

MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Subakute Toxizität verschiedener Silberspezies gegenüber der Süßwassergarnele *Neocaridina davidi*: eine Mesokosmenstudie

verfasst von | submitted by
Fritz Langthaler BEd

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Master of Education (MEd)

Wien | Vienna, 2025

Studienkennzahl lt. Studienblatt | Degree
programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 199 504 520 02

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student
record sheet:

Masterstudium Lehramt Sek (AB) Unterrichtsfach
Chemie Unterrichtsfach Mathematik

Betreut von | Supervisor:

Mag. Dr. Franz Jirsa Privatdoz.

Danksagung

Ich möchte mich bei Leon, Maxime und Philipp bedanken, die mich durch kollegiale Gespräche, gemeinsame Mittagspause und geistigen Beistand bei dieser Arbeit maßgeblich unterstützt haben.

Ich möchte mich bei Andi bedanken, der mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand und ohne dessen aufmunternde Worte, das alles noch viel länger gedauert hätte.

Ganz besonders möchte ich mich bei Franz bedanken, der mich in meinem Studium schon recht lang begleitet und der mir die Möglichkeit gegeben hat diese Arbeit trotz all meinen anderen Baustellen umzusetzen. Danke für deinen Rat, deine Geduld und deine Unterstützung.

Außerdem möchte ich meiner Familie, meiner Freundin und meinen Freund:innen danken ohne deren Unterstützung ich oft verloren gewesen wäre.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Silber: Eigenschaften, Förderung und Verwendung	5
1.1.1	Silbernanopartikel.....	6
1.2	Silber in der Umwelt.....	9
1.2.1	Verhalten und Veränderungen von Silbernanopartikeln in der Umwelt .	10
1.3	Umweltrisiken durch Silbernanopartikel	14
1.3.1	Toxizität und Toxizitätstests	15
1.4	Ziel der Arbeit.....	19
2	Materialien und Methoden	20
2.1	Versuchsorganismen	20
2.1.1	<i>Neocaridina davidi</i>	20
2.1.2	<i>Cladophora aegagropila</i>	21
2.2	Verwendete Reagenzien	22
2.2.1	Allgemeine Reagenzien.....	22
2.2.2	Silbernanopartikel.....	23
2.3	Versuchsaufbau.....	25
2.3.1	Beschaffung der Garnelen	25
2.3.2	Herstellung des künstlichen Donauwassers	25
2.3.3	Die Mesokosmen	27
2.3.4	Die Versuche	27
2.4	Probenvorbereitung.....	30
2.4.1	Säureaufschluss der Wasserproben	30
2.4.2	Säureaufschluss der Sedimentproben.....	30
2.4.3	Säureaufschluss der Garnelen	31

2.4.4	Säureaufschluss der Algenproben	31
2.5	Analysen	32
2.5.1	Atomabsorptionsspektroskopie	32
2.5.2	Ionenchromatographie	33
2.5.3	Anorganischer Kohlenstoff – Summe der Carbonate	34
2.5.4	Total Organic Carbon (TOC) und Dissolved Organic Carbon (DOC)	34
2.5.5	Bestimmung des Glühverlustes (LOI)	34
2.5.6	Bioakkumulationsfaktor (BAF)	35
2.5.7	Statistische Datenauswertung	35
3	Ergebnisse	36
3.1	Charakterisierung des Mediums	36
3.2	Physikalisch-chemische Parameter	36
3.3	Glühverlust (LOI)	37
3.4	Silberzugabe und Konzentrationsverlauf	37
3.5	Silbergehalt in Sediment, Garnelen, Algen und Wasser	40
3.5.1	Sediment	40
3.5.2	Garnelen – <i>Neocaridina davidi</i>	41
3.5.3	Algen - <i>Cladophora aegagropila</i>	42
3.5.4	Wasser	43
3.6	Bioakkumulationsfaktor (BAF)	44
4	Diskussion	45
4.1	Verteilung des Silbers im Mesokosmos	45
4.2	Bioakkumulation	49
5	Literatur	52
6	Anhang	62
7	Zusammenfassung	64

8 Abstract..... 65

1 Einleitung

1.1 Silber: Eigenschaften, Förderung und Verwendung

Silber hat das Elementsymbol Ag und die Ordnungszahl 47. Es steht im Periodensystem in der fünften Periode der sogenannten Kupfergruppe (11. Gruppe). Silber zählt zu den Edelmetallen und kommt in der Natur hauptsächlich in den Oxidationsstufen 0, gediegen oder in Legierungen, oder +1 in Mineralien und Salzen vor. Es ist das sechshundsechzig häufigste Metall der Erdkruste und man findet es vor allem in sulfidischen Mineralen wie zum Beispiel Acanthit (Ag_2S) oder Stromeyerit (CuAgS)(Christie & Brathwaite, 2007).

Meistens wird Silber nur indirekt als Nebenprodukt gefördert, so kommen nur 28,3 % des geförderten Silbers aus Minen in denen hauptsächlich Silber abgebaut wird und der Großteil aus dem Blei/Zink-, Kupfer- und Goldabbau (The Silver Institute, 2024). Weltweit wurden 2023 rund 26 tausend Tonnen Silber gefördert wobei das größte Produktionsland, wie auch schon die Jahre davor, Mexiko mit 6,4 tausend Tonnen fast ein Viertel der Produktion beisteuert (The Silver Institute, 2024; US Geological Survey, 2024). In den letzten 20 Jahren ist die weltweite Silberproduktion um rund 7 tausend Tonnen gestiegen trotzdem blieb das Angebot laut Silver Institute das dritte Jahr in Folge weit unter der Nachfrage (The Silver Institute, 2024; US Geological Survey, 2024; US Geological Survey & Minerals Information Team, 2004).

Silber wird seit ungefähr fünf- bis sechstausend Jahren abgebaut und als Schmuck- und Währungsmetal verwendet. Silberminen in der heutigen Türkei und Griechenland lieferten den alten Griechen eine monetäre Grundlage und Minen in Spanien waren der Grund für die stabile Währung des römischen Reichs. Im Mittelalter verschob sich die Silberproduktion auf Mitteleuropa und die Kolonialisierung der Amerikas lieferte ab dem 16. Jahrhundert mehr und mehr Möglichkeiten für den Silberabbau (Christie & Brathwaite, 2007). Auch in der Medizin hat die Verwendung von Silber eine lange Geschichte so wurde schon im alten Ägypten erkannt, dass Wasser in Silbergefäßen länger frisch bleibt und die Mazedonier experimentierten mit Silber zur Unterstützung der Wundheilung. Große Erfolge gegen *ophthalmia neonatorum*, eine infektiöse

Bindehautentzündung bei Neugeborenen wurden durch die Verabreichung einprozentiger Silbernitrat Augentropfen erzielt und ihre Verwendung blieb auch noch nach der Einführung von Antibiotika weit verbreitet. Die Verwendung von Silberbesteck und Silbergeschirr sowie die weitreichend medizinische Verwendung führte im 19. Jahrhundert zu den ersten bekannten Fällen von Argyrie, eine bläuliche Färbung der Haut durch Silbereinlagerungen im Gewebe. Viele der damaligen medizinischen Anwendungen sind spätestens seit Mitte des 20. Jahrhunderts nicht mehr gängig, trotzdem gibt es noch medizinische Anwendungen, die sich die antibakteriellen Eigenschaften von Silber zu nutzen machen (Alexander, 2009). Heutzutage findet es längst Anwendungen in vielen verschiedenen Bereichen weit über Schmuckmetall und Augentropfen hinaus (Christie & Brathwaite, 2007; The Silver Institute, 2024).

Neben Silberbarren zur Wertanlage ist der größte Verwendungsbereich heutzutage in der Industrie, zum Beispiel in der Elektronik für Leiter und Kontakte, aber auch für Silberoxid-Batterien oder auch für Katalysatoren. Der Bereich der Photovoltaik ist ein relativ neues Anwendungsgebiet Silbers, dessen Prozentanteil des Silberverbrauchs vermutlich noch weiter steigen wird (Purcell & Peters, 1998; The Silver Institute, 2024). Vor dem Aufstieg der Digitalfotografie war der Fotografie- und Filmsektor der größte Silberverbraucher. In der Analogfotografie spielen Silberhalogenide eine zentrale Rolle. Beim Belichten von Schwarz-Weiß-Film werden Kristalle aus diesen Silberhalogeniden, meist AgBr oder AgCl, die in den Film eingeschlossen sind, durch einstrahlendes Licht reduziert und bilden Ag^0 Cluster, die das sogenannte latente Bild ausmachen. Im Entwicklungsprozess wird weiter reduziert, fixiert und abschließend werden die nicht entwickelten Silberhalogenide ausgewaschen (Hamilton, 1988). Seitdem sich die Analogfotografie im 21. Jahrhundert immer mehr aus dem Mainstream zurückgezogen hat, ist auch ihr Verbrauch an Silber massiv zurückgegangen. Im Jahr 2023 wurden etwa 840 t an Silber von der Fotoindustrie verbraucht, während es noch 1999 rund 7.660 t waren (The Silver Institute, 2000, 2024).

1.1.1 Silbernanopartikel

Ein weiteres vergleichsweise junges Anwendungsfeld für Silber ist die Herstellung verschiedener Nanomaterialien. Die Europäische Kommission definiert Nanomaterial

als: „... ein natürliches, bei Prozessen anfallendes oder hergestelltes Material, das Partikel in ungebundenem Zustand, als Aggregat oder als Agglomerat enthält, und bei dem mindestens 50 % der Partikel in der Anzahlgrößenverteilung ein oder mehrere Außenmaße im Bereich von 1 nm bis 100 nm haben“ (Europäische Kommission, 2011). Weiters werden auch Fullerene, Graphenflocken und Kohlenstoff-Nanoröhren die Außenmaße unter 1 nm haben als Nanomaterialien betrachtet (Europäische Kommission, 2011).

Die speziellen Eigenschaften die Materialien dieser Größenordnung aufweisen und der Umstand, dass sie sich je nach Größe und Form verändern sind der Grund für das große Interesse an Nanomaterialien und ihrer Entwicklung. Die teils stark von ihren Makro-Gegenständen unterschiedlichen Eigenschaften haben nicht nur mit der Größe zu tun, sondern haben je nach Material und Form unterschiedliche Gründe. Einer dieser Gründe sind die sogenannten Oberflächeneffekte ein anderer die Quanteneffekte. Diese Faktoren beeinflussen die chemische Reaktivität der Nanomaterialien und bestimmen ihre mechanischen, optischen, magnetischen und elektrischen Eigenschaften. Die weitere Erforschung dieser Eigenschaften und die vielen theoretischen Anwendungsmöglichkeiten solcher Materialien haben die Beschäftigung mit Nanomaterialien in den letzten Jahrzehnten weltweit angekurbelt (Burda et al., 2005; Pulit-Prociak & Banach, 2016).

Laut StatNano (<https://statnano.com/>) gibt es mittlerweile über elftausend Produkte die Nanomaterialien enthalten und in vielen verschiedenen Bereichen von der Medizin über die Autoindustrie bis hin zu Unterhaltungselektronik und Hygieneprodukten verwendet werden. Genaue Zahlen zu Produktionsmengen von Nanopartikeln sind schwer zu bekommen und unterschiedliche Quellen sprechen hier von deutlich unterschiedlichen Mengen. Auch die Prognosen für die Zukunft gehen stark auseinander aber sprechen insgesamt von starkem Wachstum.

Laut der Nanotechnology Products Database (<https://product.statnano.com/>) gibt es 1.093 Produkte die Silbernanoartikel enthalten. Damit sind Silbernanoartikel die am häufigsten in Produkten verwendeten Nanopartikel und sind in 9,78 % aller Produkte in der Datenbank enthalten (StatNano, 2024).

Auf Grund ihrer antibakteriellen Eigenschaften haben Silbernanopartikel ein sehr breites Anwendungsfeld. In der Medizin werden sie nicht nur für Wundauflagen und als Bakterienwachstumshemmer in sterilen Geräten verwendet, sondern es werden auch Anwendungen in der Gewebezüchtung getestet. Auch in der Zahnmedizin finden sie Anwendungen zum Beispiel in Zahnfüllungen oder in Zahnpasta gegen Mundgeruch. Sowohl in der Kosmetikproduktion, um die Kontamination mit Bakterien und Pilzen zu bekämpfen, als auch in Kosmetikprodukten selbst, etwa zur Bekämpfung von Akne, kommen Silbernanopartikel immer häufiger zur Anwendung. In industriellen Anlagen in denen antiseptische Bedingungen von höchster Wichtigkeit sind aber die auf Grund der Art ihrer Produktion anfällig für Bakterienbefall sind (zum Beispiel Fleischfabriken) gibt es innovative Luftfiltersysteme, die sich ebenfalls die antibakteriellen Eigenschaften der Silbernanopartikel zunutze machen. Auch die Bau- und Textilindustrie hat Silbernanopartikel für sich entdeckt. Ein US-Patent beschreibt ihre Verwendung in Isolationsmaterial, um es vor Schimmel- und Algenbefall zu schützen. Um ebenfalls Schimmelbefall vorzubeugen, gibt es auch Teppiche in deren Unterseiten sich Silbernanopartikel befinden. Geruchslose Sportsocken und andere Sportkleidung ist ein weiteres Anwendungsgebiet in der Textilverarbeitung. Auch in der Landwirtschaft gibt es Tests, um mit Silbernanopartikeln Pflanzenwachstum zu fördern und Wurzeln vor Schädlingen zu schützen. (Pulit-Prociak & Banach, 2016; StatNano, 2024). Abbildung 1-1 zeigt die Aufteilung der Produkte mit Silbernanopartikeln am Markt auf die einzelnen Industriezweige.

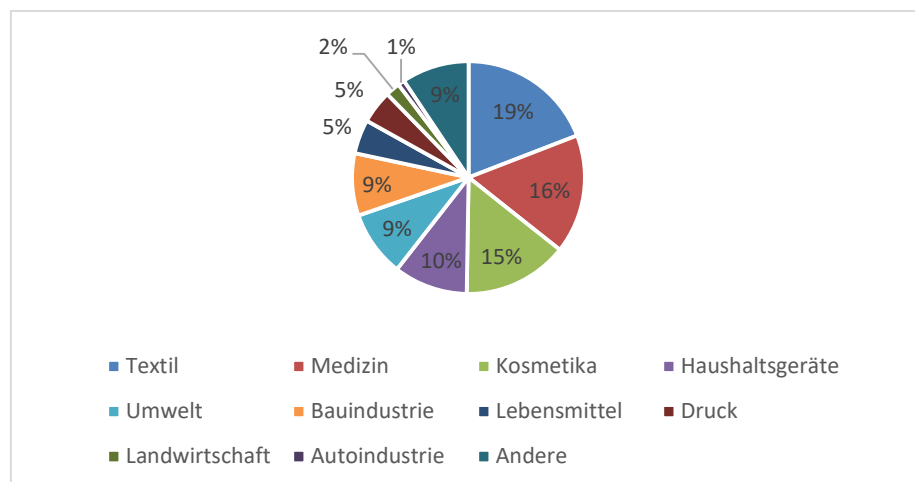


Abbildung 1-1: Prozentuelle Aufteilung der Produkte die Silbernanopartikel enthalten auf die einzelnen Industriezweige (StatNano, 2024).

1.2 Silber in der Umwelt

Wie eingangs erwähnt, kommt Silber in der Natur in einer Reihe von Silberhaltigen Erzen vor, aus denen es durch Bergbau und Verwitterung in die Umwelt gelangen kann. Silber kommt in der Natur in einer Reihe von Verbindungen unterschiedlicher Stabilität vor, während Silbernitrat gut löslich ist, sind die Carbonate, Phosphate, Oxide und Sulfate des Silbers nur mäßig löslich und die Chloride, Hydroxide und Sulfide schwer löslich. Silber gelangt auch durch die Produktion, Verwendung und Entsorgung von Silberkomponenten zum Beispiel in der Elektronik, der Fotografie, in Katalysatoren und in medizinischen Produkten in die Umwelt (Padhye et al., 2023; Purcell & Peters, 1998).

