallbehandlungsverfahren äußerst komplex und variabel. Deshalb wurde zunächst unter gut kontrollierbaren Kulturbedingungen geklärt, in welchen Konzentrationsbereichen ausgewählte Nanomaterialien (Tabelle 4.1) das Wachstum von Mikroorganismen hemmen. Die Mikroorganismen sollten typische, im Bioabfall vorkommende Keimgruppen repräsentieren (vergl. 4.2.3.1) und in einem mineralischen Kulturmedium mit Glukose als alleiniger Kohlenstoffquelle⁸ wachsen können. Zum Einsatz kamen je ein grampositives und ein gramnegatives Bakterium (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*) sowie eine Hefe (*Pichia pastoris*). Der Prüfungsgang wurde im Rahmen einer Diplomarbeit (Rubach, 2010) ausgearbeitet: Das Prüfmedium wurde unmittelbar vor Beginn der Prüfung mit einer Vorkultur auf eine definierte Ausgangstrübung (OD_{550nm} : 0,1) eingestellt. Teilvolumina der Keimlösung wurden anschließend im Verhältnis 1:10 mit frisch in Reinstwasser hergestellten Suspensionen bzw. Lösungen der zu untersuchenden Substanzen versetzt. Unmittelbar danach wurde die zeitliche Entwicklung des Mikroorganismenwachstums mithilfe von Trübungsmessungen (OD_{550nm}) verfolgt.

4.3.1 Wachstumshemmung von *Bacillus subtilis* DSM 347

Mit den in Tabelle 4.1 genannten pulverförmigen Nanomaterialien (ohne TiO_2) wurde der bakterizide Wirkungsbereich in einem Vorscreening abgeschätzt: Ausgangskonzentrationen der Nanomaterialien von 100 mg/L wurden über 9 serielle Stufen jeweils um Faktor 2 verdünnt und mit *Bacillus* beimpft. Nach einer Bebrütung über 24 h bei 37 °C waren alle Röhren mit Zusatz von Nano-MgO, Nano-ZnO und MWCNT bewachsen. Offenbar wirkten diese Substanzen auf den Prüfkeim selbst in Konzentrationen von 100 mg/L nicht bakterizid. Dagegen blieben Röhren ab 50 mg/L Nano-Ag und 12,5 mg/L Nano-CuO unbewachsen. Für bakterizide Wirkungen werden meist vergleichsweise hohe Wirkstoffkonzentrationen benötigt. Deshalb untersuchte Rubach (2010) in einer Diplomarbeit zunächst für Nano-Ag und Nano-CuO, welche Konzentrationen für eine Minderung der Wachstumsrate ausreichen. Der Prüfkeim wurde bei 37 °C aerob in Kulturkolben mit Mineralmedium⁸ bebrütet, zu dem anfangs unterschiedlich hohe Mengen der Prüfsubstanzen dosiert worden sind. Über den Kulturverlauf hinweg wurden Teilproben entnommen und über Trübungsmessungen das Keimwachstum verfolgt. Abbildung 4.5 fasst die Beobachtungen von Rubach (2010) zusammen.

⁸ Mineralmedium MM II (in g/L): K_2HPO_4 : 3; KH_2PO_4 : 1; NH_4NO_3 : 0,1; NH_4Cl : 0,5; Na_2SO_4 : 0,1; $MgSO_4 \times 7 H_2O$: 0,03; $CaCl_2 \times 2 H_2O$: 0,02; $MnSO_4 \times H_2O$: 0,00076; $FeSO_4 \times 7 H_2O$: $C_6H_{12}O_6 \times H_2O$: 2,75; pH: 6,8–7,0

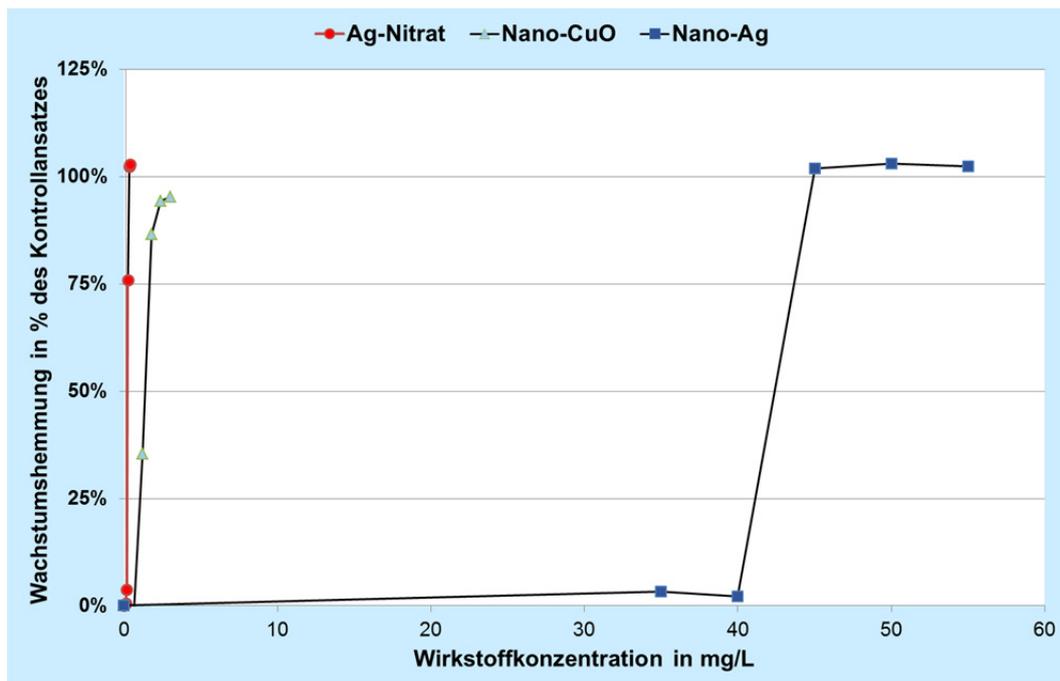


Abbildung 4.5: Hemmung des Wachstums von *Bacillus subtilis* DSM 347 durch AgNO_3 , Nano-CuO und Nano-Ag nach einer Kulturzeit von 4,6 - 5,3 Stunden⁹

Silbernitrat wurde als Referenzbiozid mit breitem Wirkspektrum untersucht. Es unterdrückt das Wachstum diverser Bakterien und Pilze ab Konzentrationen von wenigen mg/L (Hoppenheidt et al., 2009): Das Wachstum von *Bacillus subtilis* wurde bei Konzentrationen von > 9 mg/L Silbernitrat völlig unterdrückt (bakterizide Wirkung). Die in Abbildung 4.5 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die Grundannahme des Prüfkonzeptes berechtigt war: Bereits um Faktor 50 niedrigerer Silbernitratkonzentrationen von > 0,175 bis \leq 0,250 mg/L wirkten wachstumshemmend auf *Bacillus subtilis*.

Nano-CuO wirkte erst bei Konzentrationen von > 12,5 mg/L bakterizid auf den Prüfkeim. Das Wachstum des Prüfkeims wurde bereits ab einer um Faktor 10 niedrigeren Konzentration von \leq 1,2 mg/L messbar gehemmt. Im Vergleich zu Silbernitrat wirkte Nano-CuO weniger stark wachstumshemmend.

Bemerkenswert waren die Resultate für Nano-Ag: Dieses wirkte bis zu einer Konzentration von 40 mg/L nicht wachstumshemmend. Bei einer Dosierung von 45 mg/L war dagegen nach 5,1 h noch kein Wachstum zu beobachten; erst nach 6,3 h wurde eine leichte Zunahme der Trübung festgestellt. 50 und 55 mg/L hemmten das Wachstum des Prüfkeims vollständig. Damit lag der Wirkungsbereich für die beginnende Wachstumshemmung nahe an dem Konzentrationsbereich, bei dem eine bakterizide Wirkung beobachtet wurde. Auffällig waren insgesamt die steilen Verläufe der Dosis-Wirkungsbeziehungen bei den untersuchten Substanzen.

Die Befunde lagen in einem Wertebereich, den auch andere Autoren beschrieben haben. Ruparella et al. (2008) fanden minimale Hemmkonzentrationen für Nanosilber von 40 mg/L bei *Bacillus subtilis*, 40 - 140 mg/L bei verschiedenen *E. coli*-Stämmen und 120 mg/L bei verschiedenen *Staph. aureus*-Stämmen. Sie prüften zudem den Effekt von Nano-Cu und fanden Hemmwerte von 20 mg/L für *Bacil-*

⁹ Hinweis: Werte von > 100 % ergeben sich, wenn die Ausgangstrübung im Kulturverlauf nicht ansteigt, sondern unter den Anfangswert sinkt. Ursachen können z. B. Ausfällung von Trübstoffen oder Flockenbildung des Prüfkeims sein.

lus subtilis, 140 – 280 mg/L für *E. coli*-Stämme und 140 mg/L für *Stap. aureus*-Stämme. Auch Yoon et al. (2007) fanden für Nano-Ag und Nano-Cu Hemmungen des Bakterienwachstums im vergleichbaren Wertebereich. Nano-Cu scheint damit weniger wirksam zu sein als das geprüfte Nano-CuO.

4.3.2 Mikrotiter-basierte Prüfung der Wachstumshemmung

Der unter 4.3.1 beschriebene Prüfansatz war grundsätzlich geeignet, hemmende Einflüsse von Nanomaterialien auf die Aktivität von Bakterien zu erfassen. Der Arbeitsgang war jedoch sehr arbeitsaufwendig: Jeder Messwert in Abbildung 4.5 repräsentiert die Auswertung eines mehrstündigen Kulturversuches. Um die Untersuchungen auf weitere Prüfkeime, Prüfsubstanzen und Einflüsse durch zusätzliche Medienbestandteile ausdehnen zu können, war es notwendig, die Bearbeitung von Versuchen mit Kulturkolben auf solche mit Mikrotiterplatten umzustellen. Die beimpften Mikrotiterplatten konnten im Reader inkubiert und über einen längeren Zeitraum automatisch vermessen werden. Dadurch reduzierte sich der Bearbeitungsaufwand für eine Untersuchungsreihe um etwa 75 %.

Die Umstellung erforderte methodische Optimierungen. Eine Austrocknung der Flüssigkeitsvolumina konnte durch die Umstellung von 96 well- auf 48 well-Platten mit 500 µL Füllvolumen pro well vermieden werden. Das Schütteln der Mikrotiterplatten, das die Sauerstoffversorgung der Prüfkeime optimieren sollte, bewirkte aus mehreren Gründen Messwertschwankungen: Sedimentierte Prüfsubstanzen wurden ungleichmäßig verlagert. Bei Ansätzen, denen ein lösliches Protein (BSA, Rinderserumalbumin) zugesetzt worden ist, bildeten sich im Kulturverlauf knäuelartige Ausfällungen, die beim Schütteln im Zentrum des jeweiligen wells angereichert und beim Schütteln ungleichmäßig verlagert wurden. Deshalb wurde auf das Schütteln verzichtet, wenn Störungen der Trübungsmessungen zu erwarten waren. Außerdem wirkte sich die bei längeren Kulturzeiten zu beobachtende ausgeprägte Biofilm- und Flockenbildung des Prüfkeims *Bacillus subtilis* DSM 347 störend aus. Der Prüfkeim wurde deshalb durch eine gentechnisch veränderte Variante (*Bacillus subtilis* YC775) ersetzt, bei der ein Gendefekt die Biofilmbildung stark reduzierte. Nach der Überwindung der wichtigsten Störeinflüsse war der Mikrotiterplatten-basierte Wachstumshemmtest gut geeignet, Konzentrationsbereiche mit wachstumshemmender Wirkung für unterschiedliche Prüfsubstanzen zu ermitteln.

Insgesamt wurde in 54 Messreihen untersucht, ab welchen Konzentrationsbereichen Nano-Ag, Nano-CuO und AgPure W5 das Wachstum der drei Prüfkeime (*Bacillus subtilis* YC775, *E. coli* K12, *Pichia pastoris*) hemmen. Zusätzlich wurde untersucht, ob die Dosierung wasserlöslicher Kohlenhydrate (Stärke, Methylcellulose, Cellobiose), Proteine (BSA) und Komposteluate den Wirkungsbereich der Untersuchungssubstanzen beeinflussen. Damit sollte abgeschätzt werden, inwieweit die in Bioabfällen vorkommenden wasserlöslichen Bestandteile mögliche Wirkungen von Nanomaterialien beeinflussen und dieser Effekt bei weiteren Untersuchungen zu beachten ist.

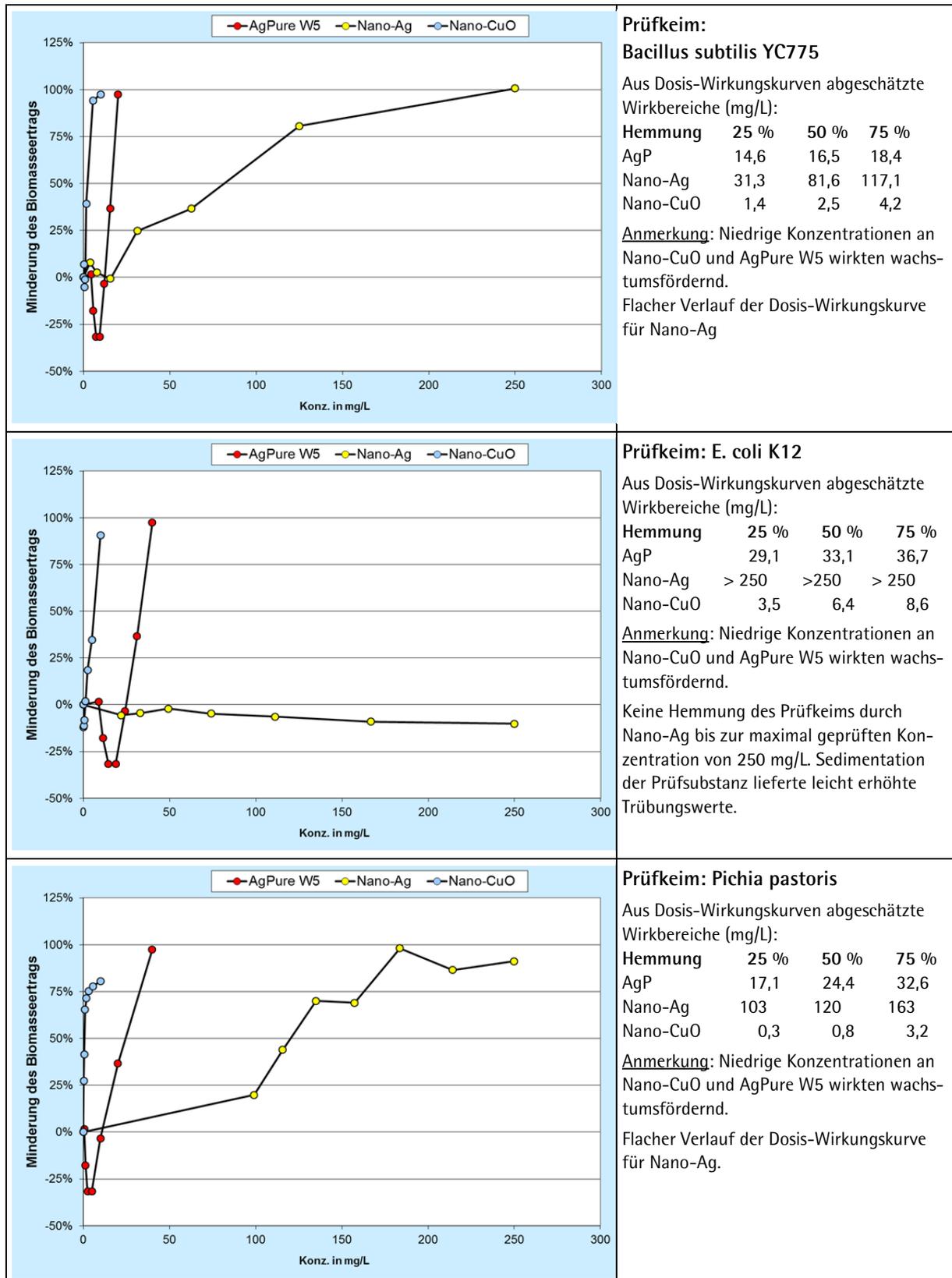


Abbildung 4.6: Ergebnisse der Mikrotiterplatten-basierten Wachstumshemmtests

In Abbildung 4.6 sind die Ergebnisse der Mikrotiterplatten-basierten Hemmtests zusammengestellt: Hierbei wurde das Wachstum der Prüfkeime in Mineralmedium mit Glucose als einziger Kohlenstoffquelle nach Dosierung unterschiedlicher Prüfsubstanzen verfolgt. Messgröße war die Trübung ($OD_{462\text{ nm}}$) des Kulturmediums. Nach Abschluss der Inkubation wurde die Veränderung der Trübung gegenüber dem Ausgangswert berechnet und das Wachstum in Relation zu Ansätzen ohne Wirksubstanzdosierung ermittelt (s. Anhang, 6.2).

Die stärkste antimikrobielle Wirkung wurde für Nano-CuO beobachtet, gefolgt von AgPure W5 und Nano-Ag. Am unempfindlichsten reagierte E. coli auf die Nanomaterialdosierungen. Das Nano-Ag bewirkte bei E. coli selbst bei Konzentrationen von 250 mg/L keine Wachstumshemmung, obwohl sich bei Bacillus bereits ab 31 mg/L eine 25%ige Wachstumshemmung zeigte und die beiden Prüfkeime von dem anderen Nanosilberprodukt (AgPure) im gleichen Konzentrationsbereich (ab 14,6 mg/L) gehemmt wurden. Auch El Badawy et al. (2011) haben beobachtet, dass verschiedene Ag-Nanoprodukte um mehr als Faktor 100 voneinander abweichende antimikrobielle Wirkpotenziale haben. Ein Vergleich der mit Bacillus und Pichia ermittelten Resultate verdeutlicht zudem, dass sich aus dem Ergebnis einer Prüfung mit einem Silberprodukt nicht abschätzen lässt, welcher Prüfkeim empfindlicher auf ein anderes Silberprodukt reagiert: AgPure W5 wirkte stärker auf Pichia hemmend, Nano-Ag hemmte dagegen Bacillus stärker als die Hefe. Diese Ergebnisse dokumentieren, dass die Wirkpotenziale bereits innerhalb einer auf demselben Element (Ag) basierenden Nanomaterialgruppe nicht vorhersehbar sind und es Einzelfallprüfungen für jedes einzelne Nanomaterial-Produkt bedarf.

Ergänzend wurde für die Nanomaterialien AgPure, Nano-Ag und -CuO untersucht, inwieweit typische, wasserlösliche Anteile von Bioabfällen (Stärke, Cellobiose und Methylcellulose als Cellulosederivate, Eiweiß (BSA); Konz.: 500 mg/L¹⁰) bzw. Huminstoff-reiches Komposteluat (wasserlösliche Bestandteile von 100 g Kompost/L Medium) die antimikrobielle Wirkung der Nanomaterialien beeinflussen. Ausgangspunkt für diese Untersuchungen waren Literaturberichte, dass die De-/Agglomeration und Wirksamkeit von Nanopartikeln durch BSA (Kittler et al., 2010), Stärke (MacCuspie, 2011), Cellulosederivate (Zhang et al., 2010) und huminstoffreiche Fraktionen (Stankus et al., 2011) beeinflusst werden können.

In Abbildung 4.7 - Abbildung 4.9 sind die ermittelten Ergebnisse zusammengefasst. Dargestellt sind jene Konzentrationsbereiche, bei denen eine Hemmung des Wachstums der Prüfkeime um 25 – 75 % beobachtet wurde. Der Querstrich innerhalb der Balken markiert den Konzentrationswert, bei dem eine Hemmung des Wachstums um 50 % beobachtet wurde. Insgesamt ergaben sich für die Kombinationen aus Prüfkeimen, Substratzusätzen und Nanomaterialien ganz unterschiedliche Auswirkungen. Bei einigen Kombinationen wurden keine Auswirkungen auf die antimikrobielle Wirkung des geprüften Nanomaterials beobachtet. Einige Kombinationen verstärkten die Wirkung des Nanomaterials z. T. deutlich, andere Kombinationen schwächten die antimikrobielle Wirkung des geprüften Nanomaterials. Der Zusatz von Komposteluat verstärkte die antimikrobielle Wirkung von AgPure auf alle 3 Prüfkeime. Die Wirkung von Nano-Ag auf Bacillus wurde durch das Komposteluat dagegen abgeschwächt; die Wirkung von Nano-Ag auf E. coli und Pichia wurde durch den Zusatz von Komposteluat nicht verändert.

¹⁰ Cellobiose: 98 %; Alfa Aesar, A14553 / Methylcellulose: C. Roth, 8421.1 / Stärke: reinst, Merck, 12530500 / BSA: > 96 %, Fluka, 5480

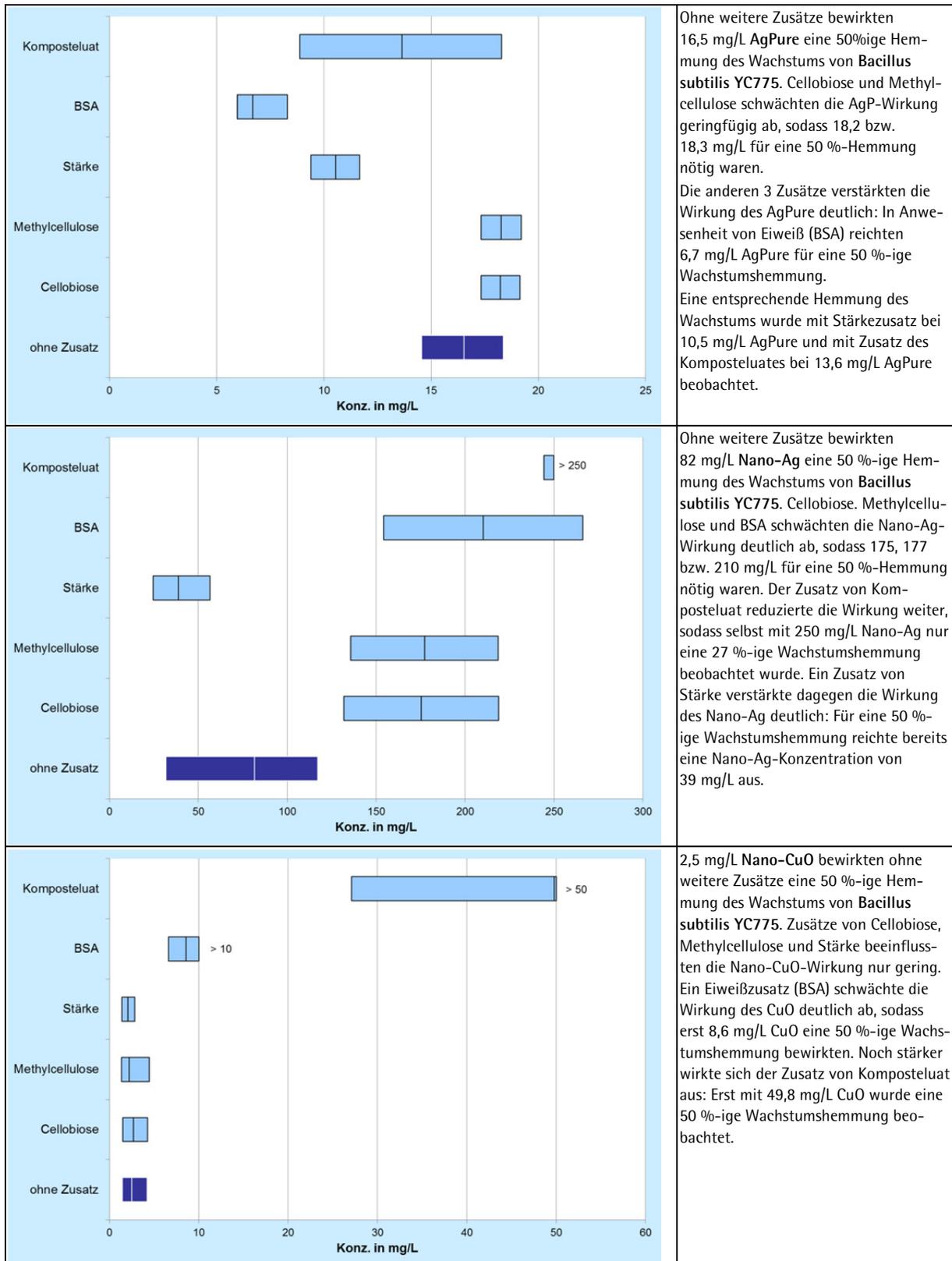


Abbildung 4.7: Einflüsse wasserlöslicher Bioabfallbestandteile auf die Hemmung des Wachstums von *Bacillus subtilis* durch AgPure W5 (oben), Nano-Ag (Mitte) und Nano-CuO (unten)

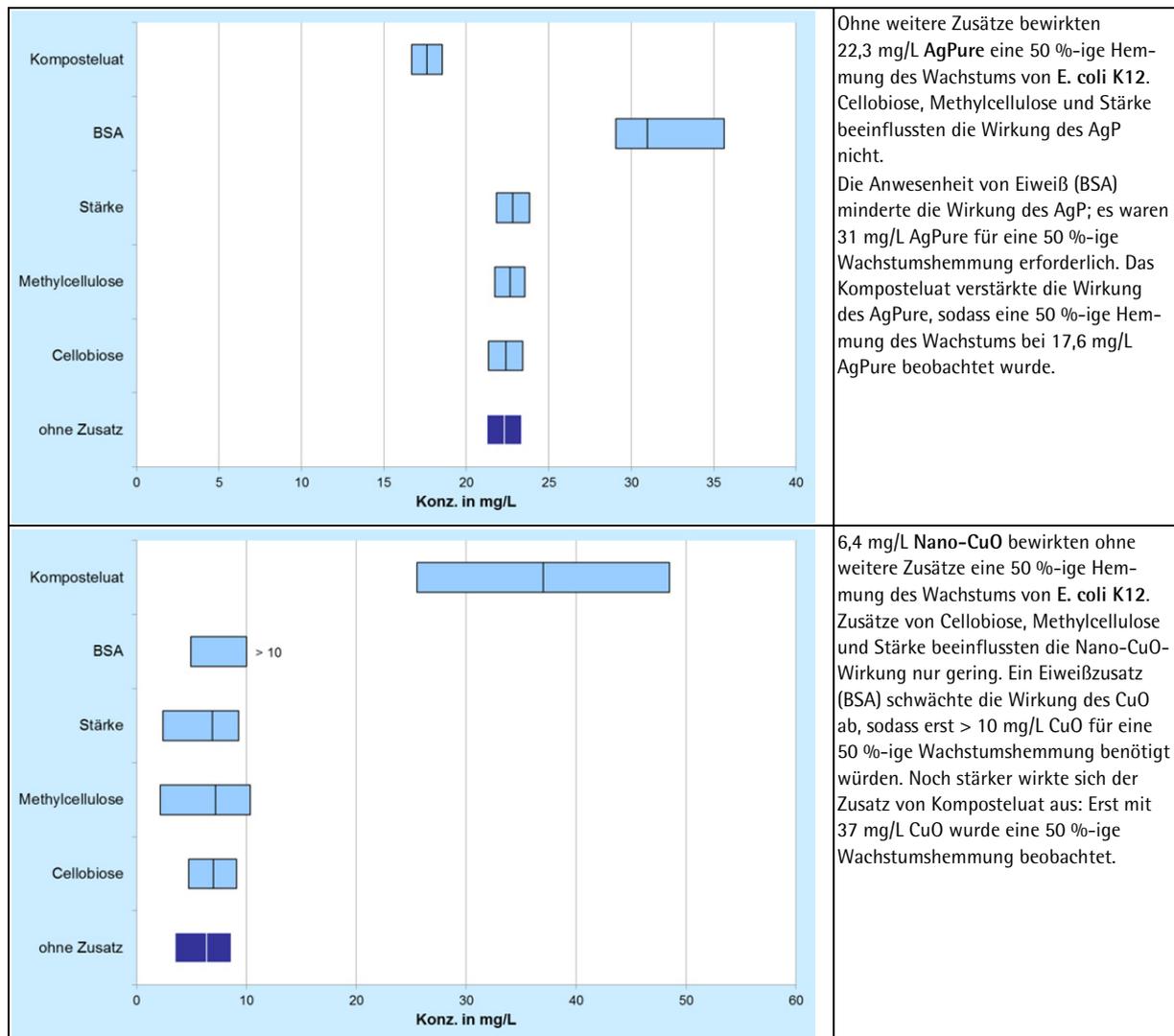


Abbildung 4.8: Einflüsse wasserlöslicher Bioabfallbestandteile auf die Hemmung des Wachstums von *E. coli* K12 durch AgPure W5 (oben) und Nano-CuO (unten)

Die antimikrobielle Wirkung von Nano-CuO war durch den Zusatz von Komposteluat jedoch mit allen 3 Prüfkeimen deutlich abgeschwächt. Offenbar verändern die verschiedenen Zusätze in Wechselwirkung mit den Aktivitäten der Prüfkeime (vergl. hierzu Xiu et al., 2011) das Milieu des Prüfmediums in komplexer Weise, sodass sich die Auswirkungen nur in Einzelfallprüfungen ermitteln lassen. Insbesondere die mit dem Zusatz von Kompost-Eluat ermittelten Ergebnisse waren für die nachfolgenden Arbeiten hilfreich. Mit ihnen wurde der Einfluss auf biologische Abbauprodukte in komplex zusammengesetzten Komposten und Faulschlamm untersucht. Auf Basis der Ergebnisse war es möglich, die für die Prüfungen notwendigen Konzentrationen der zu prüfenden Nanomaterialien abzuschätzen.

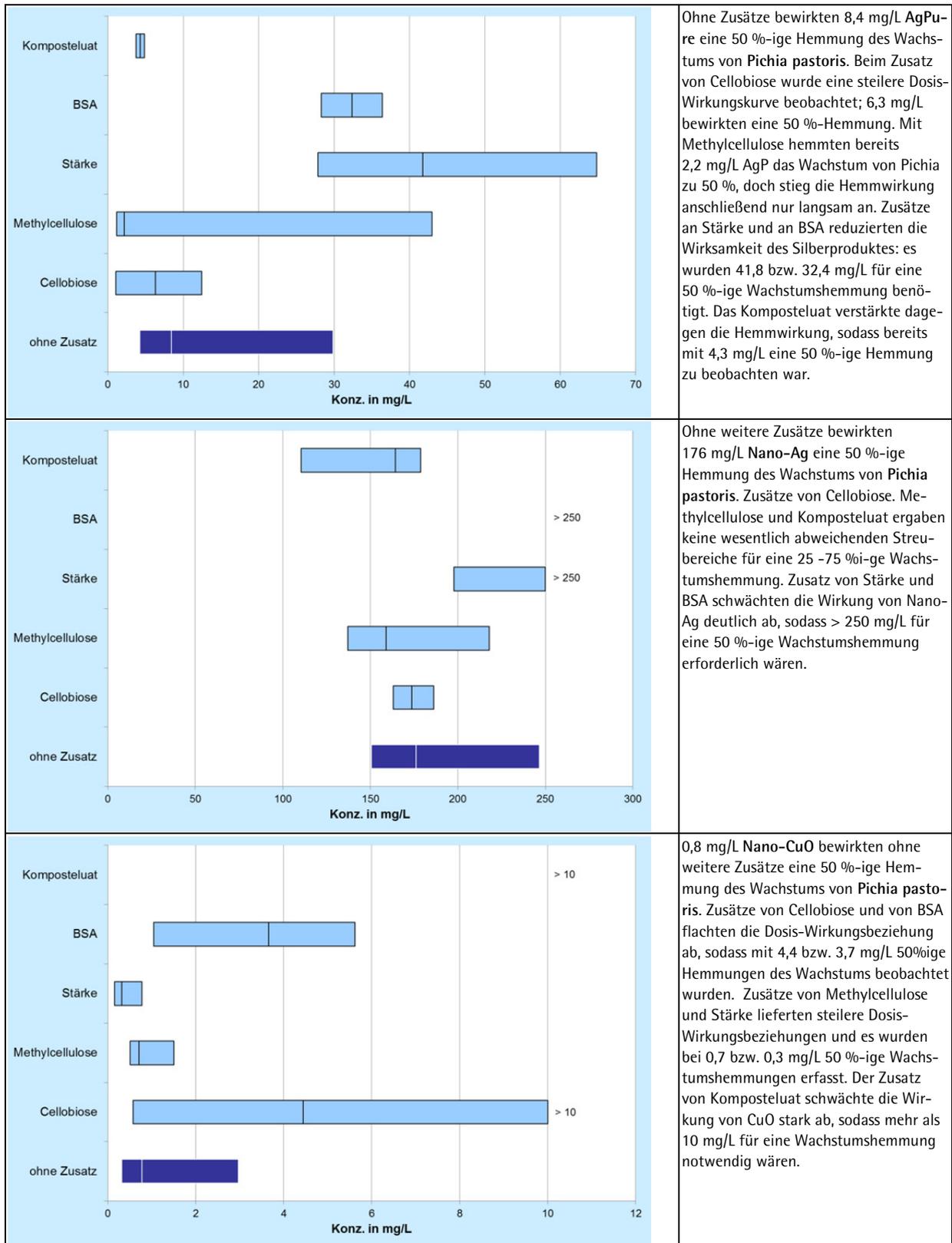


Abbildung 4.9: Einflüsse wasserlöslicher Bioabfallbestandteile auf die Hemmung des Wachstums von *Pichia pastoris* durch AgPure W5 (oben), Nano-Ag (Mitte) und Nano-CuO (unten)

4.4 Einfluss auf die Atmungsaktivität von Bioabfallkompost

4.4.1 Voruntersuchungen

Im Rahmen einer Diplomarbeit wurden einige Voruntersuchungen durchgeführt (Federspiel, 2012), mit denen Erfahrungswerte für Prüfungen zum Einfluss von Nanomaterialien auf die Atmungsaktivität von Bioabfallkompost erarbeitet wurden.

Zunächst wurde geprüft, welche Prüfmaterial-Dosierungen eine Hemmung des Wachstums der in Bioabfallkompost vorkommenden Keime bewirken. Hierzu wurde ein Mineralmedium⁸ mit unterschiedlichen Nanomaterialeinwaagen versetzt und anschließend mit geringen Mengen Bioabfallkompost (0,5 g Kompost-TS/L) beimpft. Ausgewertet wurde die durch Mikroorganismenwachstum verursachte Trübung des Kulturmediums. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst; ergänzende Details enthält der Anhang (Abschnitt 6.3.1). In Übereinstimmung mit den unter 4.3.2 beschriebenen Ergebnissen war die antimikrobielle Wirkung von AgPure W5 im Kompost-haltigen Mineralmedium besonders stark ausgeprägt. Aus den vorangegangenen Untersuchungen war zudem zu erwarten, dass Kompostinhaltsstoffe die antimikrobielle Wirkung von Nano-CuO reduzieren, sodass dieses Produkt nunmehr weniger wirksam war als das AgPure W5. Eine wachstumshemmende Wirkung auf die Kompost-Mikroorganismen wurde zudem bei höheren Dosierungen von Nano-ZnO, -MgO und MWCNT ermittelt. Zu Vergleichszwecken wurde außerdem eine Mischung verschiedener Antibiotika geprüft, die einzeln als Zusätze in Kulturmedien verwendet werden, wenn das Wachstum von Bakterien (Chloramphenicol) oder Pilzen (Nystatin, Actidion) unterdrückt werden soll.

