

## Technische Nanomaterialien in der Umwelt – Analytischer Nachweis und mögliche Auswirkungen auf Organismen

Dana Kühnel, Steffi Böhme, Hans-Joachim Stärk

Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung – UFZ, Leipzig

Die Nanotechnologie wird als eine Schlüsseltechnologie des 21. Jahrhunderts angesehen. Der Erfolg dieser Technologie beruht auf ihrer Vielseitigkeit: ob in Sonnencreme, in medizinischen Anwendungen, in elektronischen Geräten oder bei der Reinigung hochgradig verschmutzten Grundwassers, Nanotechnologie kommt in vielen Bereichen zum Einsatz. Dabei werden verschiedene Ausgangsmaterialien verwendet: Metalle, Metalloxide und -salze, organische Substanzen und auch Mischungen, beispielsweise ein metallischer Nanopartikel mit einer organischen Beschichtung. In Abhängigkeit davon, wie ein Nanomaterial in einer bestimmten Anwendung vorliegt (z.B. frei – Sonnencreme, eingebunden in Matrix – Lacke) ist eine Freisetzung in die Umwelt mehr oder weniger wahrscheinlich und betrifft unterschiedliche Kompartimente. In der Folge kommen auch Umweltorganismen (siehe z.B. Abbildung 1) mit technischen Nanomaterialien in Kontakt. Das wirft die Frage auf, ob die Exposition mit Nanomaterialien möglicherweise negative Auswirkungen auf Umweltorganismen haben kann. Aus diesem Grund war die Wirkung von technischen Nanomaterialien auf Umweltorganismen bereits Gegenstand vieler toxikologischer Laboruntersuchungen. Daraus ergeben sich neue analytische Fragestellungen und Herausforderungen. Diese betreffen einerseits den Nachweis und die Quantifizierung von Nanomaterialien in den verschiedenen Umweltkompartimenten und -medien (Wasser, Sediment, Boden). Weiterhin ist auf Ebene der Umweltorganismen die Lokalisation der Nanomaterialien von Bedeutung, also die Frage zu klären, ob eine Anlagerung oder Aufnahme von Nanomaterialien an oder in Pflanze oder Tier stattgefunden hat. Ist dies der Fall, so ist es auch hier von Interesse die mit den Organismen assoziierte Masse oder Anzahl an Nanopartikeln zu quantifizieren. Die Erkenntnisse aus solchen analytischen Untersuchungen helfen bei der Einordnung der beobachteten toxikologischen Effekte, beispielsweise auf Zebrafischembryonen, indem man sie in Bezug zu tatsächlichen Umweltkonzentra-

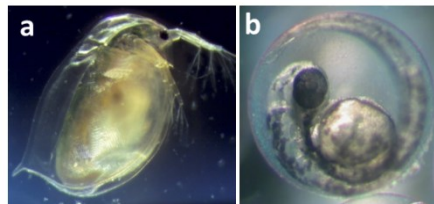


Abb. 1: Wasserflöhe (*Daphnia magna*, a) und Embryonen des Zebrafisch (*Danio rerio*) sind transparent und das Innere der Tiere ist daher einer Beobachtung leicht zugänglich. Sie werden als Standardtestorganismen für die Testung von Chemikalien und Nanomaterialien im Rahmen einer Risikobewertung eingesetzt. (Fotos: UFZ)

tionen setzt. Jedoch bedarf die analytische Untersuchung von Nanomaterialien noch der Entwicklung, insbesondere in Bezug auf die analytische Empfindlichkeit, die Selektivität und die räumliche Auflösung.

### Analytik von Nanomaterialien in der Umwelt

Am umfangreichsten entwickelt ist die analytische Messtechnik für luftgetragene Partikel in der Umwelt, am Arbeitsplatz und Innenräumen (Feinstaubproblematik). Dagegen ist die Analytik von Nanomaterialien in Umweltmedien wie Wasser, Boden oder Sedimenten komplizierter. Die Schwierigkeiten werden vor allem durch die starken Wechselwirkungen zwischen Nanomaterial und dem Umweltmedium (Matrixeffekte) und den hohen natürlichen Hintergrund bei vielen Elementen verursacht.

