



universität
wien

MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

„Wirkung von Silber-Nanopartikeln auf die Gemüsepflanze
Raphanus sativus und deren Verteilung im Pflanzensubstrat“

verfasst von / submitted by

Fabian Dorn, B.Sc.

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of

Master of Science (MSc)

Wien, 2023 / Vienna 2023

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

UA 066 862

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Masterstudium Chemie

Betreut von / Supervisor:

Mag. Dr. Franz Jirsa, Privatdoz.

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle aufrichtig bei allen Menschen bedanken, die mich bei meiner Masterarbeit unterstützt haben. Ein besonderer Dank geht an Franz Jirsa, der es mir ermöglicht hat, meine Masterarbeit in einem umweltchemisch relevanten Thema zu schreiben und mir auch während der praktischen Tätigkeiten immer beratend zur Seite stand. Auch danke ich ihm für die hilfreichen Tipps beim Schreiben meiner Arbeit. Ebenso danke ich Jakob und Andreas, die mir stets bei Fragen und Unklarheiten helfend zur Seite standen und mich immer wieder mit geeigneten Hilfestellungen auf den richtigen Weg führten. Außerdem möchte ich meiner Freundin Tina danken, die während der ganzen Zeit immer ein offenes Ohr für mich hatte, mich motiviert hat und mir auch beim Korrekturlesen eine große Unterstützung war.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Nanopartikel und deren Eigenschaften	1
1.2	Anwendung von Nanopartikeln in der Agrarwirtschaft	2
1.2.1	Nanodünger	2
1.2.2	Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfung	4
1.3	Aufnahme, Translokation und Akkumulation von Nanopartikeln in Pflanzen	4
1.4	Vorkommen, Verwendung und Eigenschaften von Silber	8
1.5	Anwendung von Silber-Nanopartikeln in der Agrarwirtschaft	8
1.6	Auswirkungen von Silber-Nanopartikeln auf Pflanzen	9
1.6.1	Exposition des Wurzelsystems	10
1.6.2	Exposition der Blätter	11
1.7	Verhalten von Silber-Nanopartikeln im Boden	15
1.8	Radieschen als Nutzpflanze	16
1.9	Ziel dieser Arbeit	17
2	Material und Methoden	18
2.1	Substratparameter	18
2.1.1	Probenvorbereitung	18
2.1.2	Silbergehalt	19
2.1.3	Gehalt weiterer Schwermetalle	20
2.1.4	Stickstoffgehalt	20
2.1.5	Phosphatgehalt	21
2.1.6	Wasserhaltekapazität	22
2.1.7	pH-Wert	22

2.1.8	Gesamter organischer Kohlenstoff	22
2.2	Charakterisierung der Silber-Nanopartikel und des Düngemittels	23
2.3	Versuchsaufbau	24
2.3.1	Kultivierung der Radieschen	24
2.3.2	Probennahme, Probenvorbereitung und Probenanalyse	26
2.4	Statistische Datenanalyse	27
3	Ergebnisse	29
3.1	Substratparameter	29
3.2	Charakterisierung der Silber-Nanopartikel Suspensionen und des Düngemittels	30
3.2.1	Silbergehalt	30
3.2.2	Partikelgröße und Partikelform	30
3.3	Versuchsergebnisse	34
3.3.1	Masse, Größe und Umfang	36
3.3.2	Silbergehalt der Wurzeln und Blätter	39
3.3.3	Silbergehalt im Pflanzensubstrat	41
4	Diskussion	44
4.1	Substratparameter	44
4.2	Charakterisierung der Silber-Nanopartikel Suspensionen	45
4.3	Kultivierung	45
4.4	Masse, Größe und Umfang	46
4.5	Silbergehalt der Wurzeln und Blätter	47
4.6	Silbergehalt im Substrat	48
5	Fazit	49
	Literaturverzeichnis	50
	Zusammenfassung	59
	Abstract	61

1 Einleitung

1.1 Nanopartikel und deren Eigenschaften

Als Nanomaterialien werden natürlich vorkommende oder künstlich hergestellte Materialien bezeichnet, welche eine Ausdehnung in mindestens eine Dimension von unter 100 nm haben. Dazu zählen Nanofilme, Beschichtungen, Nanoröhren, Nanodrähte und Nanopartikel (NP). In solch einer Größenordnung weisen diese Materialien Eigenschaften von Schüttgütern als auch von kleinen Molekülen auf. NPs können einen natürlichen Ursprung haben, wie beispielsweise in Asche oder Biomolekülen. Neben diesen können sie aber auch unabsichtlich vom Menschen durch Abgase, Zigarettenrauch, Schweiß- und Schleifprozesse produziert oder absichtlich für diverse Anwendungsmöglichkeiten hergestellt worden sein [1]. Charakteristisch für NPs ist ein sehr großes Oberflächen-zu-Volumen Verhältnis. Der prozentuale Anteil an oberflächenexprimierten Atomen steigt mit abnehmender Partikelgröße. Beispielsweise steigt dieser von $0,006\%$ eines $10\text{ }\mu\text{m}$ großen Partikels auf knapp 50% in einem 2 nm großen Partikel. Allgemein verhält sich die spezifische Oberfläche umgekehrt proportional zur Partikelgröße [2]. Die physikochemischen Eigenschaften von NPs hängen von der Oberflächenstruktur (Oberflächengruppen, Beschichtungen), chemischen Zusammensetzung (Reinheit, Kristallinität), Reaktivität, Massenkonzentration, Größe und Größenverteilung, Löslichkeit, Aggregation, Mobilität als auch von der Form ab [1][3].

Diese Eigenschaften beeinflussen maßgeblich das Verhalten und den Verbleib der Partikel in der Umwelt. Besonders die Größendimension von NPs macht sie ökotoxikologisch relevant. Dies begründet sich in der Möglichkeit zur Überwindung natürlicher Barrieren in Organismen, welche, je nach Barriere, Porengrößen im Nanometerbereich aufweisen. Je kleiner ein Partikel ist, desto leichter kann dieser die Zellwand penetrieren. Ob ein aufgenommener Partikel nützlich für den Organismus ist oder Schäden verursacht, hängt dabei von der Art des Partikels und der Anzahl der internalisierten Partikel ab. Auch die Morphologie von NPs hat einen Einfluss auf die toxikologischen Eigenschaften.

Beispielsweise konnten Pal et al. [4] Unterschiede in der Elektronendichte bei runden, stäbchenförmigen und dreieckigen Ag-NPs feststellen. Die Formunterschiede resultierten in unterschiedlichen Interaktionen mit dem gram-negativen Bakterium *Escherichia coli*.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist das Zetapotential. Dieses gibt Aufschluss über die räumliche Ausdehnung des elektrischen Potentials eines NPs. Hierüber lassen sich Informationen über den Grad der Abstoßung benachbarter und geladener Teilchen in einer Dispersion gewinnen. Ein hoher Wert ($>\pm 30\text{ mV}$) bedeutet dabei eine starke Abstoßung und eine geringere Agglomeration. Die Kenntnis des Zetapotentials liefert damit wichtige Informationen über das Verhalten eines NPs in einer Suspension [3].

1.2 Anwendung von Nanopartikeln in der Agrarwirtschaft

Der weltweite Ernterückgang aufgrund von gestiegenen Salzgehalten in Böden, Dürren, Schädlingen, veränderten klimatischen Bedingungen und die Notwendigkeit, eine zunehmend größere Menschenpopulation zu ernähren, macht es nötig, nach neuen Möglichkeiten zum Pflanzenschutz und zur Steigerung der Erträge zu suchen. Auch die Verringerung der Biodiversität und limitierende Anbauflächen fordern ein Umdenken [3]. Offen für neue Technologien zu sein, ist damit unerlässlich, um die Ernteerträge zukünftig zu steigern und Lösungen für die aufgeführten Probleme zu finden. NPs mit ihren speziellen Eigenschaften sind dabei in das Blickfeld der Forschung gelangt. Die Vielzahl der möglichen Parameter, wie Zusammensetzung, Größe, Oberflächenstruktur etc. ermöglichen es, NPs mit unterschiedlichsten physikochemischen Eigenschaften zu konstruieren. Denkbare Anwendungsfelder für NPs in der Agrarwirtschaft liegen in den Gebieten Pflanzenschutz, Schädlingsbekämpfung oder Düngemittel, mit dem Ziel, das Wachstum und die Erträge von Pflanzen zu verbessern [5][3].

1.2.1 Nanodünger

Herkömmliche Düngemittel sind für den Produzenten meist sehr kostenintensiv und können dabei auch schädlich für Mensch und Umwelt sein [6]. Hieraus begründet sich die notwendige Suche nach Düngemitteln, welche umweltfreundlicher sind und gleichzeitig eine hohe Nährstoffnutzungseffizienz aufweisen. Das Kernproblem herkömmlicher Düngemittel liegt oft in deren schnellen Nährstofffreisetzung, wodurch ein Großteil der Nährstoffe nicht von der Pflanze resorbiert, sondern vorher ausgewaschen oder abgebaut wird oder sich im Boden festsetzt. Die von Pflanzen aufgenommene

Düngermenge beträgt im Allgemeinen weniger als die Hälfte der ausgebrachten Düngermenge. Von den zugeführten Makronährstoffelementen wie Stickstoff, Phosphor und Kalium können dabei bis zu 90% verloren gehen. Eine mögliche Alternative hierzu sind an nanodimensionale Adsorptionsmittel gebundene Nährstoffe, welche im Vergleich zu herkömmlichen Düngemitteln sehr langsam, innerhalb von 40 – 50 Tagen statt 4 – 10 Tagen bei konventionellen Düngemitteln, freigesetzt werden [7]. Dieses Konzept erhöht nicht nur die Effizienz der Nährstoffnutzung durch eine erhöhte und effektivere Aufnahme von Nährstoffen und essenziellen Verbindungen, sondern minimiert auch die Auswaschung von Nährstoffen in das Grundwasser. Als vielversprechende Stickstoff-Nanodünger mit langsamer und kontrollierter Freisetzung gelten beispielsweise Harnstoff-modifizierte Zeolithe, Hydroxylapatit und mesoporöse Silica-Nanomaterialien [8]. Der Bedarf an Mikronährstoffen kann ebenso über Nanodünger der Pflanze zur Verfügung gestellt werden. Zink beispielsweise ist ein für Pflanzen wichtiges Element, welches in der Synthese von Kohlenhydraten und dem Proteinmetabolismus eine Rolle spielt. Der Einsatz von Zn-NPs als Nanodünger konnte den Getreideertrag von Perlhirse *Pennisetum americanum* um 38% steigern als auch die Trieb länge, Wurzellänge und den Chlorophyllgehalt erhöhen [9]. In anderen Studien konnte beobachtet werden, dass NPs auch wachstumsfördernd wirken können. Beispielsweise konnte TiO_2 in höheren Konzentrationen das Wachstum von Spinat *Spinacia oleracea* fördern, sowie die Chlorophyllsynthese beschleunigen und die Photosyntheserate steigern. Zudem erhöhte sich die Trockenmasse (TM) von Spinat [10]. In einer anderen Studie konnten TiO_2 -NPs in einem Konzentrationsbereich von 50 – 150 mg/kg das Biomassewachstum von Weizenpflanzen erhöhen [11]. Ein weiteres Beispiel für die Anwendung von NPs als Düngemittel ist die Verwendung von Fe-NPs. Eisen ist ein wichtiger Nährstoff für Pflanzen, kann aber nur schwer von Pflanzen aufgenommen werden, da ein großer Teil des im Boden vorkommenden Eisens an Bodenpartikel gebunden ist. Fe-NPs können verwendet werden, um Eisen in eine Form zu bringen, die leichter von Pflanzen aufgenommen werden kann, was folglich zu einem verbesserten Wachstum und einer verbesserten Entwicklung der Pflanze führt. Rui et al. [12] haben den Effekt von Fe_2O_3 (2 – 2000 mg/kg) mit konventionellem Eisendünger Ethylendiamintetraessigsäure-Fe (EDTA-Fe, 45, 87 mg/kg) verglichen und die Entwicklung von Erdnusspflanzen *Arachis hypogaea* erforscht. Es zeigte sich, dass Fe_2O_3 den Eisengehalt in der Pflanze erhöht, jedoch weniger stark als EDTA-Fe, und dass der Chlorophyllgehalt bei Konzentrationen von 2, 10 und 1000 mg/kg im selben Maße zunahm wie bei EDTA-Fe.

1.2.2 Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfung

NPs können in der Agrarwirtschaft als Pflanzenschutz eingesetzt werden. Nanomaterialien werden entweder auf die Pflanzenblätter aufgesprüht oder im Pflanzensubstrat verteilt und hemmen das Wachstum von schädlichen Pilzen und Mikroorganismen. Alternativ können NPs auch als Träger für Pestizide und Herbizide verwendet werden [7]. NPs als Träger zu nutzen, kann dazu beitragen, die Wirksamkeit von Pestiziden und Herbiziden zu erhöhen und gleichzeitig die Häufigkeit der Verwendung zu reduzieren, was die Umweltbelastung verringern kann. NPs können auch als Wärme- oder UV-Schutz für Pflanzen verwendet werden [13].

Ein Nutzen der Nanotechnologie zur Schädlingsbekämpfung besteht in der Reduktion von benötigten Pflanzenschutzmitteln [14]. Bakterielle Krankheiten und Pilze sind eine Ursache für erhebliche Ernteverluste weltweit. Ag-NPs wirken nachweislich gegen pflanzenpathogene Bakterien. SiO₂Ag-NPs induzierten bei Acker-Schmalwand *Arabidopsis thaliana* eine Immunantwort und führten zu einer verbesserten Resistenz gegenüber dem pathogenen Bakterium *Pseudomonas syringae* [15]. Den NP-Einsatz von Fungiziden haben beispielsweise Beckers et al. [16] untersucht. Dabei wurden Nanotransporter synthetisiert, welche mit Fungiziden beladen werden konnten. Die Nanokapseln bestanden dabei aus Xylan, einem pflanzlichen Heteropolysaccharid, das von Pilzen abgebaut werden kann und damit zur Freisetzung des Fungizids führt [16]. Der Einsatz von TiO₂-NPs zur Verbesserung der UV-B Stresstoleranz ist ein anderer denkbare Einsatz für Nanomaterialien. Eine Studie von Wang et al. [13] ergab bei Acker-Schmalwand eine Milderung des Pflanzenstress durch UV-B Strahlung. TiO₂-NPs erhöhten die Aktivität von antioxidativen Enzymen und förderten die Synthese von Flavonoiden.

1.3 Aufnahme, Translokation und Akkumulation von Nanopartikeln in Pflanzen

Das Wissen über die Mechanismen und die Wirkungsweise von NPs auf zellulärer und molekularer Ebene ist rudimentär. Die Forschung zur Aufnahme, Translokation und Akkumulation von Nanomaterialien in Pflanzen befindet sich noch in ihren Anfängen. Die Aufnahme in das Gewebe der Pflanze kann unterirdisch über das Wurzelsystem oder die überirdischen Pflanzenbestandteile erfolgen. Die Kenntnis über Struktur und Aufbau dieser Bestandteile ist daher von essenzieller Bedeutung, um

das Verhalten und den Verbleib von NPs zu prognostizieren.

Die Wurzel besteht aus einer Vielzahl verschiedener Zellarten, die spezifische Funktionen ausführen. Die Wurzelhaube (Kalyptra) besteht aus kurzlebigen sich schnell teilenden Zellen, welche das Vordringen der Wurzel in den Boden erleichtert und dieser Orientierung gibt. Es schützt das darunter liegende Wurzelmeristem vor Verletzungen. Die Wurzelhaube sondert einen polysaccharidhaltigen Schleim ab, welcher wie ein Gleitfilm im Bereich der Wurzelspitze wirkt und eine Rolle bei der Aufnahme von Nährstoffen und Schwermetallen spielt [17]. Einteilen lässt sich die Wurzel in die Zellteilungszone, welche direkt hinter der Wurzelspitze beginnt. Daran angrenzend liegt die Zellstreckungszone. Die neuen Wurzelzellen erreichen die bis zu 10-fache Ausdehnung und drücken dadurch die Wurzel in den Boden. Kurz vor der maximalen Zellausdehnung differenzieren sich die Zellen zu spezifischen Zelltypen wie Rhizodermis, Parenchym und Leitgewebe (Differenzierungszone). Die äußerste Zellschicht, die Rhizodermis, besteht aus einer einzelnen Zellreihe und besitzt keine Cuticula und Stomata. Die Rhizodermiszellen bilden Wurzelhaarzellen, welche für die Absorption von Wasser und Nährstoffen verantwortlich sind. Das darunter liegende Rindenparenchym dient als Festigungsgewebe, der Speicherung von Kohlehydraten und schleust Wasser und die darin gelösten Nährstoffe bis zu den Leitbündeln. Die Endodermis ist die dem Zentralzylinder am nächstgelegene Schicht und durch den casparischen Streifen gekennzeichnet. Die Endodermis ist durchzogen von einer Ligninschicht, welche die Permeabilität der Zellwand für Wasser und Nährstoffe einschränkt. Der casparische Streifen spielt eine wichtige Rolle in der Regulierung des Wasser- und Nährstofftransports in Pflanzen. An die Endodermis schließt das Perizykel an und bildet den äußeren Teil des Zentralzylinders. Die Seitenwurzeln bilden sich hier aus. Im Zentralzylinder liegen die Ferntransportbahnen Xylem und Phloem. Das Xylem weist einen Durchmesser von $200 - 500\text{ nm}$ auf und transportiert Wasser und Nährstoffe zu den Blättern. Wesentlich kleiner sind die Bahnen des Phloems, deren Durchmesser $20 - 40\text{ nm}$ betragen und Assimilate von den Blättern zu den Wurzeln transportieren [18] [19].

Die Aufnahme von Wasser und gelösten Ionen beginnt in den Wurzelhärcchen über Osmose. Es erfolgt entweder der nichtselektive apoplastische Transport entlang der Zellzwischenräume und Zellwände oder der symplasmatische Transport durch die Protoplasten. Diverse chemische und physiologische Barrieren bestimmen die Größenausschlussgrenze, bis zu welcher Größe Partikel aufgenommen werden können. Gestoppt wird der apoplastische Transport für NPs durch den casparischen Streifen, welcher eine Größenausschlussgrenze von $< 1\text{ nm}$ aufweist. NPs einer Größe von $36 - 50\text{ nm}$

wurden überwiegend im zwischenzellulären Bereich und den Zellwänden der Wurzeln gefunden [20]. Alternativ kann der Transport durch passive Diffusion über die Protoplasten erfolgen. Die Porengröße der Zellwand liegt bei $5 - 20\text{ nm}$, die der Zellmembran bei $300 - 500\text{ nm}$. Der symplastische Transport wird zunächst begrenzt durch die $3 - 50\text{ nm}$ großen Plasmodesmen [21]. Studien haben gezeigt, dass sich beispielsweise $20 - 40\text{ nm}$ große Ag-NPs, $\sim 15\text{ nm}$ große Au-NPs oder andere vergleichbar große Präzipitate in den Plasmodesmen akkumulierten [20]. Gelangten NPs in das Xylem, so konnten diese in die anderen Pflanzenbestandteile und das Phloem migrieren [22]. Das Xylem und Phloem sind damit die bedeutendsten Transportorgane zur Translokation von NPs [23]. In Abbildung 1.1 (a) sind die Eintrittswege über die Wurzel und Blätter schematisch abgebildet und in (b) die Größenausschlussgrenze natürlicher Barrieren dargestellt.

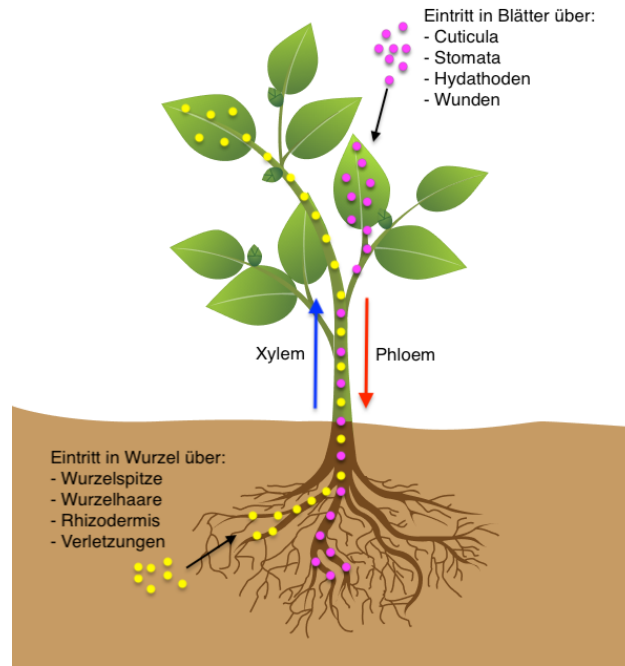
Diskutiert wird auch die Möglichkeit, dass NPs neue größere Poren induzieren und so ebenfalls in die Zelle gelangen können. Dies wurde berichtet von Ag-NPs [24], TiO_2 -NPs [25] und ZnO-NPs [26]. Die direkte Aufnahme von NPs in die Wurzel konnte beispielsweise für Fe_3O_4 -NPs [27], TiO_2 -NPs [25], Au-NPs [28] oder Kohlenstoffnanoröhren (CNTs) [29] nachgewiesen werden. Für Ag-NPs, ZnO-NPs oder CuO-NPs ist es unklar, ob sie als NP selbst oder als gelöste Metallionen aufgenommen werden [22].

In die Erde eingebrachte NPs können sich beim Kontakt mit der sauren Umgebung der Rhizosphäre teilweise auflösen, was wiederum Einfluss auf die Mobilität und den Aufnahmeweg hat. Eine eindeutige Antwort auf den bevorzugten Zelltransport (symplastisch oder protoplastisch) ist der Literatur nicht zu entnehmen [20]. Des Weiteren können Partikel über Endozytose in das Zellinnere aufgenommen werden [14].