Tabelle 4.2: Ergebnisse des Screenings von Federspiel (2012) zur antimikrobiellen Wirkung ausgewählter Nanomaterialien: links: Hemmung des Wachstums von Keimen in Kompost-Eluat-Mineralmedium; rechts: Hemmung der Atmungsaktivität von Bioabfallkompost

Eluat-Prüfung (mg/L)	Keine Hemmung	Hemmung vorhanden	Kompost-Prüf. (mg/g TS)	Keine Hemmung	Hemmung vorhanden
Antibiotika-Mix*	39,5	59,3	Antibiotika-Mix*	0,31	0,85
AgPure Ag	0,13	0,20	AgPure Ag	0,025	0,050
Nano-Ag	73,3	110	Nano-Ag	0,060	0,130
Nano-CuO	3,1	6,3	Nano-CuO	1,0	2,0
Nano-ZnO	444	667	Nano-ZnO	4,0	8,0
Nano-MgO	296	444	Nano-MgO	2,0	4,0
Nano-TiO ₂	1.000	--	Nano-TiO ₂	8,0	--
MWCNT	98,8	148	MWCNT	8,0	--

* Wirkstoffmenge aus einer Lösung mit 100 mg/L Chloramphenicol, 50 mg/L Nystatin und 25 mg/L Actidion

Die Ergebnisse der Untersuchungen mit den Nanomaterialien enthaltenden Mineralmedium-Ansätzen sollten dazu dienen, den Konzentrationsbereich abzuschätzen, mit dem auch in Komposten eine hemmende Wirkung beobachtet werden kann. Hierzu wurde angenommen, dass die Nanomaterialien auf die im Feststoffanteil des Bioabfallkompostes enthaltenen Mikroorganismen einwirken. Falls keine weiteren Einflussfaktoren zu beachten gewesen wären, hätte eine Abschätzung der auf die Trockensubstanz bezogenen Nanomaterialdosierungen Aussagen ermöglichen können, ab welcher Nanomaterial-

Dosierung mit einer weitreichenden Hemmung der Kompost-Atmung zu rechnen ist¹¹. Bei den Wachstumshemmtests sind Konzentrationen ermittelt worden, bei denen das Wachstum vollständig unterblieb. Deshalb waren Hemmungen der Atmungsaktivität bereits bei deutlich niedrigeren Konzentrationen zu erwarten.

Es zeigte sich aber, dass die Übertragung der Prüfbedingungen im wässrigen Milieu auf Prüfungen im Kompostmilieu aufwendiger war, als erwartet. Auch mit deutlich erhöhten Dosen an Nanomaterialien wurden zunächst nur inkonsistente Resultate erzielt. Als Ursache wurde eine unzureichende Homogenität des Nanomaterialeintrags in die Kompostmatrix ermittelt. Deshalb wurde ein Arbeitsgang entwickelt, mit dem die Untersuchungssubstanzen homogen in den Kompost eingetragen werden konnten. Gallenkemper et al. (1993) haben hohe Atmungsaktivitäten bei rotteaktiven Komposten beobachtet, wenn der Wassergehalt der Komposte Werte von 60 – 80 % der maximalen Wasserhaltekapazität erreichte; eigene Untersuchungen bestätigten dies (Anhang, Abbildung 6.12). Der im Rahmen des Projektes verwendete Bioabfallkompost hatte ein maximales Wasserhaltevermögen von 1,22 g H₂O/g TS. Optimale Atmungsaktivitäten waren demnach zu erwarten, wenn die verwendeten Komposte Wassergehalte zwischen 42,3 – 49,4 % aufwiesen. Der auf < 5 mm abgeseibte Kompost hatte bereits einen für Atmungsaktivitätsmessungen optimalen Ausgangswassergehalt von 42,3 %. Somit war nach der Dosierung einer Nanomaterialsuspension eine Rücktrocknung notwendig und es bot sich an, für den homogenen Eintrag der Nanomaterialien eine vergleichsweise große Wassermenge zu nutzen: Zu 25 g Frischsubstanz des Kompostes wurden 11 mL Suspension der Prüfsubstanz dosiert und durch Rühren homogen im Kompost verteilt. Anschließend wurde der angefeuchtete Kompost (Wassergehalt: 60 %) bei Raumtemperatur innerhalb von 2 – 3 Tagen unter regelmäßigem Rühren auf einen Wassergehalt von 46,6 % rückgetrocknet. Der Wassergehalt des vorbereiteten Komposts lag dann bei einem Wert von 71 % der maximalen Wasserhaltekapazität. Durch diesen Arbeitsgang war es möglich, die Nanomaterialien homogen in den Kompost einzutragen und günstige Rahmenbedingungen für hohe Atmungsaktivitäten zu schaffen.

In einem orientierenden Screening wurden mit Nanomaterial dotierte Komposte in OxiTop-Ansätze (WTW) eingebracht, bei denen die mikrobielle Sauerstoffzehrung über eine Änderung des Luftdrucks ausgewertet wird. In Tabelle 4.2 sind die Konzentrationsbereiche aufgeführt, bei denen die verschiedenen Nanomaterialien eine Minderung der Sauerstoffzehrung auf ≤ 90 % des Wertes der Kontrollprobe ohne Nanomaterialeintrag bewirkten. Erwartungsgemäß wurden Hemmungen der Kompostatmung bereits bei wesentlich niedrigeren Konzentrationen beobachtet, als für eine vollständige Wachstumshemmung erforderlich waren. Besonders deutlich wird dies, wenn die im Wachstumshemmtest ermittelten Konzentrationen auf die Einwaage an Kompost-TS bezogen werden: Für eine Wachstumshemmung wurden pro g TS Kompost 118,6 mg Antibiotika-Wirkstoff, 0,4 mg AgPure-Ag, 220 mg Nano-Ag, 12,6 mg Nano-CuO, 1.334 mg Nano-ZnO, 888 mg Nano-MgO und 296 mg MWCNT benötigt. Für eine 10%ige Hemmung der Kompostatmung reichten bereits Dosierungen von 0,85 mg Antibiotika-Wirkstoff, 0,05 mg AgPure-Ag, 0,13 mg Nano-Ag; 2 mg Nano-CuO, 8 mg Nano-ZnO und 4 mg Nano-MgO pro g Kompost-TS aus. Bei diesem Vergleich fällt auf, dass die Konzentrationsspanne für eine 10%ige Atmungshemmung und eine Wachstumshemmung bei Nano-Ag einen Faktor von 1.692 erreichte. Bei den Antibiotika lag der Faktor bei 140, bei Nano-ZnO bei 167 und bei Nano-MgO bei 222. Sehr klein waren diese Konzentrationsbereiche dagegen bei AgPure (Faktor: 8,0) und Nano-CuO (Fak-

¹¹ Rechenbeispiel: Tabelle 4.2 ist zu entnehmen, dass 59,3 mg/L Antibiotika-Wirkstoffe das Wachstum von Kompost-Mikroorganismen hemmen. Die Komposteinwaage lag bei 0,5 g Kompost-TS/L. Bezogen auf die TS-Einwaage wirkte damit eine Dosis von 118,6 mg Antibiotika pro g TS wachstumshemmend.

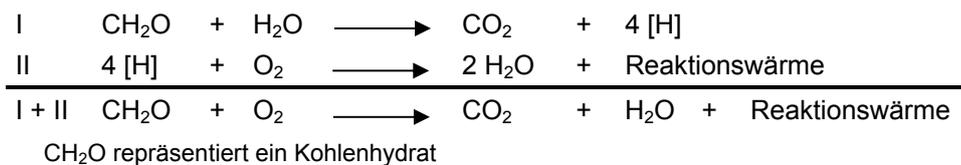
tor: 6,3). Diese Daten deuten auf einen sehr steilen Verlauf der Dosis-Wirkungsbeziehungen von AgPure und Nano-CuO im Kompost-Milieu hin.

4.4.2 Respirometrische Untersuchungen

Mithilfe der beim Screening ermittelten Abschätzungen wurden umfassendere Prüfungen der Einflüsse von Nanomaterial-Dotierungen auf die Atmungsvorgänge von Bioabfallkomposten durchgeführt. Zum Einsatz kam ein Forschungsrespirometer (Typ „Respiration Monitor“ von BioMetricSystems), mit dem die Gasumsätze (O_2 -Zehrung, CO_2 -Bildung) auch bei geringen Atmungsaktivitäten reproduzierbar bestimmt werden können.

4.4.2.1 Messprinzip der Respirometrie

Im Kompost laufen zahlreiche Stoffwechselprozesse ab, die eine Sauerstoffzehrung zur Folge haben. Hierzu gehören vor allem die Tätigkeiten der aeroben chemoorganoheterotrophen Lebewesen (vor allem Pilze und viele Bakterien). Diese oxidieren organische Substanzen und bilden als Endprodukte Kohlendioxid, Wasser sowie andere mineralische Produkte. Beispielhaft kann dies durch folgende Reaktionsgleichung veranschaulicht werden:



Der Vergleich der Atmungsaktivität im Kompost – gemessen als spezifischer Stoffumsatz an Sauerstoff bzw. Kohlendioxid – mit und ohne Dosierung von Testsubstanzen – gibt somit summarisch Aufschluss darüber, ob die dosierten Testsubstanzen den Atmungsstoffwechsel von Lebewesen im Kompost beeinflussen.

Das Messprinzip zur Bestimmung der Atmungsaktivität zeigt schematisch Abbildung 4.10: Der „Respiration Monitor“ kann die Atmungsaktivität in bis zu 10 Kulturgefäßen quasikontinuierlich überwachen. Dabei wird folgendes Programm abgearbeitet:

- Messzyklus: Ausblasen eines Kulturgefäßes und Detektion der Konzentrationsänderungen an Sauerstoff und Kohlendioxid im Abluftstrom.
- Pause: Spülen der Sensoren mit Referenzluft.
- Nächster Messzyklus ...

Zum Einsatz kamen Kulturgefäße mit 100 mL Nennvolumen (Schott Duran), in die jeweils 12,5 g Kompost-Frischmasse gefüllt wurden. Die spezifische Atmungsrate wurde über ≥ 5 Tage bei 25 °C verfolgt.

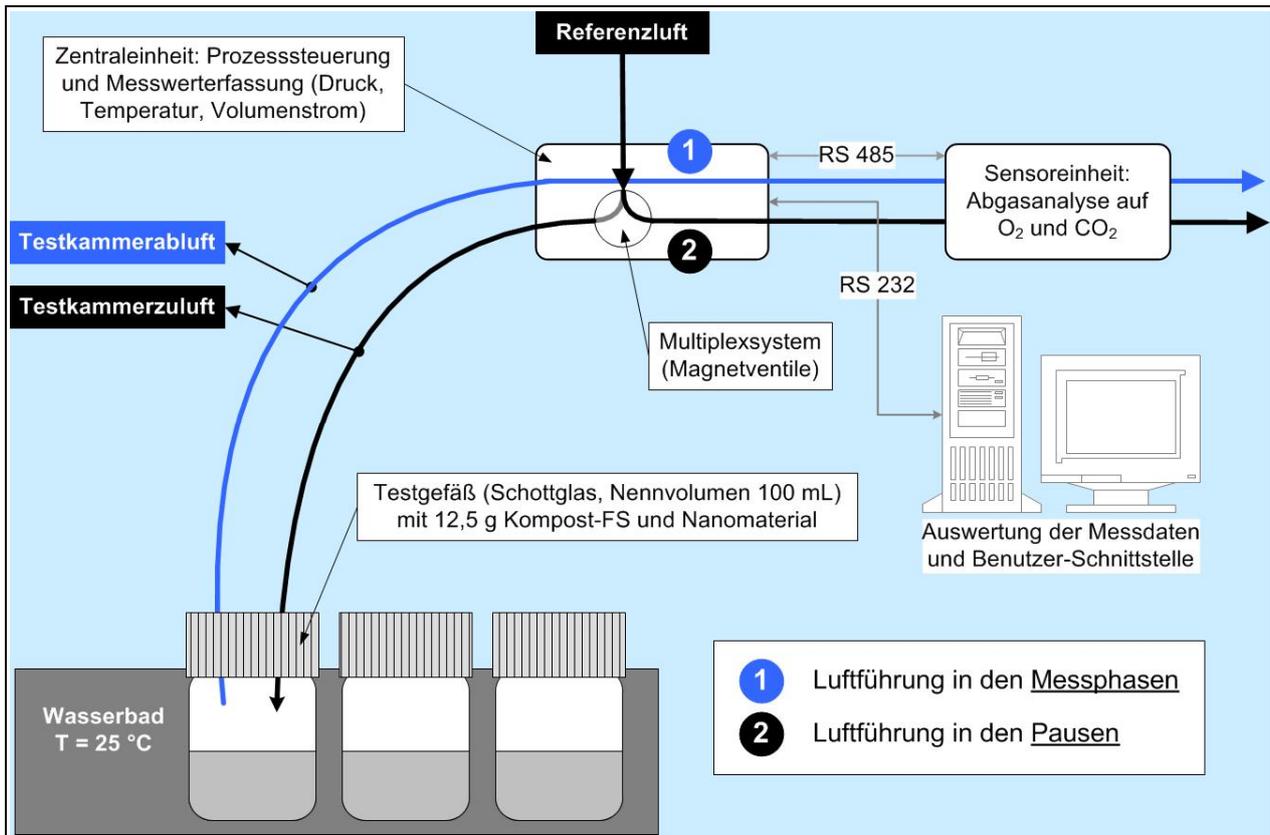


Abbildung 4.10: Schema der Respirometer-Messung

Zunächst wurden die Einflüsse von Nanomaterial-Dotierungen auf die Basis-Atmung von Bioabfallkomposten untersucht. Zusätzlich wurden Bioabfallkomposte mit einem leicht bioabbaubaren Substrat versetzt und der Einfluss der Nanomaterial-Dosierung auf die Substrat-induzierte Atmung der Komposte verfolgt. Während die Basis-Atmung die Einflüsse auf Fertigkomposte aufzeigt, repräsentiert die Substrat-induzierte Atmung die Verhältnisse während der aktiven Rottephase. Vorversuche ergaben, dass die Basis-Atmung von Bioabfallkompost besonders stark durch die Dosierung von Cellobiose und das Protein BSA stimuliert wurde (s. Anhang, 6.3.3.1). Der Cellobiose-Abbau begann ohne lag-Phase und verlief sehr rasch. Der BSA-Abbau setzte dagegen langsamer ein, war aber trotzdem nach wenigen Tagen abgeschlossen. Für die Versuche zur Substrat-induzierten Atmung eignete sich deshalb BSA besser: Da die Versuchsansätze im Respirometer bei jedem Messzyklus nacheinander vermessen werden, hätten bei der Nutzung sehr schnell abbaubarer Substrate messtechnisch bedingte Unterschiede innerhalb des etwa 2,25 h dauernden Messzyklus auftreten können.

Abbildung 4.11 und Abbildung 4.12 zeigen am Beispiel von Nano-ZnO, dass sich steigende Dosierungen von Nano-ZnO sowohl auf die Basisatmung als auch auf die Substrat-induzierte Atmung des Kompostes hemmend auswirkten.

Jeder Punkt in Abbildung 4.11 und Abbildung 4.12 repräsentiert das Resultat aus einem Messzyklus der respirometrischen Messung. Die Basisatmung der Komposte lag auf einem niedrigen Niveau: Innerhalb von 4 Tagen verbrauchte der Kompost ohne weitere Zudosierung 9,5 mg O₂/g oTS Kompostmasse. Dieser Wert liegt im Bereich typischer Fertigkomposte mit einem Rottegrad V.

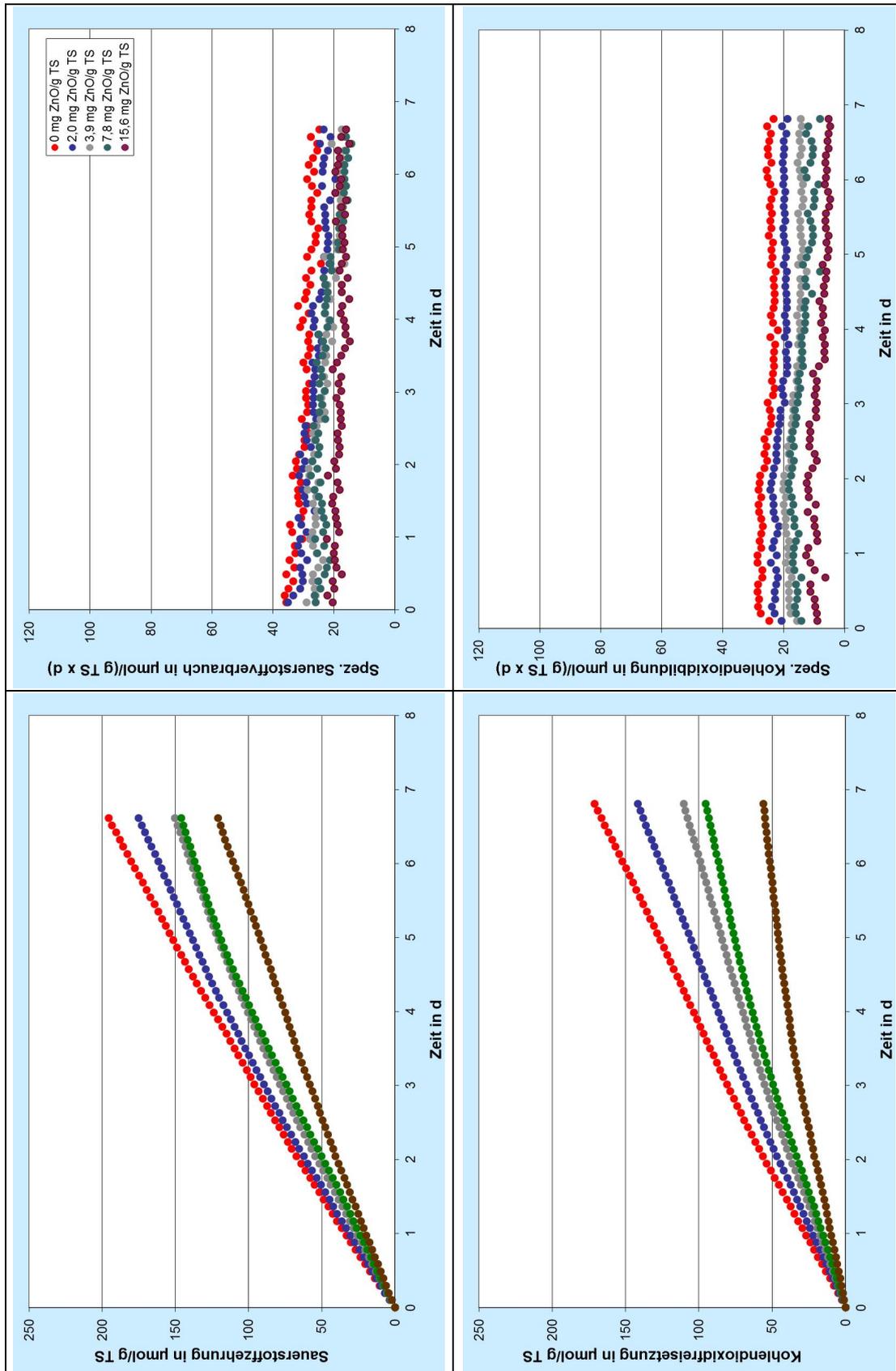


Abbildung 4.11: Basisatmung von Kompost nach Dosierung von Nano-ZnO; Summenkurven der Sauerstoffzehrung (oben links) und der Kohlendioxidbildung (oben rechts) sowie zugehörige spezifische Umsatzraten (unten links)

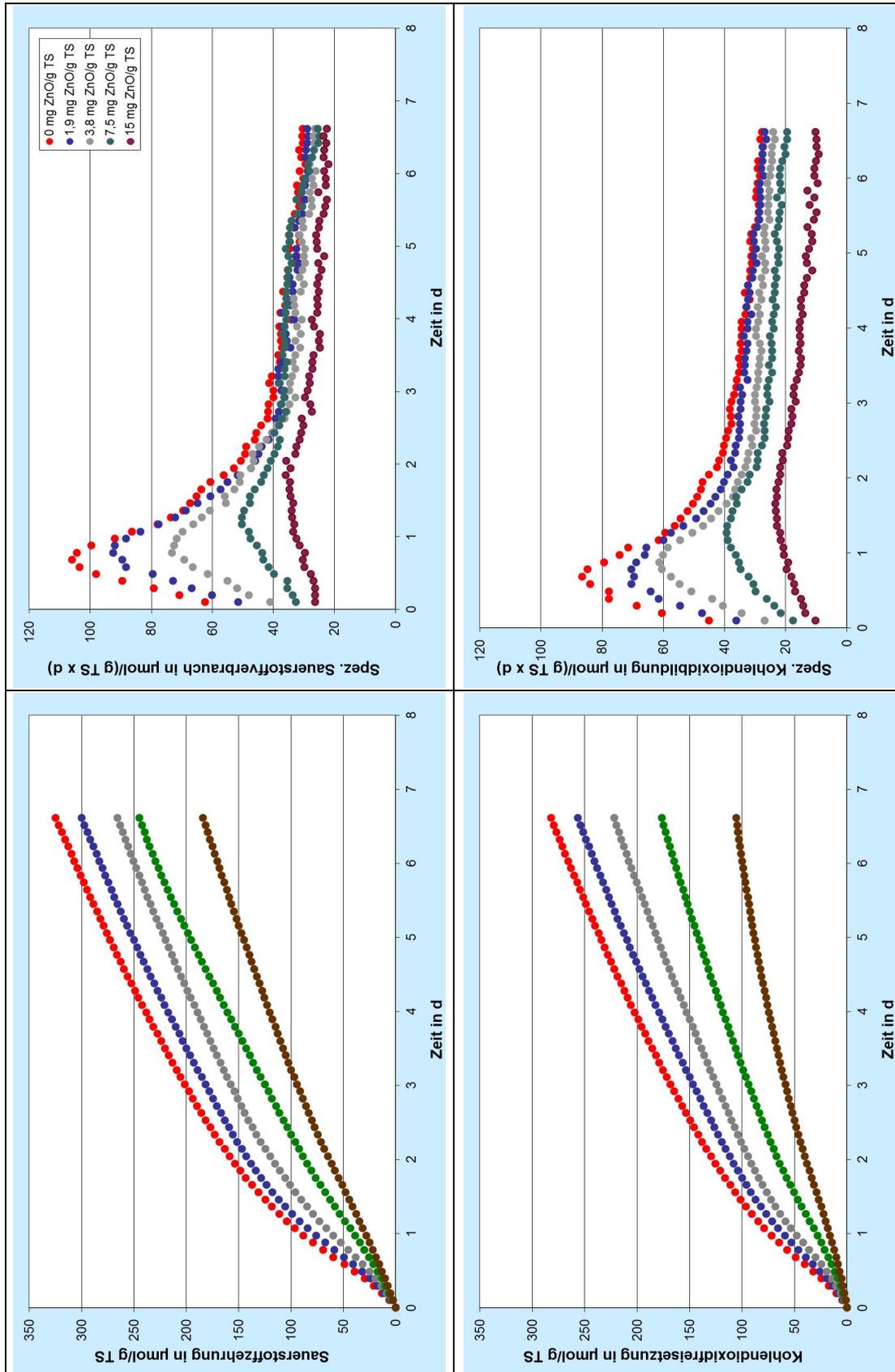


Abbildung 4.12: Substrat-induzierte Atmung von Kompost nach Dosierung von Nano-ZnO; Summenkurven der Sauerstoffzehrung (oben links) und der Kohlendioxidbildung (unten links) sowie zugehörige spezifische Umsatzraten

Die Atmungsraten blieben bei den Messungen der Basisatmung über den Untersuchungszeitraum nahezu unverändert. Der Kompost, dem das Substrat BSA zugesetzt worden ist, zeigte anfangs höhere Atmungsraten. Nach dem biologischen Abbau des BSA fielen die Atmungsraten auf das Niveau der Basisatmung ab. Mit BSA-Zusatz verbrauchte der Kompost innerhalb von 4 Tagen 18,2 mg O₂/g oTS.

Zur Auswertung der Einflüsse der zum Kompost dosierten Hemmstoffe wurden die innerhalb von 5 Tagen beobachteten Verbräuche an Sauerstoff und die Freisetzungen an Kohlendioxid der Untersuchungsansätze in Relation zum Gasstoffwechsel der nicht-dotierten Komposte ausgewertet. In den nachfolgenden grafischen Darstellungen wurden prozentuale Hemmwerte gegen die dosierten Mengen an Prüfsubstanzen aufgetragen.

4.4.2.2 Hemmung der Kompostatmung durch wasserlösliche Stoffe

In der Literatur finden sich nur sehr wenige Hinweise zu Störungen der Kompostierung durch den Eintrag von Hemmstoffen. Deshalb wurden zur Erprobung des Untersuchungsansatzes zunächst 3 Stoffe mit hohem ökotoxikologischem Wirkpotenzial¹² respirometrisch untersucht. Die Ergebnisse dienten zudem als Referenzwerte für die vergleichende Bewertung der Wirkpotenziale der untersuchten Nanomaterialien. Zum Einsatz kamen neben Ag-Nitrat, Cu(II)-Chlorid und ein vielfach genutzter, gut wasserlöslicher Biozidwirkstoff (Natriumpyrithion, wirksamer Bestandteil des Produktes Afrotin LC).

Abbildung 4.13 verdeutlicht, dass die Basisatmung des Kompostes durch die 3 Substanzen stark beeinträchtigt wurde. Die Sauerstoffzehrung und die korrespondierende Freisetzung von Kohlendioxid ergaben nahezu übereinstimmende prozentuale Hemmwerte. Für die nachfolgenden Aussagen wurden jene Substanzdosierungen betrachtet, bei denen eine Hemmung von > 10 % bei einem Parameter überschritten wurde. Bei einer Ag-Nitrat-Dosierung von 0,05 mg/g TS wurde die Sauerstoffzehrung des Kompostes um 35,8 % und die Kohlendioxidbildung um 37,4 % reduziert. Bei der Dosis des Biozidwirkstoffes Na-Pyrithion von 0,39 mg/g TS wurde der Gasstoffwechsel um 10,4 % (O₂-Zehrung) bzw. um 9,1 % (CO₂-Bildung) gehemmt. Die Dosis-Wirkungskurve für Cu(II)-Chlorid hatte einen flacheren Verlauf. Bei einer Dosierung von 4,4 mg/g TS wurde die Sauerstoffzehrung zu 25,8 % und die Kohlendioxidbildung zu 29,6 % gehemmt.

Insgesamt wurden hemmende Wirkungen jedoch erst bei vergleichsweise hohen Dosierungen beobachtet. Gemäß Bioabfallverordnung sind beispielsweise die Kupfergehalte von Komposten auf 70 – 100 mg/kg TS begrenzt. Eine durch Cu(II)-Chlorid verursachte Hemmwirkung von > 10 % wurde bei einer Cu-Dosierung von 2.100 mg Cu/kg TS ermittelt. Für Ag und Na-Pyrithion gibt es keine Schadstoffgrenzwerte in der Bioabfallverordnung.

¹² vergl. GESTIS-Stoffdatenbank: LC₅₀ Fisch (96h): Ag-Nitrat: 0,0109 mg/L (Median); Na-Pyrithion: 0,167 mg/L (Median); Cu(II)-Chlorid: 0,0718 mg/L (Median)

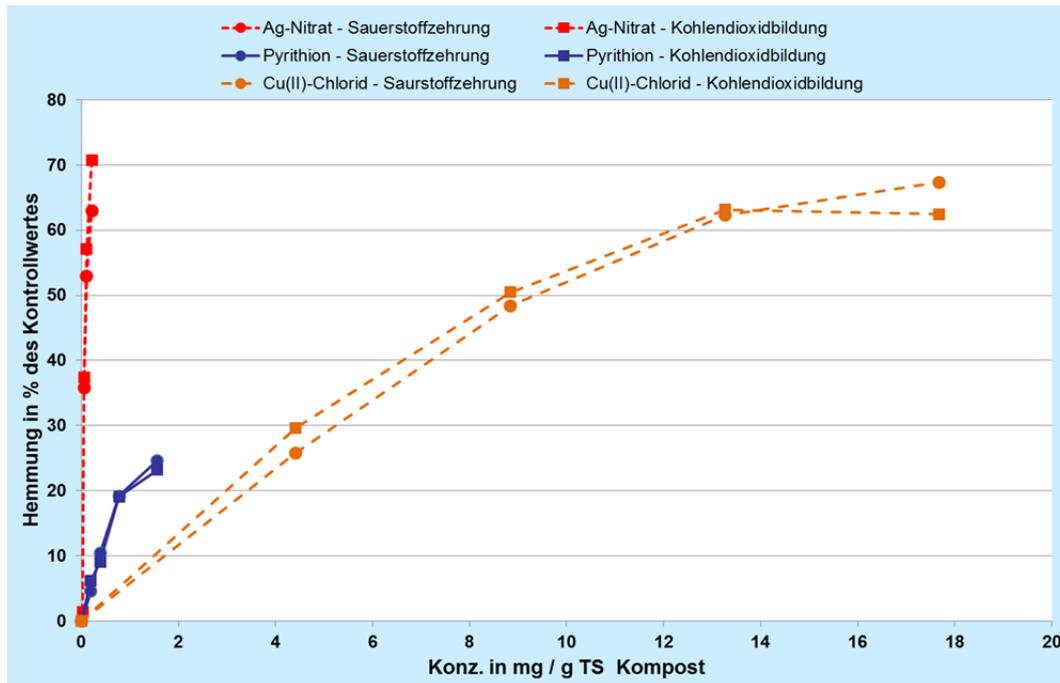


Abbildung 4.13: Hemmung der Basisatmung von Bioabfallkompost durch Ag-Nitrat, Natriumpyriithion und Cu(II)-Chlorid

4.4.2.3 Hemmung der Kompostatmung durch Ag-Nanopartikel

Zwei verschiedene Nanomaterialien auf Silberbasis wurden auf ihre hemmende Wirkung auf Kompost überprüft. Beim Nano-Ag handelte es sich um eine Suspension von Silbernanopartikeln in Reinstwasser. Das Produkt AgPure W5 wird chemisch hergestellt und stabilisiert: Es enthält neben den Ag-Nanopartikeln weitere unbekannte Inhaltsstoffe.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Abbildung 4.14 zusammengefasst. Die Sauerstoffzehrung und die Kohlendioxidbildung wurden durch steigende Dosierungen der beiden Silberprodukte weitgehend gleich stark beeinflusst. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass die Effekte auf eine Hemmung der Kompostatmung zurückzuführen sind und nicht durch abiotische Wechselwirkungen der Prüfsubstanzen mit Luftsauerstoff und/oder Kohlendioxid verursacht wurden (vergl. 4.4.2.4 - 4.4.2.6).

Die niedrigsten Dosierungen, bei denen eine Hemmung der Basisatmung des Kompostes von > 10 % beobachtet wurde, traten mit AgPure bei einer Ag-Dosis von 0,08 mg/g TS auf; die Sauerstoffzehrung wurde um 14,1 % und die Kohlendioxidbildung um 13,9 % reduziert. Das Nano-Ag wirkte auf die Basisatmung bei einer Dosierung von 0,07 mg Ag/g TS noch etwas stärker hemmend; die Sauerstoffzehrung wurde um 23,7 % und die Kohlendioxidbildung um 18,0 % reduziert. Im Vergleich dazu hatte eine Ag-Nitrat-Dosierung von 0,05 mg/g TS die Sauerstoffzehrung des Kompostes um 35,8 % und die Kohlendioxidbildung um 37,4 % reduziert (s. 4.4.2.2).

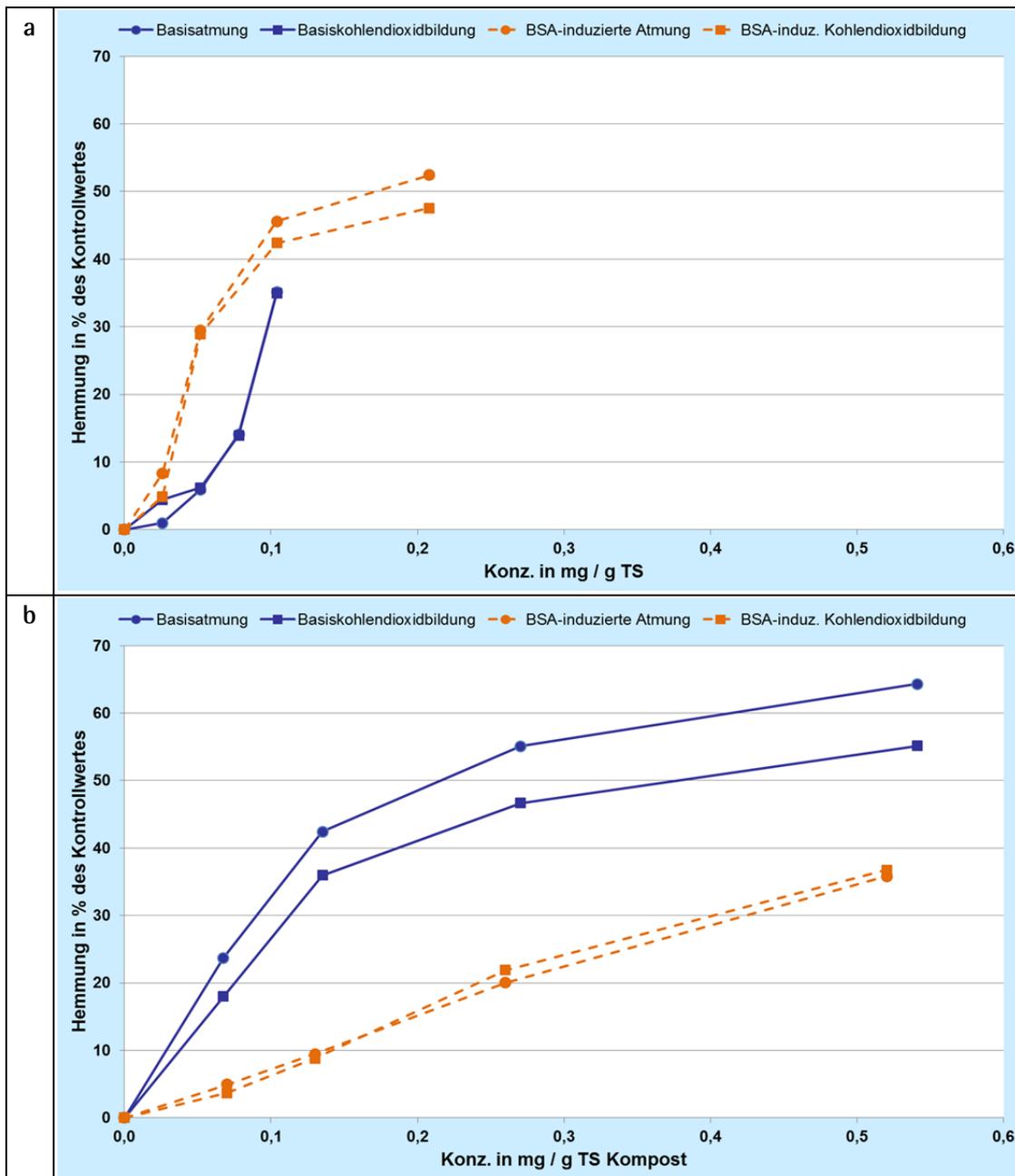


Abbildung 4.14: Hemmung der Basisatmung und der Substrat-induzierten Atmung von Bioabfallkompost durch AgPure W5 (a) und Nano-Ag (b)

Die durch BSA-Zugabe induzierte Atmung wirkte sich auf die Hemmwirkung der beiden Silberprodukte unterschiedlich aus. Beim AgPure wurde eine stärkere Hemmwirkung beobachtet: Bei einer Ag-Dosis von 0,05 mg/g TS wurde die Sauerstoffzehrung um 29,5 % und die Kohlendioxidbildung um 28,9 % reduziert.