Zu den menschlichen Tätigkeiten, die zum Eintrag von Silber in die Atmosphäre beitragen, gehören neben dem oben genannten Bergbau auch die Stahlerzeugung, die Zementherstellung, die Müllverbrennung und das Verbrennen von fossilen Brennstoffen aber auch das sogenannte „cloud seeding“ um künstlichen Regen zu erzeugen. Genaue Angaben zur Menge an Silber, das jährlich in die Umwelt eingebracht wird, gibt es nicht und die verschiedenen Schätzungen gehen weit auseinander. Ratte (1999) spricht von 2.500 t jährlich, während Padhye et al. (2023) von 2.000 t allein in den USA ausgehen. Purcell und Peters (1998) stützen sich in ihrer Publikation auf Schätzungen aus den 70ern die ebenfalls von über 2.000 t Silbereintrag pro Jahr in den USA ausgehen. Einig sind sich diese unterschiedlichen Schätzungen darüber, dass ungefähr 70 % des Eintrags von der Entsorgung fester Abfälle verursacht wird und nur um die 4 % durch Silbereintrag in die Luft (Padhye et al., 2023; Purcell & Peters, 1998; Ratte, 1999). Direkt ins Wasser gelangt Silber hauptsächlich durch Abwässer aus photochemischen Prozessen und durch Einleitungen aus Kläranlagen. Mehrere Studien konnten im Sediment an Einmündungen von Kläranlagen erhöhte Silberkonzentrationen feststellen und auch im Klärschlamm wurden erhöhte Silberkonzentrationen festgestellt. Wird dieser Klärschlamm dann auf landwirtschaftliche Flächen aufgebracht, so wie in den USA und weiten Teilen Europas üblich, findet eine Kontamination des Bodens statt (Blaser et al., 2008; Fijalkowski et al., 2017; Jiang et al., 2017; Judy et al., 2015).

Die steigende Verwendung von Nanopartikeln erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass diese an die Umwelt abgegeben werden (Nabi et al., 2021). Die Freisetzung von

Silbernanopartikeln in die Umwelt ist während des gesamten Lebenszyklus (Produktion, Gebrauch, Entsorgung) von Produkten, die sie enthalten möglich. Je nach Fertigungsprozess trägt die Produktion mehr oder weniger zur Umweltbelastung bei, doch der Großteil der Freisetzung passiert während des Gebrauchs und der Entsorgung (Temizel-Sekeryan & Hicks, 2020). So geben zum Beispiel Textilien mit Silbernanopartikeln beim Waschen Silber an das Waschwasser ab oder es wird Silber durch Regen aus Fassadenfarben ausgewaschen (Geranio et al., 2009; Kaegi et al., 2010). Silbernanopartikel spielen auch bei der oben erwähnten Silberbelastung durch Kläranlagen und die Entsorgung fester Abfälle eine Rolle (Bundschuh et al., 2018). Kaegi et al. (2013) führten eine Studie zum Verhalten von Silbernanopartikeln in Kläranlagen durch und kamen zum Schluss, dass nur 2,5 – 5 % der Silbernanopartikel über die Abwässer die Kläranlage verließen, während 85 – 90 % im Klärschlamm gebunden wurden. Außerdem stellten sie fest, dass vorhandenes Ag^0 schnell in Silbersulfate umgewandelt wurden, wodurch ungefähr 86 % der Partikel im Abwasser aus Ag_2S bestanden. Eine ähnliche Studie in fünf Kläranlagen in den USA zeigte, dass 82 – 96 % der Silbernanopartikel entfernt werden konnten (Nabi et al., 2021).

1.2.1 Verhalten und Veränderungen von Silbernanopartikeln in der Umwelt

Im Allgemeinen sind Nanopartikel nicht thermodynamisch stabil, deshalb überrascht es nicht, dass reine Silbernanopartikel unter wässrigen Bedingungen nicht stabil sind, sondern entweder oxidativ zersetzt werden oder sich durch ihre Umgebung stabilisieren (Burda et al., 2005; Milne et al., 2017). Werden Silbernanopartikel in aquatische Systeme eingebracht durchlaufen sie eine Reihe von Veränderungen die ausschlaggebend für ihren Einfluss auf die Umwelt sind. Einteilen kann man diese Veränderungen in physikalische, zum Beispiel Agglomeration, Aggregation oder Sedimentation, und chemische, zum Beispiel Oxidation oder Ausfällung.

Um Aggregation und Agglomeration bei der Verwendung zu verhindern, werden viele Nanopartikel bei der Herstellung mit speziellen Coatings versehen. Meistens wird entweder ein Citrat als kleiner negativ geladener Ligand zur elektrostatischen Stabilisation verwendet oder es wird Polyvinylpyrrolidon (PVP) eingesetzt, um die Nanopartikel sterisch zu stabilisieren (Milne et al., 2017; Tejamaya et al., 2012). Die Art

des Coatings hat dabei einen Einfluss auf die Stabilität und das Verhalten der Nanopartikel in unterschiedlichen Bedingungen. So sind zum Beispiel Nanopartikel mit PVP-Coating weniger anfällig auf Veränderungen des pH-Werts, der Ionenstärke oder der Zusammensetzung des Mediums als solche mit Citratcoating (Milne et al., 2017).

1.2.1.1 Physikalische Veränderungen

Aggregation und Agglomeration beschreiben beide eine Bildung von Partikelclustern also größere Partikel, die sowohl rein aus Nanopartikeln bestehen können (Homo-Aggregation/Agglomeration) als auch aus einer Mischung aus Nanopartikeln und anderen Partikeln, die im Wasser vorhanden sind (Hetero-Aggregation/Agglomeration). Ab einer gewissen Größe dieser Partikel beginnen sie sich im Sediment abzusetzen und werden so aus der wässrigen Phase entfernt (Wang & Liu, 2022). In der Natur spielt Homo-Aggregation normalerweise keine große Rolle da die Konzentration der Nanopartikel zu gering ist. In Labortest mit hohen Konzentrationen kann sie allerdings eine Rolle spielen und darf nicht außer Acht gelassen werden (Bundschuh et al., 2018). Die Tendenz für Hetero-Aggregation hängt von einer Reihe von Bedingungen ab, zum Beispiel von der Zusammensetzung des Wassers, der Anwesenheit von natürlichem organischem Material (NOM) aber auch von der Art des Coatings. Untersuchungen haben gezeigt, dass zweiwertige Kationen stärker zur Aggregation beitragen als einwertige und auch, dass Nanopartikel mit Citratcoating stärker mit Ca^{2+} aggregieren als mit Mg^{2+} . Die bessere Fähigkeit von Ca^{2+} Citratkomplexe zu bilden könnte eine Erklärung dafür sein. Nicht nur die Anwesenheit von Kationen und Anionen ist ausschlaggebend für die Aggregation auch deren Konzentration spielt eine Rolle. Hohe Konzentrationen von Cl^- fördern die Aggregation durch das Ausbilden von AgCl -Komplexen, während geringe Konzentrationen die Nanopartikeln stabilisieren können, indem sie eine negativ geladene Schicht an der Oberfläche der Partikel bilden. Silbernanopartikel mit PVP-Coating werden durch die Anwesenheit von Ionen weniger beeinflusst als ihre elektrostatisch stabilisierten Gegenstücke (Bundschuh et al., 2018; Huynh & Chen, 2011; Milne et al., 2017).

Da die Oberflächenladung der Nanopartikel vom pH-Wert abhängt, hat auch dieser einen Einfluss auf die Aggregation durch Ladungsunterschiede zwischen Nanopartikeln

und anderen Kolloiden. Der isoelektrische Punkt, also der pH-Wert, bei dem die Nanopartikel keine Nettoladung haben, variiert stark zwischen den verschiedenen erhältlichen Nanopartikeln. Das macht es schwierig selbst bei gleichem pH-Wert Vorhersagen zum Verhalten verschiedener Nanopartikel und ihrer Interaktionen mit Organismen zu machen (Bundschuh et al., 2018).

Versuche mit NOM in Form von Huminsäuren haben gezeigt, dass sie sowohl an Nanopartikel mit Citratcoating als auch an Nanopartikel mit PVP-Coating adsorbieren. Dadurch tragen sie zur Stabilität der Nanopartikel gegen Aggregation mit Ionen bei aber können selbst mit ihnen große Partikel bilden und so zur Sedimentation beitragen. Dieser stabilisierende Effekt scheint sich bei hohen Cl^{2-} Konzentrationen allerdings umzukehren und es kommt zu einer verstärkten Aggregation und Sedimentation (Huynh & Chen, 2011). Neben elektrostatischen Wechselwirkungen wurden auch Wasserstoffbrückenbindungen, chemische Bindungen und Polymer-Brücken Bildung als Mechanismen der Hetero-Aggregation beobachtet. Die genauen Abläufe sind kompliziert und unter anderem von der Oberflächenbeschaffenheit der Nanopartikel und der chemischen Zusammensetzung des Wassers abhängig. Um genaue Aussagen zu diesen Mechanismen zu treffen wird noch weitere Forschung nötig sein, da sich erst wenige Publikationen mit Aggregation in realistischen Bedingungen befassen haben. Der Zerfall der durch Homo- und Hetero-Aggregation entstandenen Partikel ist noch weniger beforscht, da er hauptsächlich durch Veränderungen in den Umweltbedingungen ausgelöst wird und diese in den vereinfachten Versuchsaufbauten nicht zufriedenstellend untersucht werden können (Bundschuh et al., 2018).

1.2.1.2 Chemische Veränderungen

Oxidationsreaktionen sind die wichtigsten chemischen Veränderungen für Silbernanopartikel in der Umwelt. Unter aeroben Bedingungen können oxidative Zersetzungsprozesse zur Abgabe von Ag^{+} -Ionen aus der entstehenden Ag_2O Schicht führen oder durch anschließende Sulfidisierung zur Bildung einer Silbersulfidhülle.

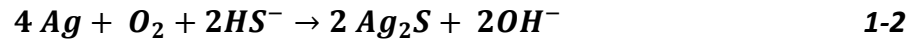
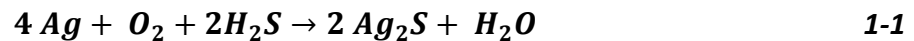
Die oxidative Zersetzung von Silbernanopartikeln im Wasser wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst: (I) Größe und Form der Partikel, das große Oberfläche zu Volumen Verhältnis kleinerer Nanopartikel fördert ihre Zersetzung (Wang & Liu, 2022). (II) Menge

an gelöstem organischem Kohlenstoff, organische Stoffe im Wasser adsorbieren an die Oberfläche der Nanopartikel und Stabilisieren sie so gegen Zersetzungsprozesse. (III) Anwesenheit von gelöstem Sauerstoff, mehrere Studien konnten zeigen, dass die Zersetzung von Silbernanopartikeln ohne Sauerstoff stark beeinträchtigt ist. (IV) pH-Wert, ein höherer pH-Wert hemmt die Zersetzung und damit auch die Freisetzung von Ag^+ . Außerdem beeinflussen die verschiedenen Coatings und Aggregationsvarianten die Zersetzung von Silbernanopartikeln. Obwohl PVP beschichtete Silbernanopartikel stabiler gegen Aggregation sind, setzen sie in natürlichen Gewässern mehr Ag^+ frei als ihre Gegenstücke mit Citratcoating. Interessant dabei ist, dass bei Untersuchungen im Labor ohne natürliche Einflüsse das Gegenteil festgestellt wurde (Wang & Liu, 2022). Ihre Anfälligkeit für Aggregation scheint die mit Citrat beschichteten Silbernanopartikel gegenüber oxidativer Zersetzung zu stabilisieren.

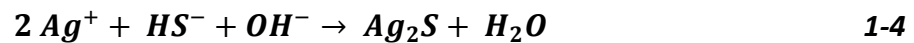
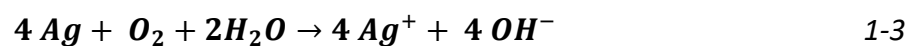
Die Bildung von nahezu unlöslichem Ag_2S (Löslichkeitsprodukt: $K_L = 5 \times 10^{-51} \text{mol}^3/\text{L}^3$ in Wasser bei 25 °C) (Riedel & Janiak, 2007) ist eine weitere wichtige in natürlichen Gewässern beobachtete chemische Veränderung. Durch mikrobielle Sulfatreduktion erzeugtes Sulfid liegt häufig in natürlichen Gewässern und in Kläranlagen vor. Es führt dazu, dass die am häufigsten im Klärschlamm vorliegende Silberspezies eben jenes Ag_2S ist. Bei Silbernanopartikeln kann die Oxysulfidierung zur Bildung einer Ag_2S -Hülle führen, die einen Ag^0 -Kern umschließt oder auch zu hohlen Ag_2S -Nanopartikeln. Diese Passivierung führt zu einer nahezu inerten Nanopartikeloberfläche wodurch nicht nur ihre Reaktivität, sondern auch ihre Toxizität vermindert wird. Trotzdem können solche Ag_2S -Nanopartikeln immer noch schädlich für Mikroorganismen sein (Bundschuh et al., 2018; Levard, Hotze, et al., 2013; Wang & Liu, 2022).

Es gibt zwei mögliche Mechanismen für die Bildung von Ag_2S : (I) Durch direkte Oxysulfidierung bei hoher Sulfidkonzentration Dieser direkte Weg führt zu den oben beschriebenen Ag_2S -Hüllen. (II) Durch Oxidation der Silbernanopartikel und anschließender Sulfidierung des freigesetzten Ag^+ bei niedriger Sulfidkonzentration. Hierbei können Ag_2S -Nanopartikel und Sulfidbrücken zwischen einzelnen Partikeln entstehen (Levard et al., 2011). Beide Mechanismen sind von der Anwesenheit von gelöstem Sauerstoff abhängig. Die direkte Oxysulfidierung läuft bei Laborbedingungen mit stark erhöhten Sulfidkonzentrationen viel schneller ab als oxidative Angriffe auf die

Silbernanopartikeln. Ihre Reaktionsgleichung kann bei fast neutralem pH-Wert als eine Kombination aus Formel 1-1 und 1-2 geschrieben werden (Liu et al., 2011).



Bei der indirekten Oxysulfidierung ist die Freisetzung von Ag^+ (Formel 1-3) der langsame und geschwindigkeitsbestimmende Schritt, während der zweite Schritt (Formel 1-4) schnell abläuft (Zhang et al., 2018).



Da in der Natur Sulfide eher in geringen Konzentrationen vorliegen, besteht die Möglichkeit, dass der indirekte Weg der in der Natur bevorzugte ist. Allerdings konnte der direkte Mechanismus in Kläranlagen auch bei niedrigen Sulfidkonzentrationen nachgewiesen werden (Zhang et al., 2018).