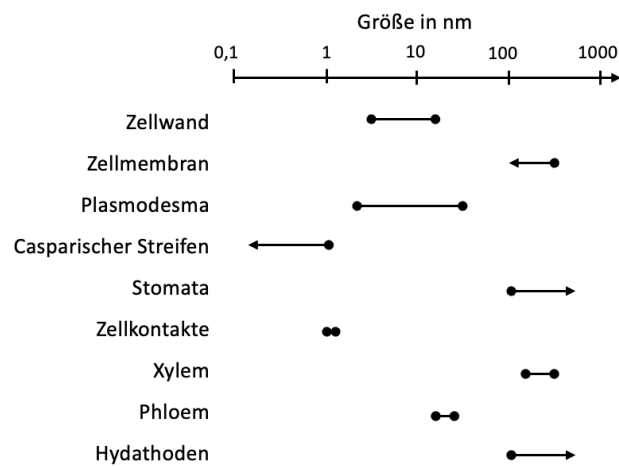
Die Blätter stellen einen weiteren Eintrittsweg von Partikeln in die Pflanze dar. Umgeben ist die obere und untere Epidermis von der Cuticula, einer vor Austrocknung, Hitze, Kälte und Schadstoffen schützenden Wachsschicht. Überwiegend in der unteren Epidermis erfolgt der Gasaustausch und die Abgabe von Wasser über Stomata, welche eine Porengröße von $> 100\text{ nm}$ aufweisen. Das darunter liegende Mesophyll besteht aus dem Palisadenparenchym, welches reich an Chloroplasten ist. Das angrenzende Schwammparenchym mit weniger Chloroplasten dient dem Gasaustausch bei der Photosynthese. Zwischen dem Palisadenparenchym und dem Schwammparenchym laufen die Leitbündel Xylem und Phloem für den Stofftransport [19] [18]. In den Blättern wurden bereits NPs sowohl im Apoplast als auch im Symplast nachgewiesen [20].

Die Aufnahmerate von NPs korreliert mit der Transpiration in Gefäßpflanzen. Die Bewegung der

Partikel erfolgt mit dem Wassertransport. Dies konnte an trockenheitstoleranten Pflanzen mit geringen Transpirationsraten gezeigt werden [30]. Die Messung der Aufnahmezeiten über die Wurzeln ergab Werte von $0,57 - 1,00 \text{ mg}/(\text{kg} * \text{d})$ für Ag-NPs der Größe $20 - 150 \text{ nm}$ [31]. Solche Aufnahmezeiten sind jedoch mit Vorsicht zu betrachten, da die Komplexität zur Trennung der Aufnahme von NPs und der Aufnahme von ionischem Silber die Interpretation der Messdaten erschwert [20].



(a) Eintrittswege in die Pflanze

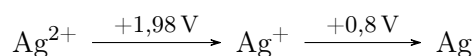


(b) Größenauschlussgrenzen pflanzlicher Barrieren

Abbildung 1.1: Aufnahme und Translokation von Nanopartikeln in Pflanzen (a) und Größenauschlussgrenzen pflanzlicher Barrieren (b)

1.4 Vorkommen, Verwendung und Eigenschaften von Silber

Silber besitzt das chemische Symbol Ag und ist in gediegener Form ein silberweißglänzendes Übergangsmetall mit der Ordnungszahl 47. Es ist das 11. Element in der 5. Periode und gehört neben Kupfer und Gold zur Kupfergruppe. Die relative Atommasse liegt bei $107,868\text{ u}$ und die Elektronenkonfiguration von Silber im Grundzustand bei $4d^{10}5s^1$. Es kommt in der Natur gediegen, als Silbersulfid oder in Blei- und Kupfererzen vor. Silber findet Anwendung elementar als Münzen, Schmuck, Überzug oder als elektrischer Leiter in der Elektronik. Silbersalze wirken antibakteriell und antimykotisch [32]. Die Silberionen zeigen eine sehr große Affinität zu Schwefel. Silber besitzt die höchste elektrische und thermische Leitfähigkeit aller Elemente. Der Schmelzpunkt liegt bei $961\text{ }^\circ\text{C}$ und Siedepunkt bei $2212\text{ }^\circ\text{C}$. Die Dichte liegt bei $10,49\text{ g/cm}^3$ und die Mohshärte bei $2,5 - 3$. Das Potentialdiagramm von Silber ist in der nachstehenden Reaktion dargestellt. Das zweiwertige Silberion wird bei einem Standardpotential von $+1,98\text{ V}$ zum einwertigen Silberion reduziert und das einwertige Silber zu elementarem Silber bei einem Standardpotential von $+0,8\text{ V}$. Damit ist Silber ein Edelmetall, welches relativ reaktionsträge ist [33].



Elementares Silber reagiert nicht mit Sauerstoff, auch nicht bei höheren Temperaturen. In oxidierenden Säuren wie konzentrierter Schwefelsäure oder Salpetersäure löst es sich. Silber kommt überwiegend in den Oxidationsstufen +I und +II vor. Die stabilste Oxidationsstufe von Silber hat die Elektronenkonfiguration $4d^{10}$ und kommt in Silber(I)-Verbindungen, wie zum Beispiel Ag_2S , vor. Das Ag^+ -Ion ist in wässriger Lösung beständig [34]. Künstlich hergestelltes nanopartikuläres Silber ist sehr stabil und lässt sich gut in wässriger Lösung dispergieren [5].

1.5 Anwendung von Silber-Nanopartikeln in der Agrarwirtschaft

Aufgrund der starken antimikrobiellen Effekte sind Ag-NPs die am häufigsten vorkommenden metallischen NPs in Konsumprodukten [22]. Anwendungsmöglichkeiten von Ag-NP in der Agrarwirtschaft werden derzeit vielfach diskutiert. Silberhaltige NPs könnten eine Möglichkeit darstellen, biotischen und abiotischen Stress in Pflanzen zu verringern und damit ein neuer Ansatz für alternative Pflanzendünger und Pestizide sein [3]. Grund dafür liegt in dem großen Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis, welches einen stärkeren antimikrobiellen Effekt zu haben scheint, verglichen mit Bulk-

materialien aus Silber [7]. Ob die mikrobielle Toxizität speziell von der Größe der NPs oder von freigesetzten Silberionen herrührt, ist nicht abschließend geklärt [22]. Ziel der Forschung ist zum einen die Erkenntnisgewinnung über die Wachstumshemmung von Pilzen, Mikroorganismen und anderen Pathogenen als auch eine mögliche Nutzung als Wachstumsstimulator für Pflanzen [5]. Die Aufnahmefähigkeit in die Pflanze und das Verhalten der NPs in dieser hängen von der chemischen Zusammensetzung, Größe, Beschichtung, Reaktivität, Agglomeration und ihrer Konzentration ab. Die Exposition der NPs kann, wie in Abschnitt 1.3 beschrieben, über den Boden oder die Blätter stattfinden [3]. Akkumulieren die Partikel in essbaren Pflanzenbestandteilen, so können diese über den Verzehr jener in den menschlichen Körper gelangen und damit ein potenzielles Risiko für den Menschen darstellen [35].

1.6 Auswirkungen von Silber-Nanopartikeln auf Pflanzen

Die nützlichen oder schädlichen Effekte von Ag-NPs sind stark abhängig sowohl von der Pflanzenspezies als auch von den Eigenschaften der NPs selbst. Durch die physische Interaktion von NPs können Poren der Zellwand und der Plasmodesmen verstopfen und den Wasser- und Nährstoffaustausch behindern. Gelöstes Silber wiederum kann reaktive Sauerstoffspezies (ROS) generieren und durch Bindung an schwefelhaltige Gruppen von Zellkomponenten deren Funktion beeinträchtigen [23]. Einen bedeutenden Einfluss hat die Interaktion der NPs mit dem Boden. Diese kann die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Partikel verändern, wodurch wiederum die Phytotoxizität beeinflusst werden kann. Die Ag-NPs können Auswirkungen auf die im Boden lebenden mikrobiellen Gemeinschaften haben und damit das Wachstum von Pflanzen fördern oder beeinträchtigen [36]. Diskutiert wird auch, ob die physikochemischen Eigenschaften von Ag-NPs, verglichen mit ionischem Silber, für eine bessere Aufnahmefähigkeit in die Pflanze sorgen. Kleine NPs können dabei leichter die Zellwand penetrieren als große [37]. Die Oxidation in der Pflanzenzelle kann dann zu ROS führen und die Pflanze schädigen [38]. Einige Studien, welche sich mit den Auswirkungen von Ag-NPs auf Pflanzen beschäftigt haben, werden in Kapitel 1.6.1 und 1.6.2 diskutiert.

1.6.1 Exposition des Wurzelsystems

Wang et al. [39] haben die Exposition von Ag_2S -NPs, Ag-NPs und AgNO_3 über zwei Wochen an der Augenbohne *Vigna unguiculata* und an Weizen *Triticum aestivum* getestet. Als Ergebnis verringerte sich die Masse von Wurzeln und Spross bei der Behandlung mit Ag_2S -NPs weit weniger als bei den Ag-NPs und AgNO_3 . Als Grund wird hier genannt, dass Ag_2S -NPs möglicherweise stark an die Bodenmatrix adsorbieren. Bei geringen Konzentrationen wird von leichter Wachstumsstimulation berichtet [39]. Die Aufnahme, der Transport und die Akkumulation von Ag-NPs in Flaumeiche *Quercus pubescens*, Waldkiefer *Pinus sylvestris* und Schwarzpappel *Populus nigra* wurden von Cocozza et al. [40] untersucht. Die Exposition der Pflanzen mit NPs erfolgte über die Wurzeln oder Blätter. Dabei akkumulierte Silber mehr und schneller im Stamm bei der Exposition der Blätter als bei der Wurzelexposition. In beiden Expositionsvarianten wurden erhöhte Hyperoxid-Werte in den Blättern gemessen. Außerdem verringerte sich die Anzahl der Populationen an Wurzel- und Blattbakterien sowie von Pilzen [40]. Die Behandlung von Acker-Schmalwand mit Citrat stabilisierten Ag-NPs der Größe 20, 40 und 80 nm führte zur Braunfärbung der Wurzelenden und zur Akkumulation der NPs in den Columellazellen nach vier Wochen. Messungen zeigten auch, dass kleine NPs mehr Silberionen freisetzen als große [41]. Schädigungen an den Wurzelenden von Weizen konnten auch bei der Exposition von PVP beschichteten Ag-NPs mit einer Größe von 15 nm beobachtet werden [42]. Hinweise auf eine Silberakkumulation wurde auch in Tomaten *Lycopersicon esculentum* beobachtet. Ag-NPs mit einer Konzentration von 10 – 30 mg/L und einer Größe von 20 nm führten bei Wurzelexposition zu hohen Silbergehalten in den Wurzeln. Ein signifikanter Unterschied in der Akkumulation von AgNO_3 oder Ag-NPs konnte nicht gefunden werden. Jedoch konnte eine Veränderung im Gefäßgewebe (vergrößerte Xylemzellen) und den Membrantransportern festgestellt werden [43]. Tymoszuk [44] zeigte auf, dass bei hohen Ag-NP-Konzentrationen von 50 und 100 mg/L der Chlorophyll- und Carotinoidgehalt in Tomaten *Solanum lycopersicum*, Radieschen *Raphanus sativus* und Kohl *Brassica oleracea* abnimmt. Bei Radieschen konnten kürzere Wurzeln und eine geringere Frischmasse (FM) gemessen werden. Auch bei Karotten *Daucus carota* und Reis *Oryza sativa* konnte ein verringerter Chlorophyllgehalt nach der Behandlung mit Ag-NPs festgestellt werden [45] [46]. Die Bewässerung von Radieschen mit synthetischem Abwasser, welches mit Ag-NPs angereichert wurde, führte zu signifikant erhöhten Schwermetallgehalten von Kupfer, Cadmium, Eisen und Zink [47]. In ähnlicher Weise haben Li et al. [48] drei verschiedene Gemüsespezies (Paprika *Capsicum*

annuum, Gartensalat *Lactuca sativa*, Radieschen) mit Ag-NPs konfrontiert. Die Pflanzen wurden mit Klärschlamm gedüngt, welcher mit Ag-NPs versetzt wurde. Ergebnisse des Versuches waren eine verminderte Wurzelmasse bei Salat und Radieschen um 42% und 61%. Beim Gartensalat verringerte sich außerdem der Kalium- und Magnesiumgehalt um $\sim 25\%$. Eine signifikante Akkumulation von Silber konnte jedoch in keinen der Pflanzen festgestellt werden [48]. In einer anderen Studie führte die Präsenz von 1 mg/kg Ag-NPs oder Silberionen im Boden zu einer signifikanten Erhöhung der Wurzelmasse von Radieschen. Eine verstärkte Aufnahme von Silber konnte in beiden Fällen nicht beobachtet werden [49]. Höhere Konzentrationen von 50 mg/kg an Kieselsäure adsorbierte Ag-NPs verminderten jedoch das Wachstum von Radieschen als auch die mikrobielle Entwicklung von im Boden lebenden Mikroorganismen [38]. Ähnliche Effekte, wie geringere Wurzel und Blattlänge, zeigten sich bei 500 mg/L Ag-NPs bei Radieschenkeimlingen [50]. Die Untersuchung der Auswirkung verschiedener Konzentrationen und Größen an Ag-NPs auf Reiskeimlinge ergab eine Korrelation zwischen Konzentration und Partikelgröße. Je höher konzentriert und je größer die Partikel waren, desto stärker war die Pflanzenschädigung [31]. Ob von Pflanzen aufgenommenes Silber auch in andere Gewebe verteilt wird, konnte in einer Studie an Sonnenblumen *Helianthus annuus* und Hirse *Sorghum vulgare* beobachtet werden. Die Wurzelexposition einer Ag-NP-Konzentration von 625 mg/L führte zu einem signifikanten Anstieg des Silbergehalts in Blättern und Stiel [51].

1.6.2 Exposition der Blätter

Wenn Pflanzenblätter Stoffen exponiert werden, kann deren Aufnahme über die Cuticula oder Stomata erfolgen und via Phloem zu anderen Teilen transportiert werden. Große Unterschiede in Aufnahme und Translokation können sich zwischen Pflanzenspezies ergeben, was vermutlich auf die Porengröße in den Zellwänden zurückzuführen ist [52]. Ag-NPs auf die Blattoberfläche von Kürbissen *Cucurbita* und Zucchini *Cucurbita pepo* aufgebracht, konnte den echten Mehltau *Erysiphe necator* effektiv verhindern. Ebenso konnte die Keimung von Konidien und das Wachstum von Pilzhyphen gehemmt werden [53]. Die Besprühung der Blätter von Gurken *Cucumis sativus* mit in Wasser suspendierten Ag-NPs erhöhte die Anzahl und die Masse der Früchte sowie die TM von Blättern und Wurzeln. Eine signifikante Erhöhung des Silbergehalts in allen Pflanzenbestandteilen konnte ebenso beobachtet werden [54]. Die Blattbesprühung mit Ag-NPs einer Konzentration von 50 und 75 mg/L führte bei Weizen, Rosenkohl *Brassica juncea* und Kuherbse *Vigna sinensis* zu signifikanten Veränderungen in der bakteriellen Zusammensetzung der Rhizosphäre [55]. Jasim et

al. konnten bei der Besprühung der Blätter von Bockshornklee *Trigonella foenum-graecum* positive Veränderungen feststellen. Eine Konzentration von 1 mg/L Ag-NPs erhöhte Blattzahl, Wurzellänge, Blattlänge und FM [56]. Beide Expositionswege, Wurzel- und Blattexposition, haben Li et al. [57] an der Sojabohne *Glycine max* und Reis untersucht. Mit PVP beschichtete Ag-NPs einer Größe von $\sim 17\text{ nm}$ führte bei der Blattexposition zu einer 17 – 200 Mal höheren Silber Akkumulation. Die Autoren berichteten von überproportional viel akkumuliertem Silber in den mit NPs behandelten Pflanzen, verglichen mit der AgNO_3 Kontrollgruppe. Hieraus schlussfolgerten sie, dass gelöstes Silber nicht alleine für den hohen Gehalt verantwortlich gewesen sein kann, sondern die NPs selbst internalisiert wurden und damit phytotoxisch wären [57]. Keine Anzeichen von Phytotoxizität wurden bei der Blattbehandlung von Gartensalat beobachtet, die Ag-NPs aggregierten und adsorbierten jedoch stark an die Blattoberfläche. Auch nach intensivem Spülen verringerte sich der Silbergehalt nicht signifikant [58].

Tabelle 1.1: Verschiedene Versuche der Wurzelexposition von Ag-NPs auf Pflanzen. Für h Stunden, d Tage, w Wochen und m Monate

Nano-partikel	Größe in nm Konzentration in mg/L Pflanze	Expositions- dauer	Effekt	Literatur
Ag	20, 40, 80 $0,067\text{-}0,535\text{ mg/L}$ <i>Arabidopsis thaliana</i>	14 d	Akkumulation von NPs stärker als bei AgNO_3 , aggregierte NPs in Plasmodesma, Aufnahme abhängig von Größe	[41]
Ag	20 $0,2\text{-}1\text{ mg/L}$ <i>Oryza sativa</i>	7 d	verringerte Wurzellänge, Blätter, FM, Chlorophyll- u. Carotinoidgehalt, erhöhte H_2O_2 -Werte	[46]
Ag	20-150 $0,1\text{-}1000\text{ mg/L}$ <i>Oryza sativa</i>	21 d	Wachstumsverringering mit zunehmender Konzentration u. Größe, 150 nm Partikel schädigen Zellen	[31]
Ag_2S	60-100 $0,05\text{-}20\text{ mg/L}$ <i>Vigna unguiculata</i> , <i>Triticum aestivum</i>	14 d	reduzierte FM in Wurzel u. Spross, Akkumulation in Wurzel u. Spross, Ag_2S -NPs weniger toxisch als AgNO_3 und Ag-NPs	[39]
Ag	15-20 $0,025\text{-}1,6\text{ mg/L}$ <i>Vigna unguiculata</i> , <i>Triticum aestivum</i>	14 d	reduzierte FM Wurzel u. Spross, Akkumulation in Wurzel u. Spross	[39]

Tabelle 1.1: Fortsetzung: Verschiedene Versuche der Wurzelexposition von Ag-NPs auf Pflanzen.
Für h Stunden, d Tage, w Wochen und m Monate

Nano-partikel	Größe in <i>nm</i> Konzentration in <i>mg/L</i> Pflanze	Expositions- dauer	Effekt	Literatur
Ag	1-10 125-500 <i>mg/L</i> <i>Raphanus sativus</i>	5 d	reduzierte Wurzel-/Keimblattlänge, verminderter Gehalt an Ca, Mg, B, Cu, Mn und Zn	[50]
Ag	100 10-2000 <i>mg/L</i> <i>Daucus carota</i>	5 d	verringerte Keimung um 20% u. Wurzeln um 70%, Chlorophyllgehalt u. H ₂ O ₂ erhöht	[45]
Ag	30-50 1-625 <i>mg/L</i> <i>Helianthus annuus</i> , <i>Sorghum vulgare</i>	3 & 6 m	Aufnahme konzentrationsabhängig, Ag-Transport von Wurzeln in andere Gewebe bei 625 <i>mg/L</i>	[51]
Ag on silica	20 50 <i>mg/kg</i> <i>Avena byzantina</i> , <i>Lactuca sativa</i> , <i>Raphanus sativus</i>	35 d	geringes Wurzelwachstum bei Hafer, erhöhte TM bei Radieschen, verringertes Wurzelwachstum u. negativer Effekt auf mikrobielle Entwicklung	[38]
Ag	<100 100 <i>mg/L</i> <i>Triticum aestivum</i>	15 d	Aufnahme von NP in Wurzel, Zellschäden an Wurzelspitzen	[59]
Ag PVP coated	15 2-30 <i>mg/L</i> <i>Triticum aestivum</i>	1-8 h	Schäden an Wurzelspitzen	[42]
Ag Citrate coated	10-40 70 verschiedenes Gemüse	1-4 m	signifikante Ag Akkumulation, im Durchschnitt 3,8 - 3,5 <i>mg/kg</i> , außer bei Radieschen u. Rote Beete kein Aufnahmeunterschied zwischen Ag ⁺ und Ag-NP	[60]
Ag PVP stabilized	21 1 <i>mg/kg</i> <i>Raphanus sativus</i>	35 d	erhöhte Biomasse der Wurzeln	[49]
Ag PVP disp.	100 10 <i>mg/kg</i> <i>Capsicum annuum</i> , <i>Lactuca sativa</i> , <i>Raphanus sativus</i>	52-105 d	FM von Salat und Radieschen vermindert, keine signifikante Ag Akkumulation	[48]

Tabelle 1.1: Fortsetzung: Verschiedene Versuche der Wurzelexposition von Ag-NPs auf Pflanzen. Für h Stunden, d Tage, w Wochen und m Monate

Nano-partikel	Größe in <i>nm</i> Konzentration in <i>mg/L</i> Pflanze	Expositions-dauer	Effekt	Literatur
Ag PVP coat	20 10, 20, 30 <i>mg/L</i> <i>Lycopersicon esculentum</i>	7 d	Ag Akkumulation nach Wurzelexpos., kein Unterschied zwischen AgNO ₃ u. Ag-NPs, Veränderung der Xylemzellen u. Membrantransportern	[43]
Ag	59,21 ± 0,81 ? <i>Raphanus sativus</i>	57 d	erhöhte Wurzel Aufnahme von Zn, Cd, Cu und Fe, Verringerung der Aufnahme von Pb und Cr	[47]
Ag	20 50, 100 <i>mg/L</i> <i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Raphanus sativus</i> , <i>Brassica oleracea</i>	3 w	verringertes Chlorophyllgehalt u. Carotinoide, kürzere Wurzeln u. geringere Masse	[44]

Tabelle 1.2: Verschiedene Versuche der Blattelexposition von Ag-NPs auf Pflanzen. Für h Stunden, d Tage und w Wochen

Nano-partikel	Größe in <i>nm</i> Konzentration in <i>mg/L</i> Pflanze	Expositions-dauer	Effekt	Literatur
Ag	7-25 10-100 <i>mg/L</i> <i>Cucurbita</i> , <i>Cucurbita pepo</i>	~ 4 w	stärkste Hemmung des Mehлтаub bei 100 <i>mg/L</i> , Hemmung von Pilzhypen u. Konidienkeimung bei <i>in vivo</i> Tests	[53]
Ag	50 500-3000 <i>mg/L</i> <i>Cucumis sativus</i>	14 w	erhöhter Fruchtertrag und TM von Blättern u. Wurzeln, erhöhter Silbergehalt in allen Pflanzenteilen	[54]
Ag	47,9 ± 29,2 1-100 <i>µg/L</i> <i>Lactuca sativa</i>	7 d	Ag adsorbiert an Blätter, keine Phytotoxizität	[58]
Ag	35-40 50 und 75 <i>mg/L</i> <i>Triticum aestivum</i> , <i>Vigna sinensis</i> , <i>Brassica juncea</i>	20, 40 d	Blattelexposition führt zu signifikanter bakterieller Veränderung der Rizosphäre	[55]