Bei der Analytik von Nanomaterialien in der Umwelt stehen unterschiedliche Aspekte im Fokus:

- die qualitative Detektion von Nanomaterialien
- die Quantifizierung der Stoffmenge, die von Nanomaterialien beigetragen wird (in Abgrenzung zum natürlichen Hintergrund)
- die Charakterisierung konkreter Nanoobjekte (z.B. Masse, Form, Größe, Ober-

fläche, Struktur, chemische bzw. elektrische Potenziale, z.B. Zetapotential) in Abhängigkeit von äußeren Bedingungen

- die Charakterisierung von Verbindungen von Nanoobjekten, bzw. von Nanoobjekten mit anderen in der Umwelt vorhandenen Substanzen in Abhängigkeit von äußeren Bedingungen (z.B. Aggregation, Agglomeration, Partikelgrößen-Verteilung, Partikelanzahl-Verteilung)
- die Lokalisierung von Nanoobjekten bis hin zu quantifizierend abbildenden Verfahren (zur Beantwortung von Fragen wie beispielsweise: Welche Stoffmenge eines Nanomaterials wird von Organismen oder Zellen inkorporiert, wie und in welcher Form wird dieses Nanomaterial in dem Organismus bzw. der Zelle verteilt?)

Mögliche Lösungsansätze der analytischen Aufgabenstellungen, die sich aus den o.g. Fragen ergeben, bieten für Nanomaterialien auf der Basis von Metallen oder Metallverbindungen besonders die Methoden der analytischen Atomspektrometrie (z.B. AAS, ICP-OES) sowie der anorganischen Massenspektrometrie (z.B. ICP-MS). Für die lateral auflösenden Untersuchungen lassen sich hervorragend die Licht- und Elektronenmikroskopie (in Kombination mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDS)) und die Laserablation gekoppelt mit elementanalytischen Methoden (LA-ICP-MS) oder auch die Methoden der Elementmassenspektroskopie, wie beispielsweise die Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS) anwenden.

Zur Charakterisierung der Eigenschaften von Partikeln bzw. Partikelensembles kommen Methoden der (Elektronen-)Mikroskopie, Streulichtuntersuchungen (z.B. DLS), die Einzelpartikel-ICP-MS (sp-ICP-MS) und für die Auftrennung von Partikelmischungen die Feldflussfraktionierung (FFF), hier vor allem als „Asymetrische Fluss Feldfluss Fraktionierung“ (AF4), in Frage.

## Nachweis und Quantifizierung von Nanomaterialien in Umweltorganismen

Für eine Erfassung der Lokalisation von Nanomaterialien in Organismen, Geweben oder Zellen sowie einer Bestimmung der elementaren Identität eines detektierten Partikels kommen wie oben erwähnt vielfach verschiedene Techniken der Elektronenmikroskopie zum Einsatz. Diese Methoden liefern qualitative Informationen, beispielsweise über die Verteilung eines Nanomaterials in einer Zelle. Neben der elektronenmikroskopisch basierten Detektion von Nanomaterialien mit einer Auflösung im unteren Nanometerbereich bietet sich zusätzlich die Möglichkeit, Partikel zum Zwecke der besseren Nachweisbarkeit zu modifizieren. Mithilfe fluoreszierender bzw. fluoreszenz-markierter Partikel kann z.B. die Aufnahme auf Ebene einzelner Organismen sehr gut nachverfolgt werden. Verwendet man Partikel, die mit stabilen oder radioaktiven Isotopen markiert wurden, so lassen sich Partikel mit einer hohen lokalen Auflösung nachweisen, ohne in die partikelspezifischen chemischen und physikalischen Eigenschaften einzugreifen und folglich auch das Aufnahmeverhalten zu verändern.

Für die heute vielfältig verwendeten Nanomaterialien auf Metall-, Metallsalz oder Metalloxidbasis liegt die Anwendung elementspezifischer Analytik nahe. Vor allem ICP-MS basierte Methoden werden routinemäßig zur Quantifizierung von nominalen Aufnahmemengen als Methode der Wahl herangezogen. Wie oben erwähnt sollte allerdings nicht nur die Gesamtbelastung eines Individuums im Fokus stehen, sondern vielmehr die lokale Verteilung und das Akkumulationsverhalten von Nanomaterialien in einzelnen Geweben und Organen. Durch die Visualisierung und Quantifizierung dieser ortsspezifischen internen Dosen, könnten die für Nanopartikel auftretenden Aufnahme-, Verteilungs-, Umwandlungs- und Eliminationsmechanismen zukünftig besser verstanden werden.

Mit Hilfe einer LA-ICP-MS basierten Methode wird am Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ) die Aufnahme und Verteilung von Nanomaterialien in Umweltorganismen semiquantitativ visuell dargestellt. Als Untersuchungsobjekte werden hierbei Modellorganismen, wie z.B. Wasserflöhe (*Daphnia magna*) oder Zebraquärlingsembryonen (*Danio rerio*) verwendet.

Für diese Methode werden zunächst die Modellorganismen mit dem entsprechenden Nanomaterial exponiert, danach fixiert und zur Probenvorbereitung geschnitten. Die Gefrierschnitte, welche als einfache organische Matrix betrachtet werden können, wer-

den nun durch Laserablation verdampft und die Probe gelangt als Aerosol in das gekoppelte ICP-MS (Abbildung 2).