Die Wirkung des Nano-Ag wurde dagegen abgeschwächt: Erst bei einer Dosierung von 0,26 mg Nano-Ag/g TS wurde die Sauerstoffzehrung um 20,0 %, die Kohlendioxidbildung um 21,9 % gehemmt. Bereits bei den unter 4.3.2 beschriebenen Ergebnissen war ermittelt worden, dass BSA die Hemmwirkung von AgPure und Nano-Ag auf 3 Prüfkeime unterschiedlich beeinflusst: Eine BSA-Dosierung schwächte

bei den Untersuchungen nur die Wirkung von AgPure auf Bacillus ab; die anderen beiden Prüfkeime wurden durch AgPure in Anwesenheit von BSA stärker gehemmt. BSA verstärkte die Hemmwirkung von Nano-Ag auf Bacillus und die Hefe Pichia. Im Kompost schwächte BSA dagegen die hemmende Wirkung von Nano-Ag ab. Der Prüfkeim E. coli wurde selbst durch hohe Nano-Ag-Konzentrationen nicht gehemmt. Eine mögliche Erklärung wäre somit, dass die BSA-Dosierung die hemmende Wirkung des Ag auf grampositive Bakterien und Hefen verstärkt. Dadurch verbessert sich die Wachstumschance für gramnegative Bakterien, die dann überwiegend den Gasstoffwechsel katalysieren, ohne durch Nano-Ag gehemmt zu werden. Entsprechende Verschiebungen der Zusammensetzung mikrobieller Mischkulturen des Kompostes könnten durch molekulare Analysen der Mikroflora verifiziert werden.

Bemerkenswerterweise flachen sich die Steigungen der Dosis-Wirkungskurven in Abbildung 4.14 mit ansteigenden Dosierungen deutlich ab. Eine mögliche Erklärung könnte wiederum sein, dass die Ag-Produkte nur einen Teil der Kompost-Mikroflora hemmen und der Gasstoffwechsel bei hohen Ag-Dosierungen durch Ag-tolerante bzw. Ag-resistente Mikroorganismen aufrechterhalten bleibt (Gupta, et al., 2001; Lima e Silva et al., 2012).

4.4.2.4 Hemmung der Kompostatmung durch CuO-Nanopartikel

Komposte wurden mit CuO-Nanopartikeln versetzt, die zuvor in Reinstwasser suspendiert worden sind. Die Auswirkungen auf die Basis-Atmung und die BSA-induzierte Atmung der Komposte sind in Abbildung 4.15 zusammengefasst.

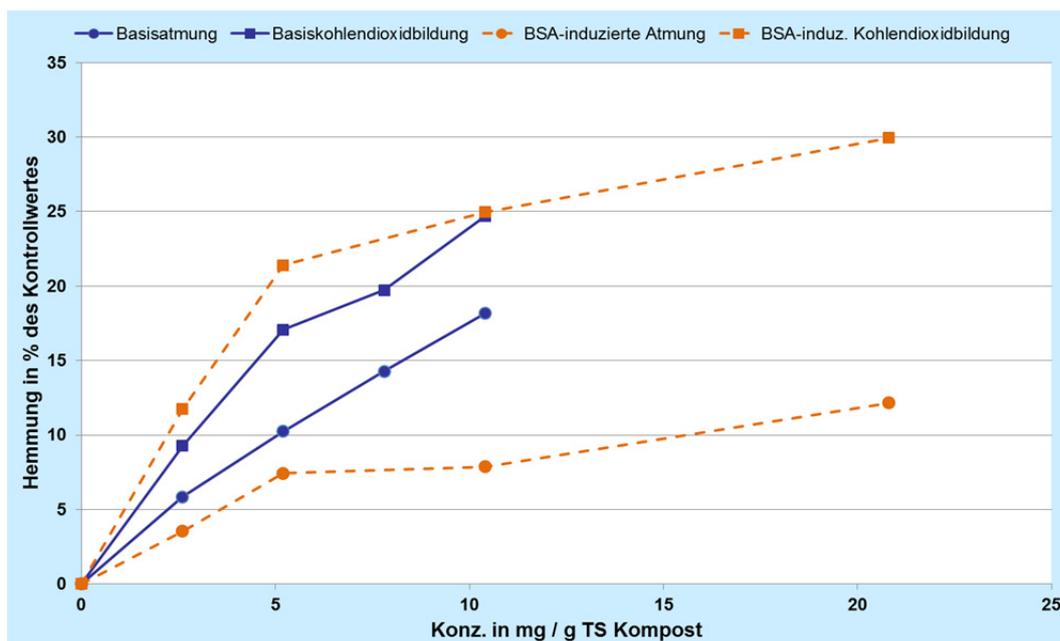


Abbildung 4.15: Hemmung der Basisatmung und der Substrat-induzierten Atmung von Bioabfallkompost durch Nano-CuO (Hinweise zur Kohlendioxidbildung im Text beachten)

Die Dosis-Wirkungskurven zeigen, dass die Kurven der Kohlendioxidbildung bei beiden Prüfvarianten (Basis- und BSA-induzierte Atmung) einen wesentlich steileren Verlauf hatten. Während der respiratorische Quotient (RQ) der Basisatmung des Kompostes ohne CuO-Anteil bei $0,71 \mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol O}_2$ lag, wurde bei der höchsten CuO-Dosierung ein RQ von 0,66 ermittelt. Bei der induzierten Atmung lag der RQ des Kompostes ohne CuO bei 0,90 und der RQ des Kompostes mit der höchsten CuO-Dosierung bei 0,71. Offenbar wirkte sich die CuO-Dotierung der Komposte auf die freigesetzte Menge an Kohlendioxid aus.

oxid aus. Eine Ursache könnte die Bildung von Kupfercarbonat sein. Diese Annahme stützt ein ergänzender Versuch: Suspensionen von Nano-CuO, -MgO und -ZnO in Reinstwasser wurden aseptisch in Kulturröhrchen mit Schraubdeckel abgefüllt. Bei je einem Kulturröhrchen blieb die Luftphase unverändert und bei je einem Röhrchen wurde die Gasphase mit Kohlendioxid angereichert.

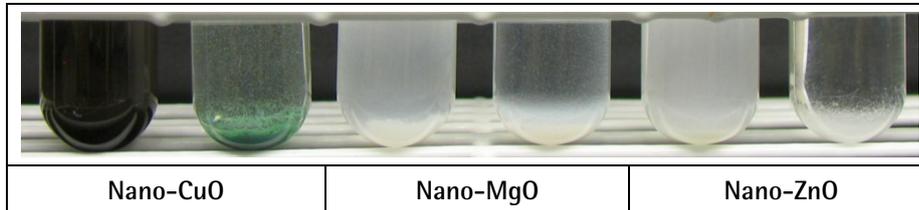


Abbildung 4.16: Fotodokumentation von Nanomaterialsuspensionen nach Exposition über 5 d in einer Luftphase (links) oder einer Kohlendioxid-reichen Gasphase (rechts)

Abbildung 4.16 verdeutlicht die optisch erkennbaren Unterschiede: Während die unter Luft exponierten Nanomaterialsuspensionen optisch unverändert waren, war das in einer CO₂-reichen Gasphase exponierte Nano-CuO zu einem grünlichen Produkt umgewandelt worden. Die trüben Ausgangssuspensionen von Nano-MgO und -ZnO sind unter Kohlendioxideinfluss zu optisch weitgehend klaren Lösungen umgewandelt worden. Diese Beobachtung verdeutlicht, dass das beim Bioabbau gebildete Kohlendioxid die eingesetzten Nanomaterialien stofflich verändert haben kann. Ein Teil der Minderbefunde an Kohlendioxid in den CuO-dotierten Komposten wäre damit ein abiotischer Effekt und keine Hemmung der Kompostatmung. Deshalb beschränken sich die weiteren Auswertungen auf den Einfluss von CuO auf die Sauerstoffzehrung des Kompostes.

Die niedrigste CuO-Dosierung, bei der eine Hemmung der Basisatmung des Kompostes von > 10 % beobachtet wurde, lag bei 5,2 mg CuO/g TS. Die Atmung war hier um 10,2 % niedriger als im Kompost ohne Nano-CuO. Damit war die Hemmwirkung von 4,15 mg Cu aus CuO weniger stark ausgeprägt, als die Hemmwirkung von 2,1 mg Cu aus Cu(II)-Chlorid, das bereits eine Hemmung der Kompostatmung um 25,8 % bewirkte (4.4.2.2). Rousk et al. (2012) haben bei Untersuchungen zur Wachstumshemmung von Bodenbakterien einen EC₅₀ von 35 mmol/g (~ 2.800 mg/g) für Nano-CuO ermittelt und mit löslichem CuSO₄ ebenfalls eine stärkere Hemmwirkung beobachtet. Auffällig war bei diesen Untersuchungen zudem, dass die Hemmwirkung in organikreichen Böden geringer ausgeprägt war.

Die Dosis-Wirkungskurve verlief bei der BSA-induzierten Untersuchungsreihe mit Nano-CuO deutlich flacher: Erst bei einer Dosierung von 20,8 mg Nano-CuO/g TS wurde eine 12,1%ige Hemmung der Kompostatmung ermittelt. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die am BSA-Abbau beteiligten Mikroorganismen weniger stark durch Nano-CuO gehemmt werden, als die zur Basisatmung beitragenden Mikroorganismen.

4.4.2.5 Hemmung der Kompostatmung durch ZnO-Nanopartikel

Komposte wurden mit ZnO-Nanopartikeln versetzt, die zuvor in Reinstwasser suspendiert worden sind. Die Auswirkungen auf die Basis-Atmung und die BSA-induzierte Atmung der Komposte sind in Abbildung 4.17 zusammengefasst.

Auch bei dieser Untersuchungsreihe zeigen die Dosis-Wirkungskurven, dass die Kurven der Kohlendioxidbildung bei beiden Prüfvarianten (Basis- und BSA-induzierte Atmung) einen wesentlich steileren Verlauf hatten als die Kurven der Sauerstoffzehrung. Während der respiratorische Quotient (RQ) der Basisatmung des Kompostes ohne ZnO-Anteil bei 0,86 µmol CO₂/µmol O₂ lag, wurde bei der höchsten ZnO-Dosierung ein RQ von 0,45 ermittelt. Bei der induzierten Atmung lag der RQ des Kompostes ohne

ZnO bei 0,86 und der RQ des Kompostes mit der höchsten ZnO-Dosierung bei 0,57. Offenbar wirkte sich auch die ZnO-Dotierung der Komposte auf die freigesetzte Menge an Kohlendioxid aus. Eine Ursache könnte die Bildung von Zinkcarbonat sein (s. Abbildung 4.16). Ein Teil der Minderbefunde an Kohlendioxid in den ZnO-dotierten Komposten wäre damit ein abiotischer Effekt und keine Hemmung der Kompostatmung. Deshalb beschränken sich die weiteren Auswertungen auf den Einfluss von ZnO auf die Sauerstoffzehrung des Kompostes.

Die niedrigste ZnO-Dosierung, bei der eine Hemmung der Basisatmung des Kompostes von > 10 % beobachtet wurde, lag bei 1,95 mg ZnO/g TS. Die Atmung war hier um 10,3 % niedriger als im Kompost ohne Nano-ZnO. Die Dosis-Wirkungskurve bei der BSA-induzierten Untersuchungsreihe mit Nano-ZnO verlief nahezu parallel zur Untersuchungsreihe ohne BSA-Zusatz. Bei einer Dosierung von 3,9 mg Nano-ZnO/g TS wurde eine 18,1%ige Hemmung der Kompostatmung ermittelt.

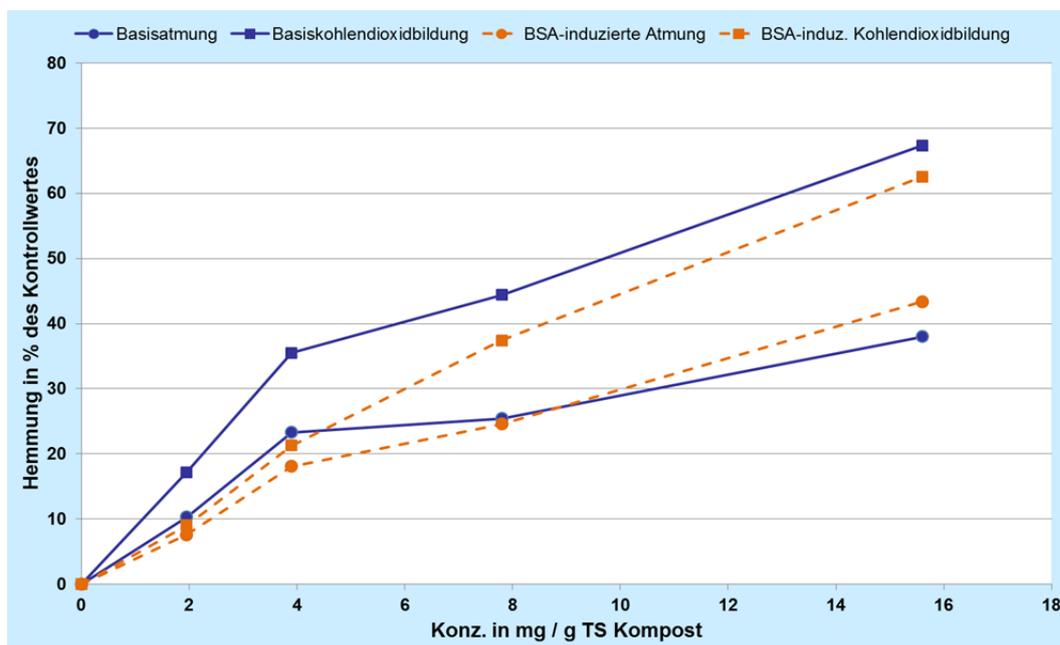


Abbildung 4.17: Hemmung der Basisatmung und der Substrat-induzierten Atmung von Bioabfallkompost durch Nano-ZnO (Hinweise zur Kohlendioxidbildung im Text beachten)

Ge et al. (2011) hatten den Einfluss von Nano-ZnO auf die Substrat-induzierte Atmung von Böden untersucht. Sie haben bei einer Dosis von 0,5 mg ZnO/g TS nach 60 d eine um 8,3 % reduzierte Sauerstoffzehrung beobachtet. Bei einer nach 15 d durchgeführten Messung hatten sie noch eine 19,3%ige Hemmung der Bodenatmung festgestellt. Ergänzende Untersuchungen deuteten darauf hin, dass der Rückgang der Hemmwirkung Folge einer Veränderung der Bodenmikroflora im Kulturverlauf sein kann. Anzumerken ist, dass erst bei vergleichsweise hohen Nano-ZnO-Dosierungen eine Hemmung der Kompostatmung beobachtet wurde. Gemäß Bioabfallverordnung dürfen Komposte, die auf Böden ausgebracht werden sollen, Zink-Gehalte von 0,3 – 0,4 mg Zn/g TS nicht überschreiten.

4.4.2.6 Hemmung der Kompostatmung durch MgO-Nanopartikel

Komposte wurden mit MgO-Nanopartikeln versetzt, die zuvor in Reinstwasser suspendiert worden sind. Die Auswirkungen auf die Basis-Atmung und die BSA-induzierte Atmung der Komposte sind in Abbildung 4.18 zusammengefasst.

Bei dieser Untersuchungsreihe zeigten die Dosis-Wirkungskurven der Kohlendioxidbildung bei beiden Prüfvarianten (Basis- und BSA-induzierte Atmung) einen wesentlich steileren Verlauf als die Kurven der Sauerstoffzehrung. Während der respiratorische Quotient (RQ) der Basisatmung des Kompostes ohne MgO-Anteil bei $0,94 \mu\text{mol CO}_2/\mu\text{mol O}_2$ lag, wurde bei der höchsten MgO-Dosierung ein RQ von 0,11 ermittelt. Bei der induzierten Atmung lag der RQ des Kompostes ohne MgO bei 0,84 und der RQ des Kompostes mit der höchsten MgO-Dosierung bei 0,32. Offenbar wirkte sich auch die MgO-Dotierung der Komposte auf die freigesetzte Menge an Kohlendioxid aus. Eine Ursache könnte die Bildung von Magnesiumcarbonat sein (s. Abbildung 4.16). Möglicherweise veränderte die Dosierung des alkalisch reagierenden MgO auch den pH-Wert des Kompostes und damit die Kohlendioxidfreisetzung. Ein Teil der Minderbefunde an Kohlendioxid in den MgO-dotierten Komposten wäre damit ein abiotischer Effekt und keine Hemmung der Kompostatmung. Deshalb beschränken sich die weiteren Auswertungen auf den Einfluss von MgO auf die Sauerstoffzehrung des Kompostes.

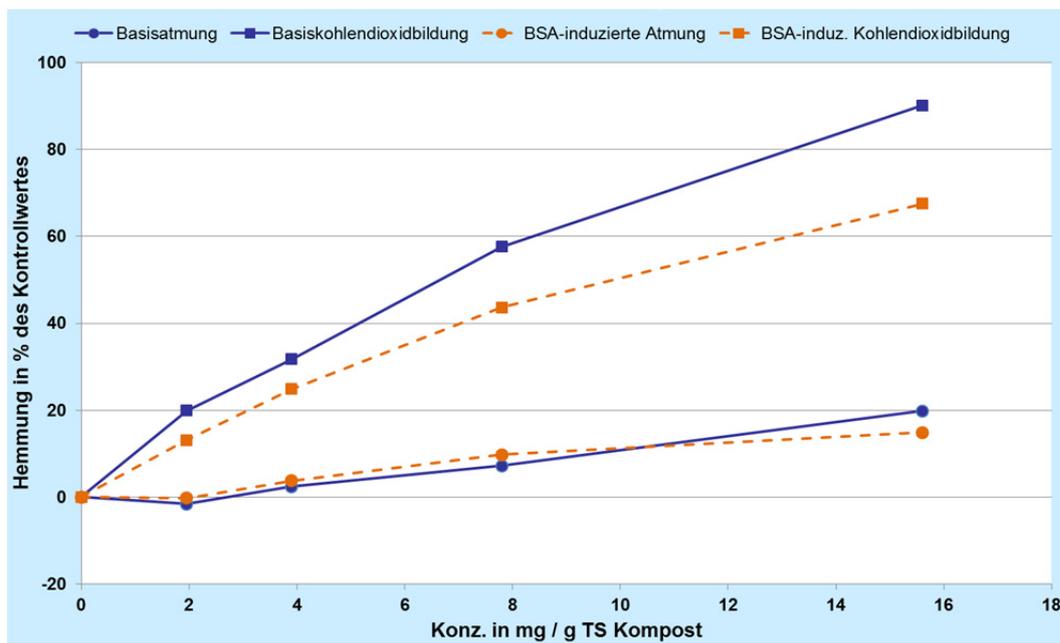


Abbildung 4.18: Hemmung der Basisatmung und der Substrat-induzierten Atmung von Bioabfallkompost durch Nano-MgO (Hinweise zur Kohlendioxidbildung im Text beachten)

Die niedrigste MgO-Dosierung, bei der eine Hemmung der Basisatmung des Kompostes von $> 10 \%$ beobachtet wurde, lag bei $15,6 \text{ mg MgO/g TS}$. Die Atmung war hier um $19,8 \%$ niedriger als im Kompost ohne Nano-MgO. Die Dosis-Wirkungskurve bei der BSA-induzierten Untersuchungsreihe mit Nano-MgO verlief nahezu parallel zur Untersuchungsreihe ohne BSA-Zusatz. Bei einer Dosierung von $15,6 \text{ mg Nano-MgO/g TS}$ wurde eine $14,9\%$ ige Hemmung der Kompostatmung ermittelt.

Insgesamt traten Hemmungen der Kompostatmung erst bei vergleichsweise hohen Dosierungen an MgO auf. Ähnliche Konzentrationsbereiche finden sich in der Literatur: Jin u. He (2011) beobachteten, dass das Wachstum von *E. coli* ab 2 mg Nano-MgO/mL gehemmt werden kann. Nach Beobachtungen von Huang et al. (2005) soll die antibakterielle Wirkung von MgO auf *Bacillus subtilis* mit kleineren Nanopartikeln besonders wirksam sein. Dies bestätigen Untersuchungen von Cedeño-Mattei et al. (2013): Nur 13 nm große MgO-Nanopartikel hemmten das Wachstum von *E. coli* bei einer Konzentration von $0,5 \text{ mg/mL}$ zu 35% .

4.4.2.7 Hemmung der Kompostatmung durch TiO₂-Nanopartikel

Komposte wurden mit TiO₂-Nanopartikeln versetzt, die zuvor in Reinstwasser suspendiert worden sind. Die Auswirkungen auf die Basis-Atmung und die BSA-induzierte Atmung der Komposte sind in Abbildung 4.19 zusammengefasst.

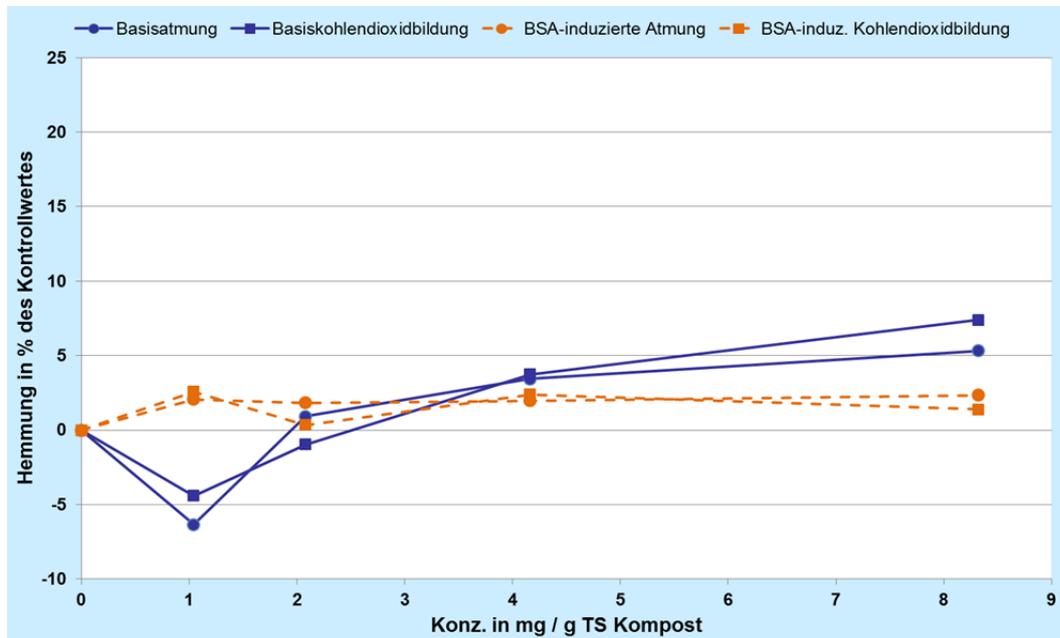


Abbildung 4.19: Hemmung der Basissetmung und der Substrat-induzierten Atmung von Bioabfallkompost durch Nano-TiO₂ (Hinweise zur Kohlendioxidbildung im Text beachten)

Bis zur maximalen Dosierung von 8 mg TiO₂/g Kompost-TS wurden nur geringe Einflüsse auf die Basissetmung des Kompostes beobachtet. Bei einer Dosierung von 1,0 mg TiO₂/g TS wurde eine Stimulation des Gasstoffwechsels des Kompostes ermittelt. Höhere TiO₂-Dosierungen hemmten den Gasstoffwechsel dagegen leicht (bei 8,3 mg Nano-TiO₂/g TS: Hemmungen der Sauerstoffzehrung um 5,3 % und der Kohlendioxidbildung um 7,4 %). Die durch BSA induzierte Kompostatmung zeigte bis zu der maximalen Einsatzkonzentration von 8,3 mg TiO₂/g TS keinen Anstieg der Dosiswirkungskurve.

Zahlreiche fotokatalytische Reaktionen von TiO₂ sind seit langer Zeit bekannt, darunter auch seine ausgeprägte bakterizide Wirksamkeit (Hashimoto et al., 2005). Dagegen gib es nur wenige Berichte zu antimikrobiellen Wirkpotenzialen von TiO₂ ohne zusätzliche Fotoaktivierung. Kasemets et al. (2009) fanden bei Prüfungen mit *Saccharomyces cerevisiae* keine Hemmung bis zur maximal geprüften Einsatzmenge von 20 g/L. Ge et al. (2011) beschrieben allerdings eine geringe Hemmung der Substrat-induzierten Atmung von Bodenproben: Nach Dosierung von 2 mg TiO₂/g TS beobachteten sie nach 15 Tagen eine um 15,8 % reduzierte Atmungsaktivität. Die Hemmwirkung reduzierte sich jedoch bei längeren Inkubationen (auf knapp 7 % nach 60 d). Ergänzende Untersuchungen bestätigten die Annahme, dass die zeitliche Veränderung der Hemmwirkung Folge einer veränderten Zusammensetzung der Bodenmikroflora war (Ge et al., 2012).

4.4.2.8 Hemmung der Kompostatmung durch MWCNT's

Komposte wurden mit multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) versetzt, die zuvor in Reinstwasser suspendiert worden sind. Die Auswirkungen auf die Basis-Atmung und die BSA-induzierte Atmung der Komposte sind in Abbildung 4.20 zusammengefasst.

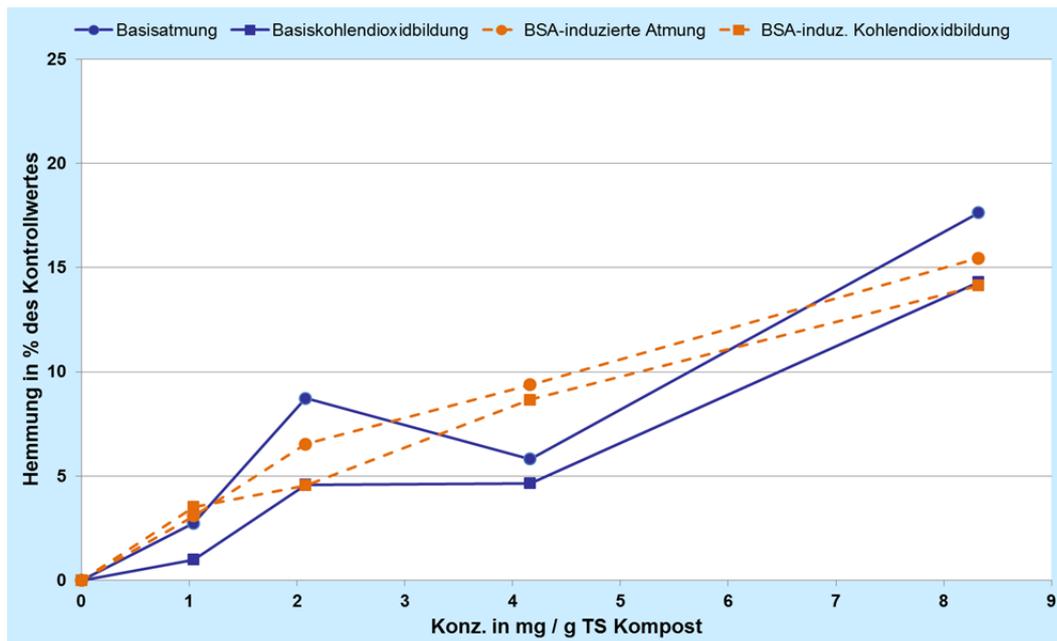


Abbildung 4.20: Hemmung der Basissetmung und der Substrat-induzierten Atmung von Bioabfallkompost durch MWCNT's

Die Dosiswirkungskurven der Basissetmung und der BSA-induzierten Atmung zeigten einen über den gesamten überprüften Konzentrationsbereich stetig ansteigenden Verlauf. Die niedrigste MWCNT-Dosierung, bei der eine Hemmung der Basissetmung des Kompostes von > 10 % beobachtet wurde, lag bei 8,3 mg MWCNT/g TS. Die Atmung war hier um 17,6 % niedriger als im Kompost ohne MWCNT-Zusatz; die Kohlendioxidfreisetzung um 14,3 % reduziert. Die Dosis-Wirkungskurven bei der BSA-induzierten Untersuchungsreihe mit MWCNT verliefen nahezu parallel zur Untersuchungsreihe ohne BSA-Zusatz. Bei einer Dosierung von 8,3 mg MWCNT/g TS wurde eine 15,5%ige Hemmung der Kompostatmung und eine 14,1%ige Hemmung der Kohlendioxidfreisetzung ermittelt.

Insgesamt traten Hemmungen der Kompostatmung erst bei vergleichsweise hohen Dosierungen an MWCNT's auf. Untersuchungen von Kang et al. (2007, 2008) haben gezeigt, dass MWCNT's weniger stark antibakteriell wirksam sind als single-walled carbon nanotubes: Diese sollen das Wachstum von *E. coli* bereits bei Konzentrationen von 5 µg/mL hemmen, falls ein intensiver Kontakt zwischen den Keimen und den CNT's realisiert wird. Längere CNT's waren wirksamer als kurze (Yang et al., 2010). Untersuchungen von Rodrigues et al. (2010) haben zudem gezeigt, dass die antimikrobielle Wirksamkeit durch die Bildung von Biofilmen um mindestens Faktor 10 geringer ist, als bei *E. coli*-Zellen ohne extrazelluläre Schutzschichten.

4.4.2.9 Hemmung der Kompostatmung durch Graphenoxid

Hu et al. (2010) beschrieben, dass Graphenoxid in Konzentrationen von 85 µg/mL die Vitalität von *E. coli* weitgehend hemmen soll. Sie empfehlen die Anwendung von Graphenoxid als antimikrobielle Beschichtung von Verbänden, Schuhen und Verpackungspapier¹³. Liu et al. (2011) konnten zeigen, dass bereits 5 µg/mL Graphenoxid ausreichten, um Vitalitätsverluste bei *E. coli* zu verursachen. Auf Anfrage

¹³ <http://www.sciencedaily.com/releases/2010/07/100721133219.htm>

stellte Hu ein Muster des Graphenoxid-Films zur Verfügung. Mit diesem ca. 24 mg umfassenden Muster wurde orientierend untersucht, ob Graphenoxid auch die Basisatmung von Kompost beeinflusst. Abbildung 4.22 fasst die Ergebnisse zusammen.

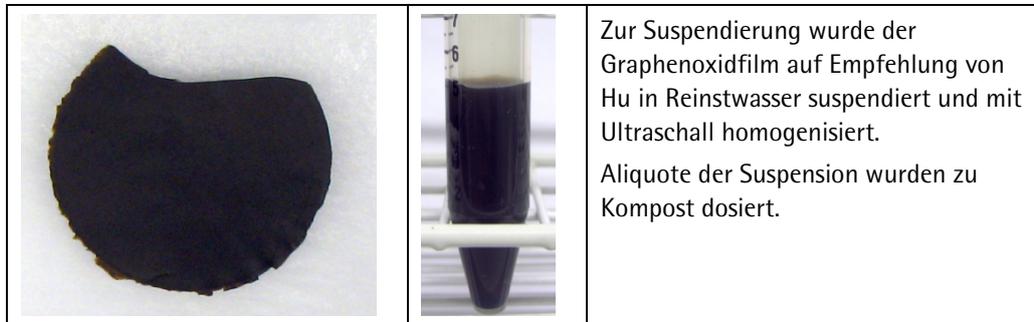


Abbildung 4.21: Fotodokumentation des Graphenoxid-Films (links) und der Graphenoxid-Suspension (rechts)

Bis zu einer Dosierung von 2,5 mg Graphenoxid pro g Kompost-TS wurde kein hemmender Einfluss auf die Kompostatmung beobachtet. Die Dosiswirkungskurven deuten im Gegenteil sogar an, dass die Dosierung von Graphenoxid die Kompostatmung stimuliert hat: Bei einer Dosierung von 1,25 mg/g TS wurde eine Stimulation der Sauerstoffzehrung um 9,6 % und der Kohlendioxidbildung um 11,5 % beobachtet. Girish et al. (2013) hatten festgestellt, dass Graphen durch Macrophagen zersetzt werden kann. Nach Beobachtungen von Salas et al. (2010) können Bakterien bei Sauerstoffmangel Graphenoxid zudem als Elektronenakzeptor nutzen. Somit ist die Annahme plausibel, dass Bestandteile des Graphenoxids im Kompostmilieu biologisch abgebaut werden.

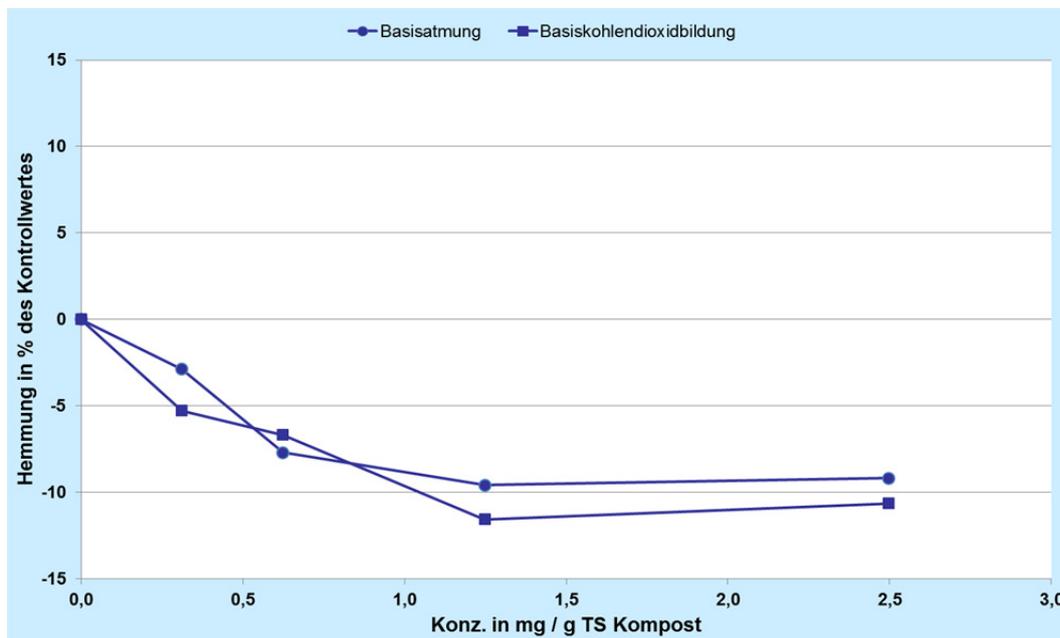


Abbildung 4.22: Hemmung der Basisatmung und der Substrat-induzierten Atmung von Bioabfallkompost durch MWCNT

Insgesamt sind mit den respirometrischen Untersuchungen erstmals hemmende Einflüsse von verschiedenen Nanomaterialien auf die Atmung von Bioabfallkomposten aufgezeigt worden. Derartige Effekte können von Bedeutung für die Bioabfallkompostierung und die Umwelt sein. Eine Hemmung der biolo-

gischen Vorgänge bei der Kompostierung von Abfällen verzögert den Zeitbedarf für die angestrebte Stabilisierung des Bioabfalls. Da Bioabfallkomposte auf Böden ausgebracht werden und dort ein vergleichbarer hemmender Effekt zu erwarten ist, sollten entsprechende Einträge in den Boden unterbleiben, solange unbekannt ist, wie lange die hemmenden Effekte in der Umwelt erhalten bleiben. Respirometrische Untersuchungen ermöglichen es mit vergleichsweise einfachen Methoden, hemmende Einflüsse auf aerobe Abbauvorgänge zu erkennen. Wie die Untersuchungen gezeigt haben, sollten sowohl die Sauerstoffzehrung und die Kohlendioxidbildung betrachtet werden, damit Störeinflüsse durch abiotische Reaktionen erkannt werden können. Die Untersuchungsmethode erfasst summarisch alle im Untersuchungsgut ablaufenden Atmungsprozesse. Damit könnten jedoch Wirkungen unerkannt bleiben, die nur ein Teil der atmenden Lebewesen hemmen und andere atmende Lebewesen in ihrer Aktivität stimulieren.