Tabelle 1.2: Fortsetzung: Verschiedene Versuche der Blattexposition von Ag-NPs auf Pflanzen. Für h Stunden, d Tage und w Wochen

Nano-partikel	Größe in <i>nm</i> Konzentration in <i>mg/L</i> Pflanze	Expositions-dauer	Effekt	Literatur
Ag	8-21 1 $\mu g/mL$ <i>Trigonella foenum-graecum</i>	10 d	erhöhte Blattzahl, Wurzellänge u. FM, vermehrte Produktion an Diosgenin	[56]
Ag PVP coated	17 0,1-30 <i>mg/L</i> <i>Glycine max</i> , <i>Oryza sativa</i>	7 d	Akkumulation über Blätter 17-200 mal höher als über Wurzeln, weniger Biomasse bei Wurzelexpos., erh. H ₂ O ₂ Werte	[57]
Ag	10-40 10 mal 1 <i>Quercus pubescens</i> , <i>Pinus sylvestris</i> , <i>Populus nigra</i>	10 w	Akkumulation im Stamm, bei Exposition von Blättern mehr als bei Wurzelexposition, vermehrt oxidativer Stress, Rückgang Bakterien-/Pilzpopulationen an Blättern u. Wurzeln	[40]

1.7 Verhalten von Silber-Nanopartikeln im Boden

Die Mobilität, Retention und Bioverfügbarkeit von Ag-NPs im Boden werden durch die Bodenphysik und chemischen Eigenschaften wie pH-Wert, Ionenstärke, organische Substanzen und Tongehalt beeinflusst. Auch die Vielzahl an biologischen Prozessen und die komplexen Umweltbedingungen machen eine Vorhersage über das Verhalten und den Verbleib von Ag-NPs schwierig [61]. Repräsentative Untersuchungen zur Mobilität bzw. zur Bildung von Agglomeraten oder Komplexen unter Umweltbedingungen konnten nur in geringem Umfang ausfindig gemacht werden. Aufgrund der noch begrenzten Datenlage lässt sich die Toxizität von Ag-NPs auf Pflanzen und Mikroorganismen nur unzureichend abschätzen. Dass Ag-NPs einen Einfluss auf die im Boden lebenden Organismen haben, konnte in einer Studie von Velicogna et al. [62] nachgewiesen werden. In der Studie kam es zu einer Verringerung der Anzahl an juveniler Regenwürmer der Art *Eisenia andrei* bei Ag-NP-Konzentrationen $\geq 49 \text{ mg/kg}$. Das Überleben von ausgewachsenen Springschwänzen der Art *Folsomia candida* wurde bei Ag-NP-Konzentrationen $> 2000 \text{ mg/kg}$ nicht beeinträchtigt. Verwendet wurden bei beiden der genannten Organismen PVP beschichtete Ag-NPs mit 20 nm Durchmesser. In derselben Studie zeigte sich auch, dass die Versuchsgruppe mit AgNO₃ wesentlich toxischer war als die Ag-NPs. Einen weiteren Aspekt bezüglich des Verhaltens von Ag-NPs im Boden lieferten

Schlich et al. [61]. Demnach spielt die Bodenkorngrößenverteilung eine bedeutende Rolle bei der Retention der Partikel und hat damit auch einen Einfluss auf die Toxizität für Pflanzen und Bodenmikroorganismen. Eine feinere Korngrößenverteilung erhöhte die Retention in dem durchgeführten Versuch. Auch wurde festgestellt, dass sich mit höherem Sandanteil oder niedrigerem Tongehalt die Toxizität von Ag-NPs erhöht und ammoniumoxidierende Bakterien gehemmt werden. Ein hoher Tongehalt wiederum verringerte die Toxizität. Ursache hierfür könnte die Komplexierung mit Tonpartikeln sein, wodurch die Ag-NPs in der Freisetzung von Silberionen begrenzt werden. Eine erhöhte Aggregation vergrößert die Partikel und vermindert die Verfügbarkeit für Mikroorganismen. Ein niedriger pH-Wert wiederum begünstigt die Freisetzung von Silberionen und potenziert die Toxizität gegenüber Ammoniak oxidierenden Bakterien [61]. Wie in Abschnitt 1.4 beschrieben, hat Silber eine starke Affinität zu Schwefel und reagiert mit Sulfiden, was zur Bildung schwer löslicher Silbersulfide führt. Relevant ist dies, da die Ag-NPs an die im Boden vorhandenen Thiolgruppen der Huminsäuren sorbieren können. Aus den Ag-NPs freigesetzte Silberionen bilden stabile Komplexe mit den Thiolen und verringern damit die Bioverfügbarkeit und das toxische Potential.

Betrachtet man die mineralische Fraktion im Boden, so zeigte sich, dass Silber in einer Austauschreaktion bevorzugt an Mangan- und Eisenoxide bindet. In einer Untersuchung von Jacobson et al. [63] wurden organisch reiche Böden mit mineralischen Böden verglichen. Nach 24 Stunden sorbierte Silber bevorzugt an die organische Fraktion des Bodens, wobei nach einem Jahr die Unterschiede ausgeglichen waren. Damit liefert nach Jacobson et al. [63] die Kationenaustauschkapazität des Bodens einen Hinweis auf das Ausmaß der Immobilisierung von Silber.

1.8 Radieschen als Nutzpflanze

Radieschen *Raphanus sativus* sind eine weit verbreitete Gemüsepflanze und bilden verzehrbare unterirdische Sprossknollen aus. Sie gehören zur Familie der schotenfrüchtigen Kreuzblütler *Brassicaceae* und zur Gattung der Rettiche *Raphanus*. Radieschen sind zweikeimblättrige Bedecktsamer, die je nach Art zwischen 10 und 45 cm hoch werden und kugelige bis längliche rote Hypokotylknollen ausbilden. Die Laubblätter sind einfach, meist fiederförmig gelappt bis zerschnitten [64]. Die idealen klimatischen Bedingungen für eine gute Wurzel Ausbildung liegen zwischen 10 und 15,5 °C. Die Pflanze toleriert jedoch auch gut höhere Temperaturen, bildet dann jedoch Schärfe aus. Als ein Wurzelgemüse benötigen Radieschen losen brüchigen Boden mit hohem organischen Anteil. Für eine

schnelle Keimung und die anschließende Entwicklung der Wurzel ist eine ausreichende Bewässerung erforderlich. Nach 25 – 55 Tagen ist die Radieschenwurzel reif für die Ernte [65].

Ihren Ursprung haben Radieschen vermutlich in Europa und Asien. Verwendung finden sie hauptsächlich als Gemüsepflanze wegen ihrer zarten Knollenwurzel. Diese kann roh zu Salaten oder gekocht als Gemüse gegessen werden. Die Blätter der Radieschenpflanze können ebenso gekocht und verzehrt werden. Radieschen sind ein guter Lieferant von Vitamin C und anderen Mineralstoffen wie beispielsweise Kalium [65]. Die Anbaufläche in Österreich lag im Jahr 2021 bei 353 *ha* und die Produktionsmenge bei 6.719 *t* [66].

1.9 Ziel dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Auswirkungen von verschiedenen Ag-NPs auf das Wachstum und die Entwicklung der Nutzpflanze *Raphanus sativus* und die Erforschung der Akkumulation der Ag-NPs im Pflanzensubstrat. Für die praktischen Versuche dieser Arbeit wurden hierzu Radieschenpflanzen unter Laborbedingungen gezüchtet und über mehrere Wochen mit zwei unterschiedlichen Ag-NPs, einem silberhaltigen Düngemittel, behandelt und zum Vergleich Pflanzen ohne Silberexposition gezogen. Untersucht wurde, ob sich die Morphologie und Masse der Wurzel und Blätter der behandelten Pflanzen gegenüber den unbehandelten verändert, und in welchem Ausmaß die Pflanzen Silber aufnahmen und akkumulierten. Darüber hinaus wurde am Ende des Experiments der Silbergehalt in verschiedenen Tiefen des Pflanzensubstrats gemessen, um damit Rückschlüsse auf das Verhalten der NPs im Boden zu treffen. Die Ergebnisse sollten einen Beitrag zum Verständnis des Verhaltens von verschiedenen Ag-NPs in einer wichtigen Gemüsepflanze und im Pflanzensubstrat liefern.

2 Material und Methoden

2.1 Substratparameter

Für die Anzucht der Radieschen wurde ein Pflanzensubstrat benötigt. Hierzu wurden fünf Säcke Anzuchterde (COMPO Austria) mit je 20 L Erde beim Baumarkt erworben und bis zur weiteren Verwendung bei 7°C im Kühlraum gelagert. Zur Charakterisierung des Substrates wurden die folgenden Parameter bestimmt:

Der Silbergehalt des Substrats wurde mit der Graphitrohr-AAS, der Quecksilbergehalt mittels Kaltdampf-AAS und der Metallgehalt von Titan, Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Arsen und Blei mithilfe der TXRF gemessen. Des Weiteren erfolgte die Bestimmung des Gesamt-Stickstoffgehalts mit dem Kjeldahlverfahren nach Bremner, der Gehalt an pflanzenverfügbarem Phosphat mit der CAL-Methode sowie die Wasserhaltekapazität (WHC), der pH-Wert und der Gehalt an organischem Kohlenstoff (TOC).

2.1.1 Probenvorbereitung

Für die Bestimmung der Substratparameter wurden aus jedem Sack drei Proben an unterschiedlichen Stellen entnommen und in 50 mL Polypropylen (PP) Zentrifugenröhrchen gefüllt. Zur nachfolgenden Analyse an der Graphitrohr-AAS, Kaltdampf-AAS und TXRF erfolgte ein Aufschluss der Proben. Diese wurden zunächst bei -21 °C eingefroren und danach unter Vakuum (Christ, Alpha 2-4 LD) getrocknet. Anschließend wurden alle Proben mithilfe einer Kugelmühle homogenisiert (Retsch, Typ MM2, Teflonkugeln) und etwa 0,5 g auf 1 mg genau in Aufschlussröhrchen eingewogen. Es wurden 4,5 mL konzentrierte Salpetersäure (Fisher Chemical, CAS: 7697-37-2, >68% for Trace Metal Analysis), 4,5 mL deionisiertes Wasser und 1 mL Wasserstoffperoxid (Sigma-Aldrich, 7722-84-1, ≥ 30%, for trace analysis) zugegeben und die Suspension 30 min bei Raumtemperatur (RT) stehen gelassen. Der Aufschluss erfolgte im Heizblock (Liebisch, 1500 W) für zwei Stunden bei 130 °C.

Die Aufschlusslösung wurde in 15 mL Messkolben überführt und mit deionisiertem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt. Daraufhin wurden sie durch einen 0,2 µm Spritzenvorsatzfilter (VWR, PTFE/L)) filtriert. Die Probenaufschlüsse wurden bis zur Analyse in 15 mL PP-Zentrifugenröhrchen gelagert.

Die Probenvorbereitung zur Messung des Stickstoffs, Phosphats, der WHC und des pH-Werts beinhaltete die Trocknung des Substrats für 48 Stunden bei 30 °C im Trockenschrank (EHRET, TK/L 4250) und die Homogenisierung der Proben mit der Kugelmühle.

Für die Messung des TOC wurden die Substratproben im Trockenschrank bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und mit der Kugelmühle homogenisiert.

2.1.2 Silbergehalt

Die Silberkonzentration der Aufschlüsse wurde mit der Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) (Perkin Elmer, PinAAcle 900Z) gemessen. Injiziert wurden 20 µL Probe bei 20 °C und jede Probe wurde in Triplikaten gemessen. Kalibriert wurde mit einem NIST Silberstandard (VWR Chemicals, Silber-Standardlösung, 1000 mg/L Ag in 2% HNO₃, NIST SRM 3151). Die Kalibrationsgerade bestand aus den Standards der Konzentrationen 0,5 µg/L, 1 µg/L, 5 µg/L und 10 µg/L. Das Heizprogramm ist in Tabelle 2.1 ersichtlich. Zunächst wurde das Graphitrohr auf 110 °C gebracht und dort für 30 s gehalten. Anschließend in einer Zeitspanne von 15 s auf 130 °C erhitzt und dort ebenfalls für 30 s verweilt. Im dritten Schritt erfolgte 8 s lang eine Temperaturerhöhung auf 800 °C, welche für 20 s beibehalten wurde. Anschließend wurde die Probe bei 1700 °C atomisiert und die Absorption bei 238,07 nm gemessen. Diese Temperatur wurde für 5 s gehalten, worauf im letzten Schritt innerhalb 1 s das Graphitrohr auf 2250 °C abgekühlt und diese Temperatur 3 s gehalten wurde. Die Nachweisgrenze von Silber liegt bei der Graphitrohr-AAS bei 0,03 µg/L.

Tabelle 2.1: Heizprogramm der Graphitrohr-AAS zur Silbermessung

Prozessschritt	T in °C	t_{ramp} in s	t_{hold} in s	Argon Flussrate in µL
Trocknung	110	1	30	250
	130	15	30	250
Pyrolyse	800	10	20	250
Atomisation	1700	0	5	0
Säuberung	2550	1	3	250

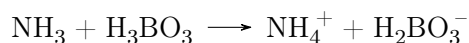
2.1.3 Gehalt weiterer Schwermetalle

Die Quecksilbermessung erfolgte an der Kaltdampf-AAS (Perkin Elmer, Fims 400, S10 Autosampler). Kalibriert wurde im Bereich $1-10\text{ }\mu\text{g/L}$ mit einem Quecksilber Standard (Fluka Analytics, TraceCERT, Quecksilber Standard for AAS, $1000, \text{mg/L} \pm 4\text{mg/L}$). Titan, Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Arsen und Blei wurden mit der Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TXRF) (Bruker, S2 Picofox) bestimmt. Platin wurde dabei als interner Standard (AVS Titrinorm, Platin-Standardlösung, $100,0\text{ mg/L}$ in 10% HCl) verwendet. Eine 5 mg/L Platinlösung in 5% HCl (Honeywell Fluka, $\geq 30\%$, for trace analysis) wurde dabei als interner Standard verwendet (verdünnt aus: AVS Titrinorm, Platin-Standardlösung, 100 mg/L in 10% HCl).

2.1.4 Stickstoffgehalt

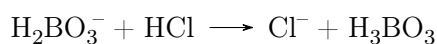
Die Bestimmung des Stickstoffgehalts erfolgte nasschemisch mit der Kjeldahlmethode nach Bremner, vorgeschlagen 1965, welche Nitrate inkludiert. Dies gelingt durch die Reduktion in schwefelsaurer Lösung in Gegenwart von Salicylsäure mittels Natriumthiosulfat.

Dazu wurde 1 g luftgetrocknete und homogenisierte Substratprobe (siehe 2.1.1 auf 1 mg genau abgewogen und) mit 30 mL konzentrierter Schwefelsäure (Fisher Chemical, CAS: 7697-37-2, $> 68\%$) und 1 g Salicylsäure (Sigma-Aldrich, CAS: 69-72-7, p.a., $\geq 99,0\%$) versetzt, die Suspension über Nacht stehen gelassen und die Nitrate anschließend mit 5 g Natriumthiosulfat Pentahydrat (Merck, CAS: 10102-17-7, reinst) reduziert. Es wurden 20 mL H_2O sowie 10 g Kaliumsulfat (Sigma-Aldrich, CAS: 7778-80-5, ReagentPlus, $\geq 99,0\%$), 1 g Kupfer(II)sulfat-Pentahydrat (Sigma-Aldrich, CAS: 7758-99-8, ACS reagent, $\geq 98,0\%$) und $0,1\text{ g}$ Selen (Sigma-Aldrich, CAS: 7782-49-2, powder, 100 mesh, 99,99%) als Katalysator hinzugefügt. Die Suspension wurde für 2 Stunden gesiedet. Dabei wurden die in der Probe enthaltenen Stickstoffverbindungen aufgeschlossen und in Ammonium überführt. Dem abgekühlten Aufschluss wurden 200 mL H_2O zugeführt und mit 150 mL einer 10 N Natriumhydroxidlösung (Sigma-Aldrich, CAS: 1310-73-2, ACS reagent, $\geq 98\%$) das Ammonium als Ammoniak ausgetrieben. Der Ammoniak wurde quantitativ über eine Wasserdampfdestillation in die Vorlage destilliert und dabei mit 50 mL einer gekühlten wässrigen 20 g/L Borsäurelösung (Sigma-Aldrich, CAS: 10043-35-3, $\geq 99,5\%$) aufgefangen.



Anschließend erfolgte die titrimetrische Bestimmung mit einer $0,02\text{ molaren}$ Salzsäurelösung (Merck,

Titrisol für 1000 mL, 0,1 mol/L). Als Indikator wurde 1 mL einer Mischung aus Bromocresolgrün (Sigma-Aldrich, CAS: 76-60-8, ACS reagent, $\geq 95\%$) und Methylrot (Sigma-Aldrich, CAS: 493-52-7, ACS reagent) verwendet [67].



Der in der Probe enthaltene Stickstoff wurde dann über das Volumen der verbrauchten Maßlösung, der Konzentration der Maßlösung und der molaren Masse von Stickstoff gemäß der nachstehenden Gleichung berechnet.

$$m(N) = c(\text{HCl}) * V(\text{HCl}) * M(N)$$

2.1.5 Phosphatgehalt

Es wurde das pflanzenverfügbare Phosphat mit der CAL-Methode nach Schüller bestimmt. Der Nachweis von Phosphat in Lösung gelingt über die Bildung von farbigen Heteropolysäuren mit Molybdän und Vanadium. In einer wässrigen Ammoniummolybdat- und Ammoniummetavanadat-lösung bilden sich bei Anwesenheit von Phosphat gelbe Heteropolysäuren der allgemeinen Formel $\text{H}_{3+x}\text{PV}_x\text{Mo}_{12-x}\text{O}_{40}$ ($1 \leq x \leq 3$) in einer Keggin-Struktur aus [69].

Hierzu wurde das Phosphat von 2 g (abgewogen auf 10 mg genau) luftgetrockneter homogenisierter Substratprobe (siehe Abschnitt 2.1.1) mit 40 mL einer bei pH 4,1 gepufferten Calcium-Lactat-Acetat-Lösung, dessen Konzentration 35 mmol/L Calciumlaktat (Supelco, CAS: 5743-47-5) und 25 mmol/L Calciumacetat (Sigma-Aldrich, CAS: 114460-21-8, ReagentPlus $\geq 99\%$) betrug, für 2 Stunden auf einem Schüttler (Heidolph Instruments, Vibramax 100) extrahiert. Anschließend wurde der Extrakt durch einen 0,45 μm (Advantec) Filter filtriert und das Phosphat mit 4 mL salpetersaurem Komplexierungsreagenz bestehend aus 17,8 mmol/L Ammoniummetavanadat (Sigma-Aldrich, CAS: 7803-55-6, ACS $\geq 99,0\%$) und 30,4 mmol/L Ammoniummolybdat-Tetrahydrat (Honeywell Fluka, CAS: 12054-85-2, puriss p.a. ACS $\geq 99,0\%$) komplexiert. Die Gelbfärbung der Lösung ist proportional zur Phosphatkonzentration. Die Absorption folgt dem Lambert-Beer'schen Gesetz. Die Konzentration der Heteropolysäuren wurde mit einem Photometer (Perkin Elmer, UV/VIS Spectrometer Lambda 35) über die Lichtabsorption bei 406 nm bestimmt. Für die Kalibrationsreihe wurde ein Phosphatstandard (Sigma-Aldrich, CAS: 7558-79-4, Phosphatstandard für IC, Trace-CERT, 1000 mg/L in water) verwendet, aus welchem die Standards mit Phosphatkonzentrationen

von 0 mg/L (Leerwert), $1,25\text{ mg/L}$, $2,5\text{ mg/L}$, 5 mg/L , 10 mg/L und 20 mg/L hergestellt wurden. Analog zu den Proben wurden jedem Standard unmittelbar vor der Messung am Photometer 4 mL Komplexierungsreagenz zugegeben [68].

2.1.6 Wasserhaltekapazität

Die WHC ist definiert als der gravimetrisch bestimmte Wassergehalt eines gesiebten Bodens, welcher in einem Trichter für 24 Stunden bei 100% Luftfeuchtigkeit abgetropft wurde [70].

Für die Bestimmung wurden etwa 100 g getrocknete und homogenisierte Substratprobe (siehe Abschnitt 2.1.1) auf $0,1\text{ g}$ genau abgewogen und in einem Becherglas mit deionisiertem Wasser im Überschuss für 2 Stunden quellen gelassen. Anschließend wurde die Probe in einem Glastrichter abgedeckt für 24 Stunden abgetropft. Die WHC des Substrats wurde in % der Substrattrockenmasse angegeben und gemäß nachstehender Formel über die TM und die vollständig mit Wasser gesättigte Substratmasse berechnet. Es wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

$$WHC_{max} = \frac{m_{Erde\ nass} - m_{Erde\ trocken}}{m_{Erde\ trocken}} * 100$$

2.1.7 pH-Wert

Zur Bestimmung des pH-Werts des Substrats wurden pro Probe 10 g (abgewogen auf $0,1\text{ g}$ genau) luftgetrocknetes und homogenisiertes Substrat (siehe Abschnitt 2.1.1) mit 30 mL deionisiertem Wasser suspendiert und 10 min stehen gelassen. Der pH-Wert wurde mit einem pH-Messgerät (Si-Analytics, Lab 850) unter stetigem Rühren abgelesen [71].