Die dritte wichtige chemische Veränderung von Silbernanopartikeln in Gewässern ist die Bildung von schwerlöslichem Silberchlorid $AgCl$ (Löslichkeitsprodukt: $K_l = 2 \times 10^{-10} mol^2/L^2$ in Wasser bei 25 °C) (Riedel & Janiak, 2007). Der Bildungsmechanismus des Silberchlorids verläuft indirekt über die oxidative Freisetzung von Ag^+ (Formel 1-3) somit ist auch die Bildung von $AgCl$ von der Anwesenheit von gelöstem Sauerstoff abhängig (Zhang et al., 2018). Ähnlich wie bei Ag_2S können auch bei $AgCl$ Brücken zwischen einzelnen Partikeln gebildet werden und so Cluster aus mehr oder weniger chlorierten Silbernanopartikel entstehen (Li et al., 2010). Das Verhältnis zwischen Cl^- und Ag^+ hat starke Auswirkungen auf das weitere Verhalten in der Umwelt da abhängig davon neben schwerlöslichem $AgCl$ auch lösliche Chlorokomplexe ($[AgCl_2]^-$, $[AgCl_3]^{2-}$, etc.) gebildet werden können (Levard, Mitra, et al., 2013; Zhang et al., 2018).

1.3 Umweltrisiken durch Silbernanopartikel

Laut World Health Organization (WHO) ist die Datenlage zur Toxizität von Silber (sowohl ionisch es Silber als auch Silbernanopartikel) nicht ausreichend, um einen

formellen Richtwert für die Silberkonzentration in Trinkwasser herzuleiten. Sie liefert allerdings einen vorläufigen gesundheitsbezogenen Richtwert von 0,1 mg/L. Ältere Untersuchungen haben ergeben, dass man eine orale Aufnahme von 10 g als den NOAEL für Menschen annehmen kann. Geht man von einer Aufnahme von zwei Litern pro Tag aus, wäre die totale Silberbelastung bei einer Konzentration von 0,1 mg/L nach 70 Jahren bei der Hälfte dieses NOAEL. Auch wenn die WHO es nicht als notwendig ansieht, einen formellen Richtwert zu erstellen, da der Beitrag des Trinkwassers zum NOAEL unter Normalbedingungen vernachlässigt werden kann, rät sie trotzdem davon ab Silber zur Desinfektion von Trinkwasser zu verwenden (WHO, 2021). Das Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME) liefert in ihren Wasserqualitätsrichtlinien zum Schutz aquatischen Lebens Richtwerte für die Silberkonzentrationen in Süß- und Salzwasserökosystemen. Diese liegen im Süßwasser bei 0,25 µg/L und im Salzwasser bei 7,5 µg/L (CCME, 2015).

Für Silbernanopartikel in Gewässern oder im Trinkwasser gibt es aktuell keine spezifischen Richtwerte. 2009 hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in Deutschland eine Stellungnahme veröffentlicht, in der sie zum einen auf die vielen offenen Fragen in Bezug auf Silbernanopartikeln hinweisen und zum anderen Herstellern empfehlen auf ihre Verwendung zu verzichten, bis eine vollständige Risikobewertung stattgefunden hat (BfR, 2009). Der wissenschaftliche Ausschuss für Verbrauchersicherheit hat hingegen 2014 ein Wissenschaftsfaktenblatt zum Thema „Sind Silbernanopartikel sicher?“ in dem sie das von Silbernanopartikel ausgehende Risiko für Mensch und Umwelt als gering darstellen (Europäische Kommission, 2014).

1.3.1 Toxizität und Toxizitätstests

Die Beurteilung der Toxizität von Silbernanopartikeln erweist sich als schwierig, da zum einen die toxischen Effekte durch Freisetzung von Ag^+ -Ionen als auch die potenziellen toxischen Effekte der Nanopartikel an sich berücksichtigt werden müssen (Bundschuh et al., 2018).

Für Fische, Wirbellose und Mikroorganismen zählt Silber zu den toxischsten Elementen. Die Toxizität von Silber in der wässrigen Phase hängt von der Konzentration freier Ag^+ -

Ionen ab und wird stark von Zusammensetzung des Wassers beeinflusst. Das Silberion Ag^+ gilt als eine der toxischsten Formen von Schwermetallen und ist mit Chrom (VI), Cadmium, Kupfer und Quecksilber in der höchsten Toxizitätsklasse. Es hemmt wichtige Stoffwechselenzyme in Bakterien und kann die DNA-Transkription blockieren. Zusätzlich kann es auch die ATP Synthese und die bakterielle Zellatmung stören. Gelöster Organischer Kohlenstoff, Komplexbildner wie Thiosulfat oder Chlorid sowie Anionen, die unlösliche Silbersalze bilden (zum Beispiel S^{2-}) können die Toxizität von Silber stark beeinflussen, indem sie die Bioverfügbarkeit verändern. Im Boden, Sediment und im Klärschlamm liegt Silber vorwiegend als schwer lösliches Ag_2S vor wodurch selbst bei hohen Konzentrationen sehr geringe Toxizität besteht (Blaser et al., 2008; Ratte, 1999). Dass nicht die Löslichkeit der Silberverbindungen ausschlaggebend für ihre Toxizität ist, sondern ihre Tendenz Ag^+ -Ionen zu bilden zeigt der Vergleich zwischen dem Silberthiosulfatkomplex $\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$ und Silbernitrat AgNO_3 . Obwohl beide eine ähnliche Löslichkeit aufweisen, ist Silberthiosulfat erheblich weniger toxisch, da die Komplexierung des Silbers durch das Thiosulfat sehr stabil ist und keine freien Silberionen abgegeben werden. Silbernitrat gilt als eine der toxischsten Silberformen (Bard et al., 1976; Ratte, 1999). Das könnte auch der Grund sein, dass die meisten toxikologischen Studien Silbernitrat als Testsubstanz verwenden, obwohl es in der Umwelt nur in sehr geringen Konzentrationen vorkommt. Auswirkungen von umwelttechnisch relevanten Silberverbindungen, organische und anorganische Silbersulfidverbindungen werden erst seit einiger Zeit mehr und mehr untersucht (Blaser et al., 2008).

Die möglichen negativen Auswirkungen von Nanopartikeln auf die Umwelt wurden in den letzten Jahren vermehrt untersucht, weil ihre speziellen Eigenschaften (große Oberfläche bei kleiner Partikelgröße, hohe Reaktivität und katalytisches Potential) zu zusätzlicher Toxizität für belastete Organismen führen könnten. Sogenannte Nanotoxizität kann nicht nur auf die Eigenschaften des Grundstoffs oder seiner gelösten Spezies zurückgeführt werden (Moore, 2006). Als Hauptgrund für die negativen Effekte auf Zellen durch Nanopartikel wurden das Erzeugen von freien Radikalen und das Auslösen von oxidativem Stress identifiziert. Durch ihre große Oberfläche können Nanopartikel zur Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies beitragen, diese können

dann die Proteine, Membranen oder auch die DNA angreifen. Durch ihre Größe können die Nanopartikel in die Zellen gelangen und sich dort im Funktionsapparat einbetten, das kann dann zu toxikologischen Reaktionen führen, die man von herkömmlichen Giftstoffen nicht kennt (Lekamge, 2019).

Besonders Silbernanopartikel wurden, auf Grund der Bekannten Toxizität von Ag^+ und dem Verdacht auf zusätzliche Nanotoxizität, in den letzten Jahren stark untersucht um das Risiko, das von ihnen ausgehen könnte, gut einschätzen zu können. Auf Grund des komplizierten Verhaltens von Silbernanopartikeln im aquatischen Milieu (siehe Kapitel 1.2.1) und der vielen zu berücksichtigen Faktoren (Bioverfügbarkeit und Bioakkumulation, Transfer durch die Nahrungskette und die vielen verschiedenen aquatischen Lebewesen) gestaltet sich der Vergleich der verschiedenen Ergebnisse als schwierig. Auch die Sinnhaftigkeit klassischer Toxizitätstests für diese speziellen Stoff wurde hinterfragt und es wurden auch neue Ansätze ausprobiert, um ein realistischeres Bild des Risikos zu zeichnen (Holden et al., 2016). Aufgrund der Vielfalt and Publikationen gibt es auch einige Reviews, die mehrere Studien zusammenfassen und die Unterschiede herausarbeiten. Kalantzi et al. (2019) und Wang & Liu (2022) weisen in ihren Reviews drauf hin, dass die meisten Studien mit sehr hohen Konzentrationen und relativ kurzen Versuchsdauern durchgeführt wurden und so ein Szenario weit entfernt von realistischen Bedingungen einer Umweltbelastung abbilden. Auch die Ergebnisse der betrachteten Studien widersprechen sich teilweise. Während einige Autoren nanotoxische Effekte, wie oben beschrieben, feststellen konnten, berichten Andere von einer geringeren Toxizität als Ag^+ und keiner zusätzlichen Nanotoxizität (Kalantzi et al., 2019; Wang & Liu, 2022). Eine weitere mögliche Gefahr, die laut Reviewern noch zu wenig untersucht ist, ist der sogenannte „trojan-horse-effect“. Dieser beschreibt, dass Nanopartikel aufgrund ihrer großen Oberfläche andere Schadstoffe an sich binden und sie so an Stellen im Organismus transportieren, wo sie sonst nicht hingelangen würden. Hierbei könnten auch neue toxische Effekte aus der Kombination mehrerer Schadstoffe entstehen (Kalantzi et al., 2019). Einigkeit scheint darüber zu herrschen, dass sich Silbernanopartikel in ihnen ausgesetzten Organismen anreichern aber ihre Wirkung nicht so toxisch ist wie die der gelösten Silberionen. Wie sich diese Anreicherung in der Nahrungskette fortsetzt und was das für Auswirkungen auf Räuber höher in der

Nahrungskette hat, ist eine weitere noch offene Frage (Dang et al., 2021). Die Empfehlung nach weiteren, möglichst realitätsnahen Untersuchungen zur besseren Abschätzung des Risikos und auch zum besseren Verständnis der Wirkungsmechanismen von Silbernanopartikeln eint ebenfalls die Reviewer.

Um die komplizierte Art und Weise wie sich (Silber-)Nanopartikel im aquatischen Milieu verhalten, besser abbilden und untersuchen zu können, müssen neuartige experimentelle Herangehensweisen verwendet werden, um klassische standardisierte ökotoxizitätstestverfahren zu ergänzen oder zu ersetzen. Dabei geht es vor allem darum eine ökologisch realistische Umgebung zu schaffen (Bour et al., 2015). Um kostengünstiger und effizienter arbeiten zu können wurde auch die Verwendung mehrstufiger Systeme zur Toxizitätstestung und Risikoabschätzung vorgeschlagen. Die Stufen reichen von einfachen Labortests bis zu hoch komplexen und spezifischen Tests in den höheren Stufen. Um Ressourcen zu sparen, wird auch das Zusammenfassen verschiedener Nanopartikel in Regulationsgruppen vorgeschlagen, um Lücken in der Datenlage durch Daten von anderen Vertretern der selben Gruppe schließen zu können (Holden et al., 2016).

Ein Ansatz, der in den letzten Jahrzehnten mehr und mehr Anwendungen findet, ist die Verwendung von Mesokosmen. Die Definition eines Mesokosmos ist relativ weit gefasst und nicht immer einheitlich, manchmal gibt es auch eine Unterscheidung zwischen Mesokosmos und Mikrokosmos wobei diese hauptsächlich auf die Größe bezogen zu sein scheint (Solomon & Hanson, 2014). Heruntergebrochen sind Mesokosmen künstliche, oft vereinfachte, Nachbauten von aquatischen Ökosystemen zur Untersuchung von ökologischen Prozessen und dem Verhalten und Auswirkungen von eingebrachten Fremdstoffen. Dabei kann sowohl ihre Größe als auch ihre Komplexität stark variieren. Das besondere an ihnen ist die Kombination von realistischen Umweltbedingungen mit einem vereinfachten Zugang zur Überprüfung und Kontrolle einer Reihe von physikalischen, chemischen, biologischen und Toxikologischen Parametern (Caquet, 2002). Mesokosmen bieten im Vergleich zu einfachen Labortests aber auch zu Feldversuchen einige Vorteile da sie (I) während der Dauer des Experiments größtenteils selbsterhaltend sind und dadurch ermöglichen, dass Versuche über lange Zeit (bis zu Monaten und Jahren) stattfinden, (II) die Durchführung verschiedener Messung

vereinfachen, (III) groß genug sind um mehrere Vertreter verschiedener Testspezies zu beinhalten und dadurch Untersuchungen von Übertragungen innerhalb der Nahrungskette oder von Auswirkungen auf eine Population ermöglichen, (IV) die Kontrolle über ausschlaggebende physikalische, biologische und chemische Parameter erlauben, (V) auch im Freien verwendet werden können und so dem Wetter und den Jahreszeiten ausgesetzt sein können um noch mehr Realismus zu generieren (Carboni et al., 2021).

Ein hoher Grad an Realismus bringt auch Nachteile. Zum Beispiel sorgen die hohe Zahl an Einflussfaktoren dafür, dass die Interpretation der Ergebnisse und das Herstellen von Ursache-Wirkung-Beziehungen komplizierter wird. Deswegen eignen sich Mesokosmenstudien nicht für anfängliche Untersuchungen negativer Effekte aber sind wertvolle Instrumente, um das Schicksal von Nanopartikeln in realistischen Umweltbedingungen zu untersuchen und ihre Effekte auf das gesamte Ökosystem abzubilden. Zur Risikoabschätzung von Nanomaterialien kann man Mesokosmenstudien am effektivsten verwenden, indem man sie in mehrstufigen Prozessen mit kleineren Laborstudien kombiniert und so die Vorteile beider Ansätze verbindet (Carboni et al., 2021; Holden et al., 2016).

1.4 Ziel der Arbeit

In dieser Arbeit soll das Verhalten von zwei unterschiedlichen, käuflich erwerbbaaren, Silbernanopartikeln im Vergleich zu löslichem Silbernitrat in einer Mesokosmenstudie untersucht werden. Die Nanopartikel sollen über einen Zeitraum von drei Wochen in umweltrelevanten Konzentrationen zugesetzt werden und ihre weitere Verteilung im Mesokosmos über sechs Wochen untersucht werden. Als Vergleich wird auch die Verteilung des gelösten Silbers untersucht. Die Kompartimente, die dabei analysiert werden sollen, sind Wasser, Sediment, die eingesetzten Grünalgen *Cladophora aegagrophila* und Süßwassergarnelen *Neocaridina davidi*. Die Arbeit soll neue Erkenntnisse über die unterschiedliche Verteilung der verschiedenen Silberspezies innerhalb der Kompartimente in den Mesokosmen liefern und eventuelle toxische Wirkungen auf Algen beziehungsweise Garnelen aufzeigen. Damit soll zum weiteren Verständnis des Umweltverhaltens von Silbernanopartikeln beigetragen werden.

2 Materialien und Methoden

2.1 Versuchsorganismen

2.1.1 *Neocaridina davidi*

Die Süßwassergarnele *Neocaridina davidi*, mit Trivialnamen als Rückenstrichgarnele bekannt, ist in Südostasien heimisch und kommt dort in verschiedenen Binnengewässern vor. Ihre vielen verschieden farbigen Züchtungen, ihre Toleranz gegenüber Wasserqualität und ihr unkompliziertes Brutverhalten haben sie zu einer der beliebtesten Ziergarnelen Weltweit gemacht (Klotz et al., 2013). Ihre große Verbreitung bei Aquaristen hat auch dazu geführt, dass *N. davidi* an mehreren Orten in der ganzen Welt als invasive Spezies gefunden wurde. In Hawaii und Japan wurde sie bereits ins Ökosystem eingeführt und auch in Europa wurden schon Populationen entdeckt (Jabłońska et al., 2018). Etwa in Deutschland, wo ihre rote Farbvariante für einige Jahre in einem künstlichen See, der im Winter von einer dicken Schicht Eis bedeckt ist, nahe Hannover beobachtet wurde. Ebenfalls in Deutschland konnten Vertreter von *N. davidi* im deutschsprachigen Rheinsystem im Grillbach und in der Erft identifiziert werden und (Klotz et al., 2013) gehen davon aus, dass sich *N. davidi* im Rheinsystem weiter verbreiten wird, da kalte Temperaturen keine Barriere darstellen. In Polen wurden bei Probennahmen 2003, 2013 und 2017 in einem durch Kühlwasser künstlich erwärmten Oderkanal *N. davidi* gefunden. Durch den Nachweis in Proben aus über zehn Jahren kann davon ausgegangen werden, dass sich *N. davidi* dort als selbstvermehrnde Population festgesetzt hat (Jabłońska et al., 2018).