Für weiterreichende Aussagen wären wesentlich aufwendigere Untersuchungsmethoden erforderlich. Einen Ansatz bieten molekularbiologische Analysen, mit denen sich die durch den Hemmstoff bewirkten Veränderungen der Mikroorganismenfloren erfassen lassen. Colman et al. (2013) beobachteten beispielsweise, dass bereits geringe Einträge von Ag-Nanopartikeln (0,14 mg Ag/kg) die Zusammensetzung und enzymatische Aktivität der Bodenmikroorganismen veränderten. Von besonderer Bedeutung wäre es, feststellen zu können, ob Hemmstoff Lebewesen beeinflussen, die in natürlichen Stoffkreisläufen Schlüsselpositionen einnehmen (z. B.: nitrifizierende Bakterien).

4.5 Einfluss auf die Biogasbildung

Biogas ist das Endprodukt einer vielgliedrigen anaeroben Nahrungskette: Mikroorganismen unterschiedlicher physiologischer Gruppen ergänzen sich dabei wechselseitig. Am Anfang der Nahrungskette stehen Mikroorganismen, die bioabbaubare Polymere (Kohlenhydrate, Proteine, Fette) hydrolysieren und die Monomere anschließend für verschiedene Gärungen nutzen. Die anfallenden Gärungsprodukte dienen anderen Mikroorganismengruppen als Substrate. Die Ausscheidungsprodukte dieser Gruppe verwerten weitere Mikroorganismen zu Biogas (Hauptbestandteile: Methan, Kohlendioxid; diverse Nebenbestandteile, wie H_2S , NH_3 u. a.). Die im Verlauf der anaeroben Nahrungskette gebildeten Sulfide können mit den meisten der in diesem Projekt bearbeiteten Nanomaterialien reagieren und damit deren Wirkpotenzial beeinflussen (Levard et al., 2012; Ma et al., 2013; Reinsch et al., 2012).

Deshalb wurde versucht, die Einflüsse von Nanomaterialien auf anaerobe Mikroorganismen in zwei Teiluntersuchungen zu überprüfen. Im ersten Teil wurde der Einfluss von Nanomaterialien auf die Gärung der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* untersucht (4.5.1). Die Hefe ist ein typischer Repräsentant der gärenden Mikroorganismen, die am Anfang der anaeroben Nahrungskette die Population im Bioabfall dominieren (vergl. Abbildung 6.14; Hultman et al., 2010). *Saccharomyces cerevisiae* ist eine der wenigen Hefen, die auch unter sauerstoffarmen Bedingungen rasch wachsen kann (Visser et al., 1990). Unter anaeroben Bedingungen produziert die Hefe große Mengen an Gas, ohne dass eine störende Sulfidbildung auftritt. Im zweiten Teil der Untersuchungen wurde praxisnah überprüft, inwieweit Biogasbildender Faulschlamm durch die Dosierung von Nanomaterialien in seiner Aktivität beeinflusst wird (4.5.2).

4.5.1 Hemmung der Gärung von *Saccharomyces cerevisiae*

Im Rahmen einer Bachelorarbeit (Kott, 2013) wurde der Einfluss der Prüfsubstanzen auf die Stoffwechselaktivität der Hefe unter sauerstofflimitierten Bedingungen untersucht. YPD-Medium wurde unverändert und mit Zusatz der Redoxindikatoren Resazurin oder Methylenblau genutzt. Nach dem Beimpfen setzte zunächst ein aerobes Wachstum der Hefe ein, bis Sauerstofflimitierung einen Übergang zum

Gärungsstoffwechsel erforderlich machte. Dieser Wechsel von der aeroben zur anaeroben Kulturführung tritt auch bei der Vergärung von Bioabfällen auf und sollte deshalb näher betrachtet werden. Das Wachstum der Hefe wurde visuell im Vergleich zu Kontrollansätzen ohne Prüfsubstanzzusatz bewertet. Beurteilungskriterium waren die Trübung des Mediums durch Hefebiomasse, die durch Gärung hervorgerufene Ansammlung von Gas in einem Durham-Röhrchen sowie das Ausmaß der Anaerobiose (erkennbar am Farbumschlag der Redoxindikatoren). Mithilfe eines Boniturschemas wurden die relativen Abweichungen des Hefewachstums bewertet, die in Ansätzen mit Prüfsubstanzdosierung zu beobachten waren. Abbildung 4.23 zeigt beispielhaft das Wuchsbild der Hefe in Ansätzen ohne bzw. mit Nano-Ag-Zusatz; Details zur Auswertung enthält der Anhang (6.4.1).

Mithilfe des anaeroben Hemmtests wurde der Einfluss verschiedener Prüfsubstanzen auf das Wachstum von *Saccharomyces cerevisiae* untersucht. Die Ergebnisse der Boniturauswertungen sind in Abbildung 4.24 zusammengefasst.

Eine Antimykotika-Mischung (2 Teile Nystatin und 1 Teil Actidion) hemmte das Wachstum der Hefe bereits bei Dosierungen von < 1 mg/L stark; bei einer Dosis von 0,7 mg/L wurden nur noch 28 % der Boniturspunkte der Kontrollprobe erzielt.

Im Unterschied zu den Antimykotika war selbst mit den höchsten geprüften Konzentrationen für Nano-Ag (150 mg/L) und für Nano-TiO₂ (300 mg/L) keine Hemmung des Wachstums feststellbar.

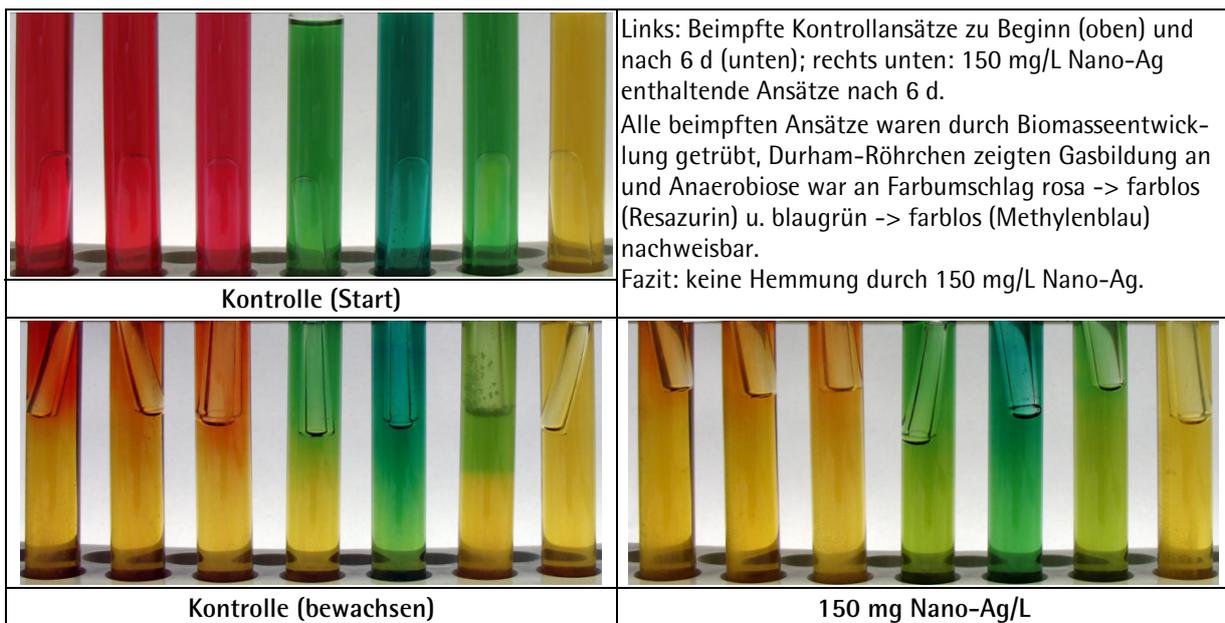


Abbildung 4.23: Wuchsbild von *Saccharomyces cerevisiae*

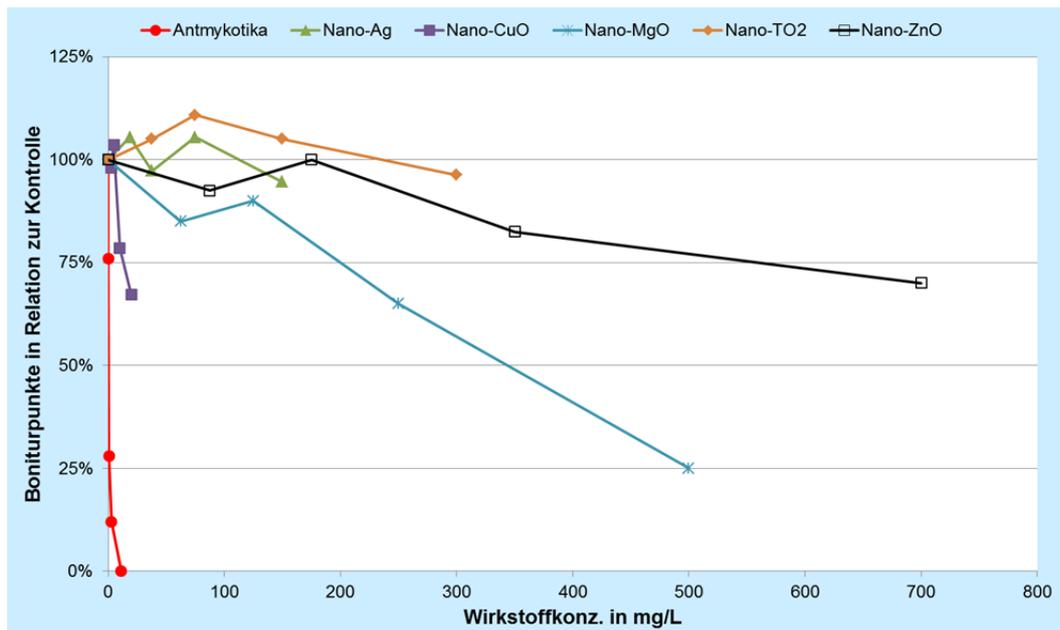


Abbildung 4.24: Hemmung des anaeroben Wachstums von *Saccharomyces cerevisiae*

Eine Dosierung von 10 mg/L Nano-CuO bewirkte dagegen ein um etwa 22 % reduziertes Boniturergebnis. Bei einer Dosierung von mehr als 125 mg/L Nano-MgO bzw. von mehr als 175 mg/L Nano-ZnO wurden deutlich reduzierte Anzahlen an Boniturnoten der Ansatzreihen ermittelt¹⁴.

Die Untersuchungen sollten unter anderem dazu dienen, hemmende Konzentrationsbereiche für die nachfolgenden Prüfungen zum Einfluss von Nanomaterialeinträgen auf die Biogasbildung abzuleiten. Insgesamt wirkten die untersuchten Nanomaterialien jedoch auf den Prüfkeim *Saccharomyces cerevisiae* wenig toxisch. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass die Kulturröhrchen mit etwa 20 mg Hefetrockenmasse pro Liter beimpft worden sind. Bezogen auf die angeimpfte Biomasse entsprechen Dosierungen von 100 mg/L eines Nanomaterials bereits einer Einwirkung von 5 g Nanomaterial pro g TS der Hefe. Eine weitere Steigerung der Konzentrationen der Nanomaterialien war nicht zielführend: Die Schadstoffvorgaben der Bioabfallverordnung sind auf die Trockensubstanz von behandelten Bioabfällen bezogen. Die Trockensubstanzgehalte vieler Biogasanlagen liegen unter 20 %. Deshalb dürfen Bioabfallsuspensionen in Biogasanlagen nur relativ geringe Schadstoffgehalte pro Liter Abfallsuspension enthalten¹⁵. Yang et al. (2012a, b, 2013) hatten zudem beobachtet, dass Störungen der Biogasbildung bei der Hausmülldeponierung auftreten können, wenn der Abfall 10 mg Nano-Ag/kg enthielt und der Übergang des Abfalls von aeroben zu anaeroben Bedingungen betrachtet wurde. Im Unterschied dazu wurde die Biogasbildung durch 40 mg/L Nano-Ag nicht gehemmt, wenn die Silberprodukte auf sulfidhaltigen Faulschlamm einwirkten (Yang et al., 2012a).

¹⁴ Untersuchungen von AgPure W5 ergaben inkonsistente Ergebnisse und wurden deshalb nicht grafisch dargestellt. Zum Untersuchungszeitpunkt war das im Vorhaben genutzte CNT-Produkt nicht mehr am Markt verfügbar.

¹⁵ Gemäß Bioabfallverordnung maximal erlaubte Gehalte: Cu: 70 – 100 mg/kg TS; Zn: 300 – 400 mg/kg TS; bei einem TS-Gehalt der Bioabfallsuspension von 20 % ergibt dies: Cu: 14 – 20 mg/L; Zn: 75 – 80 mg/L.

4.5.2 Einfluss auf die Biogasbildung

Im Unterschied zum Kompostierungsprozess, der sich oft als relativ robust gegenüber störenden Einflüssen durch Stoffeinträge erweist (Hoppenheidt et al., 2000; LfU, 2003), gilt die Abfallvergärung als vergleichsweise störanfällig. Dementsprechend finden sich nur selten Literaturhinweise zu Hemmungen des Kompostierungsprozesses (Sundberg u. Jönssen, 2005; Cheung et al., 2010), während für Vergärungsprozesse eine Vielzahl von Hemmstoffen bekannt sind (Chen et al., 2008). Das Bayerische Landesamt für Umwelt hat eine Umfrage zu „Geruchsemissionen im Umfeld von Abfälle verarbeitenden Biogasanlagen“ vorgestellt (Beck, 2010). Bemerkenswerterweise gab es bei 27 % der Biogasanlagen Geruchsbeschwerden. 57 % der Geruchsprobleme waren Folge von Prozessstörungen, die durch betriebstechnische Fehler oder durch Eintrag von Hemmstoffen (Antibiotika, Desinfektionsmittel, Säuren/Laugen, u. a.) hervorgerufen werden. Deshalb wurde für die im Rahmen des Projektes untersuchten Nanomaterialien der Einfluss auf die Biogasbildung untersucht.

4.5.2.1 Biogasbildung in vorreduziertem Mineralmedium

Ausgangspunkt war eine Beobachtung von Luna-delRisco et al. (2011): Die Biogasbildung von Rindergülle wurde zu 50 % gehemmt, wenn 10,7 mg/L Nano-CuO bzw. 57,3 mg/L Nano-ZnO dosiert wurden. Bei den Untersuchungen wurde Gülle mit einem Mineralmedium-Konzentrat gemäß ISO 13641-2 versetzt und die Biogasbildung über 14 Tage ausgewertet.

An diese Beobachtungen anknüpfend wurde Faulschlamm (TS-Gehalt: 12 g/L) mit einem Mineralmedium¹⁶ und Avicel-Cellulose bzw. Hefeextrakt als Substrat versetzt. Anschließend wurden Aliquote einer Suspension von Nano-CuO in Reinstwasser zu den Faulansätzen dosiert und die Biogasbildung bei 37 °C in einer VDI 4630-konformen Eudiometer-Apparatur (s. Anhang, 6.4.1) beobachtet. Ausgewertet wurde die Netto-Biogasmenge in Norm-Millilitern bezogen auf eine Substrateinwaage von einem Gramm.

Die Ergebnisse der beiden Untersuchungsreihen mit Nano-CuO sind in Abbildung 4.25 zusammengefasst. Die zeitlichen Verläufe und die resultierenden Biogaserträge der mit bis zu 20 mg/L Nano-CuO dotierten Ansätze zeigten mit beiden Substraten keine messbaren Unterschiede im Vergleich zu Kontrollansätzen ohne Nano-CuO-Dosierung. Bezogen auf die Trockensubstanzeinwaage haben sich 1,7 g Nano-CuO/kg TS nicht hemmend auf die Biogasbildung aus Cellulose und dem proteinreichen Hefeextrakt ausgewirkt.

In einer weiteren Untersuchungsreihe wurde überprüft, ob bis zu 14 mg Ag/L des Produktes AgPure W5 die Biogasbildung des Faulschlammes aus Avicel-Cellulose und Hefeextrakt hemmen. Das Produkt enthält neben den Silber-Nanopartikeln größere Mengen weiterer Bestandteile (darunter Nitrat). Bei der Ansatzreihe mit Cellulose als Substrat traten Störungen durch Säurebildung auch in Kontrollansätzen auf, die eine Auswertung verhinderten. Mit Hefeextrakt als Substrat wurde ein normaler Verlauf der Biogasbildung beobachtet: Ansätze, zu denen das AgPure-Produkt dosiert wurde, ließen keine Hemmung der Biogasbildung bis zur maximal untersuchten Einsatzkonzentration von 14 mg Ag/L erkennen. Bezogen auf die Trockensubstanzgehalte der Ansätze wirkten sich Silbernanopartikel bei Dosierungen von bis zu 1,0 g Ag/kg TS nicht hemmend auf die Biogasbildung aus.

¹⁶ Mineralmedium gemäß ISO 11734; dessen Bestandteile entsprechen dem Medium aus ISO 13641, doch variieren die Konzentrationen geringfügig.

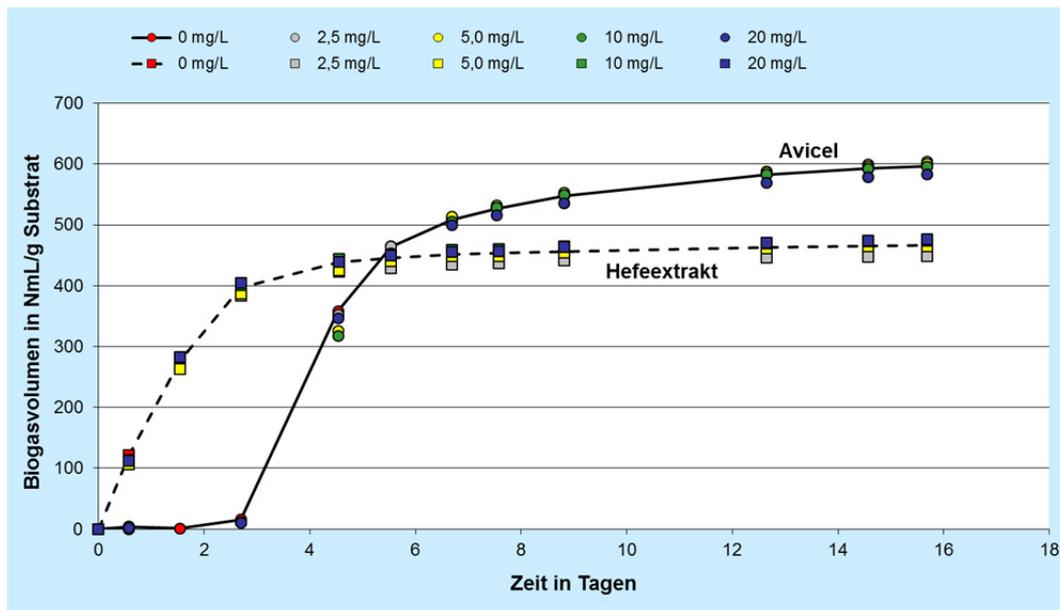


Abbildung 4.25: Einfluss von Nano-CuO auf die Biogasbildung aus Avicel und Hefeextrakt

Mineralmedien nach ISO 13642 und 11734 enthalten vergleichsweise große Mengen an Natriumsulfid. Damit sollen sauerstofffreie Kulturbedingungen und ein niedriges Redoxpotenzial gewährleistet werden. Allerdings bilden viele Metallionen mit Sulfid schwerlösliche Metallsulfide. Eigene Erfahrungen mit Prüfungen nach VDI 4630 ließen erwarten, dass stabile Kulturführungen mit Faulschlamm aus kommunalen Kläranlagen keine Dosierung von mineralischen Komponenten und Reduktionsmitteln erfordern. Deshalb wurde für weitere Untersuchungen auf die Zugabe von mineralischen Medienbestandteilen verzichtet.

4.5.2.2 Biogasbildung von Faulschlamm

Bei der Untersuchung des Biogasbildungspotenzials von Bioabfall gemäß VDI-Richtlinie 4630 werden die Prüfsubstrate zu weitgehend stabilisierten Faulschlamm dosiert. Zur Überprüfung der Vitalität des Faulschlammes werden Ansätze mit dem Referenzsubstrat Avicel mitgeführt. Hinreichend vitale Faulschlamm entwickeln mehr als 592 NmL Biogas/g oTS der Cellulose. Dieser Untersuchungsansatz ermöglichte es auch, hemmende Einflüsse von Nanomaterialien auf Biogaserträge von Referenzsubstraten zu untersuchen.

Mit diesem Untersuchungsansatz wurde zunächst überprüft, ob Dotierungen des Faulschlammes mit bis zu 100 mg Nanomaterial/L die Biogasfreisetzung beeinflussen. Unter Berücksichtigung der Ausgangs-TS des Faulschlammes von 2,17 % entsprachen die Dotierungen Konzentrationen von bis zu 4,6 g Nanomaterial pro kg Schlamm-trockenmasse.

Der in Abbildung 4.26 dargestellte zeitliche Verlauf der Biogasbildung zeigte einen für den Abbau von Avicel typischen Verlauf: Nach einer zweitägigen lag-Phase setzte die Biogasbildung ein und sie war innerhalb von 10 Tagen weitgehend abgeschlossen. Der Faulschlamm produzierte innerhalb von 15 Tagen 595 NmL Biogas pro Gramm Avicel. Bezogen auf die oTS der Referenzsubstanz waren dies 613 NmL/g oTS; der Schlamm war somit hinreichend biologisch aktiv. Bemerkenswerterweise wichen die Biogasbildungskurven der mit bis zu 100 mg Nanomaterialien pro Liter dotierten Ansätze allenfalls geringfügig von den Kurvenverläufen der Kontrollansätze ohne Nanomaterialzusatz ab. Dies zeigt Abbildung 4.26 am Beispiel der Ansätze mit Nano-Ag und Nano-ZnO.

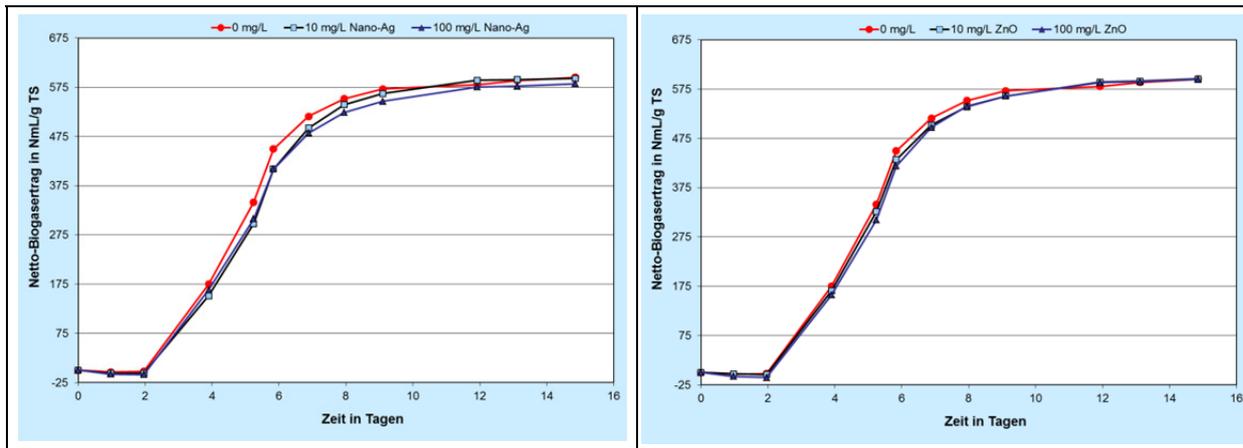


Abbildung 4.26: Summenkurven der Biogasbildung der Kontrollansätze ohne Nanomaterial und mit 10 bzw. 100 mg/L Nano-Ag (links) oder Nano-ZnO (rechts)

Tabelle 4.3: Netto-Biogaserträge nach 15 d in NmL pro Gramm Avicel-Cellulose (1 g ≈ 0,97 g oTS)

	Nano-Ag	AgP-Ag*	Nano-CuO	Nano-ZnO	Nano-MgO	Nano-TiO ₂	MWCNT
0 mg/L	595 NmL	595 NmL	595 NmL	595 NmL	595 NmL	595 NmL	595 NmL
10 mg/L	593 NmL	590 NmL	612 NmL	596 NmL	616 NmL	606 NmL	659 NmL
	100 %	99 %	103 %	100 %	103 %	102 %	111 %
100 mg/L	582 NmL	603 NmL	551 NmL	595 NmL	621 NmL	621 NmL	644 NmL
	98 %	101 %	93 %	100 %	104 %	104 %	108 %

* AgP: 3,3 und 33 mg/L statt 10 und 100 mg/L

Tabelle 4.3 fasst die Resultate der Untersuchungsreihe zusammen: Auch bei den anderen untersuchten Nanomaterialien wurden keine auf eine Hemmung hindeutende Kurvenverläufe der Biogasbildung beobachtet. Nach Abschluss der Messungen lagen die Biogaserträge alle nahe beieinander (Mehrfunde ≤ 11 %; Minderbefunde um 7 %).

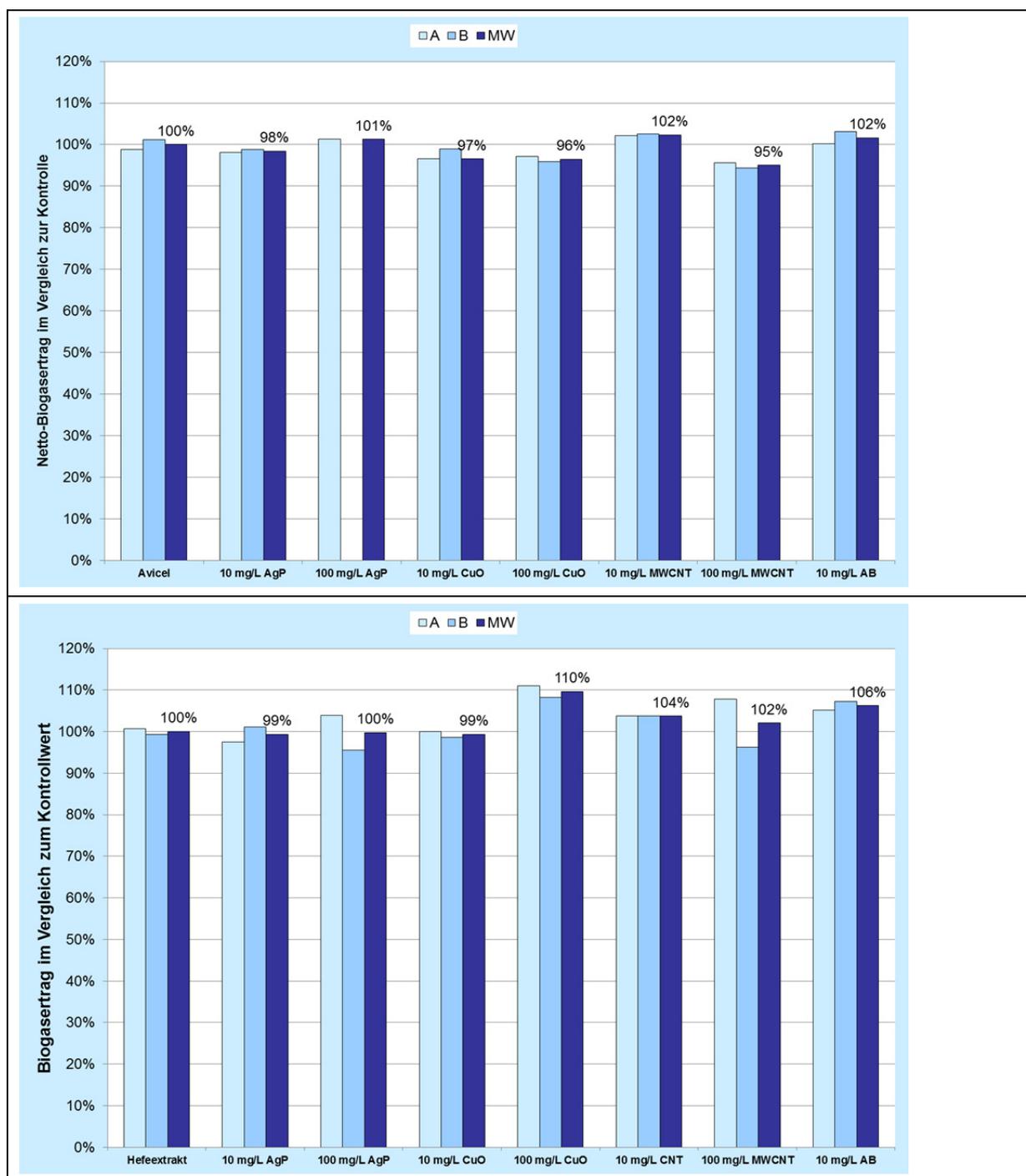


Abbildung 4.27: Relative Nettobiogaserträge mit den Substraten Avicel (oben) und Hefeextrakt (unten) für Ansätze ohne bzw. mit Dotierung von 10 bzw. 100 mg/L AgPure W5-Ag, Nano-CuO, MWCNT und einer Antibiotika-Mischung (1 T. Nystatin, 1 T. Actidion und 2 T. Chloramphenicol)

Zur Absicherung dieser Befunde wurde in einer weiteren Untersuchungsreihe überprüft, ob die bei Nano-CuO- und MWCNT-Ansätzen beobachteten etwas größeren Abweichungen der Biogaserträge Folge statistischer Schwankungen oder zu beachtender Effekte waren. Außerdem wurde das AgPure-Produkt auch in Konzentrationen von 10 und 100 mg/L mitgeführt. Neben dem Substrat Avicel wurde

Hefeextrakt für eine weitere Ansatzreihe eingesetzt. Die Resultate der Untersuchungsreihen sind in Abbildung 4.27 zusammengefasst.

Die Kontrollansätze ohne Nanomaterialdotierung zeigten einen typischen Kurvenverlauf der Biogasbildung: Nach einer lag-Phase von 4 Tagen setzte die Biogasbildung aus Avicel ein. Nach 37 Tagen wurde ein Biogasertrag von 666 NmL/g TS bzw. 686 NmL/g oTS Cellulose ermittelt. Der Faulschlamm (Ausgangs-TS: 2,45 %) war somit als vital einzustufen. Ansätze, zu denen bis zu 100 mg/L AgPure-Ag, Nano-CuO bzw. MWCNT dosiert worden waren, lieferten nahezu unveränderte Biogaserträge: Im Vergleich zu den Kontrollwerten wurden maximal Abweichungen von 5 % beobachtet.

Mit Hefeextrakt als Substrat wurden ebenfalls keine eindeutig hemmenden Einflüsse auf die Biogasbildung beobachtet: Die Biogaserträge wichen vom Ertrag des Kontrollwertes (393 NmL/g TS Hefeextrakt) maximal um 10 % ab. Entsprechende Abweichungen liegen im Bereich der statistischen Schwankungsbreite und können nicht als Indiz für einen Nanomaterialeinfluss gewertet werden. Offenbar haben AgPure-Ag, Nano-CuO und MWCNT in Einsatzkonzentrationen von bis zu 4,1 g/kg TS keinen nachweisbaren Einfluss auf die Biogasbildung von Faulschlämmen, wenn als Substrate Avicel-Cellulose oder Hefeextrakt verwendet werden. Vergleichbare Beobachtungen machten Mu et al. (2011) mit 4 verschiedenen Metalloxid-Nanomaterialien. Vermutlich schränken die im Faulschlamm in vergleichsweise hohen Konzentrationen vorkommenden Sulfide die antimikrobiellen Wirkpotenziale von metallischen Nanomaterialien auf die Biogasbildung stark ein.

4.6 Phytotoxizität von ausgewählten Nanomaterialien

Miralles et al. (2012) haben in ihrem Übersichtsbeitrag den begrenzten Kenntnisstand zu toxischen Wirkungen von Nanomaterialien auf höhere Pflanzen und den sich daraus ergebenden Handlungsbedarf aufgezeigt. Komposte und Gärprodukte werden hauptsächlich als Dünge- und Bodenverbesserungsmittel genutzt. Deshalb sehen Prüfmethoden zur Überwachung der Kompostqualität auch Untersuchungen der Pflanzenverträglichkeit mit ausgewählten Indikatorpflanzen (z. B. Kresse, Gerste, Salat) vor. Aus diesem Grund wurde orientierend untersucht, ob die im Rahmen des Vorhabens bearbeiteten Nanomaterialien das Wachstum der Indikatorpflanzen Kresse und Sommergerste beeinflussen. Zunächst wurde mit Kressenpflanzen geklärt, in welchen Konzentrationsbereichen die Keimung des Saatgutes beeinträchtigt wird (4.6.1). Bei diesen Untersuchungen wirkten die Nanomaterialien bis zu 9 Tage unmittelbar auf das Kressesaatgut ein. Anschließend wurden die ermittelten Konzentrationsbereiche für länger dauernde Wuchsversuche mit Kresse und Sommergerste (4.6.2) genutzt. Hierbei wurden Nanomaterialien den Prüfsubstraten zugesetzt und das Pflanzenwachstum nach 14 Tagen ausgewertet.

4.6.1 Einfluss von Nanomaterial auf das Keimwachstum von Kresse

Gartenkresse (*Lepidium sativum*) wird als Vertreter zweikeimblättriger Pflanzen sehr häufig als Indikatorpflanze bei ökotoxikologischen Untersuchungen eingesetzt. Sie ist schnell wachsend, im Labor ganzjährig kultivierbar und sie benötigt für die erste Wachstumsphase keine zusätzlichen Nährstoffe oder Pflanzsubstrate. Damit bot die Pflanze sehr gute Ausgangsbedingungen, um Einflüsse von Nanomaterialien auf die Samenkeimung ohne störende Matrixeinflüsse beobachten zu können.

Im Rahmen einer Bachelorarbeit wurde ein für die Fragestellung optimierter Untersuchungsgang erarbeitet und für die im Vorhaben untersuchten Nanomaterialien genutzt (Fangrat, 2013). Für jede zu prüfende Substanzkonzentration wurden 200 Kressesamen auf ein mehrlagiges saugfähiges Papiertuch (WypAll, Kimberly-Clark) gegeben und mit 10 mL Flüssigkeit (steriles Reinstwasser bzw. in Reinstwasser suspendierte Nanomaterialien) befeuchtet. Die Ansätze wurden in einem Pflanzenwuchsschrank (20 °C, 85 - 90 % Luftfeuchte, 2.300 Lux) mindestens 9 Tage inkubiert. Durch Verdunstung auftretende Was-

serverluste wurden durch Dosierung von Reinstwasser ausgeglichen. Abschließend wurde visuell das Wuchsbild ausgewertet und es wurden die Anzahl der gekeimten Samen sowie der Ertrag an Pflanzenfrischmasse ermittelt¹⁷.