2.1.8 Gesamter organischer Kohlenstoff

Etwa 1 g Substratprobe wurde auf 1 mg genau in einen Porzellantiegel eingewogen. Anschließend erfolgte ein Glühen im Muffelofen (Heraeus, MR-260) für zwei Stunden bei 550°C . Es erfolgte die gravimetrische Ermittlung des Glühverlustes (GV). Angegeben wurde der GV in Massenprozent [72].

$$GV = \frac{m_{\text{Substrat vor Glühen}} - m_{\text{Substrat nach Glühen}}}{m_{\text{Substrat vor Glühen}}} * 100$$

2.2 Charakterisierung der Silber-Nanopartikel und des Düngemittels

Es wurden zwei verschiedene Ag-NPs sowie ein silberhaltiges flüssiges Düngemittel für den Versuch herangezogen. Verwendet wurde mit Polyvinylpyrrolidin (PVP) dispergierte Ag-NPs (Sigma-Aldrich, CAS: 7440-22-4, Nanopulver, $< 100\text{nm}$ Partikelgröße, PVP als Dispersens, 99,5% trace metals basis), nachfolgend als „Ag-NP PVP disp“ benannt. Laut Analysezertifikat (Batch MKCQ4804) lag die Partikelgröße bei 80nm und der Polyvinylpyrrolidiningehalt bei 0,2%. Als zweite Nanopartikelvariante wurden mit Polyvinylpyrrolidin beschichtete Ag-NPs (Nanocomposix, 50nm Silver Nanoparticles, PVP, Econix), nachfolgend bezeichnet als „Ag-NP PVP coat“, in wässriger Lösung mit einer angegebenen Massenkonzentration von 5mg/mL verwendet. Die Größenverteilung lag laut Analysenzertifikat (Lot Number: SDM0013) bei $51 \pm 9\text{nm}$, der hydrodynamische Radius bei 86nm , das Zetapotential bei -55mV und das Absorptionsmaximum bei 430nm . Die Silberkonzentration des Düngemittels wurde mit 1%(w/w) angegeben. Neben Silber enthielt das Düngemittel laut Hersteller noch 9% (w/w) Stickstoff und 6% (w/w) Kaliumoxid. Die Dichte des Düngemittels lag laut Angabe bei 1010g/L .

Für den in dieser Arbeit durchgeführten Versuch wurden die Ag-NPs und das Düngemittel genauer charakterisiert. Hierzu wurde eine Suspension von Ag-NP PVP disp, eine von Ag-NP PVP coat und eine verdünnte Suspension des Düngemittels hergestellt.

Zur Herstellung der Suspension von Ag-NP PVP disp wurden $14,46\text{mg}$ in einen 250mL Kolben eingewogen und dieser anschließend mit deionisiertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Für die zweiten mit PVP beschichteten NPs (Ag-NP PVP coat) wurden $0,8\text{mL}$ aus der 5mg/mL Vorratslösung entnommen und auf 40mg/L verdünnt. Das Düngemittel wurde in diesem Versuch entsprechend der Herstellerangabe von 100mL/ha angewendet und zur besseren Handhabung für das durchgeführte Experiment 1:25000 verdünnt. Die Soll-Werte des Silbergehalts der drei verdünnten und in dem Versuch verwendeten Suspensionen betrugen damit 40mg/L bei Ag-NP PVP coat, $58,7\text{mg/L}$ bei Ag-NP PVP disp und $0,40\text{mg/L}$ bei der verdünnten Düngemittellösung.

Die Ag-NP PVP disp Suspension wurde vor der Messung des Silbergehalts für 90min im Ultraschallbad dispergiert. Nach Beendigung des Ultraschallbads wurden die tatsächlichen Konzentrationen (Ist-Werte), aller drei Suspensionen gemessen. Hierzu erfolgte ein 1:1 Aufschluss von jeweils 5mL Suspension mit konzentrierter Salpetersäure für eine Stunde bei RT. Die Messung der Silberkonzentration erfolgte an der Flammen-AAS (Perkin Elmer, AAnalyst 200) bei $238,07\text{nm}$. Kali-

briert wurde mit vier Standards der Konzentration $1,25\text{ mg/L}$, $2,5\text{ mg/L}$, 5 mg/L und 10 mg/L . Als Blank diente 2%ige Salpetersäure. Jede Probe wurde in Triplikaten gemessen, die Flussrate von Acetylen und Luft lag bei $2,5\text{ L/min}$ und 10 L/min .

Des Weiteren wurde vor dem Aufschluss der Suspensionen der hydrodynamische Durchmesser und die Größenverteilung der Partikel mit einem Zetapotentialmessgerät (Anton Paar Lightsizer 500) über die dynamische Lichtstreuung (DLS) bei 23°C bestimmt. Außerdem wurden die NPs und das Düngemittel unter dem Transmissionselektronenmikroskop (TEM) und Rasterelektronenmikroskop (SEM) betrachtet. Im Zuge der Untersuchung unter dem TEM bzw. SEM erfolgte simultan die Messung der elementaren Zusammensetzung mit der Elektronen-Energieverlust-Spektroskopie (EELS) bzw. der energiedispersiven Röntgenspektroskopie (EDX). Für die DLS- und TEM-Aufnahmen wurden Suspensionen mit der Massenkonzentration von jeweils 5 mg/L für die Ag-NPs und 50 mg/L für das Düngemittel hergestellt. Die Analyse erfolgte extern am CIUS (Core Facility of Cell Imaging and Ultrastructure Research) der Universität Wien.

2.3 Versuchsaufbau

2.3.1 Kultivierung der Radieschen

Die Kultivierung der Radieschen erstreckte sich über eine Dauer von sechs Wochen (42 Tagen). Dabei wurden insgesamt 12 Töpfe mit jeweils drei Radieschen kultiviert, welche sich auf drei unterschiedliche Versuchsgruppen sowie die Referenz aufteilten. Für jede Versuchsgruppe und die Referenz wurden drei Töpfe mit Radieschen angesetzt. Die Töpfe I – III dienten als Referenz, den Töpfen IV – VI wurde die Ag-NP PVP coat Suspension zugesetzt, den Töpfen VII – IX die in Wasser suspendierten Ag-NP PVP disp und den Töpfen X - XII das silberhaltige Düngemittel.

Jeder Topf wurde bei Versuchsbeginn mit 1 kg Substrat (abgewogen auf 1 g genau) befüllt. Dies entsprach einer Substrat-TM von 534 g . Anschließend wurden sechs Radieschensamen gleichmäßig verteilt und etwa zwei Zentimeter tief im Substrat eingesetzt. Über die zuvor bestimmte WHC wurde das Volumen an Wasser berechnet, welches benötigt wurde, um das Substrat während der gesamten Versuchsdauer auf einem Wassergehalt von 60% zu halten. Gegossen wurden die Pflanzen immer Montag bis Freitag. Es wurden vier Leuchtstoffröhren (Osram, L 48 W/77 Fluora) zur Belichtung der Radieschenpflanzen benutzt, welche 30 cm über den Töpfen montiert wurden. Die Belichtungsdauer lag während des gesamten Versuchs bei 14 Stunden pro Tag bei einer Temperatur von 21°C (Tag

und Nacht). Das einfallende Licht wurde über eine Lichtmessung (Hansatech, Quantitherm Light Meter) bestimmt und betrug etwa $86 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ ($n = 12$). Die Temperatur- und Lichtmessung erfolgte direkt über der Erdoberfläche. Nach erfolgreicher Keimung und dem Austreiben der ersten Laubblätter wurden die Radieschen in jedem Topf pikiert, sodass noch drei Pflanzen mit genügend Abstand voneinander vorhanden waren. Die übrig gebliebenen Pflanzen wurden bis Woche sechs weitergezüchtet.

Tabelle 2.3: Versuchsaufbau mit detaillierten Informationen zu den einzelnen Versuchsgruppen. Angegeben ist die Einwaage an Substrat und der zugeführte Silbergehalt bzw. das zugegebene Düngemittel. Mit * markierte Daten: Volumen abgenommen aus der verdünnten Düngemittellösung

Topf	Substrat	Zugabe Ag-NPs bzw. Silber in mg/kg	Volumen aus Suspension in mL
I	Referenz		
II	Referenz		
III	Referenz		
IV	Ag-NP PVP coat	$4 * 1$	$4 * 13,42$
V	Ag-NP PVP coat	$4 * 1$	$4 * 13,42$
VI	Ag-NP PVP coat	$4 * 1$	$4 * 13,42$
VII	Ag-NP PVP disp	$4 * 1$	$4 * 10,77$
VIII	Ag-NP PVP disp	$4 * 1$	$4 * 10,77$
IX	Ag-NP PVP disp	$4 * 1$	$4 * 10,77$
X	Düngemittel	$4 * (2,75 * 10^{-3})$	$4 * 4,42^*$
XI	Düngemittel	$4 * (2,75 * 10^{-3})$	$4 * 4,42^*$
XII	Düngemittel	$4 * (2,75 * 10^{-3})$	$4 * 4,42^*$

Die Exposition mit Ag-NPs erfolgte an Tag 1, 8, 15 und 22. Dabei wurden die Töpfe IV – IX, an jedem dieser vier Tage, gleichmäßig mit einer Suspension aus Ag-NPs begossen. Die Masse an Ag-NPs wurde so gewählt, dass jede Silberexposition einem Gehalt von $1 \text{ mg}/\text{kg}$ Substrat-TM entsprach. Über die Gesamtdauer des Experiments wurde damit, durch Zugabe der Ag-NPs, der Silbergehalt in Topf IV – IX auf einen Wert von $4 \text{ mg}/\text{kg}$ gebracht. Die Kalkulation des aus den Suspensionen abzunehmenden Volumens erfolgte über die Ist-Werte der Konzentration. Die Messung der Ist-Werte der Suspensionen an der Flammen-AAS ergab für Ag-NP PVP coat eine Konzentration von $39,8 \text{ mg}/\text{L}$ (Soll-Wert: $40,0 \text{ mg}/\text{L}$) und für Ag-NP PVP disp $49,6 \text{ mg}/\text{L}$ (Soll-Wert: $58,7 \text{ mg}/\text{L}$). Für jede Exposition wurde ein Abnahmevolumen von $13,42 \text{ mL}$ aus der Ag-NP PVP coat Suspension und $10,77 \text{ mL}$ aus der Ag-NP PVP disp Suspension kalkuliert. Den Töpfen X – XII wurden an jedem der vier Tage (1, 8, 15 und 22) das silberhaltige Düngemittel zugesetzt. Die einem

Topf zuzuführende Menge Düngemittel wurde berechnet über die Herstellerangabe (100 mL/ha) und die Oberfläche eines einzelnen Topfes (177 cm^2). Die Kalkulation ergab ein aus dem Vorratsbehälter des Düngemittels abzunehmendes Volumen von 177 nL pro Topf. Die Verdünnung des Düngemittels betrug 1:25000, damit entsprach die Konzentration in der für den Versuch verwendeten Lösung $0,04\text{ mL}_{\text{Düngemittel}}/L$. Folglich wurden aus der verdünnten Düngemittellösung $4,42\text{ mL}$ abgenommen und an jedem Expositionstag jedem der Töpfe X - XII zugeführt. In Tabelle 2.3 ist der Versuchsaufbau mit allen relevanten Daten dargestellt.

2.3.2 Probennahme, Probenvorbereitung und Probenanalyse

Nach Beendigung des Experimentes wurde mithilfe eines Kunststoffrohres (Durchmesser 32 mm , PP) aus jedem Topf eine Säule Substrat ausgestochen und diese bei -21°C eingefroren. Das gefrorene Substrat wurde anschließend in vier gleichgroße Stücke zerteilt, welche die Tiefen 0 bis $-3,75\text{ cm}$, $-3,75$ bis $-7,5\text{ cm}$, $-7,5$ bis $-11,25\text{ cm}$, und $-11,25$ bis $-15,0\text{ cm}$ darstellten. Die Proben wurden für 48 Stunden bei 30°C im Trockenschrank getrocknet und der Silbergehalt analog zu den Substratproben aus Abschnitt 2.1.1 aufgeschlossen und wie in Abschnitt 2.1.2 mit der Graphitrohr-AAS gemessen.

Die Radieschenpflanzen wurden nach dem Ernten vorsichtig mit deionisiertem Wasser abgespült, um angeheftetes Substrat zu entfernen. Anschließend erfolgte eine Trennung der Blätter von der Wurzel. Für die Wurzel wurde die Länge der Wurzel und der Sprossknolle, der Umfang an der größten Stelle der Sprossknolle und die FM notiert. Nach dem Messen der Wurzel-FM erfolgte die Probennahme zur Betrachtung der Sprossknolle unter dem SEM und zur Bestimmung der elementaren Zusammensetzung mit der EDX. Hierzu wurde von einem Radieschen aus jeder Versuchsgruppe und der Referenz ein Keil aus der Sprossknolle herausgetrennt und in einem 50 mL Zentrifugenröhrchen im Kühlschrank bei 7°C bis zur Analyse aufbewahrt.

Im Anschluss wurden die Blätter und Wurzeln bei -21°C eingefroren und unter Vakuum getrocknet. Für den Aufschluss wurden ca. $0,2\text{ g}$ Probe auf 1 mg genau eingewogen. Der Aufschluss erfolgte mit $4,5\text{ mL}$ konzentrierte Salpetersäure, $4,5\text{ mL}$ deionisiertem Wasser und 1 mL Wasserstoffperoxid in der Mikrowelle (CEM, MarsXpress) bei 1600 Watt . Innerhalb von 15 min wurde auf die Maximaltemperatur von 180°C geheizt und diese dann für 15 min beibehalten. Die Messung des Silbergehaltes von Wurzeln und Blättern erfolgte gemäß 2.1.2 analog zu den Substratproben mit der Graphitrohr-AAS.

Über die ermittelten Silbergehalte der Wurzel, des Substrats und der Blätter wurde der Bioakkumulationsfaktor (BAF) und Translokationsfaktor (TF) für jede Versuchsgruppe berechnet. Die Formel zur Kalkulation ist nachfolgend gezeigt. Der Silbergehalt $c(Ag)$ entsprach dem durchschnittlichen Silbergehalt in der Wurzel bzw. dem Substrat und den Blättern.

$$BAF = \frac{c_{Wurzel}(Ag)}{c_{Substrat}(Ag)}$$

$$TF = \frac{c_{Blätter}(Ag)}{c_{Wurzel}(Ag)}$$

2.4 Statistische Datenanalyse

Die bei den Versuchen erhaltenen Daten wurden einer statistischen Datenanalyse unterzogen. Ziel war es, zu überprüfen, ob die Mittelwerte der jeweiligen Stichproben signifikante Unterschiede aufweisen. Um die Signifikanz der Ergebnisse zu überprüfen, wurden hierzu eine Reihe von Tests angewandt. Der Entscheidungspfad zur Auswahl der Tests ist in Abbildung 2.1 dargestellt.

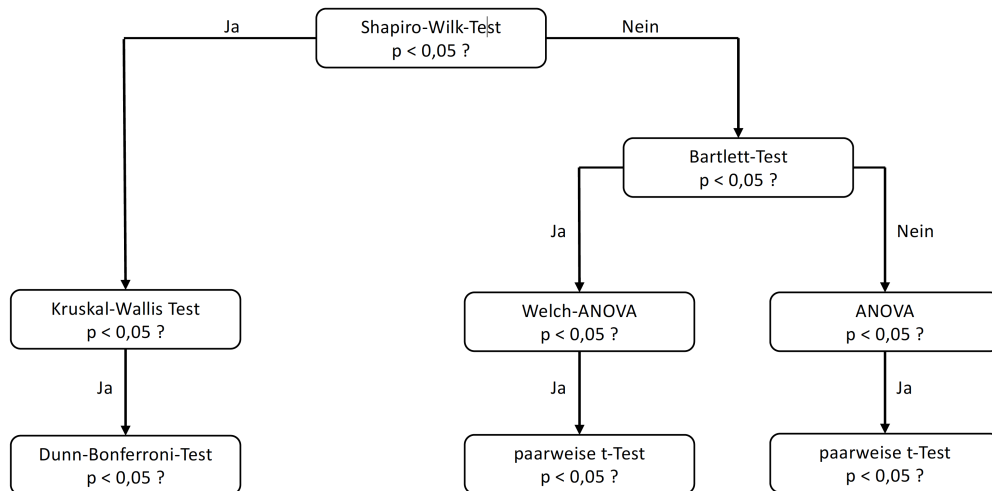


Abbildung 2.1: Pfade zur Auswahl statistischer Tests

Zunächst wurden die Daten anhand des Shapiro-Wilk-Tests auf die Normalverteilung der Messdaten geprüft. Lagen die Ergebnisse dieses Tests oberhalb des Signifikanzniveaus von 0,05, so waren die Messdaten normalverteilt und die Nullhypothese wurde beibehalten [73]. Im nächsten Schritt wurde mit dem Bartlett-Test auf Varianzunterschiede der Stichproben geprüft. Ein p-Wert größer dem Signifikanzniveau von 0,05 deutete auf keine signifikanten Varianzunterschiede in den Stichproben

hin, worauf eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt wurde [74]. Dieser lieferte bei einem p-Wert kleiner 0,05 den Hinweis auf Unterschiede in den Mittelwerten der Stichproben. Es wurden dann mit paarweisen t-Tests die sich unterscheidenden Stichproben ausfindig gemacht. Lag der p-Wert des Bartlett-Tests unter 0,05, wurde mit dem Welch's ANOVA Test auf Gleichheit der Mittelwerte getestet. Lag der p-Wert des Bartlett-Tests unterhalb des Signifikanzniveaus von 0,05, wurde die Nullhypothese, dass die Varianzen der Stichproben gleich sind, verworfen. Die Mittelwerte wurden daraufhin mit der Varianzanalyse nach Welch getestet und bei Unterschreiten des Signifikanzniveaus paarweise t-Tests analog zur ANOVA gemacht [75]. Ergab der Shapiro-Wilk-Test einen p-Wert von unter 0,05, so waren die Messwerte nicht normalverteilt. Mit dem nichtparametrischen Kruskal-Wallis-Test wurde dann auf Unterschiedlichkeit der Mittelwerte getestet. Ergab sich ein p-Wert von unter 0,05, wurde die Nullhypothese, dass es keine Unterschiede in den Mittelwerten gibt, verworfen und mit einem Dunn-Bonferroni-Test die Mittelwerte der einzelnen Stichproben paarweise miteinander verglichen [76].

3 Ergebnisse

3.1 Substratparameter

Der durchschnittliche Gehalt an Schwermetallen und Arsen im Substrat ist in Tabelle 3.1 ersichtlich. Gemessen wurden insgesamt 15 Substratproben. Alle Werte beziehen sich auf die TM des Substrats.

Tabelle 3.1: Gehalt an Schwermetallen im Substrat ($n = 15$)

Element	Gehalt in mg/kg
Ag	$0,069 \pm 0,006$
Ti	$110,1 \pm 15,1$
Cr	$22,24 \pm 3,68$
Ni	$6,488 \pm 1,186$
Cu	$27,20 \pm 6,48$
Zn	$154,9 \pm 41,8$
As	$3,250 \pm 1,349$
Pb	$17,41 \pm 2,83$
Hg	$0,093 \pm 0,015$

Die weiteren Substratparameter sind in Tabelle 3.3 ersichtlich. Der pH-Wert des Bodens lag bei $7,0 \pm 0,2$ ($n = 15$). Der TOC lag bei $36 \pm 7\%$ ($n = 15$). Der Gehalt des pflanzenverfügbaren Phosphats betrug $2,15 \pm 0,03 g/kg$ ($n = 15$) und der mit der Kjeldahlmethode bestimmte Gesamtstickstoffgehalt lag bei $8,65 \pm 0,58 mg/kg$ ($n = 8$). Die gemessene WHC betrug $221 \pm 35\%$.

Tabelle 3.3: Weitere Substratparameter

Parameter	Messwert	Probenanzahl n
pH-Wert	$7,0 \pm 0,2$	15
TOC in %	36 ± 7	15
PO_4^{3-} in g/kg	$2,15 \pm 0,03$	15
N in g/kg	$8,65 \pm 0,58$	8
WHC in %	221 ± 35	3

3.2 Charakterisierung der Silber-Nanopartikel Suspensionen und des Düngemittels

3.2.1 Silbergehalt

Die Messung der Ist-Werte der Suspensionen sowie die Abweichungen von den Soll-Werten ist in Tabelle 3.5 abgebildet.

Tabelle 3.5: Silbergehalt der Ag-NP Suspensionen und des Düngemittels, sowie das für die Radieschentöpfe abgenommene Volumen. Mit * markierte Daten: das abzunehmende Volumen richtete sich nur nach der Herstellerangabe des Düngemittels und nicht nach dem Silbergehalt

Suspension	$c(\text{Ag})_{\text{Soll}}$ in mg/L	$c(\text{Ag})_{\text{Ist}}$ in mg/L	Abweichung in %
Ag-NP PVP coat	40,0	39,8	-0,5
Ag-NP PVP disp	58,7	49,6	-15,5
Düngemittel	0,40	0,33	-17,8

Für die Ag-NP PVP coat Suspension wurde eine Konzentration von $39,8 \text{ mg/L}$ gemessen. Dieser Wert lag über dem Soll-Wert von $40,0 \text{ mg/L}$, was einer Abweichung von $-0,5\%$ entspricht. Der Ist-Wert von Ag-NP PVP disp lag $15,5\%$ unter dem Soll-Wert von $58,7 \text{ mg/L}$. Die Abweichung der Silberkonzentration im Düngemittel zum Soll-Wert lag bei $-17,8\%$ und betrug $0,33 \text{ mg/L}$.

3.2.2 Partikelgröße und Partikelform

Die Größenverteilungen der Partikel wurde über die DLS gemessen und ist in Abbildung 3.1 dargestellt. Aufgetragen wurde die Partikelgröße gegen die relative intensitätsgewichtete Frequenz. Grafik (a) in Abbildung 3.1 zeigt eine sehr schmale Größenverteilung von Ag-NP PVP coat. Der durch-

schnittliche hydrodynamische Durchmesser betrug $65,2\text{ nm}$ und die maximale Peakintensität lag bei $65,4\text{ nm}$. Unter Berücksichtigung der Solvathülle, welche bei der DLS-Messung mit erfasst wurde, lagen auch die Partikel von der TEM-Aufnahme im selben Größenbereich (siehe Abbildung (a) aus 3.2). Das in Wasser suspendierte Nanopulver Ag-NP PVP disp zeigte eine breite Größenverteilung, mit einer maximalen Peakintensität bei 362 nm und einem weiteren kleineren Peak bei $45,2\text{ nm}$. Der vom Messgerät ermittelte durchschnittliche hydrodynamische Durchmesser der Partikel betrug 331 nm . Damit lagen neben Partikeln über 100 nm auch Partikel unter 100 nm vor, was der Peak bei $45,2\text{ nm}$ bezeugt. Beachtet werden muss jedoch, dass bei der Größenmessung über die DLS große Partikel stärker gewichtet werden als kleine Partikel. Damit lieferte die DLS-Messung zwar Informationen über die Größe der in der Suspension vorhandenen Partikel, jedoch konnte keine genauere quantitative Aussage über die Partikel getroffen werden.