Erwachsene Garnelen haben normalerweise eine Körperlänge von 2-3 cm und häuten sich durchschnittlich alle 15 Tage, was im Vergleich mit anderen Garnelen einem kurzen Häutungszyklus entspricht (Hu et al., 2019; Weber & Traunspurger, 2016). Abbildung 2-1 zeigt ein Exemplar in der natürlich vorkommenden Färbung.

Ihre Fähigkeit in verschiedenen Wasserqualitäten (z.B. pH 6,5 – 8,0) (Hu et al., 2019) und einer großen Spannweite an Wassertemperaturen (4 °C – 30 °C) (Klotz et al., 2013) zu Überleben unterstützt nicht nur ihre Inversion in fremde Ökosysteme, sondern macht

sie auch zu einer guten Versuchsspezies für Toxizitätstests und andere Laborversuche (Hu et al., 2019).



Abbildung 2-1: Weibliches Exemplar der *Neocaridina davidi*. Foto mit freundlicher Genehmigung von W. Klotz. (Klotz et al., 2013)

2.1.2 *Cladophora aegagropila*

Cladophora aegagropila gehört zu den Grünalgen und ist in Europa, dem Mittleren Osten und in Asien verbreitet. Ihre charakteristische Eigenschaft ist die Bildung von freischwimmenden kompakten Kugeln durch das Verwachsen von freien Einzelalgen. In der Natur können diese Kugeln bis zu 21 cm Durchmesser erreichen sind aber meistens viel kleiner (Boedeker, 2010; M.D. Guiry, 2023).



Abbildung 2-2: *Cladophora aegagrophila* Exemplare in einem Aquarium.

2.2 Verwendete Reagenzien

2.2.1 Allgemeine Reagenzien

Für die Mesokosmenstudie wurde als Medium künstliches Donauwasser nach einem Rezept von Maximilian Eiser (2023) verwendet. Dieses Medium wurde mit deionisiertem Wasser hergestellt. Für alle anderen Zwecke wurde Milli-Q-Wasser (Leitfähigkeit $< 0,055 \mu\text{S/cm}$) verwendet. Folgende von Sigma-Aldrich erworbenen Salze wurden für die Herstellung des künstlichen Donauwassers verwendet: Calciumcarbonat (CaCO_3 , ACS-Reagenz $\geq 99,0 \%$), Calciumchlorid-Dihydrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, p.a. 99-103 %), Kaliumhydrogencarbonat (KHCO_3 , p.a. $\geq 99 \%$), Huminsäure-Natriumsalz (technische Reinheit), Magnesiumcarbonat (MgCO_3 , purum $\geq 40 \%$ Mg (als MGO)), Magnesiumsulfat-Heptahydrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, ACS-Reagenz), Magnesiumnitrat-Hexahydrat ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ACS-Reagenz 98,0-102,0 %), Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3 , SigmaUltra $\geq 99,5 \%$).

Zur Herstellung der verwendeten verdünnten Säuren wurde konzentrierte Salpetersäure (67 % - 69 % HNO_3 , Fisher Scientific) verwendet. Verwendetes Wasserstoffperoxid ($\geq 30 \%$, for trace analysis) wurde von Sigma Aldrich erworben.

Zur Verwendung als Sediment in den Mesokosmen wurde Quarzsand (Korngröße: 0,4 - 0,8 mm) käuflich erworben und mit Leitungswasser gewaschen, bis das Wasser trübungsfrei war.

Kohlendioxid (CO_2 N4.5), Argon (Ar, N5.0) Acetylen (C_2H_2 , N2.6) und synthetische Luft (N5.0) 79,5 % N_2 , 20,5 % O_2) wurden in Druckgasflaschen von der Messer Austria GmbH bezogen.

Für die Herstellung der benötigten Silber-Lösungen wurde ein verifizierter Standard (1000 mg/L Ag in 2 % HNO_3 , VWR International) verwendet. Für die Verdünnung wurde 2 % Salpetersäure verwendet. Es wurde eine 18 mg/L Ag-Lösung für die Zugabe hergestellt und eine 10 mg/L Ag-Lösung, aus der alle weiteren Verdünnungen für Kalibrationen hergestellt wurden. Diese beiden Lösungen wurden mit Alufolie vor Licht geschützt.

2.2.2 Silbernanopartikel

Ag Nanopowder (< 100 nm Partikelgröße, 99,5 %, mit PVP als Dispergiermittel) wurde von Sigma Aldrich erworben und bei Raumtemperatur aufbewahrt. Eine Vorratssuspension mit einer Konzentration von 50 mg/L wurde durch Einwiegen von 12,5 mg in 250 ml Milli-Q Wasser hergestellt. Vor weiteren Verdünnungsschritten wurde diese Ag Nanopulver Suspension 90 Minuten in einem Ultraschallbad behandelt.

Ag Nanospheres (50 nm Durchmesser, 5 mg/mL in Wasser, funktionalisiert mit PVP 40 kDa) wurden von nanoComposix (San Diego, US) gekauft und bei 4°C aufbewahrt. Zur Herstellung einer Vorratssuspension mit einer Konzentration von 25 mg/L wurden 250 µL der 5 mg/mL Suspension in 50 mL Milli-Q Wasser eingebracht und auch diese bei 4 °C gelagert.

2.2.2.1 Charakterisierung der Nanopartikel

Die Vorratssuspensionen der Silbernanopartikel (Ag-NP) ließen sich optisch gut unterscheiden (Abbildung 2-3). Die frisch im Ultraschallbad behandelte Suspension des Nanopowders war fast undurchsichtig und hatte eine dunkelgraue, leicht bräunliche Farbe. Schon nach 30 Minuten konnte eine Sedimentation aus schwarzen Nanopowder-Klumpen beobachtet werden. Die Nanospheres bildeten eine orange-gelbe Suspension mit braun-grauen Schlieren. Während des gesamten Versuchverlaufs konnte keine Sedimentation der Nanospheres festgestellt werden.



Abbildung 2-3: links eine 50 mg/L Nanopowdersuspension, rechts eine 25 mg/L Nanospheressuspension.

Maximilian Eiser hat die in dieser Arbeit verwendeten Ag-NP in seiner Masterarbeit (Eiser 2023) genau charakterisiert. Die Ergebnisse seiner Analyse der Größenverteilung und Partikelform der Ag-NP sind in Abbildung 2-4 und Abbildung 2-5 grafisch aufbereitet und zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen Nanopowder und Nanospheres in sowohl Größenverteilung als auch Partikelform.

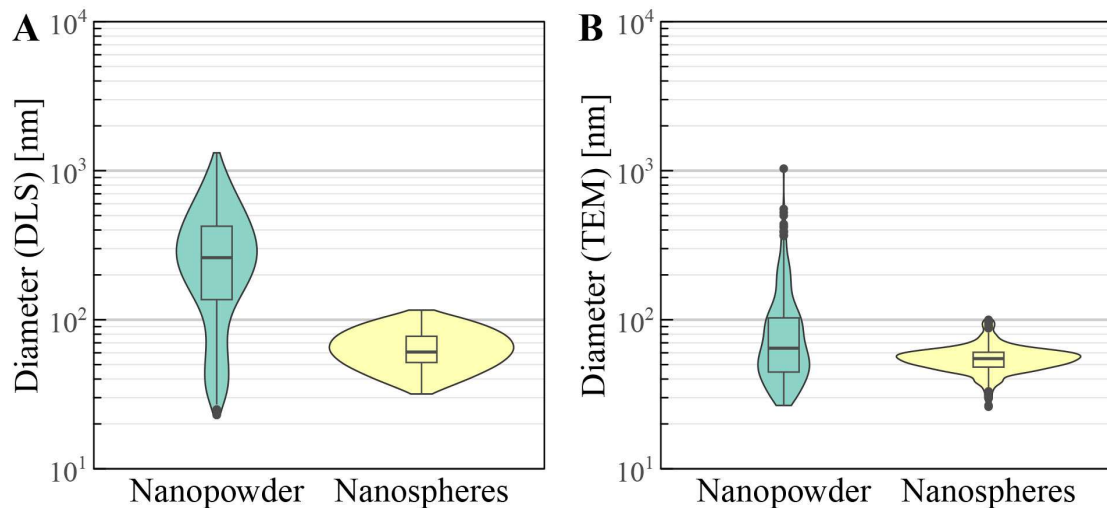


Abbildung 2-4: Größenverteilung der Ag-NP als kombinierte Dichte- und Boxplotdarstellung. A: Durch DLS ermittelte hydrodynamische Durchmesser, angegeben als intensitätsgewichtete relative Häufigkeit. B: Maximale Durchmesser, ermittelt durch Bildanalyse von TEM-Aufnahmen bei 4000-facher Vergrößerung. Abbildungen mit freundlicher Genehmigung von M. Eiser (Eiser, 2023).

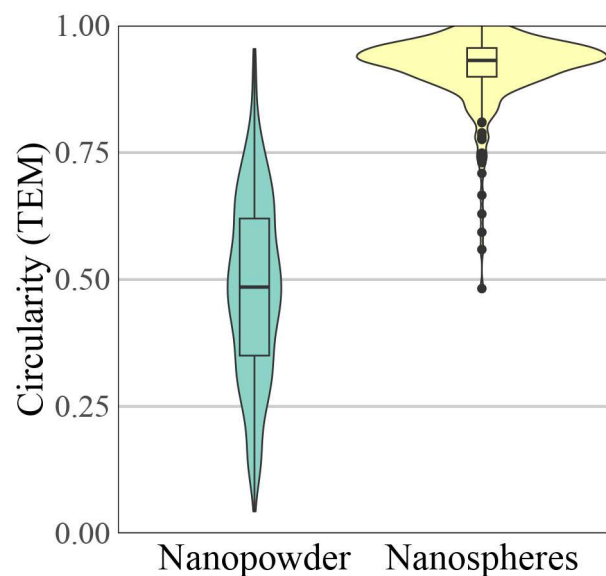


Abbildung 2-5: Kombinierte Dichte- und Boxplots der Kreisförmigkeit der beiden Ag-NP-Typen. Abbildung mit freundlicher Genehmigung von M. Eiser (Eiser, 2023).

2.3 Versuchsaufbau

2.3.1 Beschaffung der Garnelen

Die im Versuch verwendeten Exemplare der Süßwassergarnele *N. davidi* wurden bei einem lokalen Garnelenzüchter in Wien erworben und nach dem Transport ins Labor auf die vier Versuchsaquarien aufgeteilt. Für den Versuch wurden Exemplare in Naturfärbung ausgewählt. Während der Versuchsdauer wurden die Garnelen einmal pro Woche mit geeignetem Futter aus dem Aquarienfachhandel gefüttert.

2.3.2 Herstellung des künstlichen Donauwassers

Das verwendete Medium ähnelte der Zusammensetzung der Donau in Wien. Die Herstellung und Zusammensetzung dieses künstlichen Donauwassers wurde von Eiser (2023) beschrieben und basiert auf Daten der Wasserwerke Lobau (Hellmeier, 2022).

Zu Beginn wurden jeweils 500 mL der Vorratslösungen 1 - 3 und 250 mL der Huminsäure-Vorratslösung wie folgt hergestellt:

Vorratslösung 1 (21,168 g/L MgSO_4 ; 0,517 g/L $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$): 10,58 g MgSO_4 und 775,4 mg $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ wurden in einem 500 mL Messkolben eingewogen und mit Milli-Q Wasser auf 500 mL aufgefüllt.

Vorratslösung 2 (7,776 g/L CaCl_2): 3,887 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ wurden in einem 500 mL Messkolben eingewogen und mit Milli-Q Wasser auf 500 mL aufgefüllt.

Vorratslösung 3 (8,907 g/L NaHCO_3 ; 1,792 g/L KHCO_3): 4,453 g NaHCO_3 und 896 mg KHCO_3 wurden in einem 500 mL Messkolben eingewogen und mit Milli-Q Wasser auf 500 mL aufgefüllt.

Huminsäure-Vorratslösung (1,25 g/L Huminsäure-Natriumsalz): 0,3125 g Huminsäure-Natriumsalz wurde in einem 250 mL Messkolben eingewogen und mit Milli-Q Wasser auf 250 mL aufgefüllt.

Vorratslösung 4 (0,180 g/L CaCO_3 ; 0,0380 g/L MgCO_3) wurde immer frisch vor der Synthese des künstlichen Donauwassers hergestellt. Zunächst wurde abhängig der

Gesamtmenge deionisiertes Wasser in einem großen Kübel vorgelegt und 10 min lang mit CO₂ gespült. Dann wurden die jeweiligen Mengen an CaCO₃ und MgCO₃ zugegeben. Diese sind in Tabelle 2-1 dargestellt. Dann wurde vier Stunden unter konstanter CO₂ Spülung gerührt, um den Lösungsvorgang der festen Carbonate zu unterstützen. Nach Ablauf der vier Stunden wurden unter rühren die jeweiligen Volumina der Vorratslösungen 1 - 3 und der Huminsäure-Vorratslösung zugegeben und mit deionisiertem Wasser auf das gewünschte Gesamtvolumen aufgefüllt (siehe Tabelle 2-2). Im letzten Schritt der Herstellung wurde das künstliche Donauwasser über Nacht unter rühren mit Luft gespült, um überschüssiges gelöstes CO₂ zu entfernen und einen konstanten pH-Wert zu erreichen. Für den Start des Versuchs wurden 100 L des künstlichen Donauwassers hergestellt im weiteren Verlauf wurden jeweils 25 L hergestellt.

Herzustellendes Gesamtvolumen [L]	m(CaCO ₃) [g]	m(MgCO ₃) [g]
25	4,50	0,95
100	18	3,80

Tabelle 2-1: Verwendete Mengen an CaCO₃ und MgCO₃ für Vorratslösung 4

	25 L Gesamtvolumen	100 L Gesamtvolumen
Vorratslösung 4	22,73	91,0
Vorratslösung 1-3	0,1	0,4
deionisiertes Wasser	1,87	7,4

Tabelle 2-2: Benötigte Volumina der Vorratslösungen in L

Die Zusammensetzung des künstlichen Donauwassers wurde mittels Flammen-Atomabsorptionsspektroskopie (Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺), Ionenchromatographie (Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻) und Acidimetrie (CO₃²⁻ und HCO₃⁻) überprüft mit diesen Daten der Ionenbilanzfehler nach Formel 2-1 berechnet, um die Konzentration an Huminsäuren zu überprüfen, wurde zusätzlich noch Total Organic Carbon (TOC) und Dissolved Organic Carbon (DOC) bestimmt (Siehe Kapitel 2.5). Die elektrische Leitfähigkeit und der pH-Wert wurden mittels Leitfähigkeitsmessgeräts ([Mettler Toledo™ FiveGo™ F3 Conductivity Meter](#)) und pH-Meter (Schott ProLab 2000) überprüft.

$$\Delta IB [\%] = \frac{\sum Kationen - |\sum Anionen|}{\sum Kationen + |\sum Anionen|} \times 100 \quad 2-1$$

2.3.3 Die Mesokosmen

Jedes der vier, als Mesokosmen verwendeten, Aquarien beinhaltete 18 L künstliches Donauwasser, eine ungefähr zwei Zentimeter hohe Sedimentschicht aus Quarzsand, eine Kugel der Fadenalge *C. aegagropila* (ca 5 cm Durchmesser) und 15 Garnelen. Um eine ausreichende Sauerstoffsättigung zu erreichen, wurde durch Belüftungssteine durchgehend Luft in die Mesokosmen geleitet. Um eine einheitliche Wasserqualität und geeignete Lebensbedingungen für die Versuchsspezies zu gewährleisten, empfiehlt die Literatur die Verwendung eines Kreislauf-Aquakultur-Systems mit externem Filter, um eine gute Wasserwechselrate zu gewährleisten (Bresch et al., 1990; Kuhn et al., 2010; Lightner et al., 1996; Romo Quiñonez et al., 2022; Sprague, 1969). Die Verwendung eines Kreislauf-Aquakultur-Systems mit externem Filter wäre für diesen Versuch nicht geeignet gewesen, da der Filter auch die zugesetzten Silbernanopartikel teilweise oder zur Gänze entfernt hätte. Um trotzdem eine ausreichende Verdünnung der Stoffwechselprodukte der Garnelen zu erreichen, wurden jede Woche 5 L Wasser pro Aquarium entnommen und durch frisch hergestelltes künstliches Donauwasser ersetzt. Die so erreichte Wasserwechselrate wurde mit Orientierung an Literatur als ausreichend empfunden. Durch Deckel auf den Aquarien wurde der Verlust an Wasser durch Verdunsten klein gehalten und die Aquarien nach dem Wasserwechseln wieder mit Milli-Q Wasser auf 18 L aufgefüllt. Es herrschte während der gesamten Versuchsdauer Raumtemperatur (21°C) und die Mesokosmen wurden mit zwei Neonröhren (Osram FLOURA 58 W/77) beleuchtet, die durch periodisches Ein- und Ausschalten alle 12 Stunden einen Tag-/Nach-Zyklus simulierten.