Die untersuchten Konzentrationen der Nanomaterialien wurden auf die in Tabelle 4.2 enthaltenen Wertebereiche beschränkt. Es wurde angenommen, dass die Nanomaterialien zunächst in der Wasserphase des Kompostes suspendiert sind. Somit war eine Umrechnung der Konzentrationen von g/kg TS in mg/mL möglich¹⁸.

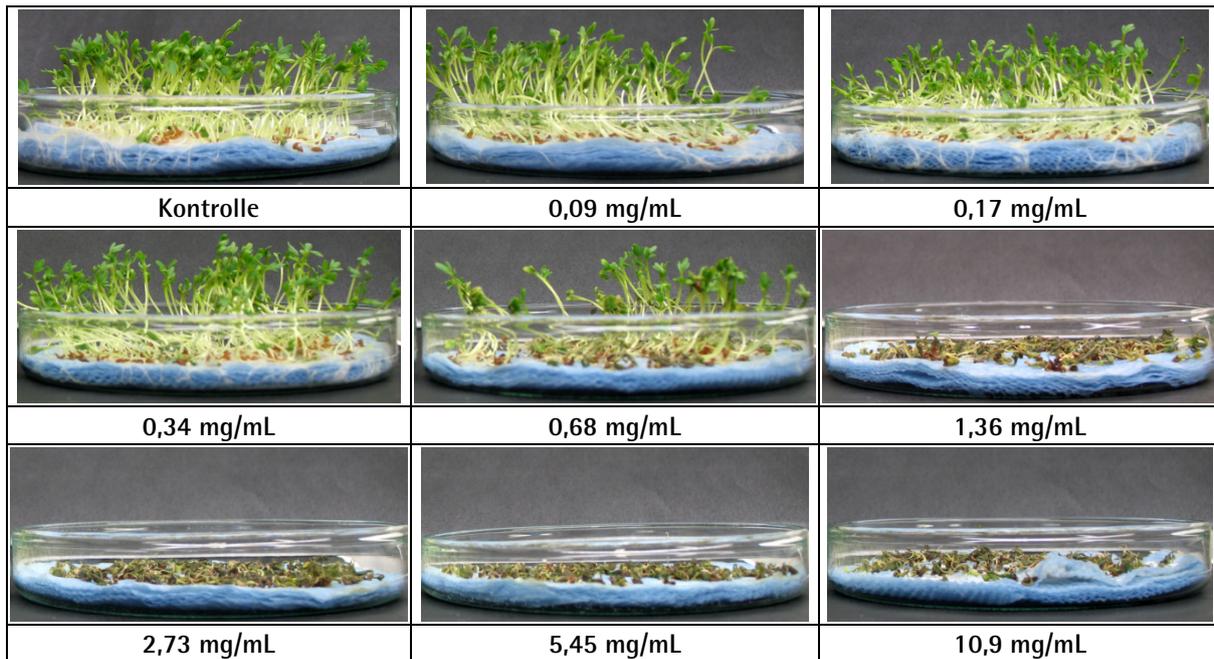


Abbildung 4.28: Wuchsbild keimender Kresse mit 0 – 10,9 mg/mL Nano-MgO

¹⁷ Eine Auswertung der Trockensubstanz war nicht aussagekräftig: Keimende Samen ernähren sich zunächst von Speichersubstanzen, sodass anfangs trotz Zunahme der Frischsubstanz eine Abnahme der Trockensubstanz ermittelt wird.

¹⁸ Laut Angaben der Bundesgütegemeinschaft Kompost enthielten gütegesicherte Komposte 46,6 % Wasser. Auf Basis dieser Werte entspräche eine Nanomaterialkonzentration von 1,0 mg/mL im Kompostwasser Konzentrationen von 0,47 g/kg Frischmasse bzw. 0,87 g/kg TS.

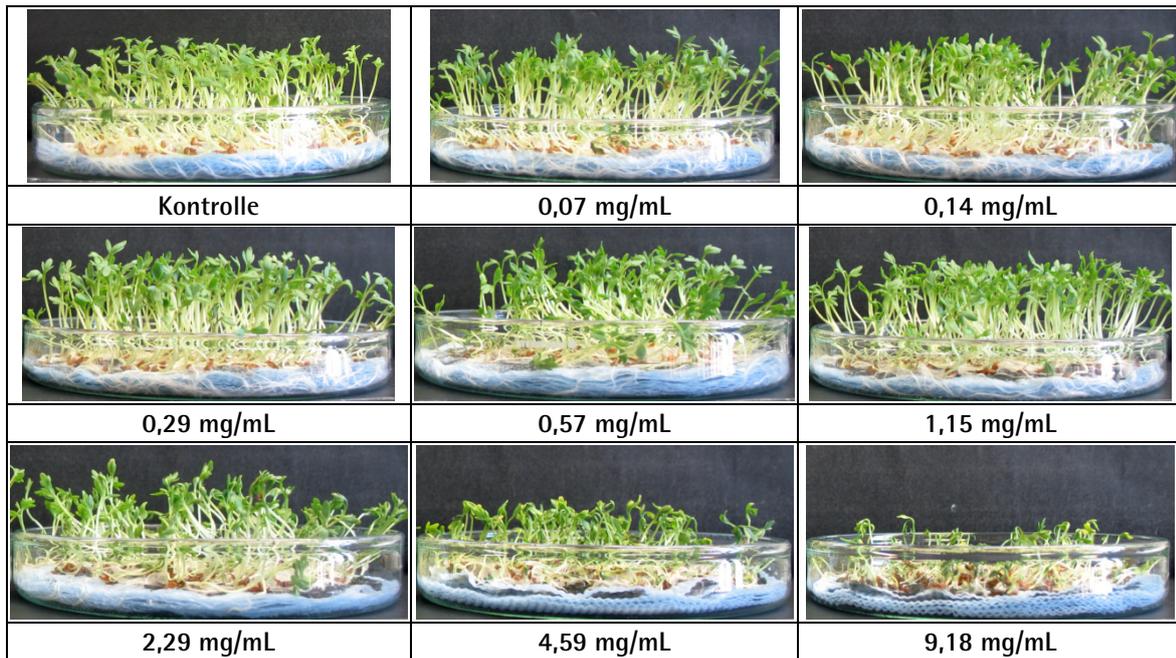


Abbildung 4.29: Wuchsbild keimender Kresse mit 0 – 9,18 mg/mL MWCNT

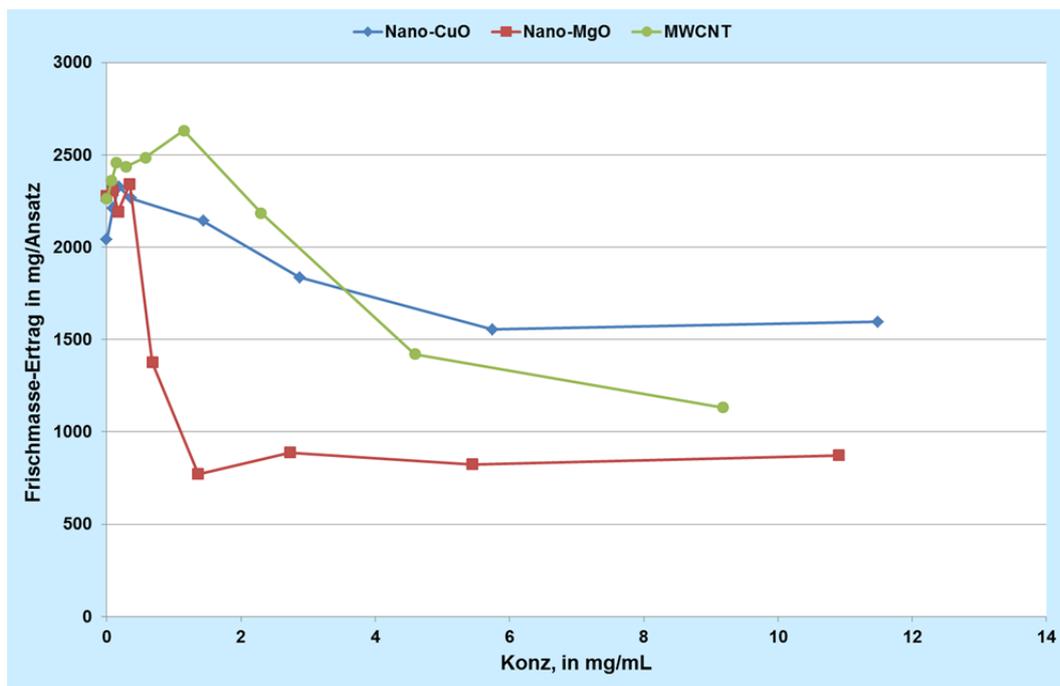


Abbildung 4.30: Vergleich der Frischmasseerträge von Kresse

Nano-Silber und AgPure W5 hatten bei Einsatzkonzentrationen von bis zu 2,9 bzw. 2,3 mg/mL keine hemmende Wirkung auf das Keimwachstum der Kresse. Selbst bei Einsatzkonzentrationen von 9,2 mg/mL Nano-ZnO und -TiO₂ war kein hemmender Effekt auf das Kressewachstum erkennbar. Deutlich hemmende Effekte waren visuell bei Ansätzen mit Nano-MgO (Abbildung 4.28), MWCNT (Abbildung 4.29) und Nano-CuO (Anhang, Abbildung 6.17) erkennbar. Für die Kontrollproben wurde

während der Inkubation im Mittel eine Zunahme der Frischmasse um Faktor 4,8 auf 2,2 Gramm pro Ansatz beobachtet. Abbildung 4.30 veranschaulicht die konzentrationsabhängige Reduktion der Frischmasseerträge.

Bei einer Dosis von 0,7 mg MgO/mL wurde ein um 40 % reduzierter Frischmasseertrag ermittelt. Eine vergleichbare Reduktion der Frischmasse (37 %) wurde bei einer Dosis von 4,3 mg MWCNT/mL nachgewiesen. Bei niedrigeren MWCNT-Dosierungen wurden jedoch bis 16 % höhere Frischmasseerträge beobachtet als bei der Kontrollprobe. Khodakovskaya et al. (2009) machten ähnliche Beobachtungen und sie führten den Effekt darauf zurück, dass CNT's die Samenhülle durchdringen und dadurch die Wasseraufnahme des auskeimenden Samens erleichtern. Die drei Kurvenverläufe verdeutlichen zudem, dass der Rückgang der Frischmasseerträge mit steigenden Nanomaterialdosierungen ein Plateau erreicht: Offenbar wachsen die Samen zunächst, doch wird das weitere Wachstum beim Überschreiten einer Konzentrationsschwelle verhindert. Diese Wachstumshemmung setzt mit Nano-CuO erst bei einem weiter fortgeschrittenen Wachstum ein, sodass das Plateau des Frischmasseertrags auf einem deutlich höheren Niveau liegt als bei Ansätzen mit MWCNT und Nano-MgO.

Bezieht man die dosierten Mengen an Nanomaterialien, bei denen ein deutlich hemmender Einfluss beobachtet wurde, auf die anfangs vorhandene Trockenmasse an Kressesamen, wird deutlich, dass 0,016 mg Nano-MgO, 0,07 mg Nano-CuO und 0,11 mg MWCNT pro mg Kressesamen dosiert werden mussten, bevor ein messbarer Einfluss auf die Keimung der Kressesamen beobachtet wurde.

4.6.2 Einfluss von Nanomaterial auf das Wachstum von Indikatorpflanzen

Bei den unter 4.6.1 beschriebenen Untersuchungen haben die Suspensionen der Nanomaterialien direkt auf das Kressesaatgut eingewirkt. Ergänzend wurden Kulturversuche mit Kresse und Sommergerste als Indikatorpflanzen in Einheitserde des Typs (EEO) durchgeführt. Bei diesen Prüfungen konnten auch die Bestandteile des Kultursubstrates (EEO, Mineraldünger) die Wirkung der Nanomaterialien beeinflussen. Sommergerste wird im Rahmen der Güteüberwachung von Komposten routinemäßig als Indikatorpflanze eingesetzt. Dabei werden Mischungen aus Komposten und EEO für die Beurteilung der Pflanzenverträglichkeit von Komposten genutzt.

Gerste ist allerdings eine relativ robuste Pflanze, deren Wachstum oft erst durch vergleichsweise hohe Konzentrationen von phytotoxisch wirkenden Stoffen beeinflusst wird. Wesentlich empfindlicher reagiert dagegen Kresse; dies verdeutlicht Abbildung 4.31 am Beispiel der Prüfsubstanz Pelargonsäure. Deshalb wurden Prüfungen von Nanomaterialien mit Kresse und Sommergerste als Indikatorpflanzen durchgeführt.

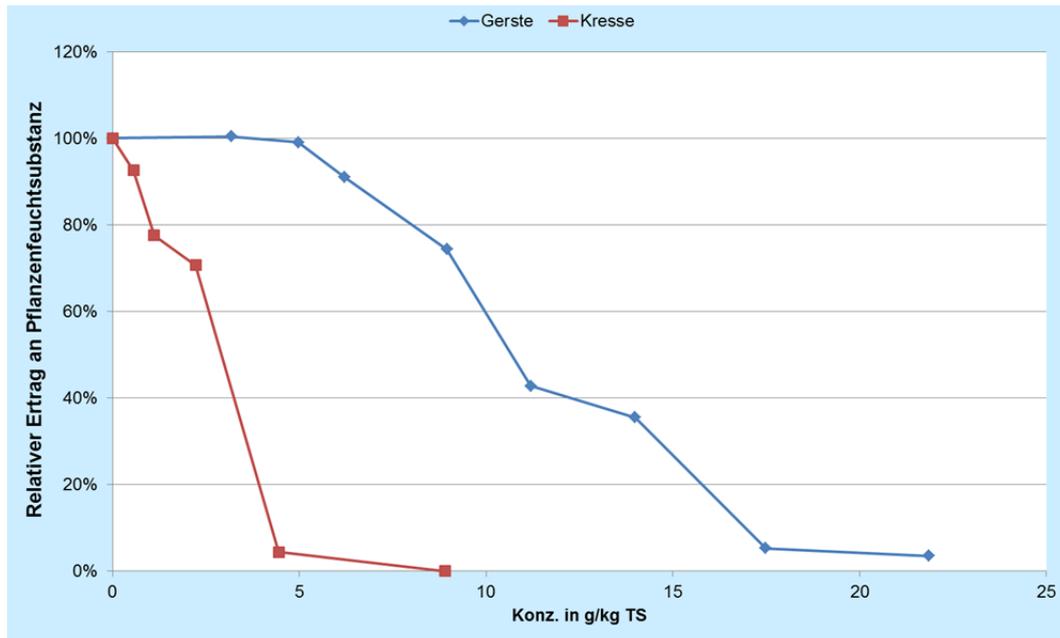


Abbildung 4.31: Phytotoxische Wirkung von Pelargonsäure auf Kresse und Sommergerste

Für die Pflanzentests wurde für die auf < 10 mm abgeseibte EE0 ermittelt, welche Wassermenge zum Einstellen einer optimalen Ausgangsfeuchte erforderlich ist. In entsprechende Volumina an Reinstwasser wurden Aliquote der Nanomaterial-Suspensionen dosiert. Die Dosierungen wurden dabei so gewählt, dass in den befeuchteten Kultursubstraten die angestrebten Nanomaterialkonzentrationen (in mg Nanomaterial pro kg Trockensubstanz EE0) vorlagen. Jede zu prüfende Nanomaterialkonzentration wurde mit 3 Parallelansätzen untersucht, die jeweils aus derselben Nanomaterial-EE0-Mischung bestückt wurden¹⁹. Je 40 Samen wurden pro Pflanztopf eingesetzt. Kressesamen wurden mit 60 mL Quarzsand, Gerstesamen mit 20 % der EE0-Mischung und 60 mL Quarzsand abgedeckt. Jeder Ansatz wurde mit 50 mL einer Volldüngergebrauchslösung (Algoflash; N-Dosis von 120 mg N/Pflanztopf) befeuchtet. Anschließend wurden die Ansätze bis zu 16 Tage bei Raumtemperatur 13 h/d mit 3.000 Lux versorgt; Wasserverluste wurden durch Gießen mit deionisiertem Wasser ausgeglichen.

Zur Beurteilung der Einflüsse der Prüfsubstanzen wurden das visuelle Wuchsbild, die Anzahl gekeimter Samen sowie die Erträge der Feucht- und Trockensubstanzen der Indikatorpflanzen ausgewertet.

¹⁹ Für 3 Parallelansätze wurden 1,5 L EE0 (500 g FS; 240 g TS) mit 250 mL Flüssigkeit (Reinstwasser bzw. Nanomaterialsuspension) versetzt und auf 3 Pflanztöpfe aufgeteilt.

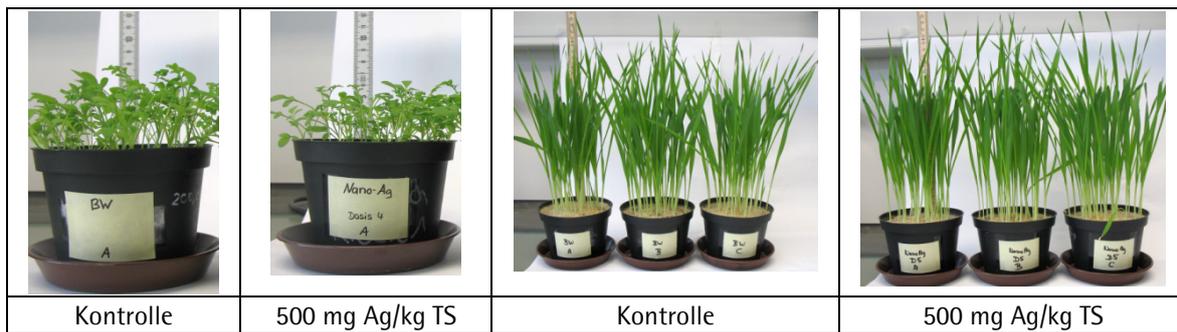


Abbildung 4.32: Vergleich der Wuchsbilder von Kontrollansätzen und von Ansätzen mit 500 mg Nano-Ag/kg TS, links: Kresse; rechts: Sommergerste

Tabelle 4.4: Erträge an Frischsubstanz der Indikatorpflanzen (Mittelwert aus je 3 Parallelen) in Nano-Ag-dotierter EEO

Nano-Ag	mg/kg TS	0	31,3	62,5	125	250	500
Kresse	g FS	4,80	4,35	4,23	3,86	4,23	3,83
	%	100 %	91 %	88 %	80 %	88 %	80 %
Sommergerste	g FS	12,84	12,98	13,30	12,92	13,41	12,56
	%	100 %	101 %	104 %	101 %	104 %	98 %

Abbildung 4.32 dokumentiert, dass das Wachstum der Sommergerste selbst bei Dosierungen von 500 mg Ag/kg TS keine visuell erkennbaren Unterschiede zeigte. Bei der Indikatorpflanze Kresse war dagegen visuell eine deutliche Minderung des Wachstums erkennbar. Dies bestätigen auch die Auswertungen der Frischsubstanzenerträge (Tabelle 4.4), die bereits bei Dosierungen von 31,3 mg Ag/kg TS reduzierte Biomasserträge für die Indikatorpflanze Kresse andeuten. Im betrachteten Konzentrationsbereich hatte die Dosiswirkungskurve jedoch nur einen sehr flachen Verlauf; steigende Dosierungen bewirkten keine deutliche Minderung des Biomassertrags (Abbildung 4.33). Die Auswertungen zeigen jedoch, dass die 90 %-Konfidenzbereiche der Frischmasseerträge der Kresse bei Dosierungen von 62,5, 125 und 500 mg Nano-Ag/kg TS unterhalb des Streubereichs der Kontrollansätze lagen. Die Streubereiche der Frischmasseerträge der Sommergerste waren dagegen bei allen Nano-Ag-Dosierungen nicht unterscheidbar.

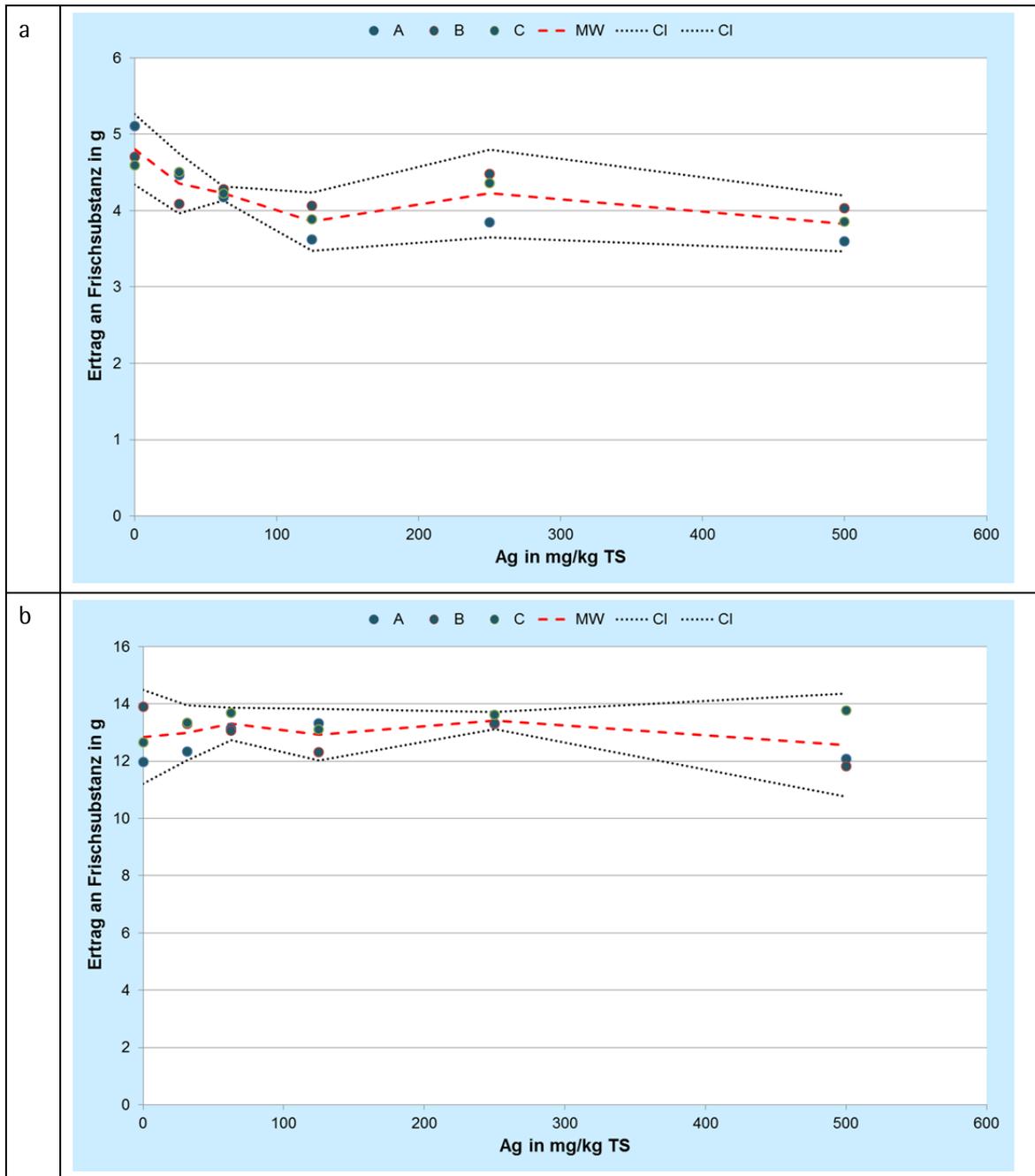


Abbildung 4.33: Auswertung der Erträge an Frischsubstanz für Kresse (a) und Sommergerste (b) für Ansätze mit bis zu 500 mg/kg TS Nano-Ag; Einzel- und Mittelwerte sowie 90 %-Konfidenzbereiche der Mittelwerte

Ähnliche Befunde ergaben Untersuchungen mit AgPure W5. Bei diesem Produkt waren in einem Milliliter rd. 50 mg Ag-Nanopartikel suspendiert. Untersucht wurden Dosierungen von bis zu 4,5 mL des Produktes pro kg TS bzw. bis zu 226 mg Ag/kg TS des Kultursubstrates.

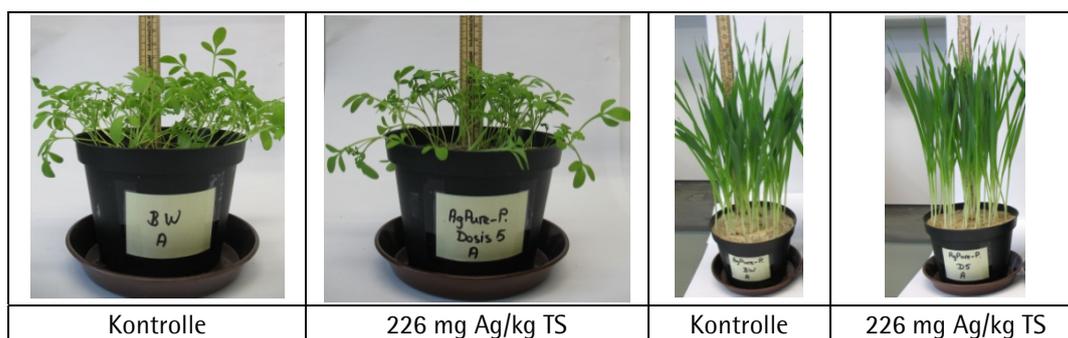


Abbildung 4.34: Vergleich der Wuchsbilder von Kontrollansätzen und von Ansätzen mit 226 mg AgPure-Ag/kg TS, links: Kresse; rechts: Sommergerste

Tabelle 4.5: Erträge an Frischsubstanz der Indikatorpflanzen (Mittelwert aus je 3 Parallelen) in AgPure W5-dotierter EEO

AgPure-Ag	mg/kg TS	0	14,1	28,3	56,5	113	226
Kresse	g FS	4,26	4,04	3,96	3,93	3,77	3,34
	%	100 %	95 %	93 %	92 %	89 %	78 %
Sommergerste	g FS	14,93	14,43	14,35	14,43	14,66	12,62
	%	100 %	97 %	96 %	97 %	98 %	85 %

Das Wuchsbild der Kresse- und Gerstepflanzen zeigte nur bei der höchsten Dosierung eine geringe Minderung des Ertrags (Abbildung 4.34). Die quantitativen Auswertungen in Tabelle 4.5 und Abbildung 4.35 zeigen wiederum, dass steigende Dosierungen nur einen geringen Einfluss auf die Frischmasseeerträge der Indikatorpflanzen hatten. Die Daten zeigen für die Indikatorpflanze Kresse im Mittel zwar einen mit steigender Ag-Dosierung stärker werdenden Rückgang der Erträge. Die Streubereiche der Daten zeigen jedoch, dass nur der 90 %-Konfidenzbereich der Ansätze mit der höchsten Ag-Dosierung (226 mg/kg TS) vom Streubereich der Kontrollwerte knapp unterscheidbar war. Diese Aussage trifft auch für die mit der Indikatorpflanze Gerste erzielten Ergebnisse zu.

Bei den anderen Prüfsubstanzen war bei den höchsten überprüften Dosierungen visuell kein Einfluss der zugesetzten Nanomaterialien auf den Pflanzenertrag zu erkennen (Abbildung 4.36). Bei den Prüfungen sind die Dosierungen an Nano-CuO und -ZnO in den maximal nach Bioabfallverordnung erlaubten Schwermetallkonzentrationen eingesetzt worden. Aber auch bei den in wesentlich höheren Konzentrationen untersuchten Nano-MgO (3.020 mg/kg TS), Nano-TiO₂ und MWCNT (beide bis 8.000 mg/kg TS) sind keine visuell erkennbaren Einflüsse auf das Wachstum der Indikatorpflanzen Kresse und Sommergerste festgestellt worden.

Zahlreiche Nanomaterialien sind inzwischen auf phytotoxische Wirkungen untersucht worden (Ma et al., 2010a, b; Lee et al., 2010). Die beobachteten Wirkungen waren dabei sowohl vom untersuchten Nanomaterial als auch von der verwendeten Pflanzenart abhängig. Stampoulis et al. (2009) haben darauf hingewiesen, dass phytotoxische Wirkungen stark von den Prüfbedingungen abhängen. Dementsprechend beobachteten Lee et al. (2012) phytotoxische Wirkungen von Ag-Nanopartikeln, wenn sie auf die in Agar gezüchteten Pflanzen einwirkten; bei einer Kultivierung im Boden war keine schädigende Wirkung zu beobachten.

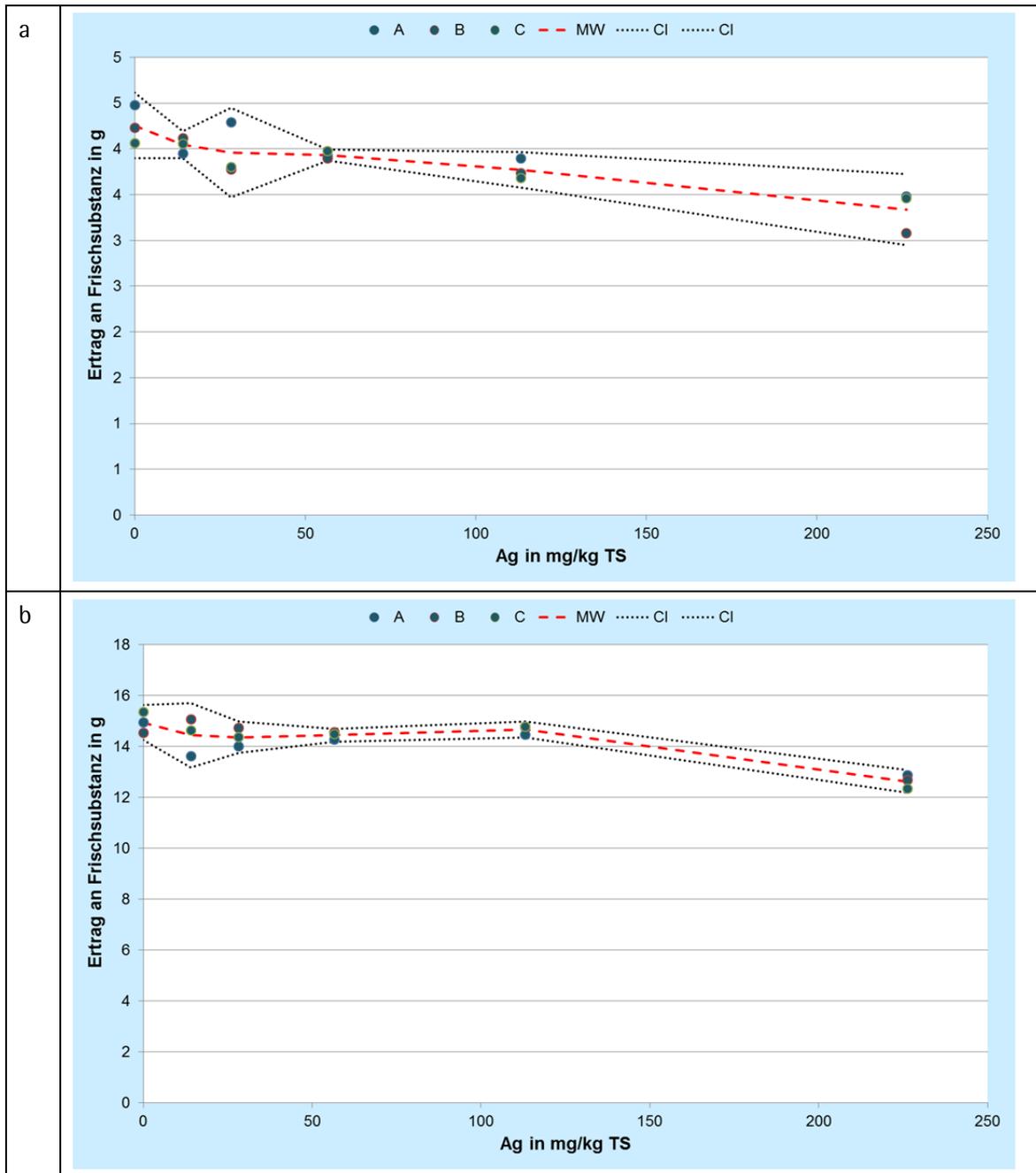


Abbildung 4.35: Auswertung der Erträge an Frischsubstanz für Kresse (a) und Sommergerste (b) für Ansätze mit bis zu 226 mg AgPure-Ag/kg TS; Einzel- und Mittelwerte sowie 90 %-Konfidenzbereiche der Mittelwerte

Nano-CuO				
	Kontrolle	125 mg/kg TS	Kontrolle	125 mg/kg TS
Nano-ZnO				
	Kontrolle	500 mg/kg TS	Kontrolle	500 mg/kg TS
Nano-MgO				
	Kontrolle	3.020 mg/kg TS	Kontrolle	3.020 mg/kg TS
Nano-TiO ₂				
	Kontrolle	8.000 mg/kg TS	Kontrolle	8.000 mg/kg TS
MWCNT				
	Kontrolle	3.020 mg/kg TS	Kontrolle	3.020 mg/kg TS

Abbildung 4.36: Vergleich der Wuchsbilder Kresse (links) und Sommergerste (rechts)

Auch Dimkpa et al. (2013) und Yin et al. (2012) wiesen eine stärkere Hemmwirkung von Ag-Nanopartikeln nach, wenn diese direkt über die Wasserphase auf die Pflanzen einwirkten. Auch wenn im Boden vorhandene Nanomaterialien das Wachstum vieler Pflanzen erst bei hohen Dosierungen zu beeinflussen scheinen, sollten die Wechselwirkungen von Nanomaterialien und Pflanzen wegen der möglichen Aufnahme und Akkumulation in Kulturpflanzen beachtet werden (Geisler-Lee et al, 2012; Song et al., 2013). Colman et al. (2013) beobachteten zudem Störungen des Wachstums einzelner Pflanzenarten und der mikrobiellen Bodenflora, wenn vergleichsweise geringe Konzentrationen von Ag-Nanopartikeln in organischen Düngemitteln („biosolids“) enthalten waren.