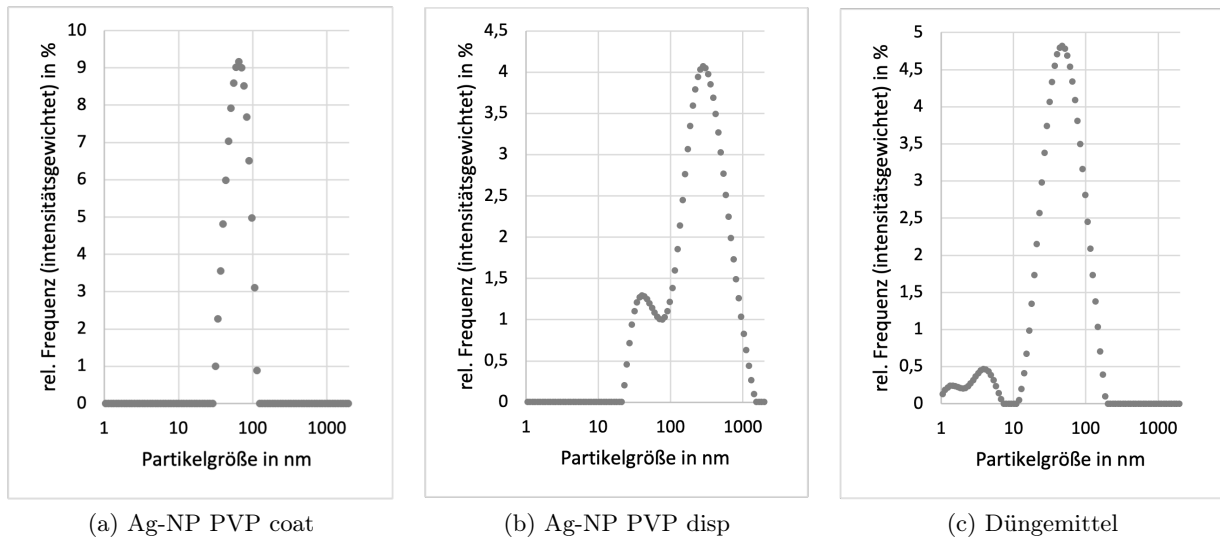
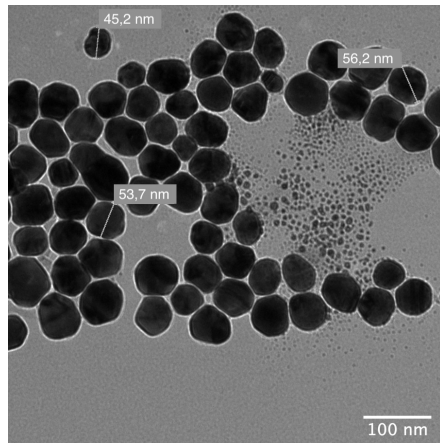
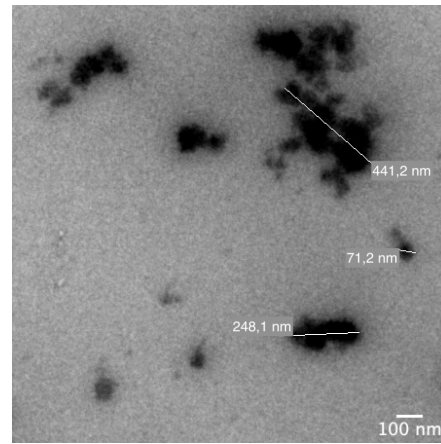


Abbildung 3.1: Größenverteilung der Partikel der Ag-NP PVP coat Suspension (a), der Ag-NP PVP disp Suspension (b) und des Düngemittels (c)

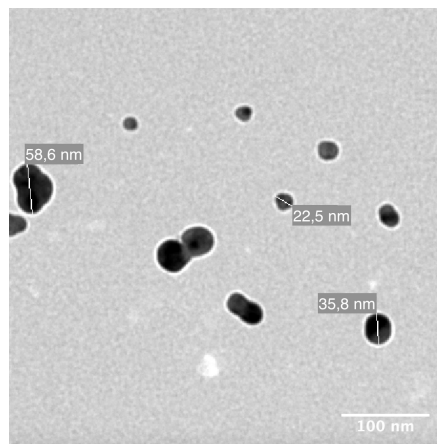
Über die TEM-Aufnahme der Ag-NP PVP disp Suspension (siehe Abbildung (b) 3.2) konnten sowohl Partikel unter als auch Agglomerate über 100 nm ausfindig gemacht werden, was in Übereinstimmung mit der DLS-Messung stand. Beim Düngemittel konnten drei Peaks mit maximalen Peakintensitäten bei einer Partikelgröße von $1,4\text{ nm}$, $3,8\text{ nm}$ und $57,3\text{ nm}$ identifiziert werden, wobei der letzte Peak die höchste Intensität aufwies. Der gemessene hydrodynamische Durchmesser lag im Durchschnitt bei $42,0\text{ nm}$. Die über die DLS-Messung erhaltenen Partikelgrößen deckten sich mit den Partikelgrößen aus der TEM-Aufnahme, siehe Abbildung 3.2 (c).



(a) Ag-NP PVP coat



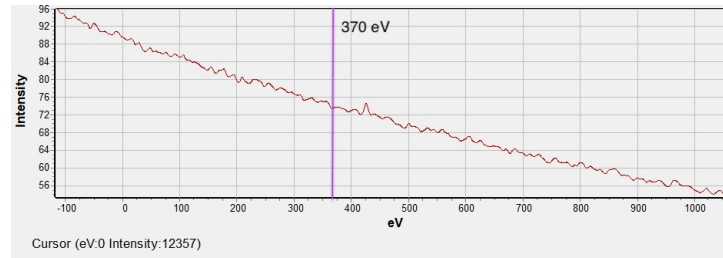
(b) Ag-NP PVP disp



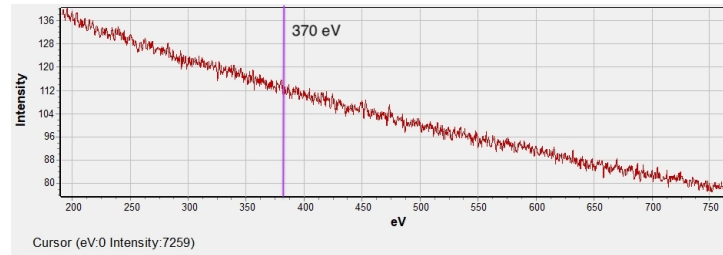
(c) Düngemittel

Abbildung 3.2: TEM-Aufnahmen der Ag-NP Suspensionen (a) Ag-NP PVP coat, (b) Ag-NP PVP disp und (c) des Düngemittels

In den EELS- und EDX-Spektren wurde die Signalintensität gegen die Energie in eV bzw. keV aufgetragen. Die EELS Spektren der Ag-NPs zeigten keine Peaks. Die für Silber charakteristischen Rumpfniveau-Anregungen ab $\sim 370 eV$ waren nicht zu erkennen, siehe Abbildung 3.3. Auch im EELS Spektrum des Düngemittels waren keine Verschiebungen der Basislinie zu erkennen, welche auf Silber schließen ließen. Ob es sich daher bei den Partikeln aus Aufnahme (c) Abbildung 3.2 um Ag-NPs oder andere Düngemittelbestandteile gehandelt hat, konnte Anhand der EELS-Aufnahmen nicht eruiert werden. Im Gegensatz hierzu wurde über die EDX-Aufnahmen in allen Suspensionen Silber nachgewiesen. Wie in Abbildung 3.4 (a und b) ersichtlich, war ein eindeutiger Peak bei $\sim 3 keV$ zu erkennen. Das EDX Spektrum von Ag-NP PVP coat wies zwar analog zu den anderen beiden Spektren keine Peaks im EELS Spektrum auf, jedoch einen Silberpeak bei $\sim 3 keV$ im EDX Spektrum.

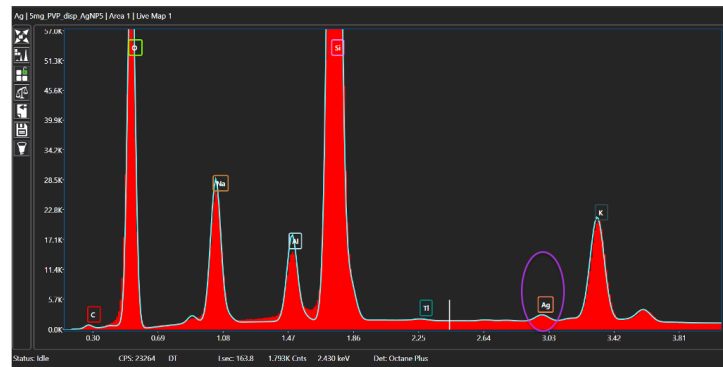


(a) Ag-NP PVP disp

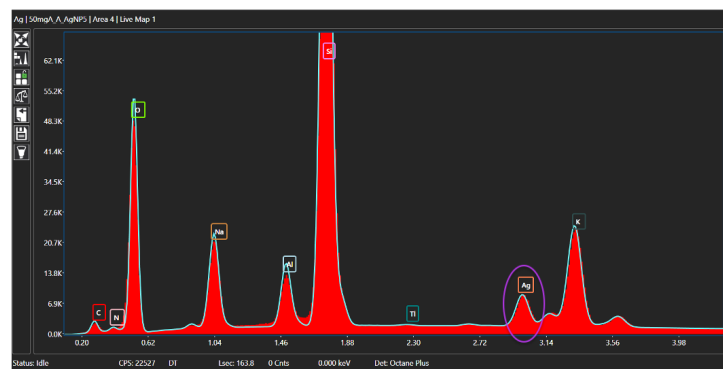


(b) Düngemittel

Abbildung 3.3: EELS von (a) Ag-NP PVP coat und (b) vom Düngemittel



(a) Ag-NP PVP disp



(b) Düngemittel

Abbildung 3.4: EDX Spektrum von (a) Ag-NP PVP coat und (b) vom Düngemittel

Über die TEM-Aufnahmen konnten Rückschlüsse auf die Nanopartikelform gezogen werden. Die Analyse der Rundheit (Circularity) belief sich bei Ag-NP PVP coat auf einen Wert von $0,84 \pm 0,03$ und bei Ag-NP PVP disp auf $0,54 \pm 0,22$. Bei den Partikeln im Düngemittel betrug die Rundheit im Mittel $0,93 \pm 0,07$. Je näher dieser Wert gegen 1 geht, desto eher entspräche die Morphologie sphärischen Partikeln.

3.3 Versuchsergebnisse

Abbildung 3.5 zeigt jeweils die drei Pflanzen der einzelnen Versuchsgruppen nach Woche drei. Die Pflanzen wiesen keine äußerlichen Schädigungen auf. Es waren leichte Wachstumsunterschiede in der Blattzahl und -größe zu erkennen. Am stärksten waren die Radieschen beim Silberdüngemittel ausgetrieben (Abbildung (d) 3.5), gefolgt von Ag-NP PVP coat, Ag-NP PVP disp und der Referenz. In Abbildung 3.6 sind Aufnahmen der Radieschenpflanzen am Ende des Experiments nach sechs Wochen zu sehen. Die visuelle Betrachtung der überirdischen Pflanzenbestandteile ergab, dass die Ag-NP PVP coat sowie Düngemittel Pflanzen die meisten und auch flächenmäßig größten Blätter aufwiesen. Die beiden anderen Versuchsgruppen zeigten deutliche Wachstumsrückstände. Zu erkennen waren weniger, kleinere und zum Teil gelb verfärbte und ausgetrocknete Blätter. Ab etwa Woche drei konnten vereinzelt Trauermücken *Sciaridae* beobachtet werden. Die Anzahl der Mücken nahm bis Woche sechs kontinuierlich zu und könnte auch der Auslöser für die Wachstumsunterschiede der Pflanzen gewesen sein. Die Auswirkungen der Schädlinge waren nach der sechsten Woche besonders deutlich zu erkennen (siehe Abbildung (a) 3.6). Die Pflanzen der Referenz bildeten keine Sprossknollen aus und auch die Blätter waren klein und gelb verfärbt. Weniger stark schienen die Trauermücken eine Auswirkung auf die anderen Versuchsgruppen zu haben. Wie in der Aufnahme (b) und (c) aus Abbildung 3.6 ersichtlich ist, wies jeweils eine Pflanze von Ag-NP PVP coat und Ag-NP PVP disp starke Schädigungen auf. Die Pflanzen des Düngemittels entwickelten sich ohne merkliche Schädigungen und bildeten die größten Blätter, wie auf der Aufnahme (d) 3.6 zu erkennen ist.

Nach dem Ernten der Radieschen zeigte sich, dass keine Pflanze der Referenz Sprossknollen entwickelt hatte. Die Wurzeln der Referenz waren äußerlich stark beschädigt und schienen angefressen worden zu sein. Aufgrund des Schädlingsbefalls waren die Pflanzen der Referenz für die Analyse des Silbergehalts und die Abmessungen der Radieschen ungeeignet. Es erfolgte ein zweiter Ansatz der



(a) Referenz



(b) Ag-NP PVP coat



(c) Ag-NP PVP disp



(d) Düngemittel

Abbildung 3.5: Pflanzen nach drei Wochen (a) Referenz, (b) Ag-NP PVP coat, (c) Ag-NP PVP disp und (d) Düngemittel



(a) Referenz



(b) Ag-NP PVP coat



(c) Ag-NP PVP disp



(d) Düngemittel

Abbildung 3.6: Pflanzen nach sechs Wochen (a) Referenz, (b) Ag-NP PVP coat, (c) Ag-NP PVP disp und (d) Düngemittel

Referenz, bestehend aus drei Töpfen mit jeweils sechs Radieschenpflanzen. Um einen erneuten Befall an Trauermücken zu verhindern, wurde das Pflanzensubstrat provisorisch vor dem Säen der Samen zweimal bei -21°C eingefroren und aufgetaut. Nach Austreiben der ersten Laubblätter wurden

die Töpfe analog zum ersten Ansatz pikiert. Zusätzlich wurden provisorisch Gelbfallen aufgestellt. Alle anderen Parameter, wie Substratmenge, Beleuchtung, Wassergehalt und Temperatur, blieben unverändert. Über die gesamte Versuchsdauer von sechs Wochen konnten keine Trauermücken beobachtet werden. Die Pflanzen der neuen Referenz wiesen keine visuellen Schäden auf und bildeten Sprossknollen aus.



Abbildung 3.7: Pflanzen der Referenz des zweiten Ansatzes nach sechs Wochen

3.3.1 Masse, Größe und Umfang

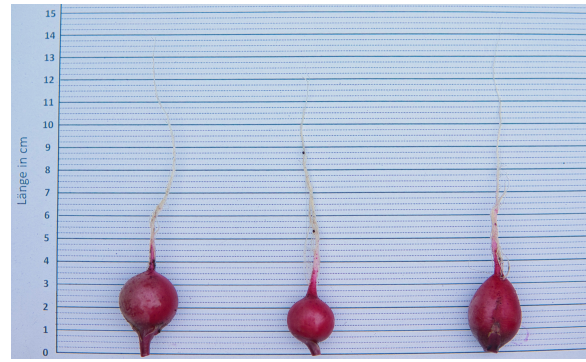
In Abbildung 3.8 sind beispielhaft die nach dem Ernten mit deionisiertem Wasser abgespülten Wurzeln abgebildet. Zu sehen sind die drei Wurzeln aus Topf I (zweiten Ansatz), VI, IX und XI nach dem Abtrennen der Blätter. Die visuelle Betrachtung der Wurzeln zeigte keine farblichen Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

Die durchschnittliche Wurzel-FM der Referenz belief sich auf $12,72 \pm 4,59 \text{ g}$, die von Ag-NP PVP coat auf $6,49 \pm 5,77 \text{ g}$, die von Ag-NP PVP disp auf $5,37 \pm 5,33 \text{ g}$ und die des Düngemittels auf $11,83 \pm 4,18 \text{ g}$. Das Ergebnis der FM-Auswertung ist in Abbildung 3.9 gezeigt. Die statistische Auswertung lieferte als Ergebnis zwischen fast allen Versuchsgruppen, außer zwischen der Referenz und dem Düngemittel, wie auch zwischen Ag-NP PVP coat und Ag-NP PVP disp, signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Die Wurzel-FM lag bei der Versuchsgruppe Ag-NP PVP coat 49,0% und Ag-NP PVP disp 57,8% unter der der Referenz. Beim Düngemittel verringerte sich dieser Wert um 7,0%.

Bei der TM der Wurzel ergaben sich analog zur Wurzel-FM die höchsten Werte bei der Referenz mit $0,97 \pm 0,33 \text{ g}$. Mit $0,82 \pm 0,25 \text{ g}$ war die Wurzel-TM bei den Düngemittel Pflanzen nicht signifikant geringer ($p > 0,05$). Die TM der beiden Ag-NP Versuchsgruppen lag mit $0,33 \pm 0,25 \text{ g}$ für Ag-NP PVP coat 66,1% unter der der Referenz und mit $0,45 \pm 0,22 \text{ g}$ für Ag-NP PVP disp 53,4% unter der der Referenz ($p < 0,05$).



(a) Referenz Topf I



(b) Ag-NP PVP coat Topf VI



(c) Ag-NP PVP disp Topf IX



(d) Düngemittel Topf XI

Abbildung 3.8: Aufnahme der Wurzeln von jeweils einem Topf der Versuchsgruppe. (a) Referenz (zweiter Ansatz), (b) Ag-NP PVP coat, (c) Ag-NP PVP disp und (d) Düngemittel

Die TM der Blätter wies in den einzelnen Versuchsgruppen eine ähnliche Reihenfolge auf wie die TM der Wurzel, mit dem einzigen Unterschied, dass sich der Mittelwert beim Düngemittel signifikant von der Referenz unterschied ($p < 0,05$). Die höchsten Werte wurden bei der Referenz mit $0,44 \pm 0,14 \text{ g}$ gemessen. Bei den Düngemittel Pflanzen ergaben sich $0,29 \pm 0,06 \text{ g}$, gefolgt von $0,20 \pm 0,05 \text{ g}$ für Ag-NP PVP coat und $0,18 \pm 0,05 \text{ g}$ für Ag-NP PVP disp. Die Blätter-TM der Ag-NP Versuchsgruppen verringerte sich damit gegenüber der Referenz um 54,0% bzw. 59,4% und die TM des Düngemittels gegenüber der Referenz um 35,1% ($p < 0,05$). Vergleicht man die Ag-NP Versuchsgruppen mit dem Düngemittel, so ergab sich eine um 29,1% (Ag-NP PVP coat) bzw. 37,3% (Ag-NP PVP disp) verminderte Blätter-TM.

Signifikante Unterschiede in der Länge der Wurzel konnten nur zwischen der Referenz und allen anderen Versuchsgruppen festgestellt werden, siehe (a) aus Abbildung 3.10. Die Radieschenlänge belief sich auf $12,2 \pm 1,5 \text{ cm}$ (Referenz), $10,1 \pm 1,1 \text{ cm}$ (Ag-NP PVP coat), $9,7 \pm 2,2 \text{ cm}$ (Ag-NP PVP disp) und $10,0 \pm 1,5 \text{ cm}$ (Düngemittel). Damit nahm die Wurzellänge nach sechs Wochen bei allen mit Silber behandelten Versuchsgruppen geringfügig aber signifikant ($p < 0,05$) ab.

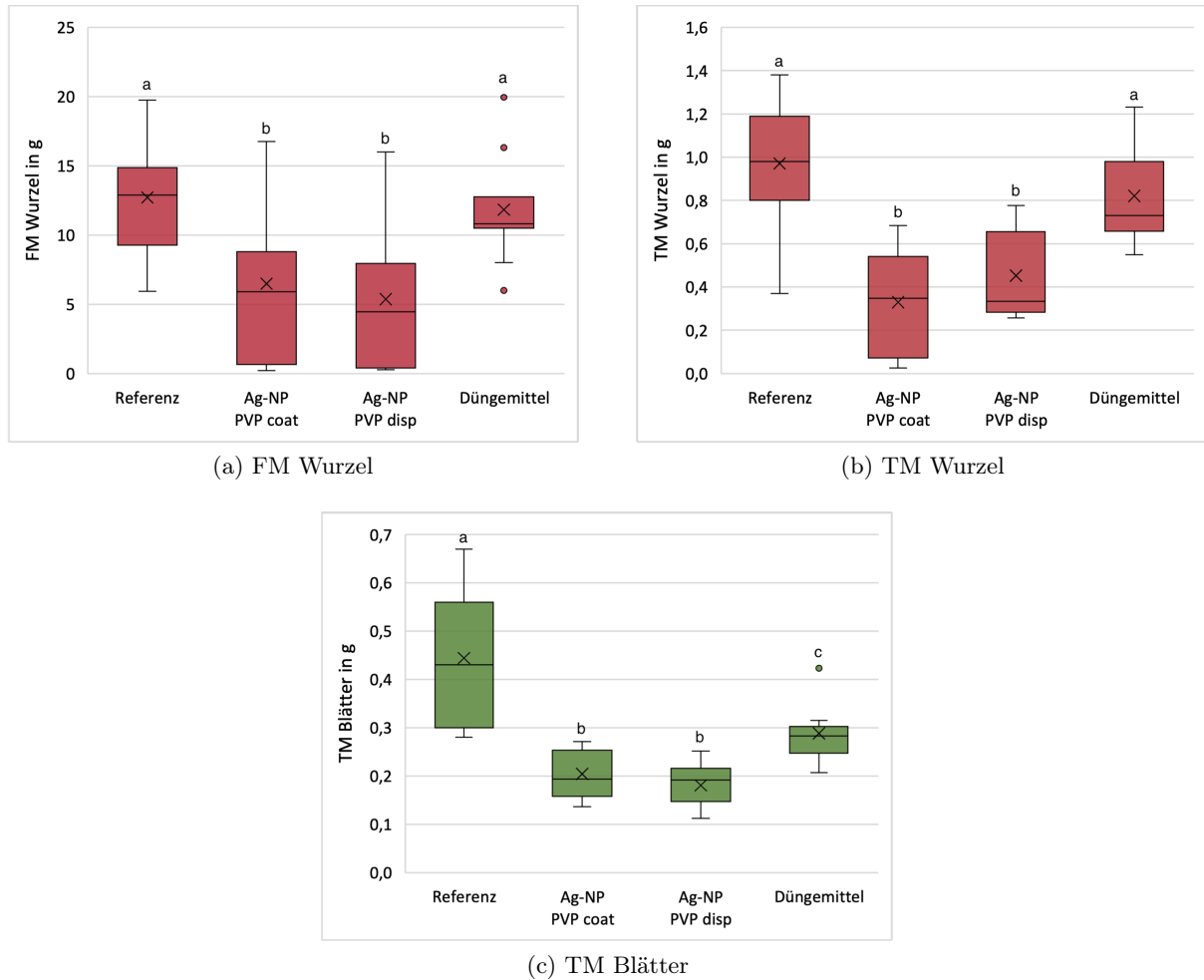
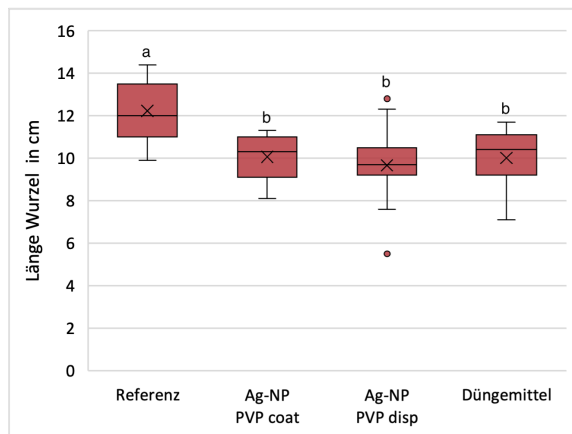


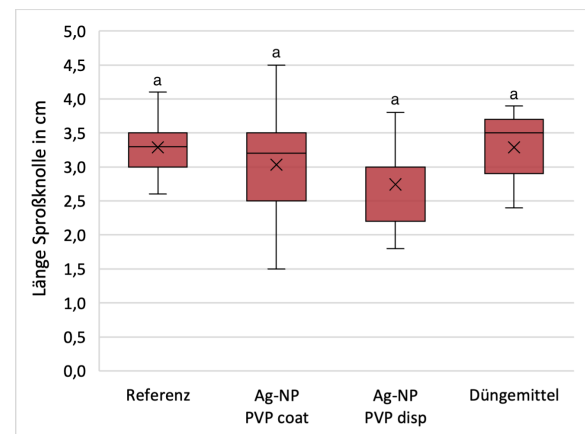
Abbildung 3.9: (a) FM und (b) TM der Wurzel sowie (c) die TM der Blätter ($n = 9$). Unterschiedliche Buchstaben deuten auf signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede in den Mittelwerten hin

Was die Länge der Sprossknolle betrifft, konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen festgestellt werden ($p > 0,05$). Die mittlere Länge der Sprossknollen lag bei allen Versuchsgruppen im Bereich von 2,7 und 3,3 cm, siehe Abbildung 3.10 (b).