Die Algenkugeln wurden zusammen mit den Garnelen bei einem lokalen Garnelenzüchter erworben.

2.3.4 Die Versuche

Es wurden drei Versuche parallel durchgeführt, um das Verhalten und die Verteilung zweier unterschiedlicher Silbernanopartikel und ionischem Silber in aquatischen

Süßwasser-Mesokosmen im Sediment, den Süßwassergarnelen *N. davidi*, den Fadenalgen *C. aegagropila* und im Wasser zu untersuchen. Zusätzlich wurde ein Referenzexperiment in einem weiteren Aquarium durchgeführt, bei dem kein Silber in den Mesokosmos eingebracht wurde.

Einen Tag vor der ersten Silberzugabe wurden je 15 Süßwassergarnelen und ein Algenball in die Aquarien eingesetzt.

In Anlehnung an Eisers Experimente (Eiser, 2023) erfolgten drei Silberzugaben im Abstand von sieben Tagen über die Dauer des Experiments. Bei jeder Zugabe wurden 180 µg der Silbernanopartikel und 18 µg des ionischen Silbers (entsprechend 10 µg/L bzw. 1 µg/L) zugesetzt, was zu einer nominalen Belastungskonzentration von 30 µg/L bzw. 3 µg/L nach der dritten Zugabe führte. In Vorversuchen wurde beobachtet, dass bei einer Zugabe von 10 µg/L ionischem Silber der Großteil der exponierten Versuchsexemplare verstorben sind, weshalb für die Durchführung des eigentlichen Versuchs eine geringere Dosis gewählt wurde. Diese um eine Zehnerpotenz verringerte Dosis sollte während des gesamten Versuchsverlauf eine Silberkonzentration unter der vermuteten letalen Dosis gewährleisten. Zwischen der dritten Zugabe und der abschließenden Probennahme von Wasser, Sediment, Pflanzen und Garnelen wurden die Mesokosmen noch für drei Wochen erhalten, was zu einer vollständigen Versuchsdauer von sechs Wochen führte.

2.3.4.1 Zugabesuspensionen/Zugabelösung

Die vorbereiteten 25 mg/L Zugabesuspensionen der zwei Silbernanopartikel (Nanopowder und Nanospheres) wurden vor jeder Zugabe auf ihren genauen Silbergehalt überprüft. Dazu wurden 5 mL der Suspension mit 5 mL halbkonzentrierter Salpetersäure für eine Stunde aufgeschlossen und der Silbergehalt gemessen. Aus diesen Messwerten wurde dann die genaue Zugabemenge errechnet und den jeweiligen Mesokosmen zugesetzt.

Um eine 25 mg/L Zugabessuspension des Nanopowders herzustellen wurde die 50 mg/L Vorratssuspension (siehe 2.2.2) 90 Minuten im Ultraschallbad behandelt und nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 50 mL in einem 100 mL Messkolben mit Milli-Q

Wasser auf 25 mg/L verdünnt. Diese Suspension wurde erst nach einer weiteren 90-minütigen Behandlung im Ultraschallbad und abschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur verwendet.

Für die Zugabe der Nanospheres wurde die benötigte Zugabemenge nach Homogenisieren durch Schütteln direkt aus der 25 mg/L Vorratssuspension entnommen.

Für die Zugabe des ionischen Silbers wurde eine Zugabelösung von 18 mg/L aus einem 1000 mg/L Ag Standard hergestellt. Dafür wurden 1,8 mL des Ag Standards auf 100 mL verdünnt und danach durch Schütteln homogenisiert. Diese Zugabelösung wurde während der gesamten Versuchsdauer mit Alufolie umwickelt gelagert und für alle drei Zugaben verwendet. Vor jeder Zugabe wurde von dieser Lösung ebenfalls 5 mL mit 5 mL halbkonzentrierter Salpetersäure für eine Stunde aufgeschlossen und auf ihren Silbergehalt gemessen, um die genaue Zugabemenge zu bestimmen.

2.3.4.2 Probennahme

Zu Beginn und am Ende des Versuchs wurden einige physikalisch-chemische Parameter bestimmt und miteinander verglichen. Zur Bestimmung dieser Parameter wurden Wasserproben mit 10 mL Spritzen aus den Mesokosmen entnommen oder tragbare Messgeräte zur *in-situ* Messung verwendet (siehe 2.3.2 bzw 2.5)

Um die Konzentration an gelöstem Silber in den Mesokosmen zu bestimmen, wurden während der Zugabewochen, vor der Zugabe und eine Stunde nach der Zugabe Proben entnommen und durch 0,45 µm PTFE Spritzenvorsatzfilter gefiltert. Gelöste Anteile eines Gewässers werden in der Limnologie als die Bestandteile definiert, die durch einen Filter mit Porengröße 0,45 µm passieren können (Danielsson, 1982). Deswegen wird in dieser Arbeit bei Silbergehalten in filtrierten Proben von „gelöstem Silber“ gesprochen werden und vom Gehalt an „totalem Silbergehalt“ in ungefilterten Proben. Nach der ersten Zugabe wurde im Mesokosmos, dem das Ag Nanopowder zugesetzt wurde, auch das totale Silber bestimmt und ab der zweiten Zugabe wurden in allen Mesokosmen unfiltrierte Proben vor und eine Stunde nach der Zugabe zur Bestimmung des totalen

Silbergehalts entnommen. Bei der Bestimmung der Silbergehalte wurde immer mit Triplikaten gearbeitet.

Nach dem Ende des Versuchs wurden zusätzlich zur Probenentnahme zur Bestimmung der physio-chemischen Parameter und des Silbergehalts im Wasser auch alle Süßwassergarnelen entnommen und einzeln in 1,5 mL Eppendorf Gefäßen eingefroren und anschließend gefriergetrocknet. Anschließend wurden auch die Algenkugeln entnommen und jeweils ungefähr die Hälfte in 50 mL PP Zentrifugenröhrchen eingefroren und ebenfalls gefriergetrocknet.

Dann wurde der Großteil des Wassers in den Aquarien dekantiert und das die Sedimentschicht mit einem Glasstab gut umgerührt. Pro Aquarium wurden dann drei Sedimentproben in 50 mL PP Zentrifugenröhrchen genommen.

2.4 Probenvorbereitung

2.4.1 Säureaufschluss der Wasserproben

Jeweils 5 mL der Wasserproben wurde in 15 mL PP Zentrifugenröhrchen überführt. Der Aufschluss erfolgte durch Zugabe von 5 mL konzentrierter HNO_3 bei Raumtemperatur für eine Stunde. Danach wurden die Lösungen bis zur Messung gelagert.

2.4.2 Säureaufschluss der Sedimentproben

Alle Sedimentproben wurden bei 85 °C im Ofen getrocknet und danach in einer Reibschale homogenisiert. Dann wurden ungefähr 0,5 g des getrockneten Sediments auf drei Nachkommastellen genau auf einer Analysenwaage abgewogen und in saubere Glasaufschlussröhren eingewogen. Danach wurden 4,5 mL Milli-Q Wasser, 4,5 mL konzentrierte HNO_3 und 1 mL konzentrierte Wasserstoffperoxid Lösung hinzugefügt. Die Aufschlussröhren wurden mit einem Kühlrohr versehen und für eine Stunde bei 135 °C in einen Heizblock gestellt. Nach dem Aufschluss wurden die Aufschlussröhren entnommen und in einem Becherglas mit kaltem Leitungswasser gekühlt. Nachdem die Kühlrohre mit wenig Milli-Q Wasser ausgespült und entfernt wurden wurde der Inhalt der Aufschlussröhren in 15 mL Messzylinder überführt und die Aufschlussröhren

zweimal mit einer kleinen Menge Milli-Q Wasser gespült. Die Messzylinder wurden anschließend mit Milli-Q Wasser auf 15 mL aufgefüllt. Abschließend wurden die aufgeschlossenen Proben durch 0,45 µm PTFE Spritzenvorsatzfilter in 15 mL PP Zentrifugenröhrchen gefiltert und bis zur Messung aufbewahrt.

2.4.3 Säureaufschluss der Garnelen

Nach dem Gefriertrocknen wurde die Massen der einzelnen Garnelen bestimmt und in einem 5 mL PP Zentrifugenröhrchen wurde für den Aufschluss 1,5 mL Milli-Q Wasser und 1,5 mL konzentrierte HNO_3 zugesetzt. Danach wurden sie für 90 Minuten bei 70 °C im Trockenschrank aufgeschlossen. Nach dem Aufschluss wurden die Lösungen homogenisiert und durch 0,45 µm PTFE Spritzenvorsatzfilter gefiltert und bis zur Messung aufbewahrt.

2.4.4 Säureaufschluss der Algenproben

Die Algenproben wurden nach dem Gefriertrocknen mittels Pinzetten zerkleinert und aus jeder der vier Proben wurde ein Triplikat gemacht. Dazu wurden jeweils ungefähr 0,5 g Algenmaterial auf vier Nachkommastellen genau auf einer Analysenwaage in saubere Glasaufschlussröhren eingewogen. Der Aufschluss dieser Proben erfolgte gleich wie der der Sedimentproben. Es wurden 4,5 mL Milli-Q Wasser, 4,5 mL konzentrierte HNO_3 und 1 mL konzentrierte Wasserstoffperoxid Lösung in die Aufschlussröhren hinzugefügt. Sie wurden mit einem Kühlrohr versehen und für eine Stunde bei 135 °C in einen Heizblock gestellt. Nach dem Aufschluss wurden die Aufschlussröhren entnommen und in einem Becherglas mit kaltem Leitungswasser gekühlt. Nachdem die Kühlrohre mit wenig Milli-Q Wasser ausgespült und entfernt wurden wurde der Inhalt der Aufschlussröhren in 15 mL Messzylinder überführt und die Aufschlussröhren zweimal mit einer kleinen Menge Milli-Q Wasser gespült. Die Messzylinder wurden anschließend mit Milli-Q Wasser auf 15 mL aufgefüllt. Abschließend wurden auch diese aufgeschlossenen Proben durch 0,45 µm PTFE Spritzenvorsatzfilter in 15 mL PP Zentrifugenröhrchen gefiltert und bis zur Messung aufbewahrt.

2.5 Analysen

2.5.1 Atomabsorptionsspektroskopie

2.5.1.1 Flammen- Atomabsorptionsspektroskopie (F-AAS)

Für die F-AAS Messungen wurde ein AAnalyst 200 von PerkinElmer verwendet. Die Hohlkathodenlampe des jeweiligen Elements diente als Lichtquelle. F-AAS wurde zur Messung des Silbergehalts in den Zugabesuspensionen bzw. der Zugabelösung verwendet und um die Zusammensetzung des künstlichen Donauwassers zu überprüfen. Die gemessenen Kationen, die betrachteten Wellenlängen und die zur Kalibration verwendeten Wellenlängen sind in Tabelle 2-3 aufgelistet. Die Kalibrationsstandards wurden vor jeder Messung frisch aus 10 mg/L bzw. 50 mg/L bei Ca durch Verdünnung mit 2 % HNO₃ hergestellt. Es wurde jeweils eine fünfstufige Kalibration durchgeführt und durch eine nichtlineare Regression kontrolliert. Es wurde ein Korrelationskoeffizient von > 0,9995 angestrebt. Als Blank wurde 2 % HNO₃ verwendet. Die Proben wurden vor der Messung verdünnt, damit die Konzentrationen im jeweiligen Kalibrationsbereich lagen. Die Messungen wurden im Triplikat durchgeführt und daraus der Mittelwert gebildet.

Element	Wellenlänge [nm]	Konzentrationen für Kalibration [mg/L]
Na ⁺	589,0	0/0,125/0,25/0,5/1,0
K ⁺	766,5	0/0,25/0,5/1,0/2,0
Mg ²⁺	285,2	0/0,0625/0,125/0,25/0,5
Ca ²⁺	422,7	0/2,5/5,0/10,0/20,0
Ag ⁺	328,07	0/0,25/0,5/1,0/2,0

Tabelle 2-3: Messwellenlängen und Kalibrationsparameter der F-AAS Messung

2.5.1.2 Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie (GF-AAS)

Um den Silbergehalt in allen während und nach dem Versuch entnommenen Proben zu bestimmen, wurden die jeweiligen Proben nach Vorbereitung wie in 2.3 beschrieben mittels GF-FAAS analysiert. Es wurde ein PerkinElmer PinAAcle 900Z GF-AAS mit PerkinElmer AS900 Furnance Autosampler verwendet. Als Lichtquelle diente eine Silber-

Hohlkatodenlampe die mehrere Stunden vor der Messung eingeschaltet wurde damit sich das Signal stabilisieren konnte. Es wurde bei einer Wellenlänge von 328,07 nm gemessen und es wurden die hintergrundkorrigierten Peakflächen des Absorptionssignals zur Quantifizierung verwendet. Während der Messung wurde das Graphitrohr mit Argon-Gas gespült. Die Nachweisgrenze (LOD) dieser Silbermessmethode liegt bei 0,03 µg/L, was für die verwendeten Bedingungen einer Nachweisgrenze von 0,06 µg/L entspricht.

Vor der Messung wurde eine Kalibration mit den Konzentrationen 0,0; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 durchgeführt. Dazu wurden eine 1 µg/L und eine 10 µg/L Silberlösung aus einem 100 µg/L Standard hergestellt und diese dann vom Gerät weiter verdünnt.

Die Messung erfolgte jeweils nach folgendem Schema: 20 µL Probe wurden vom Autosampler in das Graphitrohr eingebracht. Der Ofen verdampft die Probe in dem er für 30 s eine Temperatur von 110 °C einstellte, dann wurde innerhalb von 15 s auf 130 °C aufgeheizt und diese Temperatur für 30 s gehalten. Die Probe wurde pyrolytisch gespalten, indem die Temperatur im Ofen innerhalb 10 s auf 800 °C erhöht wurde und diese Temperatur für 20 s gehalten wurde bevor die Probe bei 1700 °C für 5 s atomisiert wurde. In diesem Schritt wurde der Argonfluss gestoppt und die Absorption gemessen. Abschließende wurde der Ofen bei erneutem Argonfluss zur Reinigung für 3 s auf 2250 °C erhitzt und dann 20 s abgekühlt. Dieser Prozess wurde für jede Messung dreimal wiederholt und aus den Ergebnissen wurde der Mittelwert gebildet, der das eigentliche Messergebnis darstellte. Jeweils nach zehn gemessenen Proben wurde wieder der 10 µg/L Standard gemessen, um mögliche Drifts des Geräts einbeziehen zu können. Die so erhaltenen Messwerte wurden, wenn nötig zur Korrektur der Messungen verwendet.