5. Literatur

- Aitken, R.J.; Hankin, S.M.; Ross, B.; Tran, C.L.; Stone, V.; Fernandes, T.F.; Donaldson, K.; Duffin, R.; Chaudhry, O.; Wilkins, T.A.; Wilkins, S.A.; Levy, L.S.; Rocks, S.A.; Maynard, A. (2009): EMERGNANO: A review of completed and near completed environment, health and safety research on nanomaterials and nanotechnology. Defra Project CB0409; Report TM/09/01
- Allianz u. OECD (2005): Small sizes that matter: Opportunities and risks Nanotechnologies - Report in cooperation with the OECD International Futures Programme.
http://www.allianz.com/migration/images/pdf/saobj_796424_allianz_study_nanotechnology_engl.pdf
- BAuA/BfR/UBA (2007): Nanotechnologie: Gesundheits- und Umweltrisiken von Nanomaterialien – Forschungsstrategie –; Dezember 2007
- Beck, R. (2010): Geruchsbeschwerden im Umfeld von Abfälle verarbeitenden Biogasanlagen. Bayerische Immissionsschutztagung 2010, Bayerisches Landesamt für Umwelt, Augsburg, 16./17. Juni
- BMBF (2008): Nanopartikel - kleine Dinger, große Wirkung - Chancen und Risiken
- Brody, A.L.; Bugusu, B.; Han, J.H.; Koelsch Sand, C.; McHugh, T.H. (2008): Innovative Food Packaging Solutions - Scientific Status Summary. *Journal of Food Science*, 73, 8, R107-R116
- Buzea, C.; Pacheco Blandino, I.I.; Robbie, K. (2007): Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2, 4, MR17 - MR172
- Cedeño-Mattei, Y.; Reyes, M.; Perales-Pérez, O.; Román, F.R. (2013): Size-Controlled Synthesis of MgO Nanoparticles and the Assessment of Their Bactericidal Capacity. *MRS Proceedings* 1547
- Chai, Y.; Chu, F.; Kolter, R.; Losick, R. (2008): Bistability and biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 67, 2, 254-263
- Chen, Y.; Cheng, J.J.; Creamer, K.S. (2008): Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99, 10, 4044-4064
- Cheung, H.N.B.; Huang, G.H.; Yu, H. (2010): Microbial-growth inhibition during composting of food waste: Effects of organic acids. *Bioresource Technology*, 101, 15, 5925-5934
- Cioffi, N.; Rai, M. (2012): Nano-antimicrobials. Progress and prospects. Berlin, New York: Springer
- Colman, B.P.; Arnaout, C.L.; Anciaux, S.; Gunsch, C.K.; Hochella, M.F.; Kim, B.; Lowry, G.V.; McGill, B.M.; Reinsch, B.C.; Richardson, C.J.; Unrine, J.M.; Wright, J.P.; Yin, L.; Bernhardt, E.S. u. Johnson, S.J. (2013): Low Concentrations of Silver Nanoparticles in Biosolids Cause Adverse Ecosystem Responses under Realistic Field Scenario. *PLoS ONE*, 8, 2, e57189
- De Azeredo, H.M.C. (2009): Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42, 9, 1240-1253
- Dimkpa, C.O.; McLean, J.E.; Martineau, N.; Britt, D.W.; Haverkamp, R.; Anderson, A.J. (2013): Silver Nanoparticles Disrupt Wheat (*Triticum aestivum* L.) Growth in a Sand Matrix. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 2, 1082-1090
- DIN EN 12353 - 2006: Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Aufbewahrung von Testorganismen für die Prüfung der bakteriziden, mykobakteriziden, sporiziden und fungiziden Wirkung
- Duncan, T.V. (2011): Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 363, 1, 1-24
- El Badawy, A.M.; Silva, R.G.; Morris, B.; Scheckel, K.G.; Suidan, M.T.; Tolaymat, T.M. (2011): Surface Charge-Dependent Toxicity of Silver Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 1, 283-287
- Fangrat, V. (2013): Prüfung der Phytotoxizität von Nanomaterialien mit Kressepflanzen. Bachelorarbeit, Hochschule Augsburg, Fachbereich Maschinenbau
- Federspiel, G. (2012): Einfluss ausgewählter Nanomaterialien auf die Atmungsaktivität von Kompost, Diplomarbeit, Hochschule Augsburg, Fachbereich Maschinenbau
- Fomin, A.; Oehlmann, J.; Markert, B. (2009): Praktikum zur Ökotoxikologie. Grundlagen und Anwendungen biologischer Testverfahren. Wiley
- Gallenkemper, B.; Becker, G.; Kötter, A. (1993): Bewertungskriterien für Qualität und Rottestadium von Bioabfallkompost unter Berücksichtigung der verschiedenen Anwendungsbereiche. BMFT-Statusseminar: Neue Techniken zur Kompostierung - Verwertung auf landwirtschaftlichen Flächen - Teilvorhaben 7

- Galloway, T. (2008): Royal Commission on Environmental Pollution – Study of Novel Materials: Toxicology literature review. Final report, March 2008
- Ge, Y.; Schimel, J.P.; Holden, P.A. (2011): Evidence for Negative Effects of TiO₂ and ZnO Nanoparticles on Soil Bacterial Communities. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 4, 1659-1664
- Ge, Y.; Schimel, J.P., Holden, P.A. (2012): Identification of Soil Bacteria Susceptible to TiO₂ and ZnO Nanoparticles. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 18, 6749-6758
- Geisler-Lee, J.; Wang, Q.; Yao, Y.; Zhang, W.; Geisler, M.; Li, K. et al. (2012): Phytotoxicity, accumulation and transport of silver nanoparticles by *Arabidopsis thaliana*. *Nanotoxicology*; doi:10.3109/17435390.2012.658094
- Girish, C.M.; Sasidharan, A.; Gowd, G.S.; Nair, S.; Koyakutty, M. (2013): Confocal Raman Imaging Study Showing Macrophage Mediated Biodegradation of Graphene In Vivo. *Advanced Healthcare Materials*: n/a.
- Gogos, A.; Knauer, K.; Bucheli, T.D. (2012): Nanomaterials in Plant Protection and Fertilization: Current State, Foreseen Applications, and Research Priorities. *J. Agric. Food Chem.*, 60, 39, 9781-9792
- Greßler, S.; Gzásó, A.; Simkó, M.; Nentwich, M.; Fiedeler, U. (2008): Nanopartikel und nanostrukturierte Materialien in der Lebensmittelindustrie. Hg. v. Institut für Technikfolgen-Abschätzung. Wien (NanoTrust-Dossier, 4)
- Gupta, A.; Phung, L.T.; Taylor, D.E.; Silver, S. (2001): Diversity of silver resistance genes in IncH incompatibility group plasmids. *Microbiology*, 147, 3393-3402
- Haggstrom, J.A.; Klabunde, K.J.; Marchin, G.L. (2010): Biocidal properties of metal oxide nanoparticles and their halogen adducts. *Nanoscale*, 2, 399-405
- Handy, R.D.; Owen, R.; Valsami-Jones, E. (2008): The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. *Ecotoxicology*, 17, 315-325
- Hashimoto, K.; Irie, H.; Fujishima, A. (2005): TiO₂-Photocatalysis: A Historical Overview and Future Prospects. *Japanese Journal of Applied Physics*, 44, 12, 8269-8285
- Helland, A. (2004): Nanoparticles: A Closer Look at the Risks to Human Health and the Environment – Perceptions and Precautionary Measures of Industry and Regulatory Bodies in Europe. Thesis, The International Institute for Industrial Environmental Economics, Lund, Sweden
- Hett, A. (2008): Nanotechnologie: Kleine Teile – große Zukunft? Auswirkungen auf die Versicherung. *J. Verbr. Lebensm.*, 3, 302-308
- Hoppenheidt, K.; Kottmair, A.; Mücke, W.; Puk, R.; Rössler, E. (2000): Influence of Organofluorine-treated Textiles on Biowaste Composting. *Textile Research Journal*, 70, 1, 84-90
- Hoppenheidt, K.; Lehmann, S.; Grganovic, J.; Krist, H. (2009): Biofilme in PKW-Klimaanlagen: Ursachenermittlung und Abwehrmaßnahmen. bifa-Text Nr. 44
- Hu, W.; Peng, C.; Luo, W.; Lv, M.; Li, X.; Di, L.; Huang, Q.; Fan, C. (2010): Graphene-Based Antibacterial Paper. *ACS Nano*, 4, 7, 4317-4323
- Huang, L.; Li, D.; Lin, Y.; Evans, D.; Duan, X. (2005): Influence of nano-MgO particle size on bactericidal action against *Bacillus subtilis* var. *niger*. *Chinese Science Bulletin*, 50, 6, 514-519
- Hultman, J (2009): Microbial diversity in the municipal composting process and development of detection methods. Dissertation, University of Helsinki
- Hultman, J.; Vasara, T.; Partanen, P.; Kurola, J.; Kontro, M. H.; Paulin, L.; Auvinen, P.; Romantschuk, M. (2010): Determination of fungal succession during municipal solid waste composting using a cloning-based analysis. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 2, 472-487
- ISO 11734 (1998) Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der vollständigen anaeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Verbindungen im Faulschlamm – Verfahren durch Messung der Biogasproduktion
- ISO 13641-2 (2003): Water quality – Determination of inhibition of gas production of anaerobic bacteria – Part 2: Test for low biomass concentrations
- Jin, T.; He, Y. (2011): Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Nanoparticle Research*, 13, 12, 6877-6885
- Jones, N.; Ray, B.; Ranjit, K.T.; Manna, A.C. (2008): Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 279, 1, 71-76

- Kang, S.; Herzberg, M.; Rodrigues, D.F.; Elimelech, M. (2008): Antibacterial Effects of Carbon Nanotubes: Size Does Matter! *Langmuir*, 24, 13, 6409–6413
- Kang, S.; Pinault, M.; Pfefferle, L.D.; Elimelech, M. (2007): Single-Walled Carbon Nanotubes Exhibit Strong Antimicrobial Activity. *Langmuir*, 23, 17, 8670–8673
- Kasemets, K.; Ivask, A.; Dubourguier, H.-C.; Kahru, A. (2009): Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxicology in Vitro*, 23, 6, 1116–1122
- Keller, A.A.; McFerran, S.; Lazareva, A.; Suh, S. (2013): Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *Journal of Nanoparticle Research*, 15, 6
- Khodakovskaya, M.; Dervishi, E.; Mahmood, M.; Xu, Y.; Li, Z.; Watanabe, F.; Biris, A.S. (2009): Carbon Nanotubes Are Able To Penetrate Plant Seed Coat and Dramatically Affect Seed Germination and Plant Growth. *ACS Nano*, 3, 10, 3221–3227
- Kittler, S.; Greulich, C.; Gebauer, J.S.; Diendorf, J.; Treuel, L.; Ruiz, L. et al. (2010): The influence of proteins on the dispersability and cell-biological activity of silver nanoparticles. *J. Mater. Chem*, 20, 3, 512–518
- Kott, Ralf (2013): Einfluss von Nanopartikeln auf die Gärung von *Saccharomyces cerevisiae*. Bachelorarbeit, Hochschule Augsburg, Fachbereich Maschinenbau
- Krug, H.F. (2005): Auswirkungen nanotechnologischer Entwicklungen auf die Umwelt. *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung*, 17, 4, 223–230
- Kuzma, J.; Verhage, P. (2006): Nanotechnology in Agriculture and Food. Herausgegeben von PEN – The Project on Emerging Nanotechnologies
- Lang, J.; Meyer-Plath, A. (2013): Charakterisierung von nanoskaligen Eigenschaften chemischer Stoffe als Grundlage für die Regulierung im Rahmen der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 (REACH). BAuA-Bericht F 2261
- Lee, W.-M.; Kwak, J.I., An, Y.-J. (2012): Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: media effect on phytotoxicity. *Chemosphere*, 86, 5, 491–499
- Lee; C.W.; Mahendra, S.; Zodrow, K.; Li, D.; Tsai, Y.-C.; Braam, J.; Alvarez, P.J.J. (2010): Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29, 3, 669–675
- Levard, C.; Hotze, E.M.; Lowry, G.V., Brown, G.E. (2012): Environmental Transformations of Silver Nanoparticles: Impact on Stability and Toxicity. *Environ. Sci. Technol.*, 46, 13, 6900–6914
- LfU – Bayerisches Landesamt für Umweltschutz (Hrsg.) (2003): Kompostierung von Bioabfällen mit anderen organischen Abfällen, Augsburg
- Lima e Silva, A. (2012): Heavy metal tolerance (Cr, Ag and Hg) in bacteria isolated from sewage. *Braz. J. Microbiol.*, 43, 4 1620–1631
- Liu, S.; Zeng, T.H.; Hofmann, M.; Burcombe, E.; Wei, J.; Jiang, R.; Kong, J.; Chen, Y. (2011): Antibacterial Activity of Graphite, Graphite Oxide, Graphene Oxide, and Reduced Graphene Oxide: Membrane and Oxidative Stress. *ACS Nano*, 5, 9, 6971–6980
- Luna-delRisco, M.; Orupöld, K.; Dubourguier, H.-C. (2011): Particle-size effect of CuO and ZnO on biogas and methane production during anaerobic digestion. *Journal of Hazardous Materials*, 189, 1–2, 603–608
- Ma, R.; Levard, C.; Michel, F.M.; Brown, G.E.; Lowry, G.V. (2013): Sulfidation Mechanism for Zinc Oxide Nanoparticles and the Effect of Sulfidation on Their Solubility. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 6, 2527–2534
- Ma, X.; Geiser-Lee, J.; Deng, Y.; Kolmakov, A. (2010a): Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment*, 408, 16, 3053–3061
- Ma, Y.; Kuang, L.; He, X.; Bai, W.; Ding, Y.; Zhang, Z.; Zhao, Y.; Chai, Z. (2010b): Effects of rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants. *Chemosphere*, 78, 3, 273–279
- MacCuspie, R. (2011): Colloidal stability of silver nanoparticles in biologically relevant conditions. *Journal of Nanoparticle Research*, 13, 7, 2893–2908
- Miralles, P.; Church, T.L.; Harris, A.T. (2012): Toxicity, Uptake, and Translocation of Engineered Nanomaterials in Vascular plants. *Environ. Sci. Technol.*, 46, 17, 9224–9239
- Möller, M.; Eberle, U.; Hermann, A. (2009): Nanotechnologie im Bereich der Lebensmittel. Hrsg.: TA-SWISS Zentrum für Technologiefolgen-Abschätzung: vdf Hochschulverlag

- Möller, M.; Hermann, A.; Gross, R.; Diesner, M.-O.; Küppers, P.; Luther, W.; Malanowski, N.; Haus, D.; Zweck, A. (2013): Nanomaterialien: Auswirkungen auf Umwelt und Gesundheit. Vdf Hochschulverlag
- Mu, H.; Chen, Y.; Xiao, N. (2011): Effects of metal oxide nanoparticles (TiO₂, Al₂O₃, SiO₂ and ZnO) on waste activated sludge anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 102, 22, 10305-10311
- Musee, N. (2011): Nanowastes and the environment: Potential new waste management paradigm. *Environment international*, 37, 1, 112-128
- NanoKommission (2008): Verantwortlicher Umgang mit Nanotechnologien – Bericht und Empfehlungen der NanoKommission der deutschen Bundesregierung 2008. Quelle: www.bmu.de/nanokommission
- NNI – National Nanotechnology Initiative (2003): Nanotechnology and the Environment. Report of a National Nanotechnology Initiative Workshop, 8-9.05.2003, Arlington
- Oberdörster, G.; Oberdörster, E.; Oberdörster, J. (2005): Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. *EHP*, 113, 7, 823-839
- OECD (2012a): GUIDANCE ON SAMPLE PREPARATION AND DOSIMETRY FOR THE SAFETY TESTING OF MANUFACTURED NANOMATERIALS. ENV/JM/MONO(2012)40
- OECD (2012b): SAFE MANAGEMENT OF NANOWASTE. OECD-Workshop hosted by the Federal Ministry of Environment, Nature Conservation and Nuclear Safety (BMU) of Germany, Munich, 9-11 May 2012
- Partanen, P.; Hultman, J.; Paulin, L.; Auvinen, P.; Romantschuk, M. (2010): Bacterial diversity at different stages of the composting process. *BMC Microbiology*, 10, 1, 94
- Reinsch, B.C.; Levard, C.; Li, Z.; Ma, R.; Wise, A.; Gregory, K.B.; Brown, G.E.; Lowry, G.V. (2012): Sulfidation of Silver Nanoparticles Decreases Escherichia coli Growth Inhibition. *Environ. Sci. Technol.*, 46, 13, 6992-7000
- Ren, G.; Hu, D.; Cheng, E.W.C.; Vargas-Reus, M.A.; Reip, P.; Allaker, R.P. (2009): Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33, 6, 587-590
- Rodrigues, D.F.; Elimelech, M. (2010): Toxic Effects of Single-Walled Carbon Nanotubes in the Development of E. coli Biofilm. *Environ. Sci. Technol.*, 44, 12, 4583-4589
- Rousk, J.; Ackermann, K.; Curling, S.F.; Jones, D.L.; Mormile, M.R. (2012): Comparative Toxicity of Nanoparticulate CuO and ZnO to Soil Bacterial Communities. *PLoS ONE*, 7, 3, e34197
- Rubach, J. (2010): Umweltrisiken von Nanomaterialien – Wachstumshemmtest mit Bacillus subtilis. Diplomarbeit, Hochschule Augsburg, Fachbereich Maschinenbau
- Ruparelia, J.P.; Chatterjee, A.K.; Duttagupta, S.P.; Mukherji, S. (2008): Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta biomaterialia*, 4, 3, 707-716
- Salas, E.C.; Sun, Z.; Lüttge, A.; Tour, J.M. (2010): Reduction of Graphene Oxide via Bacterial Respiration. *ACS Nano*, 4, 8, 4852-4856
- Selke, S. E. (2007): Nanotechnology and Agrifood Packaging: Applications and Issues. Presented at the annual meeting of the American Association for the Advancement of Science, session on What is Agrifood Nanotechnology? Technical, Ethical, Legal, and Social Questions
- Simon, P.; Chaudhry, Q.; Bakoš, D. (2008): Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food – a physicochemical view. *Journal of Food and Nutrition Research*, 47, 3, 105-113
- Simon-Deckers, A.; Loo, S.; Mayne-Lâhermite, M.; Herlin-Boime, N.; Menguy, N.; Reynaud, C.; Gouget, B.; Carriere, M. (2009): Size-, Composition- and Shape-Dependent Toxicological Impact of Metal Oxide Nanoparticles and Carbon Nanotubes toward Bacteria. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 21, 8423-8429
- Song, U.; Jun, H.; Waldman, B.; Roh, J.; Kim, Y.; Yi, J.; Lee, E.J. (2013): Functional analyses of nanoparticle toxicity: A comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 93, 60-67
- SRU – Sachverständigenrat für Umweltfragen (2011): Vorsorgestrategien für Nanomaterialien. Sondergutachten 2011
- Stampoulis, D.; Sinha, S.K.; White, J.C. (2009): Assay-dependent phytotoxicity of nano-particles to plants. *Environ. Sci. Technol.* 43, 24, 9473-9479

- Stankus, D.P.; Lohse, S.E.; Hutchison, J.E.; Nason, J.A. (2011): Interactions between Natural Organic Matter and Gold Nanoparticles Stabilized with Different Organic Capping Agents. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 8, 3238-3244
- Stoimenov, P.K.; Klinger, R.L.; Marchin, G.L.; Klabunde, K.J. (2002): Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents. *Langmuir*, 18, 17, 6679-6686
- Sundberg, C.; Jönsson, H. (2005): Process inhibition due to organic acids in fed-batch composting of food waste- influence of starting culture. *Biodegradation*, 16, 3, 205-213
- Suppan, S. (2013): Nanomaterials in Soil – Our Future Food Chain? http://www.iatp.org/files/2013_04_23_Nanotech_SS.pdf
- Taniguchi, N. (1974): On the Basic Concept of 'Nano-Technology'. Proc. Intl. Conf. Prod. London, Part II, British Society of Precision Engineering
- Taurozzi, J.S.; Hackley, V.A.; Wiesner, M.R. (2010): Ultrasonic dispersion of nanoparticles for environmental, health and safety assessment – issues and recommendations. *Nanotoxicology*, Online verfügbar unter <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/17435390.2010.528846>
- VDI 4630 (2006): Vergärung organischer Stoffe – Substratcharakterisierung, Probenahme, Stoffdatenerhebung, Gärversuche. Richtlinie
- Visser, W.; Scheffers, W.A.; Batenburg-van der Vegte, W.H.; van Dijken, J.P. (1990): Oxygen requirements of yeasts. *Applied and environmental microbiology*, 56,12, 3785-3792
- Walser, T.; Limbach, L.K.; Brogioli, R.; Erismann, E.; Flamigni, L.; Hattendorf, B.; Juchli, M.; Krumeich, F.; Ludwig, C.; Prikopsky, K.; Rossier, M.; Saner, D.; Sigg, A.; Hellweg, S.; Günther, D.; Stark, W.J. (2012): Persistence of engineered nanoparticles in a municipal solid-waste incineration plant. *Nature Nanotechnology*, 7, 8, 520-524
- Watanabe, K.; Nagao, N.; Toda, T.; Kurosawa, N. (2009): The dominant bacteria shifted from the order "Lactobacillales" to Bacillales; and Actinomycetales during a start-up period of large-scale, completely-mixed composting reactor using plastic bottle flakes as bulking agent. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 5, 803-811
- WHO/FAO (2010): FAO/WHO Expert Meeting on the Application of Nanotechnologies in the Food and Agriculture Sectors: Potential Food Safety Implications: Meeting Report.
- Xiu, Z.-M.; Ma, J.; Alvarez, P.J.J. (2011): Differential Effect of Common Ligands and Molecular Oxygen on Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles versus Silver Ions. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 20, 9003-9008
- Yang, C.; Mamouni, J.; Tang, Y.; Yang, L. (2010): Antimicrobial Activity of Single-Walled Carbon Nanotubes: Length Effect. *Langmuir*, 26, 20, 16013-16019
- Yang, Y.; Chen, Q.; Wall, J.D.; Hu, Z. (2012a): Potential nanosilver impact on anaerobic digestion at moderate silver concentrations. *Water Research*, 46, 4, 1176-1184
- Yang, Y.; Gajaraj, S.; Wall, J.D.; Hu, Z. (2013): A comparison of nanosilver and silver ion effects on bioreactor land-fill operations and methanogenic population dynamics. *Water research*, 47, 10, 3422-3430.
- Yang, Y.; Xu, M.; Wall, J.D.; Hu, Z. (2012b): Nanosilver impact on methanogenesis and biogas production from municipal solid waste. *Waste management*, 32, 5, 816-825
- Yin, L.; Colman, B.P.; McGill, B.M.; Wright, J.P.; Bernhardt, E.S.; Rozhkova, E.A. (2012): Effects of Silver Nanoparticle Exposure on Germination and Early Growth of Eleven Wetland Plants. *PLoS ONE*, 7, 10, e47674.
- Yoon, K.-Y.; Hoon Byeon, J.; Park, J.-H.; Hwang, J. (2007): Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 373, 2-3, 572-575
- Zhang, X.; Yin, L.; Tang, M.; Pu, Y. (2010): Optimized method for preparation of TiO₂ nanoparticles dispersion for biological study. *J Nanosci Nanotechnol*, 10, 8, 5213-5219

Anhang

6.	Anhang.....	66
6.1	Ergänzende Ergebnisdarstellungen zum Abschnitt 4.3.1	66
6.2	Ergänzende Angaben zum Abschnitt 4.3.2	67
6.3	Ergänzende Angaben zum Abschnitt 4.4.1	72
6.3.1	Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen.....	72
6.3.2	Dotierung von Komposten mit Nanomaterialien	74
6.3.3	Ergänzende Angaben zu respirometrischen Untersuchungen	74
6.3.3.1	Einfluss des Wassergehaltes auf die Basisatmung von Kompost	74
6.3.3.2	Einfluss der Substrat-Dosierung auf die Kompostatmung.....	75
6.3.3.3	Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.2	76
6.3.3.4	Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.3	77
6.3.3.5	Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.4	78
6.3.3.6	Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.5	78
6.3.3.7	Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.6	79
6.3.3.8	Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.7	79
6.3.3.9	Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.8	80
6.3.3.10	Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.9	80
6.4	Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.5	81
6.4.1	Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.5.1	81
6.4.2	Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.5.2	84
6.5	Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.6	90
6.5.1	Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.6.1	90
6.5.2	Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.6.2	91
6.5.2.1	Pflanzenwachstumstests mit Kresse.....	91
6.5.2.2	Pflanzenwachstumstests mit Sommergerste.....	95

6. Anhang

6.1 Ergänzende Ergebnisdarstellungen zum Abschnitt 4.3.1

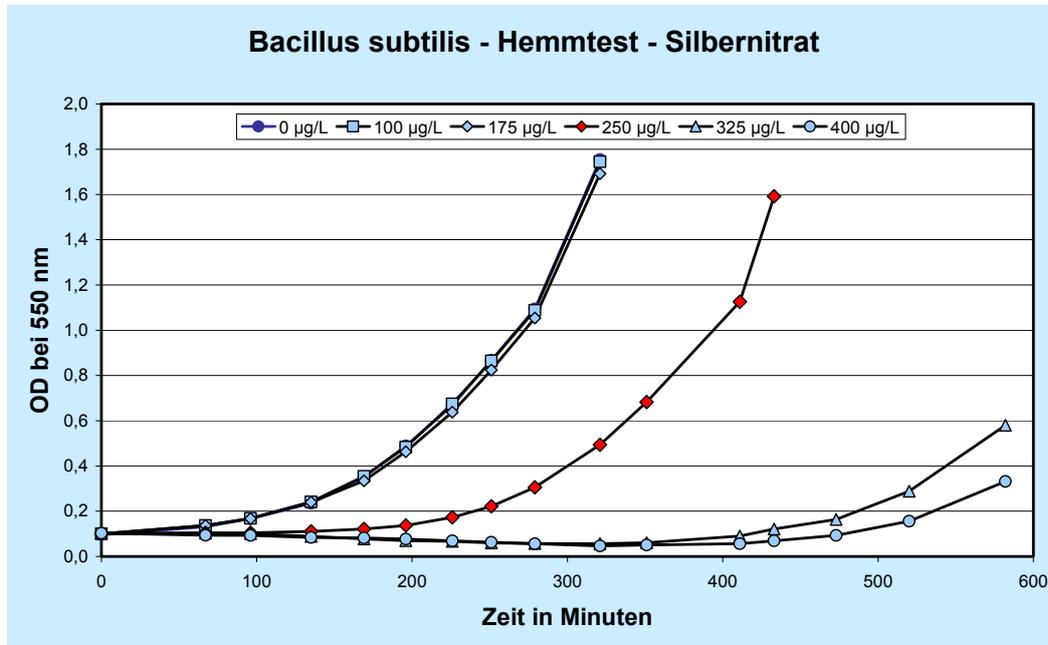


Abbildung 6.1: Wachstumshemmtest mit *Bacillus subtilis* und Silbernitrat

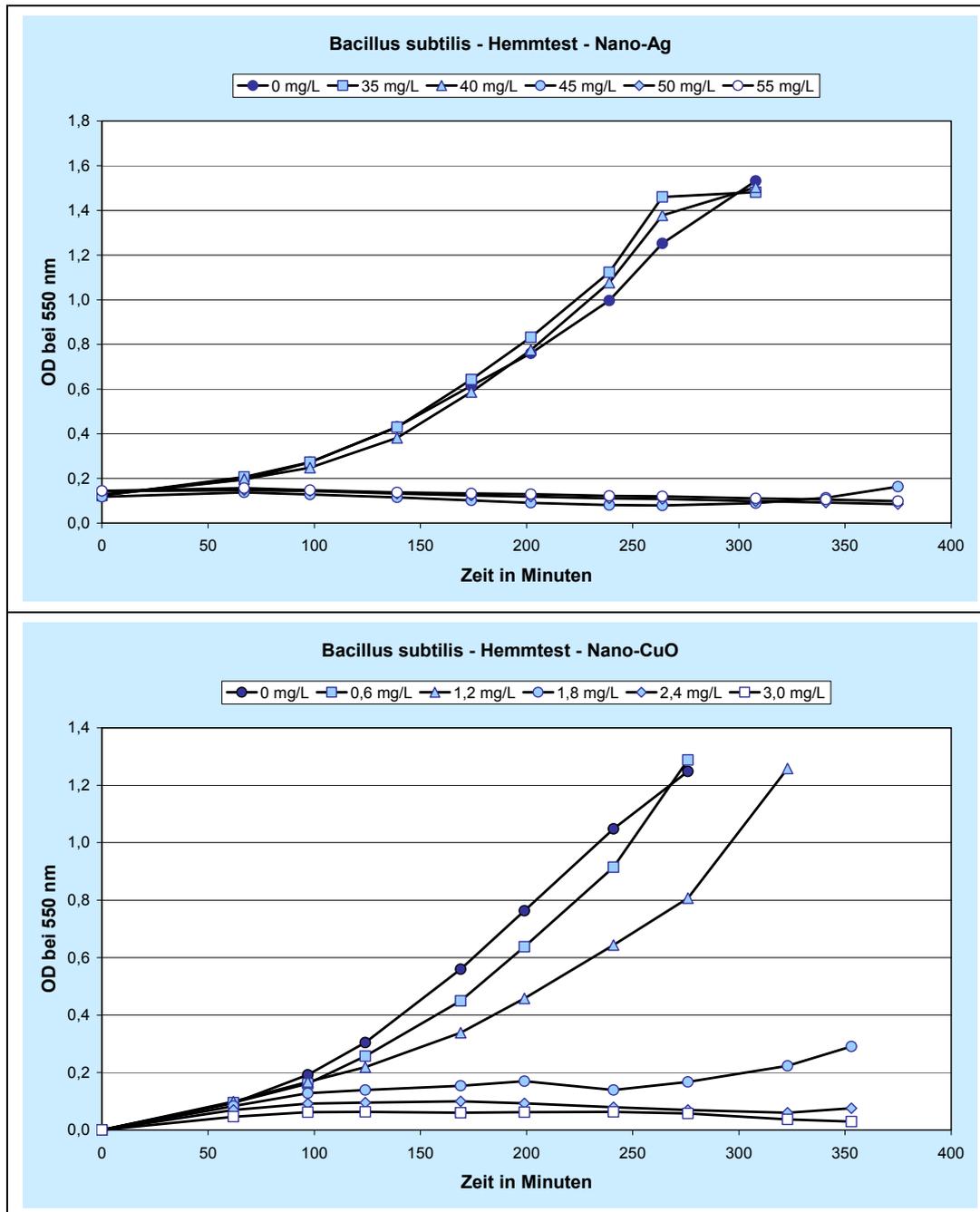


Abbildung 6.2: Wachstumshemmung von *Bacillus subtilis* durch Nano-Ag (oben) und Nano-CuO (unten)

6.2 Ergänzende Angaben zum Abschnitt 4.3.2

Mikrotiterplatten-basierte Wachstumshemmtests wurden wie folgt ausgewertet. Abbildung 6.3 zeigt beispielhaft den zeitlichen Verlauf der Nettotrübungswerte, die vom Mikrotiterplattenreader (BMG Labtech, Fluostar Galaxy) ausgegeben wurden. Von den Bruttomesswerten wurde automatisch der Ausgangswert jedes wells zum Ausgleich von Blindwertschwankungen zwischen den wells subtrahiert. Nach Abschluss der Messreihe wurden die resultierenden Trübungswerte ermittelt (Tabelle 6.1). Anschließend wurde die prozentuale Minderung der Trübungswerte in Abhängigkeit von den dosierten Prüfsubstanzmengen berechnet. Entsprechende grafische Auswertungen zeigt Abbildung 4.6.