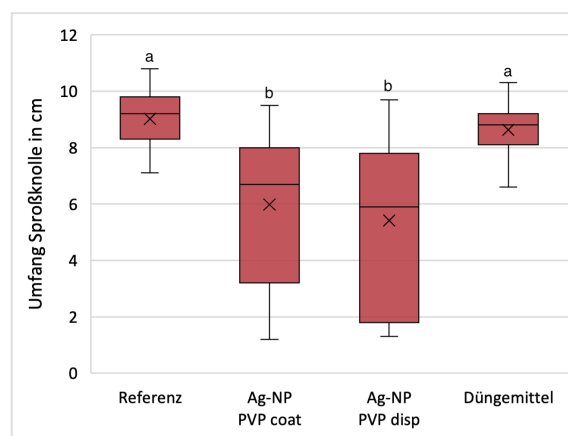
Der Umfang der Sprossknolle war bei der Referenz und dem Düngemittel mit $9,0 \pm 1,2$ cm bzw. $8,6 \pm 1,1$ cm am größten. Die mit Ag-NPs behandelten Radieschen wiesen, verglichen mit dem Düngemittel und der Referenz, einen signifikant ($p < 0,05$) geringeren Umfang von $6,0 \pm 3,0$ cm (Ag-NP PVP coat) und $5,3 \pm 3,2$ cm (Ag-NP PVP disp) auf. Das entsprach einem Rückgang von 33,7% bzw. 40,0%. Der Unterschied zwischen der Referenz und dem Düngemittel sowie zwischen den beiden Ag-NP Versuchsgruppen war nicht signifikant ($p > 0,05$). Die Auswertung des Radieschenumfangs ist in Abbildung 3.10 (c) zu sehen.



(a) Länge Wurzel



(b) Länge Sprossknolle



(c) Umfang Sprossknolle

Abbildung 3.10: Morphologische Auswertung der Wurzeln. (a) Länge der Wurzel, (b) Länge der Sprossknolle und (c) Umfang der Sprossknolle, ($n = 9$). Unterschiedliche Buchstaben deuten auf signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede in den Mittelwerten hin

3.3.2 Silbergehalt der Wurzeln und Blätter

Der durchschnittliche Silbergehalt in der Wurzel war für Ag-NP PVP coat am höchsten und betrug $0,692 \pm 0,748 \text{ mg/kg}$. Mit $0,591 \pm 0,223 \text{ mg/kg}$ lag der Wert für die Versuchsgruppe Ag-NP PVP disp in derselben Größenordnung. In der Düngemittelgruppe wurden $0,007 \pm 0,002 \text{ mg/kg}$ gemessen und der Silbergehalt der Referenz lag unter der Nachweisgrenze der Graphitrohr-AAS ($0,002 \text{ mg/kg}$). Die Zugabe von 4 mg/kg Ag-NPs erhöhte damit den Silbergehalt in der Wurzel signifikant. Die statistische Auswertung der Daten lieferte zwischen der Referenz und den Ag-NP Versuchsgruppen, als auch zwischen dem Düngemittel und den Ag-NP Versuchsgruppen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). Die Auswertung der SEM-Bilder und Messung der elementaren Zusammensetzung der untersuchten Wurzeln lieferte keinen Nachweis dafür, dass Silber in die Wurzel ein-

gedrungen war. Bei keiner der untersuchten Proben konnte mithilfe der EDX Silber nachgewiesen werden. Das EDX Spektrum eines Radieschens aus Topf IX der Ag-NP PVP disp Versuchsgruppe ist in Abbildung 3.12 (a) zu sehen und weist keinen Silberpeak bei $\sim 3 \text{ keV}$ auf. Die SEM-Aufnahme eines Ausschnitts der Probe ist in Grafik (b) der Abbildung 3.12 gezeigt. Die kugelförmigen Objekte in der TEM-Aufnahme konnten nicht identifiziert werden, aufgrund der EDX-Aufnahme kann jedoch ausgeschlossen werden, dass es sich um Ag-NPs handelt. Bei den anderen drei Versuchsgruppen wurde deckungsgleich mit der EDX-Aufnahme von Versuchsgruppe Ag-NP PVP disp kein Silber gemessen.

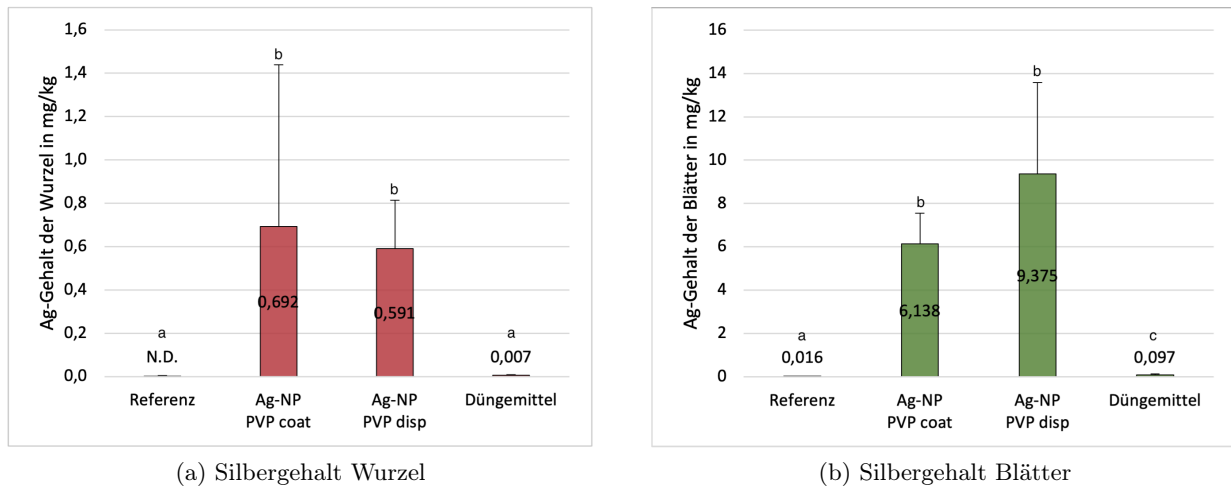
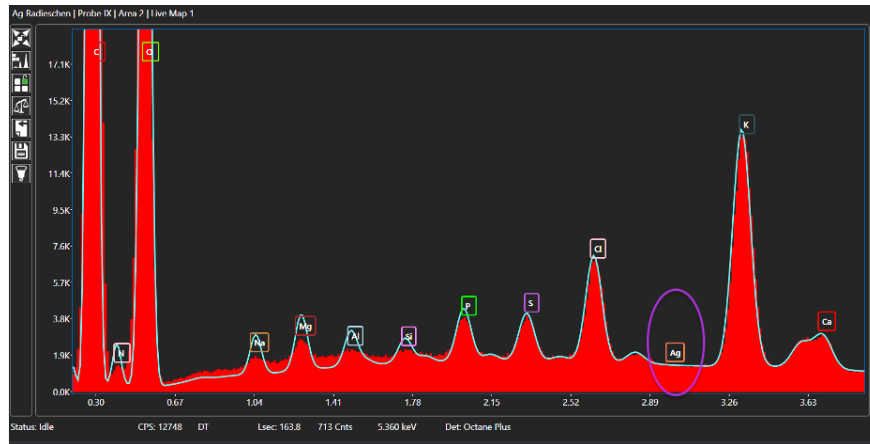


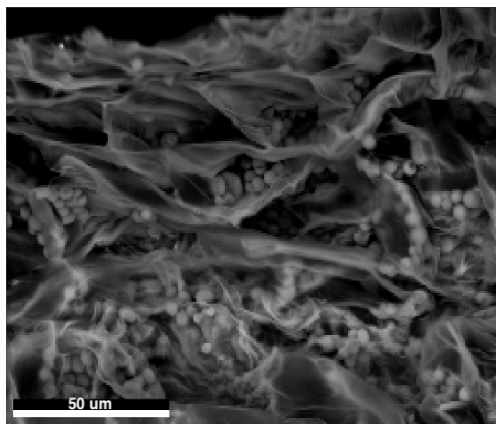
Abbildung 3.11: Silbergehalt (a) der Wurzel und (b) der Blätter. Daten werden als Mittelwerte abgebildet $\pm$ Standardabweichung ($n = 9$). Unterschiedliche Buchstaben deuten auf signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede in den Mittelwerten hin

Die Analyse des Silbergehalts der Blätter lieferte, analog zum Silbergehalt in den Wurzeln, die höchsten Werte in den Ag-NP Versuchsgruppen. Diese lagen bei $6,138 \pm 1,415 \text{ mg/kg}$ für Ag-NP PVP coat und $9,375 \pm 4,195 \text{ mg/kg}$ für Ag-NP PVP disp und unterschieden sich nicht signifikant ($p > 0,05$). Beim Düngemittel betrug der durchschnittliche Gehalt $0,097 \pm 0,037 \text{ mg/kg}$ und bei der Referenz $0,016 \pm 0,016 \text{ mg/kg}$ ($p > 0,05$). Damit stieg der Silbergehalt der Blätter durch die Zugabe der NPs bei Ag-NP PVP coat im Schnitt um das 374,8-fache und bei Ag-NP PVP disp um das 572,5-fache.

Für die Referenz konnte kein TF kalkuliert werden, da der Silbergehalt in der Wurzel unter der Nachweisgrenze lag. Der TF von Ag-NP PVP coat lag mit 8,87 wesentlich niedriger als der TF von Ag-NP PVP disp, welcher 15,86 betrug. Beim Düngemittel wurde ein TF von 14,34 kalkuliert und lag damit in einem ähnlichen Größenbereich wie der Wert von Ag-NP PVP disp.



(a) EDX-Aufnahme von Rad IX



(b) SEM-Aufnahme von Rad IX

Abbildung 3.12: SEM- (a) und EDX-Aufnahme (b) von einem Teil der Sprossknolle eines Radieschens aus Topf IX der Ag-NP PVP disp Versuchsgruppe.

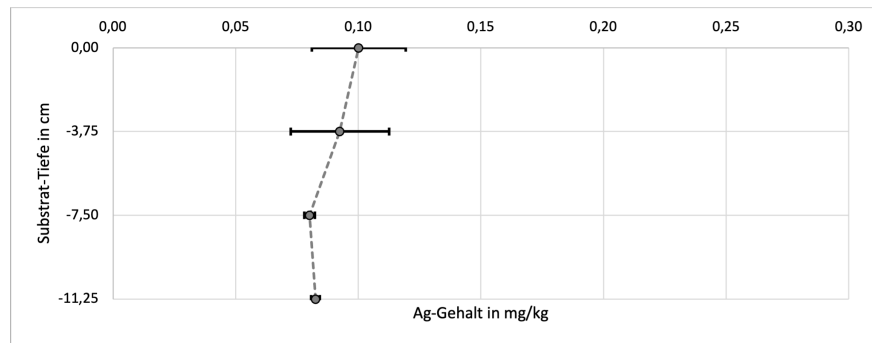
3.3.3 Silbergehalt im Pflanzensubstrat

Das Tiefenprofil des Silbergehalts für die verschiedenen Versuchsgruppen ist in Abbildung 3.13 dargestellt. Im Substrat der Referenz-Töpfe variierte der Silbergehalt in jeder Tiefe zwischen $0,083$ und $0,100 \text{ mg/kg}$. Die Betrachtung des Tiefenprofils von Ag-NP PVP coat machte deutlich, dass der größte Anteil des Silbers in der obersten Substratschicht von 0 bis $-3,75 \text{ cm}$ akkumulierte. In dieser Schicht betrug der Silbergehalt $21,175 \pm 4,192 \text{ mg/kg}$. In der darunter liegenden Schicht von $-3,75$ bis $-7,5 \text{ cm}$ war der Silbergehalt bereits deutlich geringer und lag bei $3,624 \pm 1,177 \text{ mg/kg}$. Nur leicht erhöhte Werte konnten in der dritten ($-7,5$ bis $-11,25 \text{ cm}$) und vierten ($-11,25$ bis -15 cm) Schicht gemessen werden. Diese betrugen $0,285 \pm 0,098 \text{ mg/kg}$ und $0,123 \pm 0,009 \text{ mg/kg}$. Sehr ähnliche Gehalte wurden für die Versuchsgruppe Ag-NP PVP disp ermittelt. Der höchste Gehalt wurde in der obersten Schicht gemessen und betrug $19,201 \pm 6,305 \text{ mg/kg}$. In der nächsttieferen

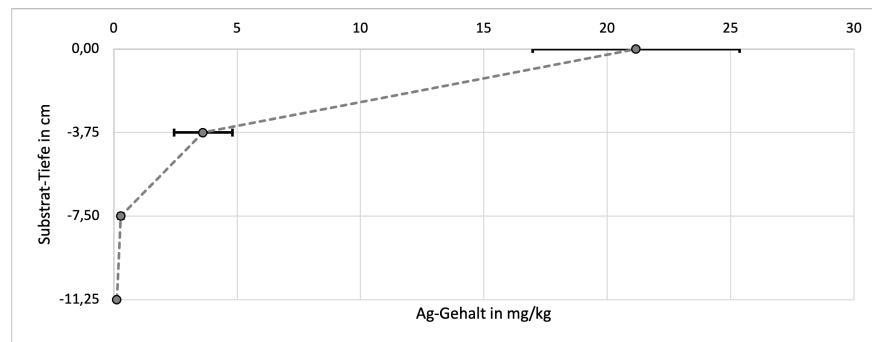
Schicht bis $-7,5\text{ cm}$ wurden im Mittel nur noch $2,450 \pm 1,782\text{ mg/kg}$ gemessen. In den untersten beiden Schichten lag der Gehalt, vergleichbar mit Ag-NP PVP coat, leicht über den Werten der Referenz. Die absolute Silbermenge, welche der Düngemittel Versuchsgruppe im Experiment zugeführt wurde, war zwar deutlich geringer als in den beiden anderen Versuchsgruppen, jedoch war auch hier der identische Trend zu erkennen. In den obersten $3,75\text{ cm}$ war ein höherer Silbergehalt von $0,167\text{ mg/kg}$ festzustellen, die darunter liegenden Schichten wiesen Silbergehalte von $0,064 - 0,080\text{ mg/kg}$ auf und waren damit, verglichen mit der Referenz, nicht signifikant erhöht. Der Vergleich der Schichten untereinander zeigte von der ersten zur zweiten Schicht ein Abfallen des Silbergehalts um den Faktor 5,85 (Ag-NP PVP coat), respektive 7,84 (Ag-NP PVP disp) und 2,13 (Düngemittel). Der Vergleich der Silbergehalte der zweiten und dritten Schicht ergab eine Reduktion um den Faktor 12,70 (Ag-NP PVP coat), respektive 11,86 (Ag-NP PVP disp) und 0,98 (Düngemittel). Von der dritten zur untersten Schicht konnte eine Reduktion um den Faktor 2,32 (Ag-NP PVP coat), respektive 1,30 (Ag-NP PVP disp) und 1,25 (Düngemittel), festgestellt werden.

Der Vergleich der Mittelwerte der obersten und zweit obersten Schicht lieferte nur zwischen der Referenz und Ag-NP PVP coat und zwischen Düngemittel und Ag-NP PVP coat signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). In der dritten Schicht war der p-Wert bei allen Vergleichen über dem Signifikanzniveau von 0,05 und in der untersten Schicht nur zwischen Düngemittel und Ag-NP PVP coat bzw. Düngemittel und Ag-NP PVP disp unter 0,05. Die statistische Auswertung lieferte keine brauchbaren Ergebnisse, da die Stichprobenanzahl von $n = 3$ sehr niedrig ausfiel.

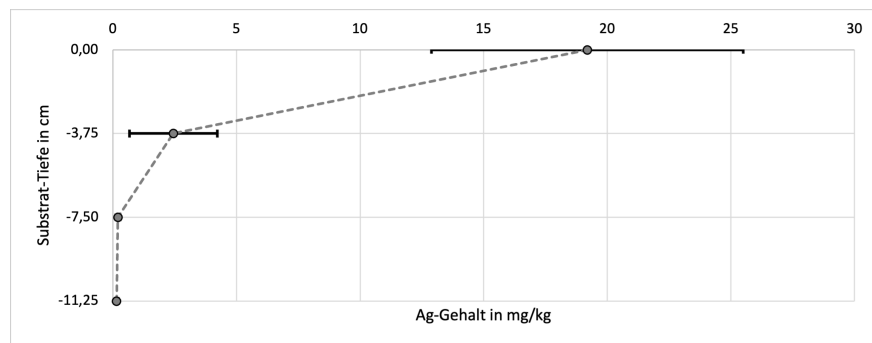
Bezieht man den durchschnittlichen Silbergehalt der Radieschenwurzel einer Versuchsgruppe auf den Silbergehalt des jeweiligen Substrats, so erhält man den BAF. Für die Referenz lag dieser Wert bei 0,04. Beim Düngemittel betrug der BAF 0,07 und für Ag-NP PVP coat bzw. Ag-NP PVP disp 0,11. Die BAF der mit Silber behandelten Versuchsgruppen lagen 75% (Düngemittel) bzw. 175% (Ag-NPs) über dem der Referenz.



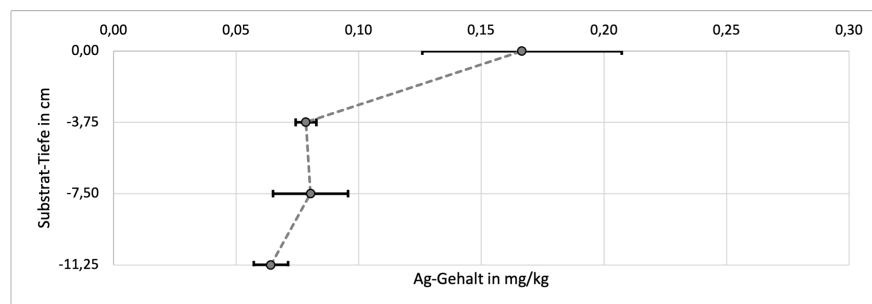
(a) Tiefenprofil Referenz



(b) Tiefenprofil Ag-NP PVP coat



(c) Tiefenprofil Ag-NP PVP disp



(d) Tiefenprofil Düngemittel

Abbildung 3.13: Silbergehalt des Substrats als Tiefenprofil für (a) Referenz, (b) Ag-NP PVP coat, (c) Ag-NP PVP disp und (d) Düngemittel. Daten werden als Mittelwerte abgebildet $\pm$ Standardabweichung ($n = 9$)

4 Diskussion

4.1 Substratparameter

Die gemessenen Schwermetallgehalte des Substrats wurden mit den Richtwerten für österreichische Ackerböden mit pH-Wert ≥ 6 verglichen. Die Richtwerte (Metallgehalte eines Elements im Boden, bis zu deren Erreichung keine negativen Auswirkungen auf die Umwelt zu erwarten sind [77]) für die Schwermetalle Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Arsen, Blei und Quecksilber liegen bei 100 mg/kg , 100 mg/kg , 100 mg/kg , 300 mg/kg , 20 mg/kg , 100 mg/kg und $0,5\text{ mg/kg}$. Für Silber und Titan werden keine Bodenrichtwerte angegeben [77]. Der Vergleich mit den Werten aus Tabelle 3.1 zeigt, dass die Richtwerte von den Schwermetallgehalten und Arsen im Substrat nicht überschritten wurden.

Das Umweltbundesamt veröffentlicht keine Messdaten über den Silbergehalt in Böden, daher ist eine Einschätzung des im Substrat gemessenen Silbergehalts nicht trivial. Jedoch sind vom deutschen Umweltbundesamt Messdaten zur Silberbelastung in Oberflächengewässern, Sedimenten und Kläranlagen veröffentlicht worden. Der Silbergehalt in Sedimenten deutscher Gewässer lag demnach zwischen 2000 und 2007 im Mittel zwischen $0,4$ und $3,1\text{ mg/kg}$. Aufschlussreich könnten auch die Messdaten zur Silberbelastung im Klärschlamm sein. Nach der EU-Klärschlammrichtlinie (86/278/EWG) wird Klärschlamm als alternatives Düngemittel auf Ackerböden aufgebracht. Die Datenlage scheint jedoch schlecht zu sein, da Silber nicht routinemäßig gemessen wird. Vorhandene Daten zeigten einen stark variierenden Silbergehalt von $1,7 - 40\text{ mg/kg}$ im Klärschlamm [78]. Folglich hängt die Silberbelastung im Boden derzeit größtenteils von der Düngung mit Klärschlamm ab. Der im Versuch gemessene Wert von $0,069 \pm 0,006\text{ mg/kg}$ ist als gering einzustufen.