2.5.2 Ionenchromatographie

Als Teil der Überprüfung der Zusammensetzung des künstlichen Donauwassers wurden 10 mL Probe durch einen 0,45 µm PTFE Spritzenvorsatzfilter gefiltert und einer Anionenchromatographie unterzogen. Verwendet wurde dafür ein Metrohm 930 Compact IC Felx mit einer Metrohm Mestrosep A Supp 5 – 150/4.0 Säule und einem Metrom IC Leitfähigkeitsmesser verwendet. Als Eluent diente eine wässrige Lösung aus

3,2 mM Na_2CO_3 und 1,0 mM NaHCO_3 . Das Gerät wurde vor den Messungen mit bekannten Standards kalibriert und es wurden die Konzentrationen der Anionen Cl^- , NO_3^- und SO_4^{2-} über die Leitfähigkeit in drei Messungen mit 20 μL Aliquoten bestimmt.

2.5.3 Anorganischer Kohlenstoff – Summe der Carbonate

Zur Bestimmung des anorganischen Kohlenstoffs beziehungsweise der Summe der Carbonate wurde jeweils 50 mL Probe entnommen und mit 0,1 mol/L HCl bis zum Umschlagpunkt bei pH 4,3 titriert. Der Verbrauch der Salzsäure am Äquivalenzpunkt entspricht, auf 100 mL Probe hochgerechnet, der Summe der Carbonate in meq/L.

2.5.4 Total Organic Carbon (TOC) und Dissolved Organic Carbon (DOC)

Für die Analyse des organischen Kohlenstoffes wurden jeweils zwei 10 mL Proben entnommen wobei eine durch einen 0,45 μm PTFE Spritzenvorsatzfilter gefiltert wurde. Die gefilterte wurde zur Messung des gelösten organischen Kohlenstoffes (DOC) verwendet und die ungefilterte um den totalen organischen Kohlenstoff (TOC) zu bestimmen. Verwendet wurde dafür ein Shimadzu TOC-V CPH TOC Analyzer. Die Proben wurden mit 0,1 mL HCl angesäuert ($\text{pH} \leq 2$) und anschließend für 3 min mit synthetischer Luft durchgespült, um den anorganischen Kohlenstoff zu entfernen. Gemessen wurde also der non-purgable organic carbon (NPOC) in dem die Probe bei 720 °C verbrannt wurde und das entstandene CO_2 durch nicht-dispersives Infrarot (NDIR) detektiert wurde. Im Vorfeld der Messung wurde das Gerät über die Peakfläche von sechs bekannten Kaliumphthalat-Konzentrationen linear kalibriert. Zwischen den einzelnen Proben wurden jeweils Blanks aus Milli-Q Wasser gemessen und diese Werte wurden verwendet, um die Messergebnisse der Proben zu korrigieren.

2.5.5 Bestimmung des Glühverlustes (LOI)

Es wurde der Glühverlust des gewaschenen, getrockneten Quarzsandes vor Versuchsbeginn und der des Sediments nach Versuchsende jeweils in Triplikaten bestimmt. Dafür wurden ungefähr 1 g des getrockneten Sediments in Porzellantiegeln auf einer Analysenwaage eingewogen und anschließend in einem Muffelofen bei 550 °C

für zwei Stunden verbrannt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Tiegel erneut gewogen und der LOI nach Formel 2-2 bestimmt.

$$LOI [\%] = \frac{m_{Sediment,vorher} - m_{Sediment,nacher}}{m_{Sediment,vorher}} \times 100 \quad 2-2$$

2.5.6 Bioakkumulationsfaktor (BAF)

Der Bioakkumulationsfaktor (BAF) ist das Verhältnis zwischen der Konzentration eines Stoffes in einem Organismus und der Konzentration im umgebenden Medium oder in der zugesetzten Nahrung (Ratte, 1999). Der BAF wurde nach Formel 2-3 für die Garnelen und Algen im Vergleich zum Sediment und wo möglich auch zum Wasser berechnet. Dabei wurden für die Konzentrationen jeweils die Mittelwerte der Silbergehalte in den einzelnen Fraktionen am Ende des Versuchs verwendet.

$$BAF = \frac{c_{Ag,Garnelen/Algen}}{c_{Ag,Sediment/Wasser}} \quad 2-3$$

2.5.7 Statistische Datenauswertung

Die statistische Datenauswertung der erhaltenen Messergebnisse wurde mit Sigma Plot 15.0 durchgeführt. Um festzustellen ob die Mittelwerte der einzelnen Stichproben signifikante Unterschiede aufweisen, wurde der t-test von Sigma Plot 15.0 mit einem Signifikanzniveau von $P \leq 0,001$ verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Charakterisierung des Mediums

Vor Beginn des Versuchs wurde das hergestellte künstliche Donauwasser auf seine Ionenkomposition untersucht. Die Ergebnisse (MW $\pm$ STAW) sind in Tabelle 3-1 veranschaulicht.

	Na⁺	K⁺	Mg²⁺	Ca²⁺
c [mg/L]	9,01 $\pm$ 0,228	3,45 $\pm$ 0,050	18,15 $\pm$ 0,284	53,83 $\pm$ 1,16
	Cl⁻	SO₄²⁻	NO₃⁻	Karbonate (als HCO ₃ ⁻)
c [mg/L]	14,74 $\pm$ 0,046	35,52 $\pm$ 0,066	4,19 $\pm$ 0,533	225,76 $\pm$ 0

Tabelle 3-1: gemessene Zusammensetzung des künstlichen Donauwassers

Die Bestimmung des anorganischen Kohlenstoffs hat eine Summe der Carbonate von 3,7 meq/L ergeben und der Ionenbilanzfehler verlief sich auf $-2,81 \pm 0,92$ %.

3.2 Physikalisch-chemische Parameter

Eine Reihe physikalisch-chemischer Parameter wurden sowohl vor dem Start als auch am Ende des Experiments gemessen sowie während der ganzen Versuchsdauer in regelmäßigen Abständen kontrolliert. Die elektrische Leitfähigkeit, der pH-Wert sowie der die Konzentration an Na⁺, Cl⁻, SO₄²⁻ haben sich während der Versuchsdauer nur gering verändert. Am stärksten verändert hat sich hingegen der TOC mit mittleren Abnahmen von jeweils 31,75; 32,81; 34,15 und 41,23 % im Referenz-, Nanopowder-, Nanospheres- und ionischem Silber Mesokosmos. Die mittlere K⁺-Konzentration ist ebenfalls in allen vier Mesokosmen gefallen, und zwar um 16,58 % im Referenzmesokosmos, um 21,97 beziehungsweise 21,28 % im Nanopowder- und Nanospheresmesokosmos und um 29,25 % im Mesokosmos mit ionischem Silber. Im Nanospheresmesokosmos ist außerdem noch die mittleren Mg²⁺ und NO₃⁻-Konzentration um 10,38 und 13,16 % gefallen. Die mittlere Nitratkonzentration ist auch im Nanopowdermesokosmos um 18,48 % gefallen. Im Referenzmesokosmos hat der

mittlere DOC Gehalt und die Ca^{2+} -Konzentration zugenommen. DOC um 11,76 % und die Ca^{2+} -Konzentration um 15,93 %. Die mittlere Ca^{2+} -Konzentration ist im Nanospheresmesokosmos ebenfalls gestiegen (12,17 %) und DOC im Nanopowdermesokosmos (17,70 %). Eine Zusammenfassung der gemessenen Parameter findet sich im Anhang (Tabelle 6-1)

3.3 Glühverlust (LOI)

Die Ergebnisse der Bestimmung des Glühverlusts sind in Tabelle 3-2 zusammengefasst. Wie oben beschrieben wurden die Messungen in Triplikaten durchgeführt. Der allgemein niedrige LOI weist auf einen geringen Anteil an organischem Material im Sediment hin.

	Referenz	Nanopowder	Nanospheres	ionisches Silber
LOI [%]	0,008 ± 0,003	0,024 ± 0,010	0,021 ± 0,0188	0,004 ± 0,014
	(n = 3)	(n = 3)	(n = 3)	(n = 3)

Tabelle 3-2: Glühverlust (MW ± STAW) des Sediments der Mesokosmen

3.4 Silberzugabe und Konzentrationsverlauf

Die während des Versuchsverlauf im Wasser der Mesokosmen gemessenen Konzentrationen an gelöstem Silber sind in Tabelle 3-3 zusammengefasst und in Abbildung 3-1 grafisch aufgearbeitet. Die Messwerte des Referenzmesokosmos lagen während des gesamten Versuchsverlaufs unter der Nachweisgrenze von 0,06 µg/L. In den ersten drei Wochen des Experiments wurde die Silberkonzentration jeweils vor der Zugabe und eine Stunde nach der Zugabe gemessen. Der Unterschied zwischen diesen Messungen, also die als gelöstes Silber messbare hinzugefügte Menge variierte beim ionischen Silber zwischen 0,128 und rund 0,502 µg/L. Bei den Silbernanospheres lagen die Werte zwischen 1,23 und 4,59 µg/L. Während die ersten beiden Zugaben des Silbernanopowders in einem Anstieg des gelösten Silbers von 0,190 und 0,130 µg/L widerspiegeln, ergab die Messung nach der dritten Zugabe eine gelöste Silberkonzentration unter der Nachweisgrenze. Nach der letzten Silberzugabe fiel der

Gehalt an gelöstem Silber in allen Mesokosmen und die Messungen der sechsten Woche ergaben allesamt Werte unter der Nachweisgrenze.

Woche	Nanopowder [µg/L]	Nanospheres [µg/L]	Ionisches Silber [µg/L]
1	< LOD ^a (0,190 ± 0,052)	< LOD ^a (4,59 ± 1,11)	< LOD ^a (0,414 ± 0,008)
2	0,063 ± 0,002 (0,193 ± 0,007)	0,431 ± 0,015 (3,03 ± 0,080)	0,065 ± 0,008 (0,567 ± 0,013)
3	0,521 ± 0,653 (< LOD ^a)	0,164 ± 0,004 (1,39 ± 0,033)	< LOD ^a (0,128 ± 0,003)
4	0,123 ± 0,063	0,241 ± 0,011	0,067 ± 0,002
5	< LOD ^a	0,100 ± 0,002	< LOD ^a
6	< LOD ^a	< LOD ^a	< LOD ^a

^aLOD (Nachweisgrenze) = 0,06 µg/L

Tabelle 3-3: Gemessene Konzentrationen an gelöstem Ag (MW ± STAW) im Wasser der Mesokosmen während des Versuchs. Ag Konzentrationen nach der Zugabe in Klammern.

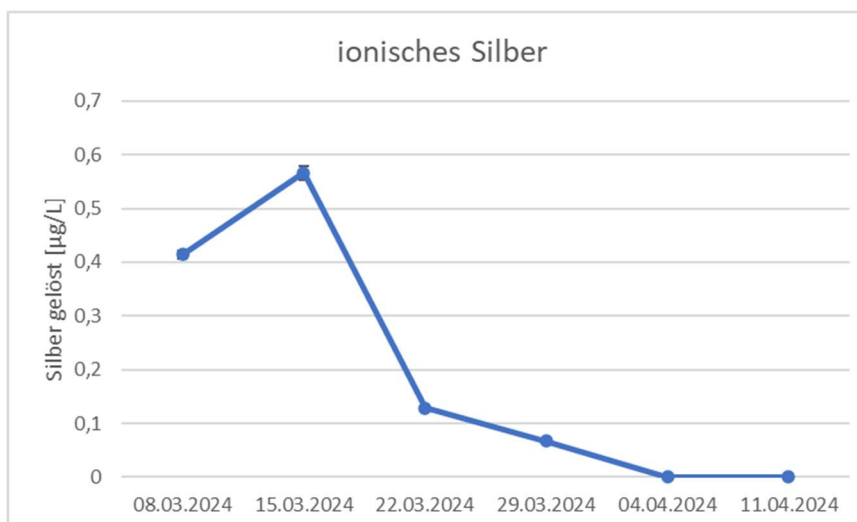
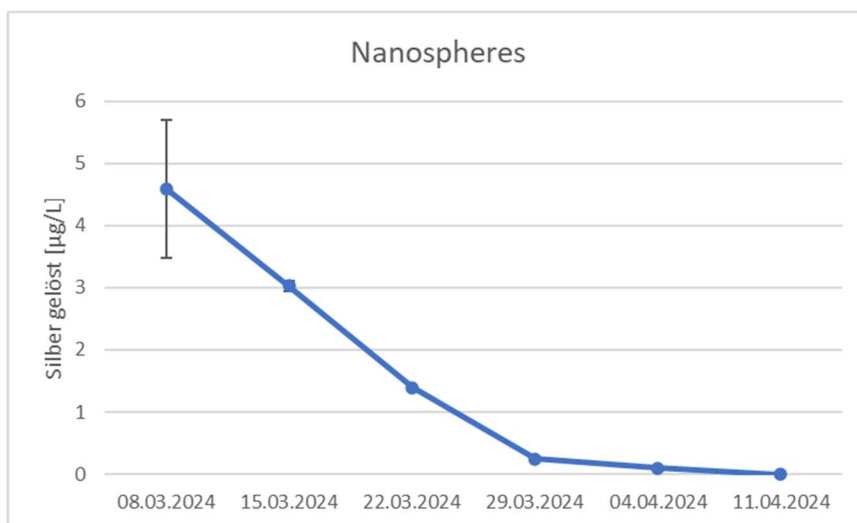
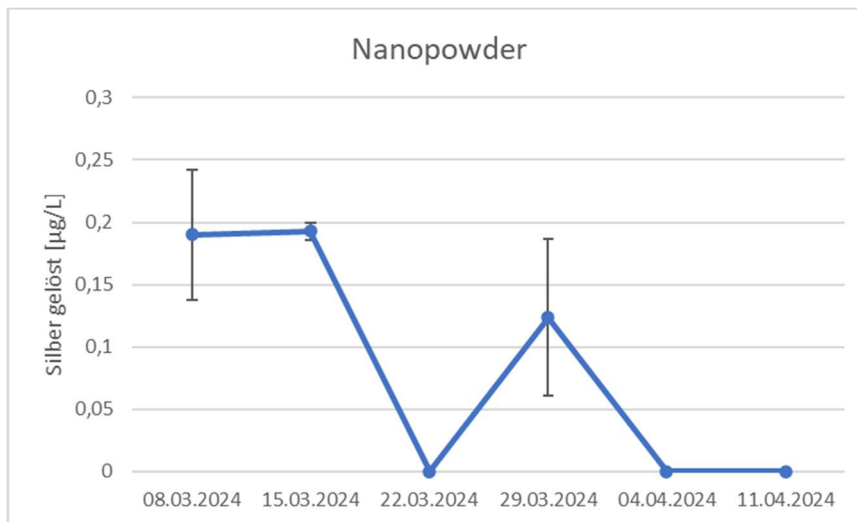


Abbildung 3-1: Gemessene Konzentrationen an gelöstem Ag ($MW \pm STAW$) im Wasser der Mesokosmen nach der Zugabe ($n = 3$).