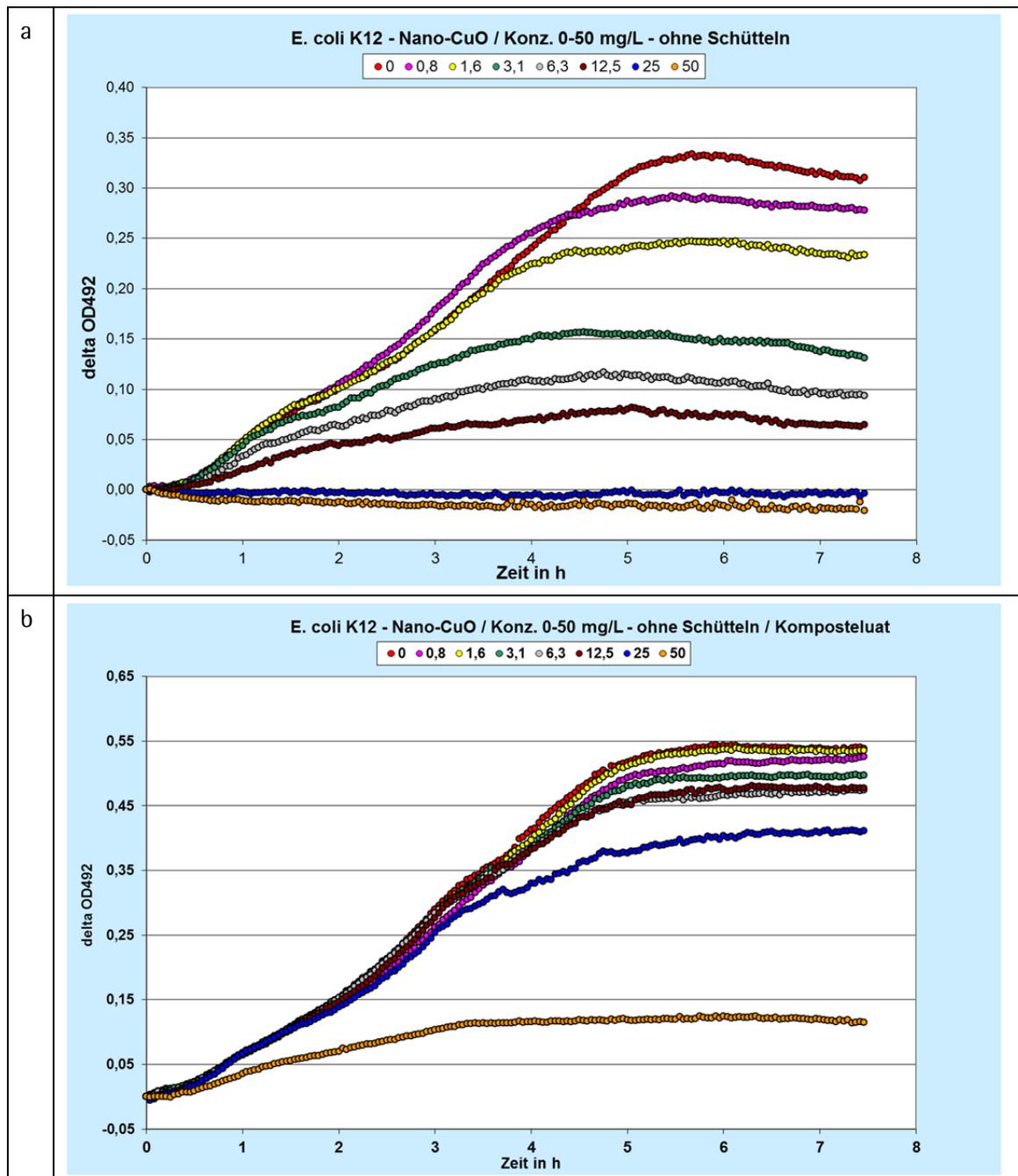


Abbildung 6.3: Zeitlicher Verlauf der Trübungswerte bei Mikrotiterplatten-basierten Wachstumshemmtests: *a*: Wachstum von *E. coli* nach Dosierung von Nano-CuO; *b*: Wachstum von *E. coli* nach Dosierung von Nano-CuO und Zusatz von Komposteluat

Tabelle 6.1: Auswertung der Messdaten aus Abbildung 6.3 für *E. coli* K12 und Nano-CuO

Nano-CuO [mg/L]	Ohne Zusatz OD _{492 nm} *	Hemmung in %	Komposteluat OD _{492 nm} *	Hemmung in %
0	0,315	0 %	0,568	0 %
0,8	0,293	7 %	0,554	2 %
1,6	0,245	22 %	0,562	1 %
3,1	0,137	56 %	0,527	7 %
6,3	0,113	64 %	0,509	10 %
12,5	0,079	75 %	0,495	13 %
25	0,013	96 %	0,432	24 %
50	0,002	99 %	0,123	78 %

*: Differenz der Werte am Ende und am Anfang der Messreihe

Tabelle 6.2: Auswertung der Messdaten für *Bacillus subtilis* YC 775 und AgPure W5 (in mg Ag/L)

AgP-Ag	Kontrolle	CB	MC	ST	BSA	AgP-Ag	Komposteluat
0,0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0,0	0 %
4,4	2 %	-3 %	0 %	-1 %	10 %	2,3	10 %
5,7	-18 %	-10 %	-7 %	10 %	15 %	4,7	7 %
7,3	-32 %	-15 %	-10 %	14 %	73 %	9,4	27 %
9,4	-32 %	-21 %	-16 %	25 %	78 %	18,8	77 %
12,1	-3 %	-32 %	-20 %	84 %	79 %	37,5	80 %
15,6	37 %	-24 %	-23 %	88 %	79 %	75,0	81 %
20,0	97 %	99 %	97 %	95 %	82 %	150,0	90 %

Tabelle 6.3: Auswertung der Messdaten für *E. coli* K12 und AgPure W5 (in mg Ag/L)

AgP-Ag	Kontrolle	CB	MC	ST	BSA	AgP-Ag	Komposteluat
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0	0 %
8,9	-32 %	-33 %	-23 %	-32 %	-16 %	14,2	-42 %
11,4	-31 %	-31 %	-28 %	-23 %	-16 %	19,0	87 %
14,6	-27 %	-40 %	-24 %	-28 %	-15 %	25,3	93 %
18,8	-33 %	-37 %	-54 %	-49 %	-24 %	33,8	93 %
24,2	95 %	94 %	92 %	84 %	-39 %	45,0	95 %
31,1	95 %	91 %	93 %	85 %	52 %	60,0	96 %
40,0	99 %	98 %	97 %	92 %	97 %	80,0	97 %

Tabelle 6.4: Auswertung der Messdaten für *Pichia pastoris* und AgPure W5 (in mg Ag/L)

AgP	Kontrolle	CB	MC	AgP	Stärke	BSA	AgP	Komposteluat
0	0 %	0 %	0 %	0	0 %	0 %	0	0 %
0,6	-23 %	9 %	4 %	8,9	-27 %	2 %	3,5	15 %
1,3	23 %	32 %	29 %	11,9	-51 %	2 %	5,3	92 %
2,5	5 %	27 %	58 %	15,8	-55 %	1 %	7,9	95 %
5,0	33 %	43 %	54 %	21,1	-40 %	-7 %	11,9	95 %
10,0	58 %	72 %	63 %	28,1	28 %	24 %	17,8	97 %
20,0	66 %	86 %	72 %	37,5	45 %	82 %	26,7	95 %
40,0	85 %	100 %	75 %	50,0	59 %	98 %	40,0	98 %

Tabelle 6.5: Auswertung der Messdaten für *Bacillus subtilis* YC775 und Nano-Ag (in mg Ag/L)

Nano-Ag	Kontrolle	CB	MB	ST	BSA	Nano-Ag	Komposteluat
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0	0 %
3,9	8 %	-4 %	-1 %	7 %	-1 %	44	-8 %
7,8	3 %	2 %	6 %	-1 %	-8 %	59	-2 %
15,6	-1 %	4 %	7 %	6 %	-8 %	79	7 %
31,3	25 %	11 %	10 %	40 %	-9 %	105	4 %
62,5	37 %	17 %	14 %	83 %	-14 %	141	-3 %
125,0	81 %	21 %	19 %	93 %	12 %	188	3 %
250,0	101 %	93 %	94 %	100 %	68 %	250	27 %

Tabelle 6.6: Auswertung der Messdaten für *E. coli* K12 und Nano-Ag (in mg Ag/L)

Nano-Ag	Kontrolle	CB	MC	ST	BSA	Komposteluat
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
21,9	-6 %	-7 %	3 %	-8 %	3 %	-2 %
32,9	-5 %	0 %	3 %	-5 %	2 %	0 %
49,4	-2 %	4 %	0 %	-3 %	3 %	1 %
74,1	-5 %	0 %	2 %	-6 %	-1 %	-2 %
111,1	-6 %	2 %	0 %	-8 %	-5 %	2 %
166,7	-9 %	-14 %	4 %	-20 %	-3 %	1 %
250,0	-10 %	-9 %	0 %	-17 %	-13 %	0 %

Tabelle 6.7: Auswertung der Messdaten für *Pichia pastoris* und Nano-Ag (in mg Ag/L)

Nano-Ag	Kontrolle	CB	MC	Nano-Ag	ST	BSA	Komposteluat
0	0 %	0 %	0 %	0	0 %	0 %	0 %
99,1	-6 %	-26 %	-14 %	22	-5 %	-5 %	5 %
115,7	4 %	-15 %	7 %	33	6 %	5 %	34 %
134,9	18 %	0 %	23 %	49	4 %	7 %	46 %
157,4	28 %	11 %	49 %	74	8 %	1 %	38 %
183,7	59 %	73 %	69 %	111	13 %	7 %	84 %
214,3	51 %	93 %	72 %	167	11 %	6 %	92 %
250,0	78 %	100 %	100 %	250	48 %	14 %	96 %

Tabelle 6.8: Auswertung der Messdaten für *Bacillus subtilis* YC775 und Nano-CuO (in mg/L)

Nano-CuO	Kontrolle	CB	MC	ST	BSA	Nano-CuO	Komposteluat
0,0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0	0 %
0,3	7 %	1 %	-1 %	7 %	-1 %	8,9	-13 %
0,5	-5 %	-6 %	-6 %	-1 %	-8 %	11,9	-1 %
1,0	-1 %	1 %	4 %	6 %	-8 %	15,8	7 %
1,7	39 %	34 %	45 %	40 %	-9 %	21,1	19 %
3,1	--	--	--	83 %	-14 %	28,1	26 %
5,6	94 %	96 %	87 %	93 %	12 %	37,5	26 %
10,0	98 %	100 %	96 %	98 %	68 %	50,0	50 %

Tabelle 6.9: Auswertung der Messdaten für *E. coli* K12 und Nano-CuO (in mg/L)

Nano-CuO	Kontrolle	CB	MC	ST	BSA	Nano-CuO	Komposteluat
0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0	0 %
0,2	-12 %	-13 %	-4 %	-15 %	5 %	0,8	2 %
0,3	-11 %	-6 %	-5 %	-15 %	-4 %	1,6	1 %
0,6	-8 %	-3 %	-2 %	-5 %	-4 %	3,1	7 %
1,3	2 %	-1 %	10 %	-4 %	2 %	6,3	10 %
2,5	19 %	9 %	31 %	27 %	-1 %	12,5	13 %
5,0	35 %	27 %	33 %	40 %	26 %	25,0	24 %
10,0	91 %	85 %	72 %	81 %	43 %	50,0	78 %

Tabelle 6.10: Auswertung der Messdaten für *Pichia pastoris* und Nano-CuO (in mg/L)

Nano-CuO	Kontrolle	CB	MC	ST	BSA	Komposteluat
0,0	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
0,3	27 %	0 %	-6 %	56 %	8 %	-1 %
0,6	41 %	29 %	44 %	69 %	7 %	-1 %
1,1	65 %	29 %	72 %	85 %	17 %	0 %
1,9	71 %	43 %	78 %	84 %	34 %	-2 %
3,3	75 %	43 %	86 %	87 %	45 %	-1 %
5,7	78 %	57 %	94 %	90 %	76 %	2 %
10,0	81 %	43 %	65 %	90 %	80 %	-2 %

6.3 Ergänzende Angaben zum Abschnitt 4.4.1

6.3.1 Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen

Abbildung 6.4 - Abbildung 6.11 enthalten die Dokumentation der Auswertungen von orientierenden Wachstumshemmtests. Zu Kulturröhrchen, die ein Glucose-haltiges Mineralmedium enthielten, wurden verschiedene Dosierungen der Prüfsubstanzen hinzugefügt. Nach Animpfung mit einer Kompost-Suspension wurde die Änderung der Trübung als Indikator für Mikroorganismenwachstum bei 25 °C verfolgt. Die Röhrchen enthielten anfangs eine Komposteinwaage von 0,5 g TS/L. Die Nanomaterial-Konzentrationen können damit mit Faktor 2 von mg/L auf mg/g TS umgerechnet werden.

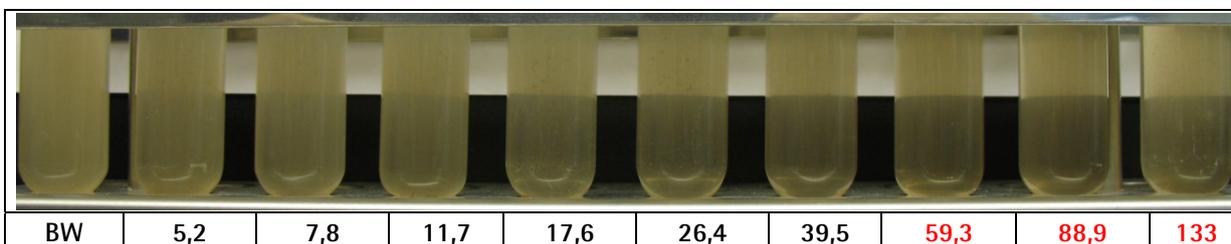


Abbildung 6.4: Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen durch 0 – 133 mg/L Antibiotika-Mix (Wirkstoffanteile: Chloramphenicol: 57 %; Nystatin: 29 %; Actidion: 14 %)

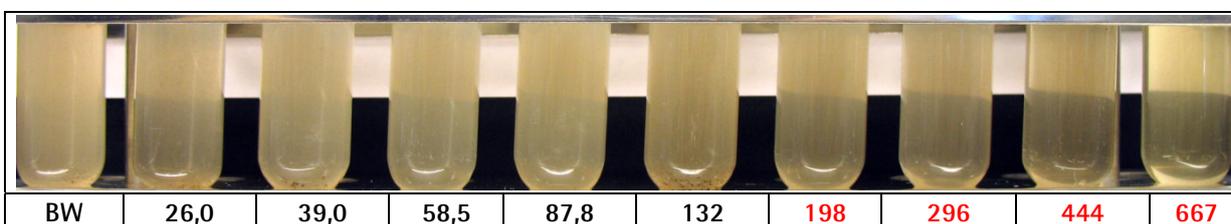


Abbildung 6.5: Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen durch 0 – 667 µg/L AgPure W5 (Ag-Anteil)

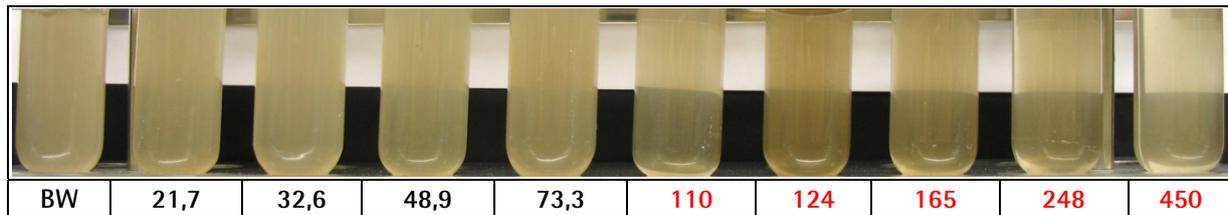


Abbildung 6.6: Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen durch 0 - 450 mg/L Nano-Ag

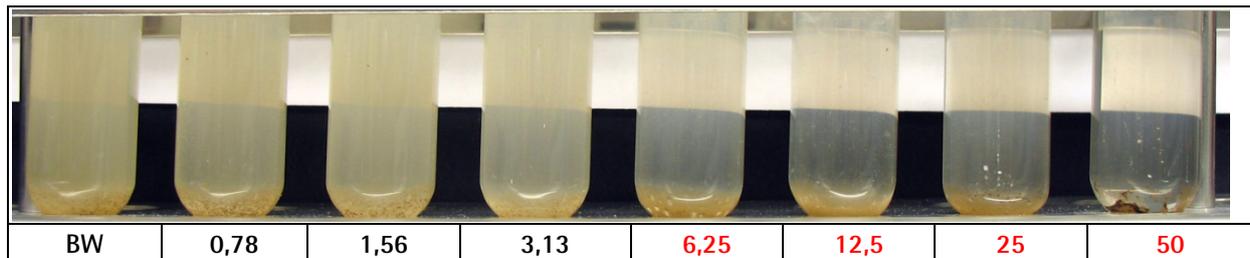


Abbildung 6.7: Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen durch 0- 50 mg/L Nano-CuO

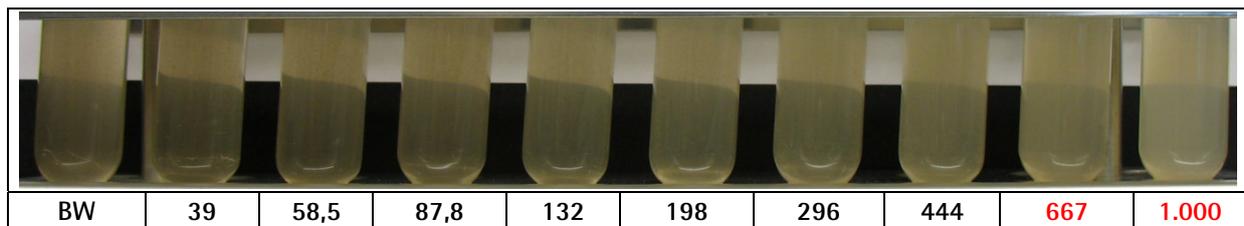


Abbildung 6.8: Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen durch 0 - 1.000 mg/L Nano-ZnO (Überlagerung der Trübungen durch ZnO und Keime; Auswertung über mikroskopische Kontrollauswertung)

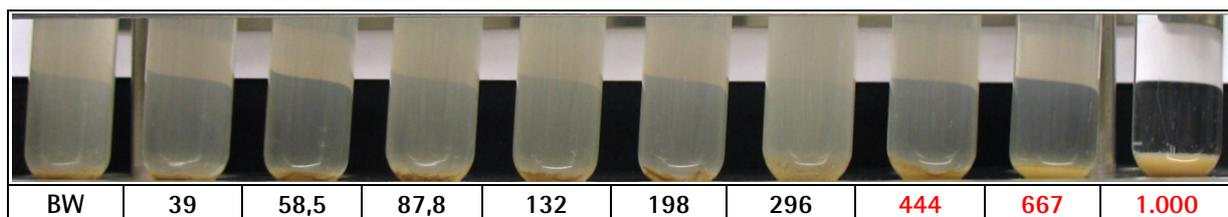


Abbildung 6.9: Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen durch 0- 1.000 mg/L Nano-MgO

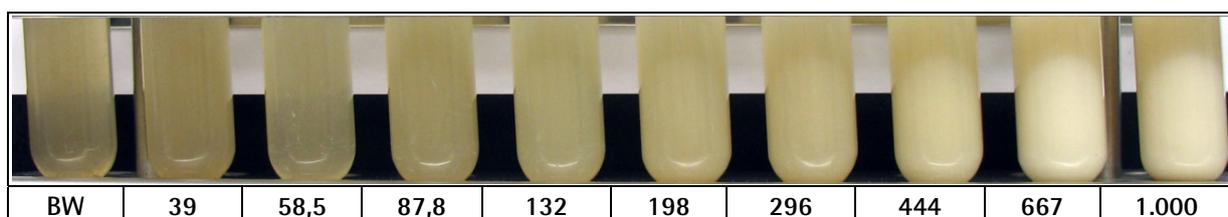


Abbildung 6.10: Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen durch 0- 1.000 mg/L Nano-TiO₂ (Überlagerung der Trübungen durch TiO₂ und Keimwachstum; Auswertung über mikroskopische Kontrollauswertung)

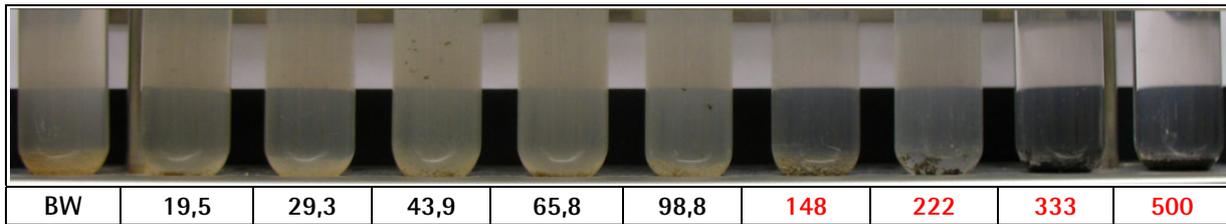


Abbildung 6.11: Wachstumshemmung von Kompost-bürtigen Mikroorganismen durch 0- 500 mg/L MWCNT

6.3.2 Dotierung von Komposten mit Nanomaterialien

Für jede zu prüfende Nanomaterialkonzentration wurden 25 g Frischmasse Kompost mit 11 mL Prüfmaterial-Suspension gemischt und über 2 bis 3 Tage bei Raumtemperatur unter Rühren rückgetrocknet. Anschließend wurden aus den resultierenden 27 g Kompost jeweils 12,5 g in zwei Parallelansätze für respirometrische Untersuchungen abgefüllt. Für Prüfungen der Basisatmung der Komposte wurden die Ansätze direkt für die Untersuchungen genutzt. Für Prüfungen der Substrat-induzierten Atmung wurden zuvor 20 mg des jeweiligen, pulverförmigen Substrates (z. B. BSA) hinzugefügt und sorgfältig eingerührt.

Tabelle 6.11: Kenndaten der mit Nanomaterial dotierten Komposte

	Ausgangsmaterial	Dotierter Kompost	Rückgetrockneter Kompost
Frischmasse	25 g	36 g	27 g
Trockensubstanz	14,425 g	14,425 g	14,425 g
Wasseranteil	10,575 g	21,575 g	12,575 g
Wassergehalt	42,3 %	59,9 %	46,6 %
% von Wkmax	60 %	123	71 %

6.3.3 Ergänzende Angaben zu respirometrischen Untersuchungen

6.3.3.1 Einfluss des Wassergehaltes auf die Basisatmung von Kompost

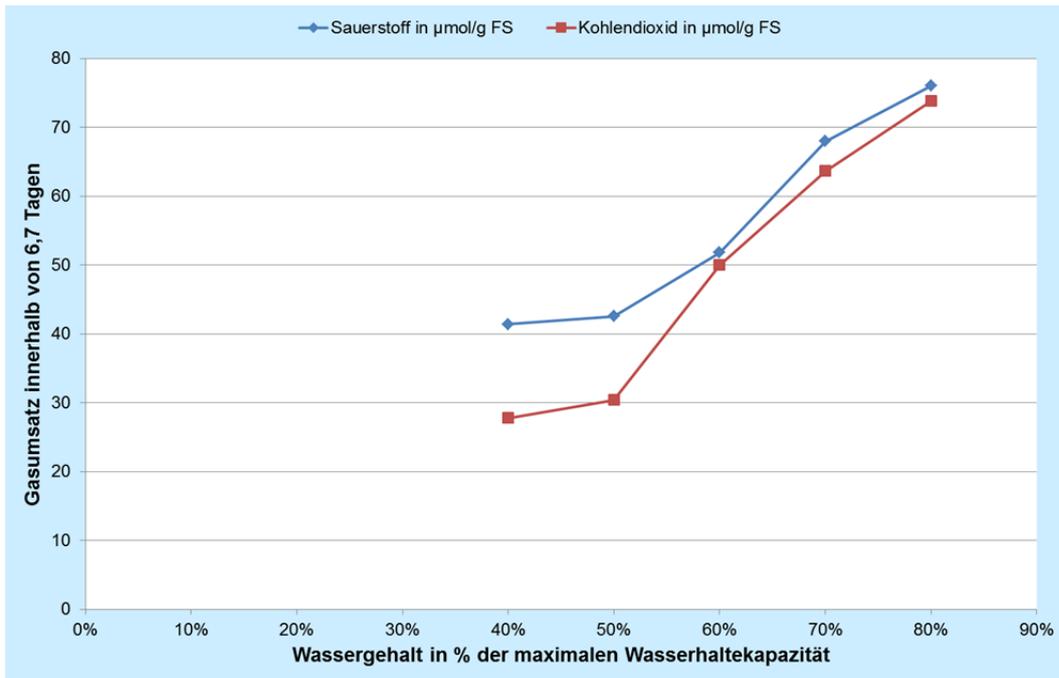


Abbildung 6.12: Vergleich der Ausgangsfeuchte auf die Basisatmung von Kompost

6.3.3.2 Einfluss der Substrat-Dosierung auf die Kompostatmung

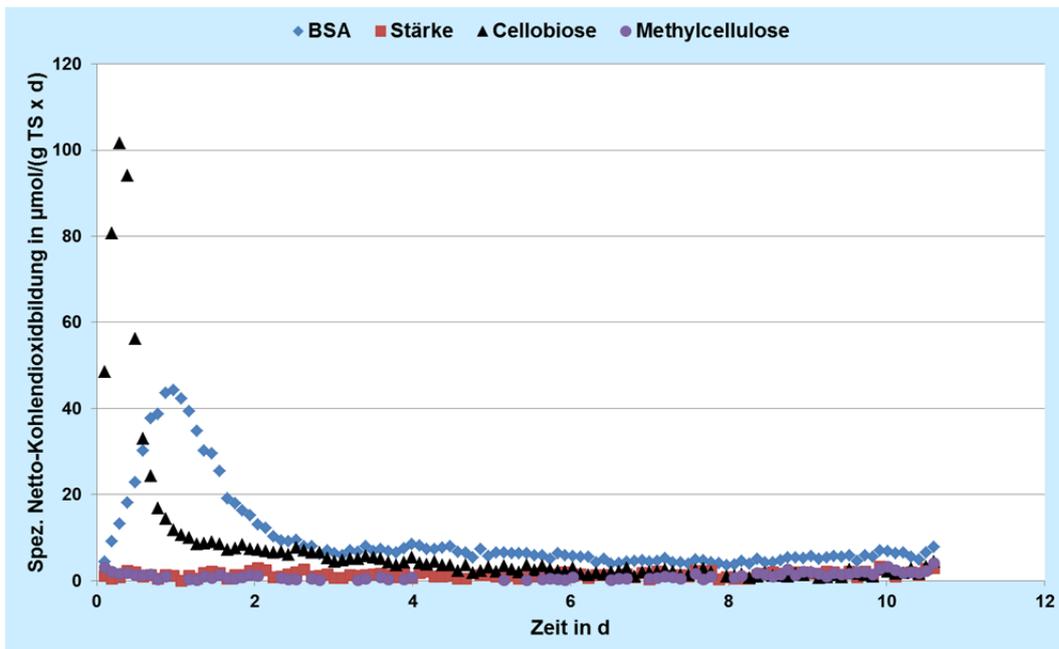


Abbildung 6.13: Steigerung der Kohlendioxid-Bildung von Kompost nach Dosierung von BSA, Stärke, Cellulose oder Methylcellulose (jeweils 1,6 mg/g TS)

Tabelle 6.12: Ermittelte Kohlendioxidfreisetzung (Messzeitraum: 10,6 d)

Substrat	Kohlendioxidbildung bei Totaloxidation (mg CO ₂ /20 mg)	Erfasste Kohlendioxidbildung (mg CO ₂ /20 mg)	Bioabbau %
BSA	38,9	32,8	84,3
Cellobiose	30,8	25,2	81,9
Stärke	29,3	4,4	15,1
Methylcellulose	29,3	2,0	6,9

6.3.3.3 Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.2

Tabelle 6.13: Ergebnisse zur Kompostatmung / Ag-Nitrat

AgNO ₃	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg Ag/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-153	-158	0,0 %	133	136	0,0 %
0,03	(-173)	(-168)	(-9,7 %)	137	129	1,4 %
0,05	-98	-102	35,8 %	84	85	37,4 %
0,11	-71	-75	53,0 %	59	56	57,1 %
0,22	-57	-58	62,9 %	38	41	70,7 %

Tabelle 6.14: Ergebnisse zur Kompostatmung / Na-Pyrithion

Pyrithion ₃	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-146	-147	0,0 %	124	122	0,0 %
0,20	-132	-147	4,6 %	114	116	6,2 %
0,39	-121	-116	19,2 %	98	100	19,1 %
0,78	-132	-130	10,4 %	114	109	9,1 %
1,56	-108	-113	24,7 %	94	95	23,2 %

Tabelle 6.15: Ergebnisse zur Kompostatmung / Cu(II)-Chlorid

Cu(II)-Chlorid	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-156	-143	0,0 %	135	123	0,0 %
4,42	-108	-114	25,8 %	94	87	29,6 %
8,84	-78	-76	48,4 %	63	65	50,5 %
13,26	-56	-57	62,3 %	49	47	63,1 %
17,68	-51	-47	67,3 %	49	48	62,5 %

6.3.3.4 Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.3

Tabelle 6.16: Ergebnisse zur Kompostatmung / AgPure W5

AgPure W5	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg Ag/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-269	-258	0,0 %	196	182	0,0 %
0,03	-259	-264	1,0 %	175	187	4,4 %
0,05	-247	-250	5,9 %	177	178	6,2 %
0,08	-219	-234	14,1 %	160	166	13,9 %
0,10	-167	-175	35,1 %	116	130	35,0 %

Tabelle 6.17: Ergebnisse zur Kompostatmung mit BSA / AgPure W5

AgPure W5	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg Ag/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-355	-358	0,0 %	266	268	0,0 %
0,03	-325	-328	8,3 %	254	254	4,9 %
0,05	-258	-244	29,5 %	193	186	28,9 %
0,10	-192	-195	45,6 %	153	154	42,4 %
0,21	-171	-168	52,4 %	141	139	47,5 %

Tabelle 6.18: Ergebnisse zur Kompostatmung / Nano-Ag

Nano-Ag	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg Ag/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-317	-317	0,0 %	219	225	0,0 %
0,07	-243	-241	23,7 %	185	179	18,0 %
0,14	-185	-180	42,4 %	143	141	35,9 %
0,27	-145	-140	55,1 %	119	117	46,7 %
0,54	-114	-112	64,3 %	100	99	55,2 %

Tabelle 6.19: Ergebnisse zur Kompostatmung mit BSA / Nano-Ag

Nano-Ag	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg Ag/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-404	-392	0,0 %	308	295	0,0 %
0,07	-383	-374	4,9 %	290	290	3,7 %
0,13	-362	-359	9,5 %	274	275	8,8 %
0,26	-313	-324	20,0 %	234	237	21,9 %
0,52	-255	-256	35,8 %	188	193	36,7 %

6.3.3.5 Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.4

Tabelle 6.20: Ergebnisse zur Kompostatmung / Nano-CuO

Nano-CuO mg/g TS	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-270	-269	0,0 %	192	190	0,0 %
2,60	-257	-250	5,9 %	174	173	9,3 %
5,20	-243	-241	10,2 %	160	158	17,1 %
7,80	-227	-235	14,3 %	151	156	19,7 %
10,40	-222	-219	18,2 %	144	144	24,7 %

Tabelle 6.21: Ergebnisse zur Kompostatmung mit BSA / Nano-CuO

Nano-CuO mg/g TS	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-207	-207	0,0 %	185	183	0,0 %
2,60	-196	-203	3,5 %	161	164	11,7 %
5,20	-191	-192	7,4 %	144	146	21,4 %
10,40	-185	-197	7,9 %	136	141	25,0 %
20,80	-183	-181	12,1 %	130	128	29,9 %

6.3.3.6 Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.5

Tabelle 6.22: Ergebnisse zur Kompostatmung / Nano-ZnO

Nano-ZnO mg/g TS	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-149	-146	0,0 %	128	124	0,0 %
1,95	-129	-135	10,3 %	108	100	17,2 %
3,90	-112	-114	23,3 %	81	81	35,5 %
7,80	-108	-112	25,5 %	72	68	44,4 %
15,60	-93	-90	38,0 %	42	41	67,3 %

Tabelle 6.23: Ergebnisse zur Kompostatmung mit BSA / Nano-ZnO

Nano-ZnO mg/g TS	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-247	-244	0,0 %	215	212	0,0 %
1,95	-222	-231	7,6 %	195	193	9,1 %
3,90	-206	-196	18,1 %	172	164	21,3 %
7,80	-188	-183	24,6 %	137	130	37,4 %
15,60	-138	-141	43,4 %	76	84	62,5 %

6.3.3.7 Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.6

Tabelle 6.24: Ergebnisse zur Kompostatmung / Nano-MgO

Nano-MgO	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-147	-149	0,0 %	136	140	0,0 %
1,95	-145	-156	-1,6 %	114	108	19,9 %
3,90	-144	-145	2,4 %	96	92	31,8 %
7,80	-136	-138	7,2 %	60	57	57,6 %
15,60	-118	-119	19,8 %	14	14	90,1 %

Tabelle 6.25: Ergebnisse zur Kompostatmung mit BSA / Nano-MgO

Nano-MgO	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-276	-266	0,0 %	235	226	0,0 %
1,95	-273	-271	-0,2 %	203	197	13,1 %
3,90	-265	-256	3,8 %	179	167	24,9 %
7,80	-240	-249	9,8 %	129	131	43,6 %
15,60	-235	-227	14,9 %	77	72	67,5 %

6.3.3.8 Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.7

Tabelle 6.26: Ergebnisse zur Kompostatmung / Nano-TiO₂

Nano-MgO	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-119	-117	0,0 %	95	95	0,0 %
1,04	-123	-129	-6,3 %	102	96	-4,4 %
2,08	-117	-117	0,9 %	96	96	-1,0 %
4,16	-117	-112	3,4 %	93	89	3,7 %
8,32	-108	-116	5,3 %	84	92	7,4 %

Tabelle 6.27: Ergebnisse zur Kompostatmung mit BSA / Nano-TiO₂

Nano-MgO	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
mg/g TS	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-273	-277	0,0 %	197	200	0,0 %
1,04	-267	-273	2,1 %	190	197	2,6 %
2,08	-273	-268	1,8 %	198	197	0,3 %
4,16	-272	-268	2,0 %	195	193	2,4 %
8,32	-270	-268	2,3 %	196	195	1,4 %

6.3.3.9 Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.8

Tabelle 6.28: Ergebnisse zur Kompostatmung / CNT

CNT mg/g TS	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-150	-143	0,0 %	139	133	0,0 %
1,04	-141	-144	2,7 %	139	130	1,0 %
2,08	-130	-137	8,7 %	124	135	4,6 %
4,16	-137	-139	5,8 %	130	128	4,7 %
8,32	-122	-120	17,6 %	116	116	14,3 %

Tabelle 6.29: Ergebnisse zur Kompostatmung mit BSA / CNT

CNT mg/g TS	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-274	-260	0,0 %	251	240	0,0 %
1,04	-255	-262	3,1 %	239	234	3,5 %
2,08	-255	-244	6,5 %	240	229	4,6 %
4,16	-243	-241	9,4 %	227	222	8,7 %
8,32	-226	-225	15,5 %	210	212	14,1 %

6.3.3.10 Ergebnistabelle zum Abschnitt 4.4.2.9

Tabelle 6.30: Ergebnisse zur Kompostatmung / Graphenoxid

CNT mg/g TS	AT5 (O ₂)		Hemmung	AT5 (CO ₂)		Hemmung
	μmol O ₂ /gTS		%	μmol CO ₂ /gTS		%
0,00	-120	-117	0,0 %	104	101	0,0 %
0,31	-121	-135	-7,7 %	108	111	-6,7 %
0,62	-123	-121	-2,9 %	109	107	-5,3 %
1,25	-132	-129	-9,6 %	118	111	-11,5 %
2,50	-127	-133	-9,2 %	112	115	-10,6 %

6.4 Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.5

6.4.1 Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.5.1

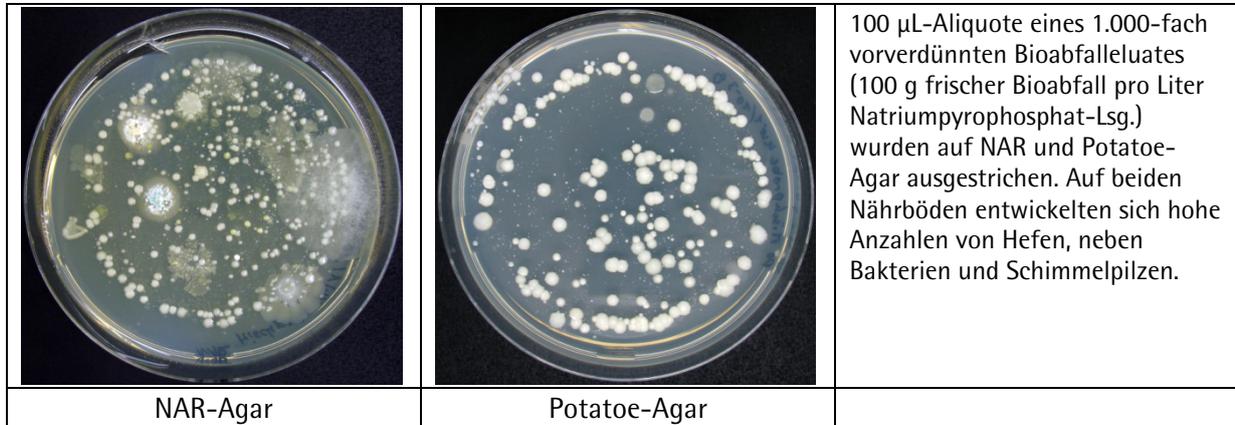


Abbildung 6.14: Fotodokumentation – Koloniemuster eines Bioabfalleluates

Für die Bonitur der Untersuchungsreihen wurde die durch Biomassewachstum hervorgerufene Trübung des Mediums, die durch Gärung verursachte Gasbildung sowie die durch Sauerstoffzehrung bedingte Entfärbung der Redoxindikatoren ausgewertet. Falls ein Merkmal eindeutig ausgeprägt war, wurden 2 Bonitурpunkte vergeben. Bei einem nur gering ausgeprägten Bonitурmerkmal wurde ein Punkt vergeben. Falls ein Bonitурmerkmal nicht vorlag, wurde kein Punkt vergeben. Pro Dosierung wurden 5 bis 7 Kulturansätze ausgewertet und die GesamtbonitурpunktezahI ermittelt. Anschließend wurde der Quotient der GesamtpunktezahI in Relation zur maximalen PunktezahI gesetzt, damit Bonitурdaten mit verschiedenen Röhrenchzahlen verglichen werden konnten. Für grafische Auswertungen wurden die Boniturergebnisse zudem auf den Befund der jeweiligen Kontrollansätze normiert.

Abbildung 6.15 verdeutlicht, dass die Nutzung verschiedener Bonitурmerkmale nötig war: Einige Nanomaterialien wirkten abiotisch auf den Redoxindikator Methylenblau ein, da die Prüfsubstanzen mit anderen Medienbestandteilen chemisch reagierten.