Der pH-Wert des Bodens lag mit $7,0 \pm 0,2$ im vom Hersteller angegebenen Bereich von $5,0 - 7,0$. Auch der gemessene Gehalt an pflanzenverfügbarem Phosphat lag in dem angegebenen Bereich von $0,57 - 2,86\text{ g/kg}$. Der mit der Kjeldahlmethode bestimmte Gesamtstickstoffgehalt lag bei $8,65 \pm 0,58\text{ mg/kg}$. Der Hersteller gab den Gehalt an pflanzenverfügbarem Stickstoff mit $0,27 - 1,60\text{ g/kg}$

an, welcher mit der CaCl_2 -Methode bestimmt wurde, jedoch im Vergleich zu der Kjeldahlmethode lediglich das im Substrat vorhandene Ammonium und Nitrat berücksichtigt. Der mit der Kjeldahlmethode gemessene Stickstoffwert konnte damit nicht die Herstellerangabe verifizieren.

4.2 Charakterisierung der Silber-Nanopartikel Suspensionen

Den TEM-Bildern und der Größenverteilung nach, verhinderte die PVP-Beschichtung der NPs weitgehend eine Agglomeration der Partikel. PVP als Dispersens scheint weniger gut zu funktionieren. Dies äußerte sich auch darin, dass die Ag-NP PVP coat Suspension, im Gegensatz zur Ag-NP PVP disp Suspension, nach längerem herumstehen keine Sedimentation der Partikel zeigte. Die schnelle Agglomeration und Sedimentation von Ag-NP PVP disp konnte sowohl den starken Abfall des Ist-Wertes bei der Silbermessung der Suspension erklären, als auch die breitere Größenverteilung bei der DLS-Messung. Die Behandlung im Ultraschallbad konnte folglich eine starke Agglomeration der in PVP dispergierten Ag-NPs nicht verhindern.

Bei der EELS-Messung war ab $370 - 400 \text{ eV}$ eine Verschiebung der Basislinie zu höheren Intensitäten zu erwarten gewesen [79] [80]. Warum bei der Messung der elementaren Zusammensetzung mit der EELS keine Rumpfniveau-Schwingungen von Silber zu erkennen waren, konnte nicht in Erfahrung gebracht werden.

4.3 Kultivierung

Das Wachstum und die Entwicklung der Radieschenpflanzen wurde, wie in Abbildung 3.5 und 3.6 zu erkennen ist, von einem nicht geplanten Einflussfaktor beeinträchtigt. Die Vermutung lag hier auf einem Schädlingsbefall durch die Trauermücke. Der Literatur nach entwickeln sich die $4 - 7 \text{ mm}$ langen Larven der Trauermücke in feuchter Erde und ernähren sich unter anderem von Pflanzenwurzeln [81]. Dies schien die Nährstoffaufnahme gestört zu haben und behinderte die Pflanze in ihrer Entwicklung. Auffällig war das gute Pflanzenwachstum der anderen Versuchsgruppen, verglichen mit den Referenzpflanzen. Das in diesen Töpfen zugeführte Silber könnte auf die Larven der Trauermücke toxisch gewirkt und damit das Schadenspotential verringert haben. Ob dies der Fall war, kann nicht abschließend geklärt werden. Ob das im Düngemittel vorhandene Silber kolloidal, als Ag-NP oder gelöst vorhanden war, konnte nicht spezifiziert werden. Ein hoher Anteil an gelöstem Silber könnte, im Vergleich zu Ag-NP oder kolloidalem Silber, toxischer auf die Trauermücken

gewirkt haben. Dies wurde von Velicogna et al. [62] bei Regenwürmern und Springschwänzen gezeigt.

Neben dem zugeführten Silber aus dem Düngemittel wurde den Töpfen X – XII unvermittelt auch vier Mal 5 ng Stickstoff zugeführt. Dies entsprach einer Erhöhung des Stickstoffgehalts im Topf um 0,0004%. Die Stickstoffdüngung bei Radieschen wird mit 80 kg/ha angegeben [82]. Die in diesem Experiment aufgetragene Stickstoffmenge lag bei $9,09 \cdot 10^{-3} \text{ kg/ha}$ was deutlich unter der Menge von 80 kg/ha war und sollte daher vernachlässigbar gering gewesen sein. Ob die zugeführte Stickstoffmenge schlussendlich einen Einfluss auf das Wachstum der Radieschen hatte, konnte nicht vollständig ausgeschlossen werden.

4.4 Masse, Größe und Umfang

Die Betrachtung der Ergebnisse aus Abschnitt 3.9 und 3.10 führte zu der Annahme, dass neben höheren Silbergehalten wie 4 mg/kg, auch sehr geringe Silbergehalte von 3,16 ng/kg das Wachstum von Radieschen beeinflussen. Andere Studien, welche die Auswirkungen von Silbergehalten in dieser Größenordnung auf Radieschen oder andere Gemüsepflanzen untersuchen, konnten nicht gefunden werden. Die Effekte von höheren Gehalten auf Radieschen wurden dagegen auch von anderen Autoren erforscht. Eine Reduktion in der FM der Radieschenwurzel konnten auch Li et al. [48] feststellen. Im Unterschied wurde Klärschlamm mit PVP beschichteten Ag-NPs angereichert und mit dem Pflanzensubstrat vermischt. Die Silberkonzentration betrug dabei $10,4 \pm 2,1 \text{ mg/kg}$ und führte nach 71 Tagen zu einer Reduktion der Wurzelmasse um 61%. In einer anderen Studie von Tymoszuk [44] verringerte sich nach drei Wochen, bei einer Wurzelexposition von 50 mg/L und 100 mg/L Ag-NP Lösung, die FM der Wurzel um 34,7% bzw. 24,0%. Die Ag-NPs hatten eine Größe von $23 \pm 4 \text{ nm}$. Konträr zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit konnte Tymoszuk [44] keine signifikanten Unterschiede in der Wurzel-TM feststellen. Bei der TM der Blätter zeigte sich sogar eine Erhöhung um 24,3% bzw. 27,8%. Auch die Wurzellänge zeigte bei Tymoszuk [44] konträre Resultate und erhöhte sich bei den drei Wochen alten Jungpflanzen um 36,1%. Zu erwähnen ist hier, dass das Wachstum der Wurzellänge in dem Versuch der vorliegenden Arbeit durch die Topftiefe von 15 cm limitiert wurde. Zudem konnte ein Abreißen der filigranen Wurzelspitze beim Herausnehmen der Radieschen aus den Töpfen nicht vollständig verhindert werden. In einer anderen Studie wurden Radieschenpflanzen für 35 Tage in einem mit 1 mg/kg Ag-NP angereicherten Pflanzensubstrat gezüchtet. Das im Substrat enthaltene Silber erhöhte die Wurzel-TM um 68,3 – 180,2%, hatte aber

auf die TM der Blätter keinen Effekt [49]. Zu beachten ist, dass bei den Studien von Tymoszuk [44], Li et al. [48] und He et al. [49] keine simultane Exposition der Wurzeln und Blätter erfolgte. Welchen Einfluss die simultane Exposition hatte, kann nicht evaluiert werden.

4.5 Silbergehalt der Wurzeln und Blätter

Die signifikante Erhöhung des Silbergehalts in der Radieschenwurzel deckte sich nicht mit anderen Studien, welche keine signifikante Erhöhung des Silbergehalts in der Radieschenwurzel feststellen konnten [48][49]. Wie in der Analyse der elementaren Zusammensetzung in Abbildung 3.12 zu sehen war, schien kein Silber in die Radieschenwurzel aufgenommen worden zu sein. Die Adsorption von Silber an die Rhizodermis schien damit plausibel. Mithilfe der EDX wurde nicht der gesamte Querschnitt der Wurzel analysiert. Daher kann eine Aufnahme von Silber in andere, nicht analysierte Wurzelbestandteile, nicht ausgeschlossen werden. Ob das Silber die verschiedenen Barrieren in der Wurzel überwinden und ins Zellinnere gelangen konnte oder die NPs an der Wurzeloberfläche anderweitig gehaftet hatten, lässt sich damit nicht endgültig beantworten.

Auffällig waren die hohen Silbergehalte in den Blättern der Pflanzen und die hieraus hohen TFs. Ob das Silber über Translokation aus anderen Pflanzenbestandteilen in die Blätter gelangt war oder die NPs an der Blattoberfläche adsorbierten, konnte über die vorliegenden Daten nicht beantwortet werden. Eine Adsorption der NPs an die Blattoberfläche schien jedoch plausibel, da die in Wasser suspendierten NPs gleichmäßig in den entsprechenden Topf gegossen wurden und dabei mit den Blättern in Kontakt kamen. Dass die Ag-NPs gut an der Blattoberfläche haften können, zeigten Larue et al. [58]. Die Blätter des Gartensalats wurden mit unbeschichteten Ag-NPs exponiert. Im Resultat konnten in großem Maße Silber Agglomerate mit $2 - 3 \mu\text{m}$ Durchmesser auf der Blattoberfläche, als auch Silber im Blattgewebe selbst, beobachtet werden. Das Waschen der Blätter führte lediglich zu einer 2%igen Reduktion des anhaftenden Silbers. Dass der direkte Kontakt von Ag-NPs mit der Blattoberfläche zur starken Erhöhung der Silbergehalte in den Blättern führen kann, zeigten auch Experimente an Chilipflanzen *Capsicum annuum*. Die Silbergehalte waren bei gleichzeitiger Wurzel- und Blattexposition 78,8-mal höher, verglichen mit der alleinigen Wurzelexposition [48]. Das Ergebnis des vorliegenden Versuchs deckte sich damit mit der Literatur. Die Kalkulation des TF ist damit irreführend, da das in den Blättern gemessene Silber höchstwahrscheinlich zum Großteil an den Blättern gehaftet hatte und nicht von der Wurzel in die Blätter transportiert wurde. Bei

einer vergleichbaren Studie von He et al. [49] wurden bei der Wurzelexposition bei Gehalten von 1 mg/kg TFs im Bereich von $0,08 - 0,89$ kalkuliert.

Die Problematik von erhöhten Silbergehalten durch Anhaften oder Aufnahme und Akkumulation in essbare Pflanzenbestandteile bei Gemüsepflanzen wie Radieschen muss noch evaluiert werden. Die Aufnahmewege und der Stoffwechsel von Silber sind noch nicht gut dokumentiert, ebenso wie die Absorptionsrate für jede Expositionsroute nicht genau bekannt ist. Oral aufgenommenes Silber wird vermutlich im Gastrointestinaltrakt in Form von Silberionen aufgenommen. In die Blutbahn gelangtes Silber bildet dann wahrscheinlich stabile Komplexe mit Albuminen und Globulinen und sammelt sich vorübergehend in Leber, Niere, Gehirn, Lunge und Knochenmark an [83].

4.6 Silbergehalt im Substrat

Das auf das Substrat aufgebrachte Silber schien stark an die Substratpartikel in der obersten Schicht zu sorbieren. Gemäß Abbildung 3.13 war der Großteil des Silbers in den obersten $3,75\text{ cm}$ zu finden. Der Formunterschied sowie die Größe der Ag-NPs schienen keinen Einfluss auf die Mobilität der Ag-NPs im Substrat zu haben. Vergleicht man die Tiefenprofile der beiden Versuchsgruppen Ag-NP PVP coat und Ag-NP PVP disp miteinander, so war kein Unterschied festzustellen. Eine starke Sorption an eine feste Matrix bedingt eine geringe Mobilität, was von Handl et al. [84] in Langzeituntersuchungen belegt werden konnte. Die Autoren applizierten radioaktives Silber in Form von AgNO_3 auf ungestörten Boden. Als Halbwertszeit für die obersten 5 cm wurde ein Zeitraum von ca. 33 Jahren errechnet. Im Ergebnis fanden sich nach 5 Jahren nur Spuren von Silber in 15 cm Tiefe.

Die ermittelten BAFs von $0,11$ (Ag-NPs) und $0,04$ (Düngemittel) lagen im Bereich vergleichbarer Studien. In einer Studie konnten bei Radieschenpflanzen, deren Substrat mit 1 mg/kg Ag-NPs angereichert wurde, BAFs von $0,03 - 0,29$ festgestellt werden [49]. Den EDX-Auswertungen zufolge schien auch hier das Silber an der Rhizodermis zu haften und nicht in das Wurzelinnere eingedrungen zu sein. Weitaus höhere BAFs von $6 - 8$ wurden von Noori et al. [43] bei Tomaten gemessen die Silbergehalte im Substrat lagen bei $10 - 30\text{ mg/L}$. Die BAFs von $0,11$ (Ag-NPs) und $0,04$ (Düngemittel) sind als niedrig einzustufen.

5 Fazit

Mit dem durchgeführten Versuch konnte gezeigt werden, dass die gleichzeitige Silberexposition der Wurzeln und Blätter mit Ag-NPs bei der Gemüsepflanze *Raphanus sativus* zu einer signifikanten Abnahme der Wurzel-FM, Wurzel und Blätter-TM führte. Die Länge der Wurzel und der Umfang der Sprossknolle nahm bei allen Versuchsgruppen ab, die Länge der Sprossknolle zeigte jedoch keine signifikante Veränderung. Das Einbringen von Ag-NPs ins Pflanzensubstrat führte damit zu unterschieden in der Pflanzenanatomie. In der Wurzel und den Blättern konnte ein erhöhter Silbergehalt festgestellt werden, wahrscheinlich durch die Adsorption von Silber an die Rhizodermis. Die Aussagekraft der Ergebnisse dieses Experiments ist eingeschränkt, da der Schädlingsbefall mit Trauermücken einen nicht kalkulierbaren Einfluss auf das Wachstum der Radieschen hatte. Ein Abtöten der Trauermücken durch Einfrieren des Substrats gelang für den zweiten Ansatz der Referenz. Weiterführende Versuche mit getrennter Exposition der Wurzel und Blätter sind nötig, um den TF konkreter bestimmen zu können. Über die Erstellung eines Tiefenprofils konnte der Trend einer Akkumulation des Silbers in den obersten Substratschichten ausgemacht werden. Um ein tieferes Verständnis über das Retentionsverhalten von Ag-NPs im Substrat zu erlangen, ist eine weitreichendere Charakterisierung des Substrats erforderlich. Physikalische Parameter wie die Korngrößenverteilung, Partikeldichte, Porosität und spezifische Oberfläche sollten bestimmt werden. Auch die chemische Zusammensetzung der organischen und mineralischen Fraktion sowie der Einfluss von Mikroorganismen und Bodenenzymen sollten nicht außer Acht gelassen werden.

Literatur

- [1] K. Tiede, A. Boxall, S. Tear, J. Lewis, H. David und M. Hassellöv, „Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment,“ *Food Additives & Contaminants: Part A*, Jg. 25, Nr. 7, S. 795–821, 2008.
- [2] M. Hosokawa, „Nanoparticle Technology Handbook,“ in 2. Aufl. Elsevier, 2012, S. 244–247.
- [3] N. Baazaoui, B. Sghaier-Hammami, S. B. M. Hammami, R. Khefacha, S. Chaari, L. Elleuch, M. Messaoud und C. Abdelly, „A handbook guide to better use of nanoparticles in plants,“ eng, *Communications in soil science and plant analysis*, Jg. 52, Nr. 4, S. 287–321, 2021.
- [4] S. Pal, Y. K. Tak und J. M. Song, „Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*,“ *Applied and Environmental Microbiology*, Jg. 73, Nr. 6, S. 1712–1720, 2007.
- [5] N. Gupta, C. Upadhyaya, A. Singh, K. Abd-Elsalam und R. Prasad, „Applications of Silver Nanoparticles in Plant Protection,“ in 2018, S. 247–265.
- [6] F. Zulfiqar, M. Navarro, M. Ashraf, N. A. Akram und S. Munné-Bosch, „Nanofertilizer use for sustainable agriculture: Advantages and limitations,“ *Plant Science*, Jg. 289, S. 110–120, 2019.
- [7] S. K. Kale, G. V. Parishwad und A. S. N. H. A. S. Patil, „Emerging Agriculture Applications of Silver Nanoparticles,“ *ES Food & Agroforestry*, Jg. 3, S. 17–22, 2021.
- [8] P. Solanki, A. Bhargava, H. Chhipa, N. Jain und J. Panwar, „Nano-fertilizers and Their Smart Delivery System,“ in *Nanotechnologies in Food and Agriculture*, Springer International Publishing, 2015, S. 81–101.

- [9] S. Moghaddasi, A. Fotovat, A. H. Khoshgoftarmanesh, F. Karimzadeh, H. R. Khazaei und R. Khorassani, „Bioavailability of coated and uncoated ZnO nanoparticles to cucumber in soil with or without organic matter,“ *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Jg. 144, S. 543–551, 2017.
- [10] F. Gao, F. Hong, C. Liu, L. Zheng, M. Su, X. Wu, F. Yang, C. Wu und P. Yang, „Mechanism of Nano-anatase TiO₂ on Promoting Photosynthetic Carbon Reaction of Spinach: Inducing Complex of Rubisco-Rubisco Activase,“ *Biological Trace Element Research*, Jg. 111, Nr. 1-3, S. 239–254, 2006.
- [11] Z. Zahra, M. A. Ali, A. Parveen, E. Kim, M. F. Khokhar, S. Baig, K. Hina, H.-K. Choi und M. Arshad, „Exposure-Response of Wheat Cultivars to TiO₂ Nanoparticles in Contrasted Soils,“ *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, Jg. 28, Nr. 2, S. 184–199, 2019.
- [12] M. Rui, C. Ma, Y. Hao, J. Guo, Y. Rui, X. Tang, Q. Zhao, X. Fan, Z. Zhang, T. Hou und S. Zhu, „Iron Oxide Nanoparticles as a Potential Iron Fertilizer for Peanut (*Arachis hypogaea*),“ *Frontiers in Plant Science*, Jg. 7, 2016.
- [13] J. Wang, M. Li, J. Feng, X. Yan, H. Chen und R. Han, „Effects of TiO₂-NPs pretreatment on UV-B stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*,“ *Chemosphere*, Jg. 281, S. 130 809, 2021. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130809.
- [14] P. Wang, E. Lombi, F.-J. Zhao und P. M. Kopittke, „Nanotechnology: A New Opportunity in Plant Sciences,“ eng, *Trends in plant science*, Jg. 21, Nr. 8, S. 699–712, 2016.
- [15] N. Kandhol, V. P. Singh, J. Peralta-Videa, F. J. Corpas und D. K. Tripathi, „Silica nanoparticles: the rising star in plant disease protection,“ *Trends in Plant Science*, Jg. 27, Nr. 1, S. 7–9, 2022.
- [16] S. J. Beckers, L. Wetherbee, J. Fischer und F. R. Wurm, „Fungicide-loaded and biodegradable xylan-based nanocarriers,“ *Biopolymers*, Jg. 111, Nr. 12, 2020.
- [17] M. E. McCully, „ROOTS IN SOIL: Unearthing the Complexities of Roots and Their Rhizospheres,“ eng, *Annual review of plant biology*, Jg. 50, Nr. 1, S. 695–718, 1999.
- [18] W. C. Dickison, „Tissue organization in stems, leaves, and roots,“ eng, in *Integrative Plant Anatomy*. Elsevier Inc, 2000, S. 129–153.

- [19] J. B. Campbell Neil A .and Reece und L. A. Urry, „Campbell Biologie,“ in Pearson Deutschland GmbH, 2015, S. 995–1008.
- [20] F. Schwab, G. Zhai, M. Kern, A. Turner, J. L. Schnoor und M. R. Wiesner, „Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants - Critical review,“ *Nanotoxicology*, Jg. 10, Nr. 3, S. 257–278, 2015. DOI: 10 . 3109 / 17435390 . 2015 . 1048326.
- [21] J. W. Wang, E. G. Grandio, G. M. Newkirk, G. S. Demirer, S. Butrus, J. P. Giraldo und M. P. Landry, „Nanoparticle-Mediated Genetic Engineering of Plants,“ eng, *Molecular plant*, Jg. 12, Nr. 8, S. 1037–1040, 2019.
- [22] X. Ma, J. Geiser-Lee, Y. Deng und A. Kolmakov, „Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation,“ *Science of The Total Environment*, Jg. 408, Nr. 16, S. 3053–3061, 2010.
- [23] A. Yan und Z. Chen, „Impacts of Silver Nanoparticles on Plants: A Focus on the Phytotoxicity and Underlying Mechanism,“ *International Journal of Molecular Sciences*, Jg. 20, Nr. 5, 2019.
- [24] E. Navarro, F. Piccapietra, B. Wagner, F. Marconi, R. Kaegi, N. Odzak, L. Sigg und R. Behra, „Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*,“ *Environmental Science & Technology*, Jg. 42, Nr. 23, S. 8959–8964, 2008.
- [25] J. Kurepa, T. Paunesku, S. Vogt, H. Arora, B. M. Rabatic, J. Lu, M. B. Wanzer, G. E. Woloschak und J. A. Smalle, „Uptake and Distribution of Ultrasmall Anatase TiO₂ Alizarin Red S Nanoconjugates in *Arabidopsis thaliana*,“ *Nano Letters*, Jg. 10, Nr. 7, S. 2296–2302, 2010.
- [26] R. Brayner, R. Ferrari-Iliou, N. Brivois, S. Djediat, M. F. Benedetti und F. Fiévet, „Toxicological Impact Studies Based on Escherichia Bacteria in Ultrafine ZnO Nanoparticles Colloidal Medium,“ *Nano Letters*, Jg. 6, Nr. 4, S. 866–870, 2006.
- [27] H. Zhu, J. Han, J. Xiao und Y. Jin, „Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants,“ eng, *Journal of environmental monitoring*, Jg. 10, Nr. 6, S. 713–717, 2008.