3.5 Silbergehalt in Sediment, Garnelen, Algen und Wasser

Nach Ende des Versuchs wurde der Silbergehalt in den Garnelen, in den Algen, im Sediment und in der wässrigen Phase gemessen. In der wässrigen Phase wurde sowohl der totale Silbergehalt als auch der Gehalt an gelöstem Silber bestimmt. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Tabelle 3-4 zusammengefasst.

	Sediment [µg/g]	Garnelen [µg/g]	Algen [µg/g]	Wasser, tot. [µg/L]	Wasser, gelöst [µg/L]
Nanopowder (540 µg)	0,079 ± 0,040 (n = 3)	4,72 ± 1,84 (n = 15)	1,29 ± 0,242 (n = 3)	0,089 ± 0,005 (n = 3)	< LOD (n = 3)
Nanospheres (540 µg)	0,166 ± 0,114 (n = 3)	6,63 ± 5,20 (n = 14)	1,42 ± 0,250 (n = 3)	0,287 ± 0,004 (n = 3)	< LOD (n = 3)
ionisches Ag (54 µg)	0,016 ± 0,003 (n = 3)	3,47 ± 0,883 (n = 14)	1,40 ± 0,054 (n = 3)	< LOD (n = 3)	< LOD (n = 3)
Referenz (0 µg)	0,010 ± 0,002 (n = 3)	0,318 ± 0,129 (n = 15)	0,16 ± 0,033 (n = 3)	< LOD (n = 3)	< LOD (n = 3)

Tabelle 3-4: Totaler Silbergehalt (MW ± STAW) im Sediment, in den Garnelen, in den Algen und in der wässrigen Phase. Bei der wässrigen Phase ist sowohl der totale als auch der Gehalt an gelöstem Silber angegeben. Nominelle totale Silberbelastung in Klammern.

3.5.1 Sediment

Nach Ende des Experiments wurden im Sediment der exponierten Mesokosmen erhöhte Silberkonzentrationen gemessen (Abbildung 3-2) wobei eine mittlere Konzentration von 0,079; 0,166 und 0,016 µg/g in den Mesokosmen mit Nanopowder, Nanospheres und ionischem Silber, einer mittleren Konzentration von 0,010 und 0,011 µg/g im Referenzmesokosmos und im Sediment vor Versuchsbeginn (Blank) gegenübersteht. Durch die statistische Datenanalyse konnten keine signifikanten Unterschiede in der Silberkonzentration der einzelnen Mesokosmen festgestellt werden. Das gilt sowohl für zwischen den belasteten Mesokosmen als auch zum Referenzmesokosmos.

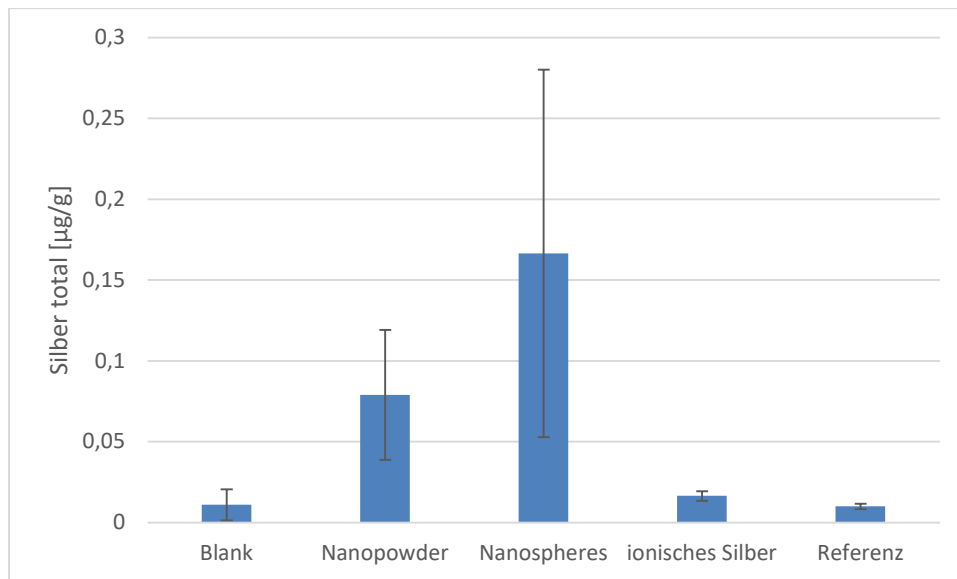


Abbildung 3-2: Totaler Silbergehalt ($MW \pm STAW$) im Sediment der Mesokosmen ($n = 3$).

3.5.2 Garnelen – *Neocaridina davidi*

Die Silbermessungen in den Garnelenproben zeigen, dass sich unabhängig von der Art der Form, in der es zugegeben wird, Silber in den Garnelen angereichert hat. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der einzelnen Mesokosmen sind in Abbildung 3-3 abgebildet. Die höchste mittlere Silberbelastung weisen die Garnelen des Mesokosmos auf dem Nanospheres zugesetzt wurden ($6,63 \mu\text{g/g}$). Allerdings findet sich auch hier die größte Schwankung im Silbergehalt der einzelnen Garnelen was sich in der großen Standardabweichung ($\pm 5,20 \mu\text{g/g}$) niederschlägt. Die Garnelen des Mesokosmos mit ionischem Silber sind mit einem Mittelwert von $3,47 \mu\text{g/g}$ am wenigsten belastet, während sich die dem Nanopowder ausgesetzten Garnelen mit einem Mittelwert von $4,72 \mu\text{g/g}$ zwischen den beiden anderen wiederfinden.

In Abbildung 3-4 sind die Silberkonzentrationen der einzelnen Garnelen pro Mesokosmos in einem Boxplot dargestellt.

Während zwischen den mit Nanopartikeln belasteten Mesokosmen kein signifikanter Unterschied in der Silberkonzentration festgestellt werden konnte, ergab die statistische Datenanalyse signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen beiden Ag-NP-Typen und dem ionischen Silber, sowie auch zwischen allen belasteten Mesokosmen und dem Referenzmesokosmos.

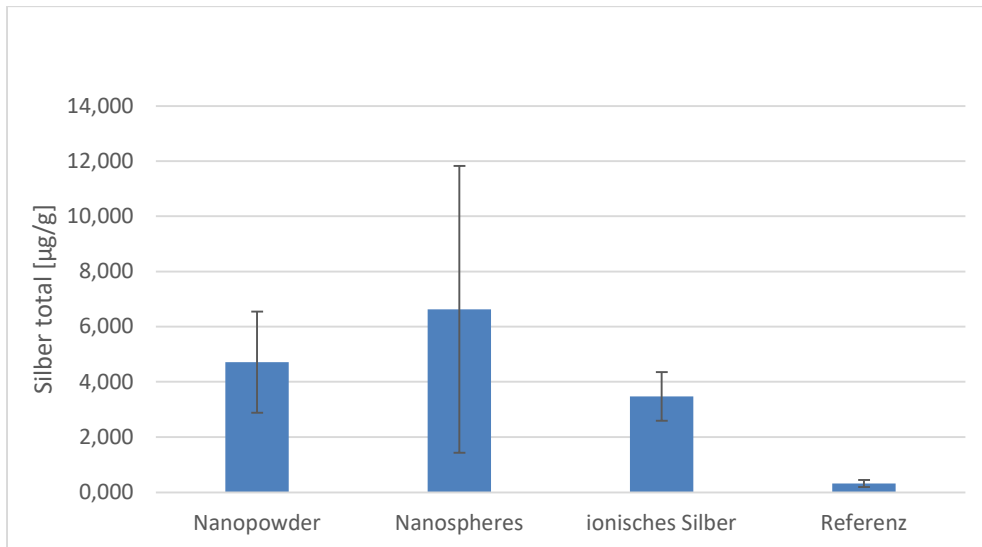


Abbildung 3-3: Totaler Silbergehalt (MD ± STAW) in den Garnelen der einzelnen Mesokosmen. $n = 15$ für Nanopowder und Referenz, $n = 14$ für Nanospheres und ionisches Silber.

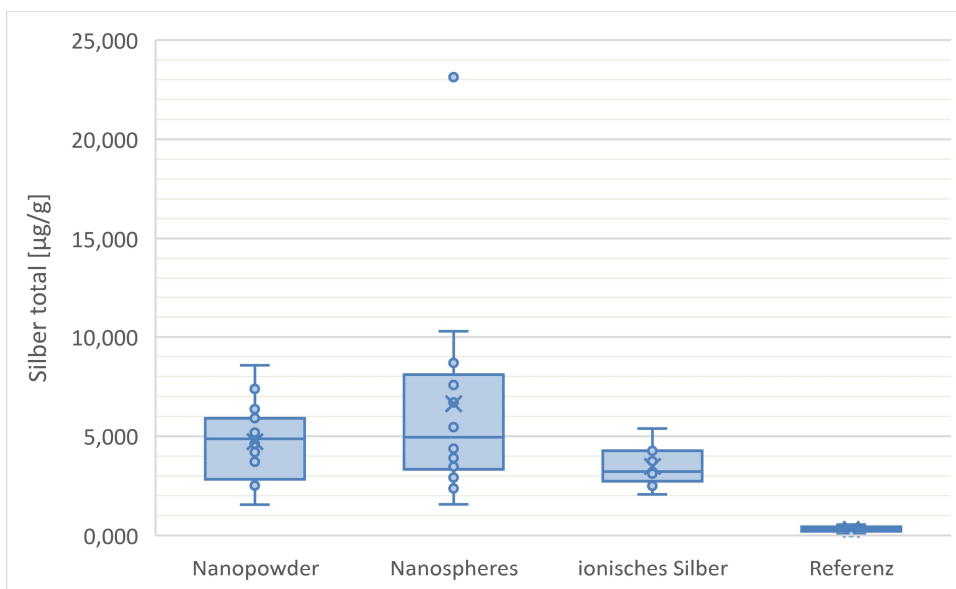


Abbildung 3-4: Totaler Silbergehalt in den Garnelen der einzelnen Mesokosmen. Mittelwerte sind durch kreuze gekennzeichnet, individuelle Datenpunkte sind als blaue Kreise dargestellt. $n = 15$ für Nanopowder und Referenz, $n = 14$ für Nanospheres und ionisches Silber.

3.5.3 Algen - *Cladophora aegagropila*

Die Analysen der exponierten Algenproben zeigte, dass sich auch in den *C. aegagropila* unabhängig von der Form der Zugabe Silber angereichert hat. Die Mittelwerte aller drei belasteten Mesokosmen liegen mit 1,29, 1,42 und 1,40 µg/g für

Nanopowder, Nanospheres und ionischem Silber nah beisammen. *C.aegagropila* im Referenzmesokosmos weisen mit einem Mittelwert von 0,16 µg/g eine deutlich niedrigere Silberkonzentration auf. Mittelwerte und Standardabweichungen der Silberbelastung der Algen finden sich in Abbildung 3-5.

Die statistische Datenanalyse konnte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Silberkonzentrationen der belasteten Mesokosmen feststellen aber bestätigte signifikante Unterschiede zwischen den belasteten Mesokosmen und dem Referenzmesokosmos.

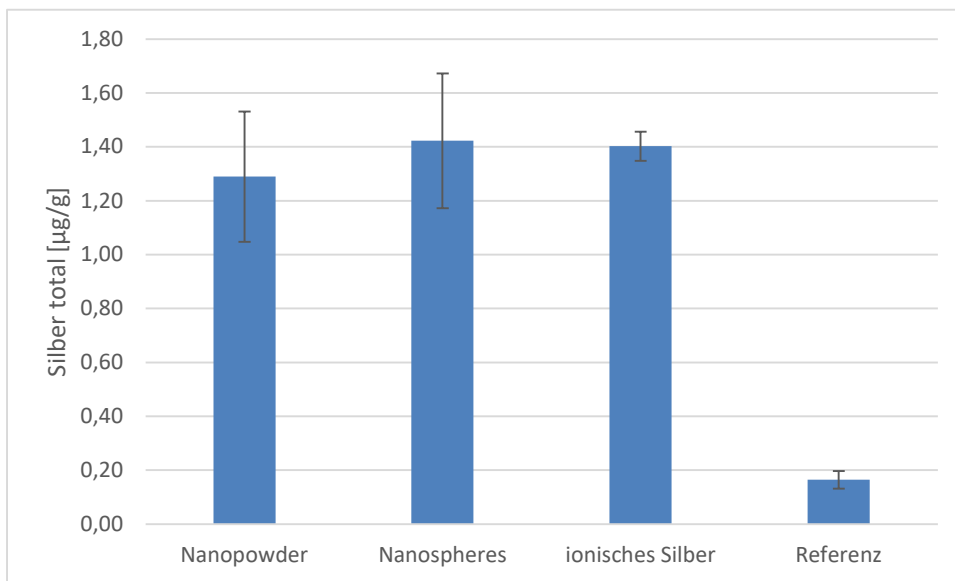


Abbildung 3-5: Totaler Silbergehalt (MW ± STAW) in *C. aegagropila* der einzelnen Mesokosmen nach 8 Wochen (n = 3).

3.5.4 Wasser

Von zwölf gemessenen Proben (jeweils ein Triplikat pro Mesokosmos) lieferte nur eine einzige einen Wert über der Nachweisgrenze für gelöstes Silber. Diese Probe stammte aus dem mit Nanospheres belastetem Mesokosmos und lag mit 0,062 µg/L nur sehr knapp über der Nachweisgrenze von 0,06 µg/L. Damit liegen die Mittelwerte des Gehalts an gelöstem Silber aller Mesokosmen unter der Nachweisgrenze. Auch bei den Mittelwerten des totalen Silbergehalts liegt neben dem des Referenzmesokosmos auch der des mit ionischem Silber versetzten Mesokosmos unter der Nachweisgrenze. Die Mesokosmen mit Nanopowder und Nanospheres lieferten einen totalen Silbergehalt von $0,089 \pm 0,005$ und $0,287 \pm 0,004$ µg/L (MW ± STAW)

3.6 Bioakkumulationsfaktor (BAF)

Die berechneten mittleren Bioakkumulationsfaktoren sind in Tabelle 3-5 zusammengefasst. Auffallend ist, dass die Bioakkumulationsfaktoren des ionischen Silbers deutlich höher sind als die der anderen Silberspezies. Außerdem sind alle berechneten BAF des Nanopowders höher als die der Nanospheres.

BAF	Nanopowder	Nanospheres	ionisches Silber
Garnelen/Sediment	59,75	39,83	211,25
Algen/Sediment	16,34	8,55	85,32
Garnelen/Wasser	52,80	23,07	> 116

Tabelle 3-5: Bioakkumulationsfaktoren für Silber in den Garnelen/Algen im Vergleich zur Silberkonzentration im Sediment/Wasser. Da die Konzentration des ionischen Silbers im Wasser nach Ende des Versuchs unter der Nachweisgrenze lag, wird für den BAF hier nur eine untere Grenze angegeben.

4 Diskussion

Der Verlauf der Silberkonzentration während des Experiments war trotz vieler Gemeinsamkeiten im Versuchsaufbau deutlich unterschiedlich zu dem von Eiser (2023). Worauf diese Unterschiede zurückzuführen sind, ist nicht endgültig klar, aber ein Grund dafür könnte die Anwesenheit der Garnelen sein oder auch die der *C. aegagropila* die dafür bekannt sind Verunreinigungen in Aquarien aufzunehmen (Stefan Kornobis, n.d.).