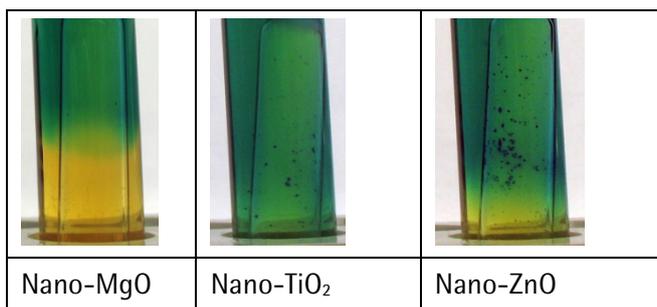


Abbildung 6.15: Verfärbung von Methylenblau in unbeimpften, sterilen Kulturröhrcchen, die jeweils die höchste untersuchte Dosis Nano-MgO, Nano-TiO₂ und Nano-ZnO enthielten

Tabelle 6.31: Bonitur des Hemmtests mit *Saccharomyces cerevisiae* und Antimykotikazusatz (2 Teile Nystatin und 1 Teil Actidion)

mg/L	0	0,176	0,70	2,81	11,25
++	11	6	0	0	0
+	3	7	7	3	0
-	0	1	7	11	14
Max. Punkte	28	28	28	28	28
Bonitурpunkte	25	19	7	3	0
Wachstum	89 %	68 %	25 %	11 %	0 %

Tabelle 6.32: Bonitur des Hemmtests mit *Saccharomyces cerevisiae* und AgPure W5

mg/L	0	10	20	40	80
++	12	7	7	2	7
+	2	12	12	9	10
-	0	1	1	9	3
Max. Punkte	28	40	40	40	40
Bonitурpunkte	26	26	26	13	24
Wachstum	93 %	65 %	65 %	33 %	60 %

Tabelle 6.33: Bonitur des Hemmtests mit *Saccharomyces cerevisiae* und Nano-Ag

mg/L	0	18,75	37,5	75	150
++	18	19	17	19	16
+	1	1	2	1	3
-	-5	0	1	0	1
Max. Punkte	40	40	40	40	40
Bonitурpunkte	37	39	36	39	35
Wachstum	93 %	98 %	90 %	98 %	88 %

Tabelle 6.34: Bonitur des Hemmtests mit *Saccharomyces cerevisiae* und Nano-CuO

mg/L	0	2,5	5	10	20
++	12	16	18	11	11
+	1	3	1	6	2
-	1	1	1	3	7
Max. Punkte	28	40	40	40	40
Bonitурpunkte	25	35	37	28	24
Wachstum	89 %	88 %	93 %	70 %	60 %

Tabelle 6.35: Bonitur des Hemmtests mit *Saccharomyces cerevisiae* und Nano-MgO

mg/L	0	62,5	125	250	500
++	14	16	18	12	4
+	0	2	0	2	2
-	0	2	2	6	14
Max. Punkte	28	40	40	40	40
Boniturstärke	28	34	36	26	10
Wachstum	100 %	85 %	90 %	65 %	25 %

Tabelle 6.36: Bonitur des Hemmtests mit *Saccharomyces cerevisiae* und Nano-MgO

mg/L	0	37,5	75	150	300
++	12	16	18	17	14
+	0	4	2	2	5
-	2	0	0	1	1
Max. Punkte	28	40	40	40	40
Boniturstärke	24	36	38	36	33
Wachstum	86 %	90 %	95 %	90 %	83 %

Tabelle 6.37: Bonitur des Hemmtests mit *Saccharomyces cerevisiae* und Nano-ZnO

mg/L	0	87,5	175	350	700
++	14	17	20	13	9
+	0	3	0	7	10
-	0	0	0	0	1
Max. Punkte	28	40	40	40	40
Boniturstärke	28	37	40	33	28
Wachstum	100 %	93 %	100 %	83 %	70 %

Zum Untersuchungszeitpunkt war das im Vorhaben genutzte CNT-Produkt nicht mehr am Markt verfügbar und konnte deshalb nicht untersucht werden.

6.4.2 Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.5.2

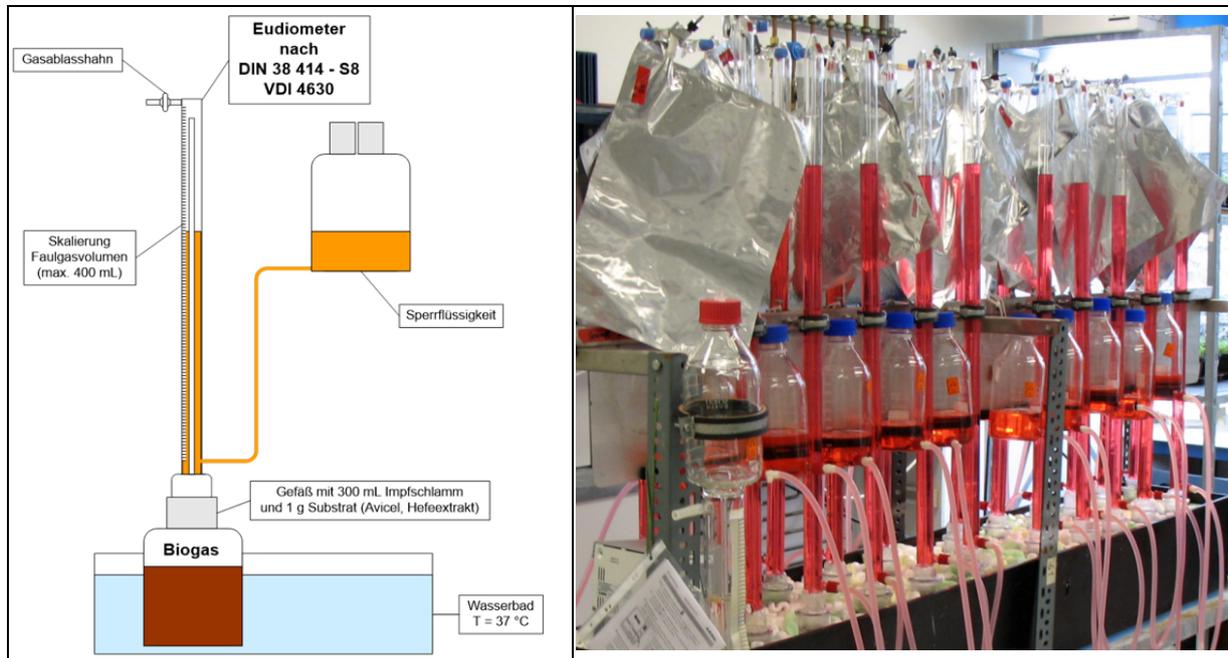


Abbildung 6.16: Schema und Foto der für Biogaspotenzialanalysen verwendeten Eudiometeranlage

Tabelle 6.38: Nettobiogaserträge - Substrat Avicel; in NmL/g TS für Ansätze mit 0-20 mg/L Nano-CuO

d	0 mg/L			2,5 mg/L			5,0 mg/L			10 mg/L			20 mg/L	
0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6	1	8	1	6	1	5	1	1	1	0	0	0	4	0
1,5	-1	3	1	0	0	-1	-2	-2	-1	-3	-4	-4	-1	0
2,7	17	16	13	11	16	7	13	11	11	11	12	11	8	11
4,5	353	375	358	360	356	349	339	324	316	316	298	337	350	342
5,5	458	484	464	480	459	465	460	460	443	439	419	460	455	445
6,7	505	529	508	529	501	514	513	526	505	503	493	522	503	496
7,5	525	547	525	546	519	531	532	545	524	524	520	542	519	512
8,8	547	569	544	568	540	552	554	567	542	545	543	559	538	533
12,6	581	606	578	613	575	587	588	602	576	578	577	592	572	566
14,6	591	616	588	625	586	597	598	611	584	587	587	602	581	575
15,7	596	619	592	632	591	601	603	616	588	591	592	605	586	580

Tabelle 6.39: Nettobiogaserträge - Substrat Hefeextrakt; in NmL/g TS für Ansätze mit 0–20 mg/L Nano-CuO

d	0 mg/L			2,5 mg/L			5,0 mg/L			10 mg/L			20 mg/L	
0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,6	121	123	121	120	108	115	110	110	113	110	122	115	115	111
1,5	281	278	274	269	267	278	270	276	280	272	301	281	288	283
2,7	390	403	396	385	389	401	401	403	412	399	414	411	410	407
4,5	429	449	439	423	431	442	451	423	462	445	456	454	437	450
5,5	435	457	446	428	435	447	457	455	469	451	464	460	451	457
6,7	440	464	451	434	442	454	466	462	478	459	473	466	459	462
7,5	441	468	451	436	443	457	463	464	479	462	476	467	461	462
8,8	444	472	454	440	448	462	474	469	484	464	482	470	468	468
12,6	449	482	457	445	452	467	483	471	495	467	490	475	477	474
14,6	451	485	460	446	455	469	483	475	500	470	495	479	481	477
15,7	452	486	460	447	456	470	482	475	502	471	497	479	483	479

Tabelle 6.40: Nettobiogaserträge - Substrat Hefeextrakt; in NmL/g TS für Ansätze mit 0–14 mg/L AgPure-Ag

d	0 mg/L			1,75 mg/L			3,5 mg/L			7 mg/L			14 mg/L	
0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	0	0	0
1,0	48	69	49	49	48	41	67	51	47	--	38	40	46	82
1,9	52	121	52	52	58	43	102	61	60	--	42	62	72	138
2,6	61	139	65	56	54	48	136	65	52	--	45	79	92	182
5,6	137	300	146	114	94	81	289	153	100	--	75	198	227	357
6,6	178	351	189	146	119	102	334	199	132	--	93	247	275	395
7,6	218	385	229	184	145	123	365	236	165	--	112	280	304	420
8,6	259	408	268	226	184	154	393	272	207	--	140	311	331	438
9,6	289	423	296	262	226	189	410	297	246	--	175	334	356	449
13,6	364	450	370	333	309	285	435	367	319	--	279	407	423	468
16,6	404	456	406	368	347	307	442	405	354	--	302	438	440	479
19,6	417	461	418	399	390	325	447	417	397	--	337	446	446	485
22,7	426	466	427	407	402	355	450	422	406	--	383	450	449	491
26,6	432	470	432	419	413	391	453	429	418	--	393	454	453	496

Tabelle 6.41: Nettobiogaserträge - Substrat Avicel; in NmL/g TS für Ansätze mit 0-100 mg/L Nanomaterial

d	Kontrolle		Nano-Ag		AgPure-Ag		Nano-CuO		Nano-ZnO	
	--	--	100 mg/L	10 mg/L	33 mg/L	3,3 mg/L	100 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	10 mg/L
0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,0	-3	-5	-8	-6	-8	-4	-10	-7	-8	-3
2,0	-2	-3	-9	-6	-9	-4	-10	-8	-10	-4
3,9	162	187	163	151	148	145	110	163	157	166
5,2	319	364	307	298	289	293	242	321	310	326
5,8	429	470	409	409	402	404	354	446	419	432
6,9	507	525	482	492	483	489	437	517	497	502
7,9	548	556	524	540	534	534	481	556	540	539
9,1	567	576	546	562	562	557	503	578	561	561
11,9	591	570	575	589	594	585	538	606	588	589
13,1	591	586	577	591	596	586	543	608	590	591
14,9	596	594	582	593	603	590	551	612	595	596

Tabelle 6.41 (Teil 2): Nettobiogaserträge - Substrat Avicel; in NmL/g TS für Ansätze mit 0-100 mg/L Nanomaterial

d	Nano-MgO		Nano-TiO2		MWCNT	
	100 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	10 mg/L	33 mg/L	3,3 mg/L
0,0	0	0	0	0	0	0
1,0	-10	-5	-9	-5	-12	-9
2,0	-10	-1	-3	-2	-1	-4
3,9	191	199	247	233	274	264
5,2	367	401	419	424	448	454
5,8	466	485	483	493	514	524
6,9	525	530	523	533	556	569
7,9	564	555	550	561	584	600
9,1	590	577	571	583	607	624
11,9	591	600	596	584	615	632
13,1	610	610	612	597	629	646
14,9	621	616	621	606	644	659

Tabelle 6.42: Nettobiogaserträge - Substrat Avicel; in NmL/g TS für Ansätze mit 0-100 mg/L Nanomaterial

d	Kontrolle		AgPure-Ag		AgPure-Ag		Nano-CuO		Nano-CuO	
			10 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	100 mg/L	10 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	100 mg/L
--	--	--								
0,0	0	0	0	0	0	--	0	0	0	0
1,0	0	3	-1	0	-2	--	-3	-3	-8	-5
2,0	-3	1	-2	0	0	--	-4	-4	-7	-7
3,1	-2	0	-1	-1	0	--	-4	-5	-8	-8
4,1	0	5	29	26	31	--	0	0	0	-5
5,9	91	126	230	228	227	--	127	129	165	132
6,9	203	240	276	277	278	--	225	232	233	220
7,8	276	297	316	316	319	--	282	289	273	267
8,1	300	317	336	337	339	--	303	309	290	285
10,1	414	420	448	444	454	--	415	417	380	377
12,8	548	558	583	576	582	--	542	553	519	514
13,8	577	591	605	600	604	--	572	582	553	549
14,9	599	611	616	615	619	--	587	600	582	575
15,8	611	626	622	624	632	--	602	614	602	595
17,0	619	633	627	628	639	--	608	620	613	604
19,0	633	642	633	635	648	--	617	629	622	612
22,0	638	653	640	642	656	--	625	639	629	620
22,9	641	656	642	645	659	--	627	642	632	622
23,9	645	658	645	645	662	--	630	644	633	623
31,0	653	670	650	653	669	--	638	654	642	633
34,8	657	673	653	657	673	--	641	657	644	636
36,9	658	675	654	658	675	--	643	660	647	639

Tabelle 6.41 (Teil 2): *Nettobiogaserträge - Substrat Avicel; in NmL/g TS für Ansätze mit 0-100 mg/L Nanomaterial*

d	MWCNT		MWCNT	
	10 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	100 mg/L
--				
0,0	0	0	0	0
1,0	2	2	2	0
2,0	1	1	0	0
3,1	0	0	-2	-4
4,1	7	4	3	3
5,9	154	135	167	171
6,9	253	238	243	243
7,8	307	294	287	283
8,1	325	317	302	301
10,1	435	428	398	397
12,8	574	570	529	531
13,8	605	603	568	562
14,9	624	622	584	578
15,8	637	635	598	590
17,0	643	642	604	595
19,0	652	650	611	601
22,0	661	660	618	609
22,9	663	663	620	610
23,9	666	666	623	612
31,0	678	676	633	623
34,8	679	678	635	627
36,9	681	683	637	629

Tabelle 6.43: *Nettobiogaserträge - Substrat Hefeextrakt; in NmL/g TS für Ansätze mit 0-100 mg/L Nanomaterial*

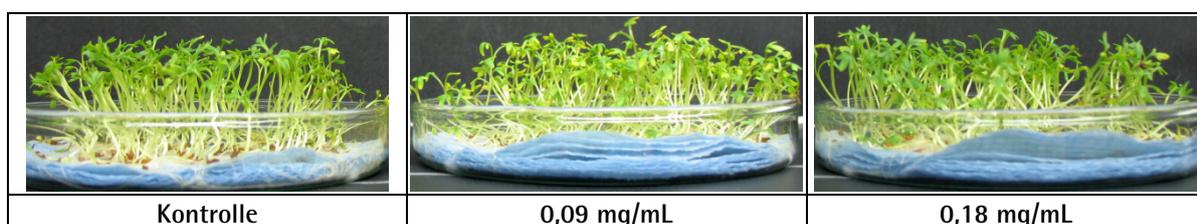
d	Kontrolle		AgPure-Ag		AgPure-Ag		Nano-CuO		Nano-CuO	
	--	--	10 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	100 mg/L	10 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	100 mg/L
0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,8	-3	1	-11	-8	-7	-11	-4	-5	-9	-9
1,7	-1	-1	-9	-3	-1	-7	1	-2	-5	-6
2,8	3	4	-3	2	2	-5	4	2	10	8
3,8	9	8	6	10	3	-3	10	9	40	35
5,7	31	29	34	38	19	13	32	30	118	107
6,7	47	44	55	59	30	22	48	47	162	147
7,7	67	63	82	84	45	38	68	63	192	181
8,8	101	100	121	125	73	66	102	97	224	213
8,9	123	100	147	151	80	73	108	101	230	219
9,8	141	135	161	168	126	111	143	136	262	251
12,0	217	211	236	228	228	208	217	211	306	295
12,7	245	239	244	250	250	228	229	236	314	303
13,7	266	260	262	273	269	248	254	259	325	314
14,7	281	275	276	287	293	277	279	276	343	332
15,9	295	289	291	303	317	298	295	290	367	356
17,1	307	301	308	319	337	316	308	304	403	392
18,9	332	326	335	348	365	339	334	333	408	397
19,8	348	342	343	356	373	346	348	345	409	398
20,8	361	355	350	363	377	352	360	354	414	403
21,7	366	360	353	367	379	352	365	357	415	404
22,8	370	364	359	372	382	355	370	362	416	405
23,9	376	370	366	380	389	359	376	368	430	419
26,7	387	382	375	391	396	367	385	377	435	424
27,8	390	384	378	393	401	371	388	381	435	424
28,8	392	386	380	396	405	374	391	383	436	425
29,8	396	390	383	397	408	376	393	388	436	425

Tabelle 6.41 (Teil 2): *Nettobiogaserträge - Substrat Hefeextrakt; in NmL/g TS für Ansätze mit 0-100 mg/L Nanomaterial*

d	MWCNT		MWCNT	
	10 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	100 mg/L
--				
0,0	0	0	0	0
0,8	-1	-3	-2	-8
1,7	-3	-5	-1	-6
2,8	3	0	14	11
3,8	11	8	37	36
5,7	39	33	95	94
6,7	59	50	123	117
7,7	85	76	148	142
8,8	125	110	177	170
8,9	129	114	181	174
9,8	163	150	202	195
12,0	218	212	288	253
12,7	236	231	300	265
13,7	266	264	314	277
14,7	283	286	327	293
15,9	298	302	345	315
17,1	317	319	367	337
18,9	351	353	392	355
19,8	364	365	398	359
20,8	370	372	402	363
21,7	376	376	406	367
22,8	382	383	412	371
23,9	389	389	415	373
26,7	400	400	420	377
27,8	404	403	422	378
28,8	405	406	423	379
29,8	408	408	424	379

6.5 Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.6

6.5.1 Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.6.1



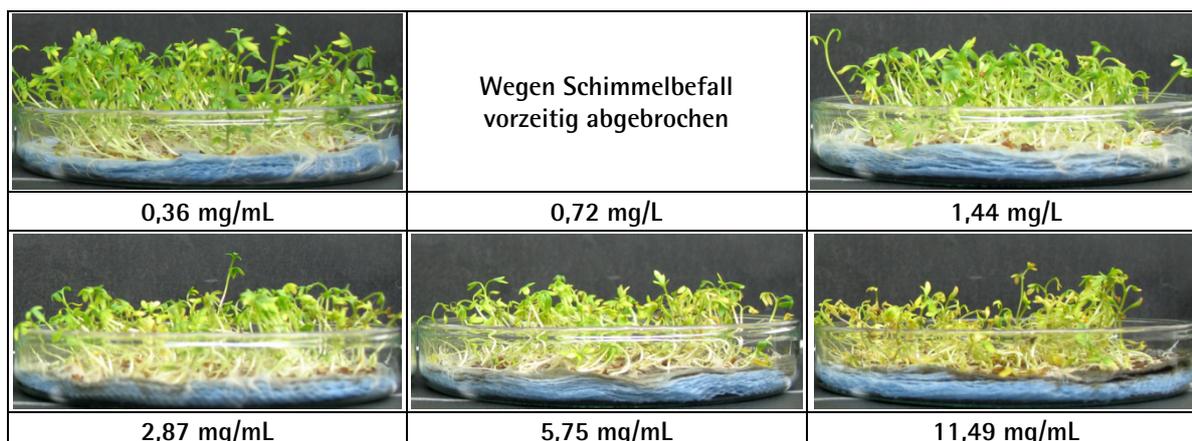


Abbildung 6.17: Wuchsbild keimender Kresse mit 0 - 11,49 mg/mL Nano-CuO

Tabelle 6.44: Frischmasseerträge mit Kressesamen und verschiedenen Nanomaterialdosierungen

Nano-MgO		MWCNT		Nano-CuO	
mg/mL	FS (mg)	mg/mL	FS (mg)	mg/mL	FS (mg)
0,0	2278	0,0	2261	0,0	2040
0,1	2306	0,1	2361	0,1	2211
0,2	2192	0,1	2458	0,2	2328
0,3	2342	0,3	2436	0,4	2265
0,7	1376	0,6	2485	0,7	verworfen
1,4	771,9	1,1	2631	1,4	2141
2,7	887,0	2,3	2186	2,9	1836
5,5	823,9	4,6	1421	5,7	1554
10,9	873,5	9,2	1132	11,5	1595

6.5.2 Ergänzende Informationen zum Abschnitt 4.6.2

6.5.2.1 Pflanzenwachstumstests mit Kresse

Tabelle 6.45: Frischmasseerträge mit Nano-Ag

Nano-Ag	g/kg TS	0,00	0,03	0,06	0,13	0,25	0,50
A	g FS	5,11	4,47	4,17	3,62	3,84	3,60
B	g FS	4,71	4,09	4,28	4,07	4,48	4,03
C	g FS	4,59	4,51	4,23	3,88	4,36	3,86
MW	g FS	4,80	4,35	4,23	3,86	4,23	3,83
Rel. Ertrag	%	100 %	91 %	88 %	80 %	88 %	80 %

Tabelle 6.46: *Trockenmasseerträge mit Nano-Ag*

Nano-Ag	g/kg TS	0,00	0,03	0,06	0,13	0,25	0,50
A	g TS	0,31	0,26	0,24	0,21	0,23	0,22
B	g TS	0,29	0,24	0,24	0,24	0,27	0,24
C	g TS	0,27	0,26	0,25	0,23	0,25	0,23
MW	g TS	0,29	0,25	0,24	0,23	0,25	0,23
Rel. Ertrag	%	100 %	88 %	85 %	79 %	87 %	80 %

Tabelle 6.47: *Frischmasseerträge mit Nano-AgPure-Produkt*

AgPure-Ag	g/kg TS	0,00	0,01	0,03	0,06	0,11	0,23
A	g FS	4,48	3,95	4,29	3,92	3,90	3,48
B	g FS	4,23	4,12	3,78	3,90	3,73	3,07
C	g FS	4,06	4,06	3,80	3,97	3,68	3,46
MW	g FS	4,26	4,04	3,96	3,93	3,77	3,34
Rel. Ertrag	%	100 %	95 %	93 %	92 %	89 %	78 %

Tabelle 6.48: *Trockenmasseerträge mit Nano-AgPure-Produkt*

AgPure-Ag	g/kg TS	0,00	0,01	0,03	0,06	0,11	0,23
A	g TS	0,23	0,21	0,22	0,20	0,21	0,19
B	g TS	0,22	0,22	0,20	0,20	0,20	0,17
C	g TS	0,22	0,21	0,19	0,20	0,20	0,19
MW	g TS	0,22	0,21	0,21	0,20	0,20	0,18
Rel. Ertrag	%	100 %	96 %	92 %	91 %	89 %	81 %

Tabelle 6.49: *Frischmasseerträge mit Nano-CuO*

Nano-CuO	g/kg TS	0,000	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125
A	g FS	5,00	3,88	4,32	5,30	5,56	4,43
B	g FS	4,18	3,91	4,91	4,94	4,19	4,87
C	g FS	4,58	3,95	4,27	4,93	4,81	4,98
MW	g FS	4,59	3,91	4,50	5,06	4,85	4,76
Rel. Ertrag	%	100 %	85 %	98 %	110 %	106 %	104 %

Tabelle 6.50: Trockenmasseerträge mit Nano-CuO

Nano-CuO	g/kg TS	0,000	0,008	0,016	0,031	0,063	0,125
A	g TS	0,31	0,26	0,28	0,33	0,36	0,27
B	g TS	0,26	0,27	0,30	0,32	0,27	0,31
C	g TS	0,28	0,26	0,28	0,31	0,30	0,32
MW	g TS	0,28	0,26	0,29	0,32	0,31	0,30
Rel. Ertrag	%	100 %	93 %	103 %	113 %	110 %	106 %

Tabelle 6.51: Frischmasseerträge mit Nano-MgO

Nano-MgO	g/kg TS	0,00	0,20	0,40	0,80	1,59	3,19
A	g FS	5,11	4,85	4,60	5,61	4,89	4,24
B	g FS	4,71	5,23	5,04	5,00	4,97	4,31
C	g FS	4,59	5,13	4,80	5,42	5,03	4,86
MW	g FS	4,80	5,07	4,81	5,34	4,96	4,47
Rel. Ertrag	%	100 %	106 %	100 %	111 %	103 %	93 %

Tabelle 6.52: Trockenmasseerträge mit Nano-MgO

Nano-MgO	g/kg TS	0,00	0,20	0,40	0,80	1,59	3,19
A	g TS	0,31	0,28	0,26	0,32	0,29	0,24
B	g TS	0,29	0,30	0,29	0,28	0,28	0,24
C	g TS	0,27	0,30	0,27	0,33	0,29	0,27
MW	g TS	0,29	0,29	0,27	0,31	0,28	0,25
Rel. Ertrag	%	100 %	102 %	96 %	108 %	99 %	88 %

Tabelle 6.53: Frischmasseerträge mit Nano-ZnO

Nano-ZnO	g/kg TS	0,00	0,03	0,06	0,12	0,25	0,50
A	g FS	3,63	3,61	3,39	3,79	3,85	3,48
B	g FS	3,49	3,78	3,28	3,96	3,62	3,40
C	g FS	4,06	3,46	3,65	3,61	3,14	3,33
MW	g FS	3,73	3,62	3,44	3,79	3,54	3,40
Rel. Ertrag	%	100 %	97 %	92 %	102 %	95 %	91 %

Tabelle 6.54: Trockenmasseerträge mit Nano-ZnO

Nano-ZnO	g/kg TS	0,00	0,03	0,06	0,12	0,25	0,50
A	g TS	0,20	0,19	0,19	0,21	0,20	0,19
B	g TS	0,19	0,20	0,18	0,22	0,21	0,19
C	g TS	0,22	0,19	0,21	0,21	0,19	0,19

MW	g TS	0,20	0,19	0,19	0,21	0,20	0,19
Rel. Ertrag	%	100 %	96 %	96 %	105 %	99 %	94 %

Tabelle 6.55: Frischmasseerträge mit Nano-TiO₂

Nano-TiO ₂	g/kg TS	0,00	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
A	g FS	3,93	3,28	3,93	3,70	3,30	3,72
B	g FS	3,86	3,85	3,99	3,86	4,09	3,70
C	g FS	3,85	3,63	3,88	3,88	3,78	3,71
MW	g FS	3,88	3,59	3,93	3,81	3,72	3,71
Rel. Ertrag	%	100 %	93 %	101 %	98 %	96 %	96 %

Tabelle 6.56: Trockenmasseerträge mit Nano-TiO₂

Nano-TiO ₂	g/kg TS	0,00	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
A	g TS	0,21	0,18	0,21	0,20	0,18	0,20
B	g TS	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,19
C	g TS	0,21	0,19	0,20	0,21	0,20	0,19
MW	g TS	0,21	0,19	0,21	0,20	0,20	0,19
Rel. Ertrag	%	100 %	92 %	99 %	97 %	94 %	93 %

Tabelle 6.57: Frischmasseerträge mit MWCNT

MWCNT	g/kg TS	0,00	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
A	g FS	4,41	3,99	3,78	3,96	3,84	4,11
B	g FS	3,94	3,94	3,85	4,32	3,91	3,97
C	g FS	3,64	4,08	3,90	4,08	3,69	3,86
MW	g FS	4,00	4,00	3,84	4,12	3,81	3,98
Rel. Ertrag	%	100 %	100 %	96 %	103 %	95 %	100 %

Tabelle 6.58: Trockenmasseerträge mit MWCNT

MWCNT	g/kg TS	0,00	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
A	g TS	0,23	0,21	0,21	0,20	0,20	0,22
B	g TS	0,21	0,21	0,20	0,22	0,21	0,21
C	g TS	0,19	0,22	0,21	0,21	0,20	0,20
MW	g TS	0,21	0,21	0,21	0,21	0,20	0,21
Rel. Ertrag	%	100 %	101 %	97 %	101 %	96 %	99 %

6.5.2.2 Pflanzenwachstumstests mit Sommergerste

Tabelle 6.59: *Frischmasseerträge mit Nano-Ag*

Nano-Ag	g/kg TS	0,00	0,03	0,06	0,13	0,25	0,50
A	g FS	11,98	12,32	13,14	13,32	13,30	12,07
B	g FS	13,90	13,29	13,07	12,31	13,32	11,82
C	g FS	12,65	13,33	13,69	13,11	13,62	13,78
MW	g FS	12,84	12,98	13,30	12,92	13,41	12,56
Rel. Ertrag	%	100 %	101 %	104 %	101 %	104 %	98 %

Tabelle 6.60: *Trockenmasseerträge mit Nano-Ag*

Nano-Ag	g/kg TS	0,00	0,03	0,06	0,13	0,25	0,50
A	g TS	0,85	0,87	0,94	0,96	0,95	0,86
B	g TS	0,99	0,94	0,94	0,88	0,94	0,85
C	g TS	0,90	0,94	0,97	0,93	0,97	0,99
MW	g TS	0,91	0,92	0,95	0,92	0,95	0,90
Rel. Ertrag	%	100 %	101 %	104 %	101 %	104 %	98 %

Tabelle 6.61: *Frischmasseerträge mit AgPure-Ag*

AgPure-Ag	g/kg TS	0,00	0,01	0,03	0,06	0,11	0,23
A	g FS	14,93	13,61	13,99	14,26	14,44	12,86
B	g FS	14,52	15,07	14,72	14,55	14,76	12,67
C	g FS	15,34	14,61	14,35	14,49	14,77	12,34
MW	g FS	14,93	14,43	14,35	14,43	14,66	12,62
Rel. Ertrag	%	100 %	97 %	96 %	97 %	98 %	85 %

Tabelle 6.62: *Trockenmasseerträge mit AgPure-Ag*

AgPure-Ag	g/kg TS	0,00	0,01	0,03	0,06	0,11	0,23
A	g TS	1,08	0,98	1,02	1,05	1,06	0,97
B	g TS	1,07	1,10	1,07	1,06	1,08	0,96
C	g TS	1,15	1,06	1,02	1,05	1,08	0,92
MW	g TS	1,10	1,05	1,04	1,05	1,07	0,95
Rel. Ertrag	%	100 %	95 %	94 %	96 %	97 %	86 %

Tabelle 6.63: *Frischmasseerträge mit Nano-CuO*

CuO	g/kg TS	0,00	0,01	0,02	0,03	0,06	0,13
A	g FS	14,18	13,79	13,78	13,01	13,35	12,81
B	g FS	12,68	13,10	13,54	12,71	14,25	12,32
C	g FS	12,83	12,87	13,07	14,16	15,14	12,53
MW	g FS	13,23	13,25	13,46	13,29	14,25	12,55
Rel. Ertrag	%	100 %	100 %	102 %	100 %	108 %	95 %

Tabelle 6.64: *Trockenmasseerträge mit Nano-CuO*

CuO	g/kg TS	0,00	0,01	0,02	0,03	0,06	0,13
A	g TS	1,05	1,05	1,09	1,02	1,08	0,93
B	g TS	0,97	0,97	1,04	0,98	1,15	0,92
C	g TS	1,00	0,95	1,04	1,05	1,18	0,91
MW	g TS	1,01	0,99	1,06	1,02	1,14	0,92
Rel. Ertrag	%	100 %	98 %	105 %	101 %	113 %	91 %

Tabelle 6.65: *Frischmasseerträge mit Nano-ZnO*

ZnO	g/kg TS	0,00	0,03	0,06	0,13	0,25	0,50
A	g FS	14,81	13,48	13,84	13,26	14,74	13,03
B	g FS	13,64	13,36	13,04	13,80	14,39	12,84
C	g FS	14,79	12,88	13,70	14,09	14,49	13,78
MW	g FS	14,41	13,24	13,53	13,72	14,54	13,22
Rel. Ertrag	%	100 %	92 %	94 %	95 %	101 %	92 %

Tabelle 6.66: *Trockenmasseerträge mit Nano-ZnO*

ZnO	g/kg TS	0,00	0,03	0,06	0,13	0,25	0,50
A	g TS	1,10	0,99	1,02	1,02	1,11	0,96
B	g TS	1,07	1,01	1,03	1,04	1,09	0,98
C	g TS	1,10	0,96	1,03	1,04	1,11	1,03
MW	g TS	1,09	0,98	1,03	1,03	1,10	0,99
Rel. Ertrag	%	100 %	91 %	94 %	95 %	101 %	91 %

Tabelle 6.67: Frischmasseerträge mit Nano-MgO

MgO	g/kg TS	0,00	0,19	0,38	0,76	1,51	3,02
A	g FS	12,64	13,63	11,69	11,94	12,79	12,65
B	g FS	13,68	11,67	12,11	12,73	11,82	13,24
C	g FS	12,73	11,70	11,72	12,39	12,03	12,48
MW	g FS	13,01	12,33	11,84	12,35	12,21	12,79
Rel. Ertrag	%	100 %	95 %	91 %	95 %	94 %	98 %

Tabelle 6.68: Trockenmasseerträge mit Nano-MgO

MgO	g/kg TS	0,00	0,19	0,38	0,76	1,51	3,02
A	g TS	0,92	1,00	0,84	0,84	0,92	0,90
B	g TS	0,98	0,83	0,87	0,91	0,85	0,95
C	g TS	0,93	0,83	0,84	0,89	0,86	0,90
MW	g TS	0,94	0,89	0,85	0,88	0,88	0,91
Rel. Ertrag	%	100 %	94 %	90 %	93 %	93 %	97 %

Tabelle 6.69: Frischmasseerträge mit Nano-TiO₂

TiO ₂	g/kg TS	0,00	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
A	g FS	14,23	14,86	15,11	15,06	15,34	14,72
B	g FS	15,34	14,83	13,87	14,95	14,53	14,74
C	g FS	14,35	14,09	15,36	15,34	14,87	14,02
MW	g FS	14,64	14,59	14,78	15,12	14,91	14,49
Rel. Ertrag	%	100 %	100 %	101 %	103 %	102 %	99 %

Tabelle 6.70: Trockenmasseerträge mit Nano-TiO₂

TiO ₂	g/kg TS	0,00	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
A	g TS	1,02	1,05	1,08	1,08	1,10	1,04
B	g TS	1,08	1,04	0,97	1,08	1,05	1,01
C	g TS	1,02	1,00	1,08	1,08	1,04	0,99
MW	g TS	1,04	1,03	1,04	1,08	1,06	1,01
Rel. Ertrag	%	100 %	99 %	100 %	104 %	102 %	98 %

Tabelle 6.71: *Frischmasseerträge mit MWCNT*

MWCNT	g/kg TS	0,00	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
A	g FS	14,10	13,67	14,48	14,72	14,87	14,71
B	g FS	14,31	14,61	15,40	13,88	15,18	14,98
C	g FS	13,85	14,22	15,14	15,65	13,88	14,27
MW	g FS	14,09	14,17	15,01	14,75	14,64	14,65
Rel. Ertrag	%	100 %	101 %	107 %	105 %	104 %	104 %

Tabelle 6.72: *Trockenmasseerträge mit MWCNT*

MWCNT	g/kg TS	0,00	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
A	g TS	1,00	0,95	1,01	1,05	1,07	1,04
B	g TS	1,03	1,03	1,08	0,95	1,07	1,06
C	g TS	0,97	1,00	1,07	1,08	0,98	1,03
MW	g TS	1,00	0,99	1,05	1,03	1,04	1,04
Rel. Ertrag	%	100 %	99 %	105 %	103 %	104 %	104 %

bifa Umweltinstitut GmbH

Am Mittleren Moos 46

86167 Augsburg

Tel. +49 821 7000-0

Fax. +49 821 7000-100

www.bifa.de