- [28] Z.-J. Zhu, H. Wang, B. Yan, H. Zheng, Y. Jiang, O. R. Miranda, V. M. Rotello, B. Xing und R. W. Vachet, „Effect of Surface Charge on the Uptake and Distribution of Gold Nanoparticles in Four Plant Species,“ *Environmental Science & Technology*, Jg. 46, Nr. 22, S. 12 391–12 398, 2012.
- [29] M. F. Serag, N. Kaji, C. Gaillard, Y. Okamoto, K. Terasaka, M. Jabasini, M. Tokeshi, H. Mizukami, A. Bianco und Y. Baba, „Trafficking and Subcellular Localization of Multiwalled Carbon Nanotubes in Plant Cells,“ *ACS Nano*, Jg. 5, Nr. 1, S. 493–499, 2010.
- [30] F. Schwabe, R. Schulin, L. Limbach, W. Stark, D. Bürge und B. Nowack, „Influence of two types of organic matter on interaction of CeO₂ nanoparticles with plants in hydroponic culture,“ *Chemosphere*, Jg. 91, Nr. 4, S. 512–520, 2013.
- [31] P. Thuesombat, S. Hannongbua, S. Akasit und S. Chadchawan, „Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth,“ *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Jg. 104, S. 302–309, 2014.
- [32] H. P. Latscha und M. Mutz, „Chemie der Elemente,“ in Springer Berlin Heidelberg, 2011, S. 199–201.
- [33] H. Sicius, „Kupfergruppe: Elemente der ersten Nebengruppe: Eine Reise durch das Periodensystem,“ eng, in Ser. essentials. Springer, 2017, S. 24–34.
- [34] E. Riedel und C. Janiak, „Anorganische Chemie,“ in De Gruyter, 2022, S. 774–786.
- [35] J. A. Parray, M. Yaseen Mir und N. Shameem, *Nano-Technological Intervention in Agricultural Productivity*, eng. Newark: John Wiley & Sons, Incorporated, 2021.
- [36] N. A. Anjum, S. S. Gill, A. C. Duarte, E. Pereira und I. Ahmad, „Silver nanoparticles in soil–plant systems,“ eng, *Journal of nanoparticle research : an interdisciplinary forum for nanoscale science and technology*, Jg. 15, Nr. 9, S. 1–26, 2013.
- [37] S. Ali, A. Mehmood und N. Khan, „Uptake, Translocation, and Consequences of Nanomaterials on Plant Growth and Stress Adaptation,“ eng, *Journal of nanomaterials*, Jg. 2021, S. 1–17, 2021.
- [38] D. Tomacheski, M. Pittol, D. N. Simões, V. F. Ribeiro und R. M. C. Santana, „Impact of silver ions and silver nanoparticles on the plant growth and soil microorganisms,“ *Global Journal of Environmental Science and Management*, Jg. 3, 2017.

- [39] P. Wang, N. W. Menzies, E. Lombi, R. Sekine, F. P. C. Blamey, M. C. Hernandez-Soriano, M. Cheng, P. Kappen, W. J. G. M. Peijnenburg, C. Tang und P. M. Kopittke, „Silver sulfide nanoparticles (Ag₂S-NPs) are taken up by plants and are phytotoxic,“ *Nanotoxicology*, Jg. 9, Nr. 8, S. 1041–1049, 2015.
- [40] C. Cocozza, A. Perone, C. Giordano, M. C. Salvatici, S. Pignattelli, A. Raio, M. Schaub, K. Sever, J. L. Innes, R. Tognetti und P. Cherubini, „Silver nanoparticles enter the tree stem faster through leaves than through roots,“ *Tree Physiology*, Jg. 39, Nr. 7, K. Steppe, Hrsg., S. 1251–1261, 2019.
- [41] J. Geisler-Lee, Q. Wang, Y. Yao, W. Zhang, M. Geisler, K. Li, Y. Huang, Y. Chen, A. Kolmakov und X. Ma, „Phytotoxicity, accumulation and transport of silver nanoparticles by *Arabidopsis thaliana*,“ *Nanotoxicology*, Jg. 7, Nr. 3, S. 323–337, 2012.
- [42] W.-Y. Zhang, Q. Wang, M. Li, F. Dang und D.-M. Zhou, „Nonselective uptake of silver and gold nanoparticles by wheat,“ *Nanotoxicology*, Jg. 13, Nr. 8, S. 1073–1086, 2019.
- [43] A. Noori, A. Ngo, P. Gutierrez, S. Theberge und J. C. White, „Silver nanoparticle detection and accumulation in tomato (*Lycopersicon esculentum*),“ *Journal of Nanoparticle Research*, Jg. 22, Nr. 6, 2020.
- [44] A. Tymoszuk, „Silver Nanoparticles Effects on In Vitro Germination, Growth, and Biochemical Activity of Tomato, Radish, and Kale Seedlings,“ *Materials*, Jg. 14, Nr. 18, S. 5340, 2021.
- [45] S. Park und Y.-J. Ahn, „Multi-walled carbon nanotubes and silver nanoparticles differentially affect seed germination, chlorophyll content, and hydrogen peroxide accumulation in carrot (*Daucus carota* L.),“ *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Jg. 8, S. 257–262, 2016.
- [46] P. M. G. Nair und I. M. Chung, „Physiological and molecular level effects of silver nanoparticles exposure in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings,“ *Chemosphere*, Jg. 112, S. 105–113, 2014.
- [47] T. Zhou, S. Prasher, Z. Qi, S. George, A. Mawof, C. Nzediegwu, J. Dhiman und R. Patel, „Impact of Silver Nanoparticles in Wastewater on Heavy Metal Transport in Soil and Uptake by Radish Plants,“ *Water, Air and Soil Pollution*, Jg. 232, Nr. 7, 2021.
- [48] M. Li, H.-l. Liu, F. Dang, H. Hintelmann, B. Yin und D. Zhou, „Alteration of Crop Yield and Quality of Three Vegetables upon Exposure to Silver Nanoparticles in Sludge-Amended Soil,“ *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, Jg. 8, Nr. 6, S. 2472–2480, 2020.

- [49] J. He, Y. Li, H. Qi, H. Li und W. Zhang, „Biochar amendment changed soil-bound fractions of silver nanoparticles and ions but not their uptake by radish at an environmentally-relevant concentration,“ eng, *Biochar*, Jg. 2, Nr. 3, S. 307–317, 2020.
- [50] N. Zuverza-Mena, R. Armendariz, J. R. Peralta-Videa und J. L. Gardea-Torresdey, „Effects of Silver Nanoparticles on Radish Sprouts: Root Growth Reduction and Modifications in the Nutritional Value,“ *Frontiers in Plant Science*, Jg. 7, 2016.
- [51] S. Pappas, U. Turaga, N. Kumar, S. Ramkumar und R. J. Kendall, „Effect of Concentration of Silver Nanoparticles on the Uptake of Silver from Silver Nanoparticles in Soil,“ *International journal of environmental & agriculture research*, Jg. 3, Nr. 5, S. 80–90, 2017.
- [52] D. K. Tripathi, Shweta, S. Singh, S. Singh, R. Pandey, V. P. Singh, N. C. Sharma, S. M. Prasad, N. K. Dubey und D. K. Chauhan, „An overview on manufactured nanoparticles in plants: Uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity,“ eng, *Plant physiology and biochemistry*, Jg. 110, S. 2–12, 2017.
- [53] K. Lamsal, S. W. Kim, J. H. Jung, Y. S. Kim, K. S. Kim und Y. S. Lee, „Inhibition Effects of Silver Nanoparticles against Powdery Mildews on Cucumber and Pumpkin,“ eng, *Mycobiology*, Jg. 39, Nr. 1, S. 26–32, 2011.
- [54] G. Shams, M. Ranjbar und A. Amiri, „Effect of silver nanoparticles on concentration of silver heavy element and growth indexes in cucumber (*Cucumis sativus* L. *negeen*),“ eng, *Journal of nanoparticle research : an interdisciplinary forum for nanoscale science and technology*, Jg. 15, Nr. 5, S. 1, 2013.
- [55] Pallavi, C. M. Mehta, R. Srivastava, S. Arora und A. K. Sharma, „Impact assessment of silver nanoparticles on plant growth and soil bacterial diversity,“ *3 Biotech*, Jg. 6, Nr. 2, S. 254–10, 2016.
- [56] B. Jasim, R. Thomas, J. Mathew und E. K. Radhakrishnan, „Plant growth and diosgenin enhancement effect of silver nanoparticles in Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.),“ *Saudi Pharmaceutical Journal*, Jg. 25, Nr. 3, S. 443–447, 2017.
- [57] C.-C. Li, F. Dang, M. Li, M. Zhu, H. Zhong, H. Hintelmann und D.-M. Zhou, „Effects of exposure pathways on the accumulation and phytotoxicity of silver nanoparticles in soybean and rice,“ *Nanotoxicology*, Jg. 11, Nr. 5, S. 699–709, 2017.

- [58] C. Larue, H. Castillo-Michel, S. Sobanska, L. Cécillon, S. Bureau, V. Barthès, L. Ouerdane, M. Carrière und G. Sarret, „Foliar exposure of the crop *Lactuca sativa* to silver nanoparticles: Evidence for internalization and changes in Ag speciation,“ *Journal of Hazardous Materials*, Jg. 264, S. 98–106, 2014.
- [59] Y. Li, H. Chen, F. Wang, F. Zhao, X. Han, H. Geng, L. Gao, H. Chen, R. Yuan und J. Yao, „Environmental behavior and associated plant accumulation of silver nanoparticles in the presence of dissolved humic and fulvic acid,“ *Environmental Pollution*, Jg. 243, S. 1334–1342, 2018.
- [60] N. Saleeb, R. Gooneratne, J. Cavanagh, C. Bunt, A. K. M. M. Hossain, S. Gaw und B. Robinson, „The Mobility of Silver Nanoparticles and Silver Ions in the Soil-Plant System,“ *Journal of Environmental Quality*, Jg. 48, Nr. 6, S. 1835–1841, 2019.
- [61] K. Schlich und K. Hund-Rinke, „Influence of soil properties on the effect of silver nanomaterials on microbial activity in five soils,“ *Environmental Pollution*, Jg. 196, S. 321–330, 2015. DOI: 10.1016/j.envpol.2014.10.021.
- [62] J. R. Velicogna, E. E. Ritchie, R. P. Scroggins und J. I. Princz, „A comparison of the effects of silver nanoparticles and silver nitrate on a suite of soil dwelling organisms in two field soils,“ *Nanotoxicology*, Jg. 10, Nr. 8, S. 1144–1151, 2016.
- [63] A. R. Jacobson, M. B. McBride, P. Baveye und T. S. Steenhuis, „Environmental factors determining the trace-level sorption of silver and thallium to soils,“ *The Science of the total environment*, Jg. 345, Nr. 1, S. 191–205, 2005, ISSN: 0048-9697.
- [64] M. A. Fischer, K. Oswald und W. Adler, *Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol*, 3. Aufl. Land Oberösterreich, OÖ Landesmuseen, 2008.
- [65] T. R. Gopalakrishnan, *Vegetable Crops*, eng. New India Publishing Agency, 2007.
- [66] Direktion Raumwirtschaft, „Gemüseernte 2021,“ Bundesanstalt Statistik Österreich, Techn. Ber., 2021.
- [67] J. M. Bremner, „Total Nitrogen,“ in *Agronomy Monographs*, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, 1965, S. 1149–1178.

- [68] H. Schüller, „Die CAL-Methode, eine neue Methode zur Bestimmung des pflanzenverfügbaren Phosphates in Böden,“ *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, Jg. 123, Nr. 1, S. 48–63, 1969.
- [69] R. B. Heslop und A. C. Ramsey, „The solvent extraction of vanadomolybdophosphoric acid as the basis of a substoichiometric method for the determination of phosphorus,“ *Analytica Chimica Acta*, Jg. 47, Nr. 2, S. 305–314, 1969.
- [70] G. P. Robertson, „Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research,“ in Oxford University Press, 1999, 293f.
- [71] D. L. Sparks, „Methods of soil analysis. Part 3 Chemical methods,“ eng, in Ser. Soil Science Society of America Book Series ; ; Number 5. American Society of Agronomy, 1996, S. 475–490.
- [72] H. P. Blume und P. Stahr K.and Leinweber, „Bodenkundliches Praktikum: Eine Einführung in pedologisches Arbeiten für Ökologen, insbesondere Land- und Forstwirte, und für Geowissenschaftler,“ ger, in *Bodenkundliches Praktikum*. Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg, 2010, Kap. 5, S. 132.
- [73] S. S. Shapiro und M. B. Wilk, „An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples),“ *Biometrika*, Jg. 52, Nr. 3/4, S. 591, 1965.
- [74] M. S. Bartlett, „Properties of sufficiency and statistical tests,“ *Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences*, Jg. 160, Nr. 901, S. 268–282, 1937.
- [75] W. Timischl, „Angewandte Statistik: Eine Einführung für Biologen und Mediziner,“ in *Angewandte Statistik*, 3. Aufl. Springer Vienna, 2013, S. 359–377.
- [76] W. H. Kruskal und W. A. Wallis, „Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis,“ *Journal of the American Statistical Association*, Jg. 47, Nr. 260, S. 583–621, 1952.
- [77] A. Freudenschuß, E. Obersteiner und S. Schwarz, „Schwermetalle in Oberböden Kartenband,“ Umweltbundesamt, Techn. Ber., 2007.
- [78] K. Hund-Rinke, F. Marscheider-Weidemann und M. Kemper, „Beurteilung derGesamtumweltexposition vonSilberionen aus Biozid-Produkten,“ Umweltbundesamt, Techn. Ber., 2008.

- [79] I. Römer, Z. W. Wang, R. C. Merrifield, R. E. Palmer und J. Lead, „High Resolution STEM-EELS Study of Silver Nanoparticles Exposed to Light and Humic Substances,“ *Environmental Science and Technology*, Jg. 50, Nr. 5, S. 2183–2190, 2016.
- [80] C. Colliex, „Electron energy loss spectroscopy in the electron microscope,“ in *Advances in Imaging and Electron Physics*, Elsevier, 2019, S. 187–304.
- [81] R. Fritzsche und R. Keilbach, „Die Pflanzen-, Vorrats- und Materialschädlinge Mitteleuropas,“ in Gustav Fischer Verlag Jena, 1999, 298f.
- [82] A. Achleitner, M. Almesberger, K. Eschlböck, J. Greimel, S. Hamedinger, G. Hoffmann, W. Hofmair, J. Keferböck, H. G. Kovats, J. Mayer, F. Unmann, J. Weber und K. Zambra, „Richtlinien für die sachgerechte Düngung im Garten- und Feldgemüsebau,“ Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Techn. Ber., 2008.
- [83] A. Lansdown, „Silver in Health Care: Antimicrobial Effects and Safety in Use,“ in *Biofunctional Textiles and the Skin*, KARGER, 2006, S. 17–34.
- [84] J. Handl, E. Kallweit, M. Henning und L. Szwec, „On the long-term behaviour of 110mAg in the soil-plant system and its transfer from feed to pig,“ eng, *Journal of environmental radioactivity*, Jg. 48, Nr. 2, S. 159–170, 2000, ISSN: 0265-931X.

Zusammenfassung

Bei der Forschung nach alternativen Düngemitteln und Pestiziden steht unter anderem das antimikrobielle Schwermetall Silber, vor allem in nanopartikulärer Form, im Fokus. Das Verhalten und die Auswirkungen von Silber sowie Silber-Nanopartikeln (Ag-NP) im Boden und in Pflanzen sind jedoch noch nicht ausreichend erforscht. Bereits durchgeführte Studien haben gezeigt, dass das Verhalten und die Auswirkungen einerseits von den Eigenschaften der Nanopartikeln und andererseits von der Bodenzusammensetzung und der Pflanzenspezies abhängig sind. In dieser Studie wurden die Auswirkungen von zwei verschiedenen Ag-NPs sowie einem silberhaltigen Düngemittel auf die Gemüsepflanze *Raphanus sativus* untersucht. Für das Experiment wurden 12 Töpfe mit je drei Pflanzen unter konstanten Laborbedingungen über einen Zeitraum von 42 Tagen gezüchtet. Drei Töpfen wurden $51 \pm 9 \text{ nm}$ große PVP beschichtete Ag-NPs und drei Töpfen $<100 \text{ nm}$ große in PVP dispergierte Ag-NPs zugesetzt. Drei weiteren Töpfen wurde das silberhaltige Düngemittel (Silbergehalt 1 g/L) entsprechend der Herstellerangabe zugegeben. Die Exposition erfolgte über das Gießwasser an Tag 1, 8, 15 und 22 mit einer 1 mg/kg Ag-NP Suspension bzw. 177 nL Düngemittel. Als Referenz wurden drei Töpfe mit je drei Pflanzen unter gleichen Bedingungen aber ohne Silberexposition gezogen. Am Ende des Experiments wurde die Frisch- (FM) und Trockenmasse (TM) der Wurzel, TM der Blätter, Länge der Wurzel sowie Länge und Umfang der Sprossknolle ermittelt. Weiterhin wurde der Silbergehalt in der Wurzel und in den Blättern bestimmt. Über die Messung des Silbergehalts in vier verschiedenen Substrattiefen wurde das Retentionsverhalten der Ag-NPs bzw. des Düngemittels untersucht. Es erfolgte ein saurer Aufschluss der Proben für die Silbermessungen. Als Instrument zur Silbermessung wurde ein Graphitrohr-Atomabsorptionsspektrometer verwendet. Eine genaue Charakterisierung der Ag-NPs bzw. des Düngemittels erfolgte mit der dynamischen Lichtstreuung (DLS), dem Transmissionselektronenmikroskop (TEM) und der Rasterelektronenmikroskopie (SEM). Die elementare Zusammensetzung der Ag-NPs bzw. des Düngemittels erfolgte mit der Elektronen-Energieverlust-Spektroskopie (EELS) als auch mit der energiedispersen Rönt-

genspektroskopie (EDX). Der Schädlingsbefall mit Trauermücken stellte einen nicht kalkulierbaren Einflussfaktor im Versuch dar. Allerdings schien das zugeführte Silber zu einem verminderten Befall in den entsprechenden Versuchsgruppen zu führen. Die gleichzeitige Exposition von Blättern und Wurzeln mit Ag-NPs führte bei den mit Ag-NPs behandelten Versuchsgruppen zu einer signifikanten Abnahme der Wurzel-FM, Wurzel und Blätter-TM um 33,7 – 66,1%. Die Länge der Wurzel und der Umfang der Sprossknolle nahm bei allen Versuchsgruppen zwischen 17,6% und 20,9% bzw. zwischen 33,7% und 40,0% ab. Die Länge der Sprossknolle zeigte keine signifikante Veränderung. Der Silbergehalt in der Wurzel erhöhte sich bei den Ag-NP Versuchsgruppen am stärksten und lag bei $0,692 \pm 0,748 \text{ mg/kg}$ bzw. $0,591 \pm 0,223 \text{ mg/kg}$. Der berechnete Bioakkumulationsfaktor für die Ag-NPs lag bei 0,11 und für das Düngemittel bei 0,04. In den Blättern war der Silbergehalt in allen Versuchsgruppen stark erhöht, vermutlich aufgrund der direkten Silberexposition der Blätter und der daraus resultierenden Haftung der Ag-NPs auf den Blättern. Der in den Blättern höchste Silbergehalt wurde bei den in PVP dispergierten Ag-NPs gemessen und betrug $9,375 \pm 4,195 \text{ mg/kg}$. Die Auswertung des Tiefenprofils des Substrats ließ bei allen Versuchsgruppen einen Trend zur Retention des applizierten Silbers überwiegend in den obersten 3,75 cm erkennen.

Abstract

Research into alternative fertilizers and pesticides focuses, among other things, on the antimicrobial heavy metal silver, especially in nanoparticulate form. However, the behavior and effects of silver as well as silver nanoparticles (Ag-NP) in soil and plants have not yet been sufficiently researched. Previously conducted studies have shown that the behavior and effects depend, on the one hand, on the properties of the nanoparticles and, on the other hand, on the soil composition and plant species. In this study, the effects of two different Ag-NPs as well as a fertilizer containing silver on the vegetable plant *Raphanus sativus* were investigated. For the experiment, 12 pots of 3 plants each were grown under constant laboratory conditions for a period of 42 days. Three pots were added $51 \pm 9 \text{ nm}$ large PVP-coated Ag-NPs and three pots were added $<100 \text{ nm}$ large Ag-NPs dispersed in PVP. To three other pots, the silver-containing fertilizer (silver content 1 g/L) was added according to the manufacturer's instructions. Exposure was via the irrigation water on days 1, 8, 15, and 22 to 1 mg/kg Ag-NP suspension and 177 nL fertilizer, respectively. Three pots of three plants each were grown under the same conditions but without silver exposure as a reference. At the end of the experiment, the fresh (FM) and dry (TM) mass of the root, TM of the leaves, length of the root, and length and circumference of the tuber were determined. Furthermore, the silver content in the root and leaves was determined. By measuring the silver content in four different substrate depths, the retention behavior of the Ag-NPs or fertilizer was investigated. Acid digestion of the samples for silver measurements was performed. A graphite furnace atomic absorption spectrometer was used as the instrument for silver measurement. A detailed characterization of the Ag-NPs or the fertilizer was carried out by dynamic light scattering (DLS), transmission electron microscope (TEM) and scanning electron microscopy (SEM). The elemental composition of Ag-NPs or fertilizer medium was carried out by electron energy loss spectroscopy (EELS) as well as energy dispersed X-ray spectroscopy (EDX). The pest infestation with sciarid represented an incalculable influencing factor in the experiment. However, the added silver appeared to result in reduced infestations in the

corresponding experimental groups. Simultaneous exposure of leaves and roots to Ag-NPs resulted in a significant decrease in root FM, root and leaf TM by 33.7 – 66.1% in the Ag-NP treated experimental groups. Root length and tuber circumference decreased between 17.6% and 20.9% and between 33.7% and 40.0%, respectively, in all experimental groups. Tuber length showed no significant change. The silver content in the root increased the most in the Ag-NP experimental groups and was $0.692 \pm 0.748 \text{ mg/kg}$ and $0.591 \pm 0.223 \text{ mg/kg}$, respectively. The calculated bioaccumulation factor for the Ag-NPs was 0.11 and for the fertilizer was 0.04. In the leaves, the silver content was highly elevated in all experimental groups, presumably due to the direct silver exposure of the leaves and the resulting adhesion of the Ag-NPs to the leaves. The highest silver content measured in the leaves was for the Ag-NPs dispersed in PVP and was $9.375 \pm 4.195 \text{ mg/kg}$. Evaluation of the depth profile of the substrate indicated a trend toward retention of the applied silver predominantly in the uppermost 3.75 cm for all experimental groups.