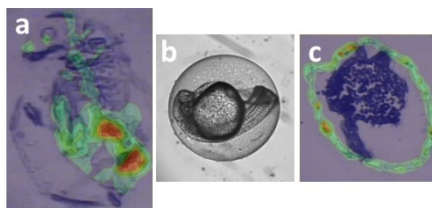


Abb. 2 Darstellung der Verteilung von Metallbasierten Nanomaterialien in (a.) Wasserflöhen (*Daphnia magna*) und (b. und c.) Embryonen des Zebraquärlings (*Danio rerio*) mittels LA-ICP-MS. Die Nanomaterialien reichern sich vor allem im Darm der Wasserflöhe an, während bei Fischebryonen vor allem eine starke Anlagerung an die Eihülle (Chorion) zu beobachten ist.

Die laterale Auflösung ist dabei abhängig von den verwendeten Laserparametern, insbesondere der Spotgröße und der Laserenergie. Optimierte Probenkammern mit kleinen Volumen und folglich geringeren Auswaschzeiten sind oftmals zwingend notwendig, um zeiteffizient zu arbeiten. Für die Quantifizierung selbst werden individuell gespikte Agarosegele als externes Kalibrierungssystem verwendet. Eine Validierung der quantitativen Datenanalyse erfolgt durch eine separate Ermittlung der Gesamtkonzentration der Organismen durch standardisierte Aufschlussmethoden und anschließender Messung mit ICP-MS.

## Weiterführende Informationen zu Umweltauswirkungen – Wissensbasis Nanomaterialien

Die Abschätzung des Einflusses von neuen Technologien oder neu entwickelten Substanzen auf unsere Umwelt ist immer eine Herausforderung. Im Falle der Nanotechnologie sind jedoch wie oben beschrieben nicht nur Defizite in den analytischen Methoden vorhanden, sondern auch die toxikologischen Methoden sind oft nicht geeignet und verlangen Anpassungen für die Erfassung möglicher schädlicher Effekte von Nanomaterialien. Um mögliche Gefährdungen von Umweltorganismen durch Nanomaterialien abzuschätzen, wurden zahlreiche Studien durchgeführt, bei denen sowohl verschiedene Nanomaterialien als auch unterschiedliche aquatische und terrestrische Organismen untersucht wurden. Für Nicht-Fachleute ist es jedoch häufig schwierig, die Qualität einer Studie zu bewerten und die beschriebenen Ergebnisse einzuordnen. Eine gute Übersicht zum aktuellen Wissensstand liefert hierfür die Webseite [www.nanopartikel.info](http://www.nanopartikel.info), auf welche an dieser Stelle für tiefergehende Informationen zur Ökotoxikologie von Nanomaterialien verwiesen sein soll (Abbildung 3).

Die Wissensbasis Nanomaterialien bildet das Kernstück des Projekts DaNa2.0 (2013-2017), das vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert wird. Ein Team von Wissenschaftlern verschiedener Fachrichtungen arbeitet hier gemeinsam daran, allgemeinverständliche Informationen zu Nanomaterialien zusammenzustellen. Die Daten und Inhalte einer Studie werden vor

Abb. 3 Screenshot der DaNa-Wissensbasis-Seite. Die Informationen zu den einzelnen Nanomaterialien sind sowohl anwendungs- als auch materialspezifisch zugänglich.

einer Veröffentlichung auf der Webseite sorgfältig anhand festgelegter Kriterien hinsichtlich ihrer Qualität und Aussagekraft überprüft.

Zu derzeit 25 technisch hergestellten Nanomaterialien sind umfangreiche Daten zu den möglichen Auswirkungen auf Mensch und Umwelt, sowie Materialeigenschaften zusammengefasst (Abbildung 4).

Die Nanomaterialien wurden aufgrund ihres Einsatzes in bestimmten Anwendungen und Produkten ausgewählt. Für 23 der gelisteten Nanomaterialien sind Umwelt relevante Informationen verfügbar, die in die Kategorien Exposition, Verhalten und Auswirkung auf Organismen untergliedert sind. Die Wissensbasis bietet auch einen anwendungs-basierten, schnellen Zugang zu den Inhalten, da oft für Verbraucher ein Produkt am Beginn einer Recherche steht und weniger ein bestimmtes Material. Zusätzlich finden sich auf der Website weitere Informationen zu aktuellen Forschungsprojekten, die Möglichkeit Fragen an das Projektteam zu stellen, sowie Neuigkeiten und relevante Links rund um das Themengebiet Nanotechnologie.



Abb. 4 In der **DaNa-Wissensbasis** sind Informationen zu Anwendungen, Umwelt- und Gesundheitsauswirkungen von 25 Markt relevanten Nanomaterialien verfügbar.