Die Messwerte der Silberkonzentration in den mit Ag-NP belasteten Mesokosmen schwanken teilweise sehr stark, was sich in den hohen Standardabweichungen widerspiegelt. Besonders extrem sind die Schwankungen im Sediment des mit Nanospheres belasteten Mesokosmos mit einer Standardabweichung von 0,114 µg/g bei einem Mittelwert von 0,166 µg/g (siehe Abbildung 3-2). Auch die Standardabweichung der Messung von Sediment und Algen des Nanopowdermesokosmos sind um eine Zehnerpotenz größer als die der Messungen im Mesokosmos mit ionischem Silber. Grund dafür könnten Partikelkonglomerate in den Proben sein, die für eine ungleiche Verteilung des Silbers sorgen. Die Bildung von solchen Konglomeraten wird in der Literatur wiederholt beschrieben und war deshalb durchaus zu erwarten (Bundschuh et al., 2018; Huynh & Chen, 2011; Milne et al., 2017; Tejamaya et al., 2012).

4.1 Verteilung des Silbers im Mesokosmos

Vergleicht man die Verteilung des Silbers in den einzelnen Mesokosmen, findet man Werte, die sich mit anderen Studien vergleichen lassen. Im Mesokosmos in den das Nanopowder eingebracht wurde lagen am Ende der Versuchsdauer rund 0,30 % des totalen zugesetzten Silbers im Wasser vor und rund 0,20 % in den Garnelen. Im mit Nanospheres belasteten Mesokosmos lagen rund 0,96 % des totalen zugesetzten Silbers am Ende der Versuchsdauer im Wasser vor und in den Garnelen waren es rund 0,21 %. Auch wenn in beiden Mesokosmen der Großteil des Silbers nicht wiedergefunden werden konnte, sieht man doch, dass sich das Verhältnis zwischen Silber im Wasser und in den Garnelen in den beiden Mesokosmen unterscheidet. Die Bioakkumulationsfaktoren (BAF) zwischen diesen beiden Kompartimenten von 52,80

beim Nanopowder und 23,07 bei den Nanospheres lassen ebenfalls darauf schließen, dass die Nanospheres etwas stabiler in der wässrigen Phase vorliegen als das Nanopowder beziehungsweise weniger leicht von den Garnelen aufgenommen werden. Im mit ionischem Silber belasteten Mesokosmos lag die Konzentration des Silbers im Wasser am Ende der Versuchsdauer unter der Nachweisgrenze wodurch nur eine Untergrenze für den BAF angegeben werden kann, diese ist aber mit 115,76 mehr als doppelt so groß wie der BAF des Nanopowders. Dieser Unterschied ist auch bei der Verteilung des Silbers nach Versuchsende sichtbar. So lagen rund 1,66 % des totalen zugesetzten Silbers in den Garnelen vor und auch der BAF zwischen Garnelen und Sediment des ionischen Silbers ist mit 211,25 um ein Vielfaches größer als der der Ag-NP.

Dass die Silberkonzentration des Wassers im Mesokosmos, der mit ionischem Silber belastet wurde, nach der Versuchsdauer unter der Nachweisgrenze lag, wirkt auf den ersten Blick überraschend, lässt sich aber vermutlich durch die geringere Konzentration der Silberzugabe und die Bildung von schlecht löslichem AgCl erklären (Levard, Mitra, et al., 2013). Nachdem das Nanopowder schon während der Lösungsvorbereitung Sedimentation gezeigt hat, der mit Ultraschallbehandlung entgegengewirkt wurde, waren die niedrigen Konzentrationen im Wasser zu erwarten, die insgesamt sehr niedrigen gemessenen Konzentrationen eine Stunde nach der Silberzugabe sind trotzdem schwer nachzuvollziehen.

Allgemein wird in der Literatur davon ausgegangen, dass der Großteil des eingetragenen Silbers im Sediment wiedergefunden werden kann. So fanden Lowry et al. (2012) in ihrer Langzeitstudie zum Verhalten von PVP-coated Ag-NPs in Süßwassermesokosmen, nach 18 Monaten rund 68 % des zugesetzten Silbers im Boden und Sediment. Zwischen 3 % und 0,2 % des totalen Silbers verteilte sich in den Pflanzen und nur 0,03 % im Wasser der Mesokosmen. Noch näher am Versuch dieser Arbeit ist die Studie von Jiang et al. (2017). Hier wurde die Verteilung und Toxizität von Ag-NPs bei einer Konzentration von 500 µg/L in Mikrokosmen mit Fischen und Schnecken untersucht. Ähnlich wie in der vorliegenden Arbeit wurde ein Mikrokosmos mit der selben Konzentration an AgNO₃ als Vergleich verwendet. Nach 90 Tagen Versuchsdauer wurden nur ungefähr 3 % des totalen Silbers in Wasser gefunden unabhängig davon, ob der Mikrokosmos mit Ag-NP

oder AgNO_3 behandelt wurde. Rund 37 % und 33 %, für jeweils Ag-NP und AgNO_3 , des zugesetzten Silbers wurden im Sediment gefunden. Die Ergebnisse von Jiang et al. (2017) sind damit konsistent mit denen von Lowry et al. (2012) in der oben beschriebenen Studie aber auch mit Ergebnissen anderer Studien wie zum Beispiel denen von Furtado et al. (2015) aus ihrer Studie zum Verhalten von PVP- und Citrat-coated Ag-NP in Mesokosmen in einem nordischen Seeökosystem, oder denen der Mesokosmen Studie von Bradford et al. (2009) zum Effekt von Ag-NPs auf die genetische Vielfalt von Bakterien in Mündungssedimenten. Auch Echavarri-Bravo et al. (2015) lieferten ähnliche Ergebnisse in ihrer Studie zum Effekt von Ag-NPs auf den Metabolismus von Bakterien im Meeressediment. Betrachtet man die Verteilung des Silbers im Wasser und in den Versuchsorganismen dieser Studien, findet man Überschneidungen mit den Ergebnissen dieser Arbeit und kann vermuten, dass auch hier das Sediment das am meisten belastete Kompartiment war.

Die in dieser Arbeit verwendete Art der Silbermessung, Aufschluss durch halbkonzentrierte HNO_3 und anschließende Messung mittels Graphitrohr-Atomabsorptionsspektroskopie (GF-AAS), ließ keine Unterscheidung zwischen an die Garnelen adsorbierten Silberspezies und in den Organismus aufgenommenen Silber zu. Demnach kann man nicht ausschließen, dass beide Vorgänge zur Silberkonzentration in den Garnelenproben beigetragen haben. Es konnten zwar keine vergleichbaren Studien gefunden werden, die die Aufnahme von Silber aus der Umwelt bei Garnelen genauer beleuchtet, dennoch gibt es Berichte über verschiedene Aufnahmemechanismen anderer aquatischer Lebewesen.

Janes & Playle haben untersucht wie sich verschiedene Wasserparameter auf die Silberaufnahme der Kiemen der Regenbogenforelle auswirken. Sie beschreiben, dass bei einer Cl^- Konzentration von 400 mg/L die Aufnahme von Silber in die Kiemen verhindert wird und dass auch der Gehalt an gelöstem organischem Kohlenstoff einen Einfluss auf die Bindungsstellen in den Kiemen hat. So wird laut ihren Ergebnissen ab einer DOC-Konzentration von 24,2 mg/L kein Silber mehr über die Kiemen aufgenommen (Janes & Playle, 1995). Beide Werte wurden bei dieser Arbeit weit unterschritten, weshalb man eine Silberaufnahme über die Kiemen der Garnelen nicht ausschließen kann. Griscom et al. kamen in ihrer Studie (2002) zur Bioakkumulation von Ag, Cd und Co in

baltischen Plattmuscheln, zu dem Schluss, dass der Großteil des Silbers in den Muscheln über die Nahrung aufgenommen wurde. Sie erklären das unter anderem durch die höhere Anreicherung von Metallen in Algen im Vergleich zum Sediment. Diese Ergebnisse legen nahe, dass auch in diesem Versuch die Silberaufnahme über die Nahrung, vor allem durch kontaminierte Algen und Biofilm, einen Beitrag zum Silbergehalt der Garnelen geleistet hat. Besonders in der Fraktion des ionischen Silbers, das sich um einiges stärker in den Algen und den Garnelen angereichert hat als im Sediment, was durch die hohen BAFs ersichtlich ist.

Forsythe et al. kamen bei ihrer Versuchsreihe zum Silbertransfer in der Nahrungskette zu dem Schluss, dass *Daphnia magna* Silber hauptsächlich aus dem Wasser bioakkumuliert und nicht aus kontaminierter Nahrung (Forsythe et al., 1996). In dieser Versuchsreihe wurde allerdings nicht mit Silbernanopartikeln gearbeitet, sondern nur mit ionischem Silber das in Form von $\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$ zugegeben wurde.

Wie weit man von diesen Ergebnissen auf die Silberaufnahme von *N. davidi* schließen kann, welchen Einfluss die Silbernanopartikel auf die Art der Aufnahme hatten und wie groß der Beitrag, der an die Oberfläche der Garnelen adsorbierten Partikeln zur Silberkonzentration in den Garnelenproben war, kann nicht sicher gesagt werden und würde weitere Untersuchungen zur Klärung benötigen.

Die Silberkonzentrationen der Garnelen im mit ionischem Silber belasteten Mesokosmos sind zwar signifikant niedriger als die in den Mesokosmen mit Ag-NP doch trotzdem nicht so niedrig wie man es bei einer um eine Zehnerpotenz niedrigeren Dosis erwarten könnte. Die bessere Bioverfügbarkeit von ionischem Silber könnte die Erklärung dafür liefern. Die hohen BAFs des ionischen Silbers, die Silberkonzentration unter der Nachweisgrenze des Wassers nach Ende des Versuchs und der Umstand, dass ~ 1,65 % des zugesetzten Silbers, im Vergleich zu ~ 0,20 % und ~ 0,21 % bei Nanopowder und Nanospheres, in den Garnelen wiedergefunden wurde, zeigen, dass mehr des zugesetzten Silbers einen Weg in oder an die Garnelen gefunden hat als das bei den Ag-NP der Fall war.

4.2 Bioakkumulation

Vergleicht man die Bioakkumulationsfaktoren der beiden Ag-NP fällt auf, dass alle drei berechneten Faktoren für die Nanospheres niedriger sind als für das Nanopowder. Obwohl das Nanopowder schon in den Vorratslösungen Sedimentation gezeigt hat deuten die BAFs darauf hin, dass sich verhältnismäßig mehr Silber der Nanospheres im Sediment angereichert hat. Ein Grund dafür könnte die höhere Stabilität und damit niedrigere Bioverfügbarkeit durch das PVP-coating der Nanospheres sein (Milne et al., 2017; Tejamaya et al., 2012). Eine andere Erklärung könnte die starke Konglomeratbildung des Nanopowders und die damit unregelmäßige Verteilung im Sediment sein wodurch die Messwerte aus dem Sedimentproben kein vollständiges Bild des Silbergehalts im Sediment liefern konnten. Solche Nanopowderkonglomerate könnten sich auch stärker an den Aquariumswänden festgesetzt haben als die PVP-coated Nanospheres und so der Messung entgangen sein. Betrachtet man den Unterschied zwischen den BAFs des ionischen Silbers und der Ag-NP sieht man, dass beide berechneten BAFs beim ionischen Silber um ein Vielfaches größer ausfallen. Das ionische Silber akkumulierte also stärker in den Garnelen und Algen als im Sediment.

Der große Unterschied der BAFs deutet auf eine höhere Bioverfügbarkeit des ionischen Silbers hin und könnte sich durch die unterschiedliche Löslichkeit der Silberspezies erklären lassen. Zu einer ähnlichen Vermutung kommt auch Ratte in seiner Review zur Bioakkumulation und Toxizität von Silberverbindungen (1999). Laut seinen Analysen scheint der BAF positiv mit der Löslichkeit der Silberspezies zusammenzuhängen. Damit scheint die Löslichkeit einen großen Einfluss auf die Stärke der Bioakkumulation einer Silberspezies zu haben, obwohl sie wie in 1.3.1 beschrieben nicht ausschlaggebend für deren Toxizität ist. Folgt man dieser Erklärung, sind die PVP-coated Ag-Nanospheres die am wenigsten bioverfügbare Silberspezies die verwendet wurde. Diese Einschätzung deckt sich auch mit der Literatur in der PVP-coated Ag-NP als relativ stabil im aquatischen Milieu beschrieben werden (Milne et al., 2017; Tejamaya et al., 2012).

Die Verwendung des BAF bei der Untersuchung von Silbernanopartikeln ist nicht sehr weit verbreitet, deswegen sind die Ergebnisse, mit denen die in dieser Arbeit bestimmten BAFs verglichen werden können, nicht sehr ausgiebig (McGeer et al., 2003).

In ihrer Studie zur Verteilung von Silber und Silber-NP in einem Flusssystem in Malaysia bestimmten Mat Lazim et al. (2023) sowohl einen BAF zwischen Fisch und Wasser als auch einen zwischen Fisch und Sediment (in ihrer Arbeit als BSAF bezeichnet). Vergleicht man die Werte des BAF und BSAF von Mat Lazim et al. (2023) mit den Werten dieser Arbeit sieht man, dass sich die Werte durchaus stark unterscheiden, so liegt der BAF für alle bis auf eine Probenahmestelle im Tausenderbereich, also eine Größenordnung höher als in dieser Arbeit, und der BSAF eine Größenordnung niedriger als die Vergleichswerte dieser Arbeit. Diese Unterschiede liegen vermutlich an den unterschiedlichen Versuchsorganismen und daran, dass diese Arbeit eine Mesokosmenstudie war, während Mat Lazim et al. (2023) direkt am Flusssystem geforscht haben.

Die Arbeit von McGeer et al. (2003) beschäftigt sich mit der theoretischen und praktischen Grundlage für die Verwendung des BAF zur Gefahrenanalyse von verschiedenen Metallen. Dabei wurden unter anderem auch BAF Werte für Silber aus der Literatur gesammelt und verglichen. Auch wenn die Menge an gefundenen Daten zu Silber eher gering ausfällt sieht man wie unterschiedlich die gefundenen Werte sind. Unter Berücksichtigung aller Werte kommen McGeer et al. auf einen mittleren BAF von 1233 mit einer STAW von 2338. Unter Beschränkung der Werte auf eine Silberbelastung von 0,4 – 0,5 µg/L reduziert sich die Abweichung und man erhält einen mittleren BAF von 884 mit einer STAW von 484 (McGeer et al., 2003). Unter diesen Gesichtspunkten ist der Unterschied von Mat Lazim et al. (2023) zu dieser Arbeit nicht weiter verwunderlich.

Die Daten zeigen, dass es zwischen den beiden Typen von Silbernanopartikeln keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung des Silbers im Mesokosmos und auch nicht in der Höhe der Silberkonzentration gibt. Wie oben beschrieben gibt es zwar einen signifikanten Unterschied zwischen Ag-NP und ionischem Silber was die Konzentration in den Garnelen anbelangt aber für die Konzentration im Sediment und in den Algen hat die statistische Datenauswertung keine signifikanten Unterschiede ergeben.

Diese Arbeit zeigt, wie auch wiederholt in der Literatur gefordert, dass es viel weitere Forschung zum Thema Toxizität und Verhalten von Silbernanopartikeln in aquatischen

Ökosystemen braucht, um diese komplexen und potenziell hoch toxischen Stoffe zu verstehen. Hoffentlich konnte diese Arbeit einen kleinen Beitrag dazu leisten.

5 Literatur

- Alexander, J. W. (2009). History of the medical use of silver. In *Surgical Infections* (Vol. 10, Issue 3, pp. 289–292). <https://doi.org/10.1089/sur.2008.9941>
- Bard, C. C., Murphy, J. J., Stone, D. L., & Terhaar, C. J. (1976). *Silver in Photoprocessing Effluents* (Vol. 48, Issue 2).
- BfR. (2009). *BfR rät von Nanosilber in Lebensmitteln und Produkten des täglichen Bedarfs ab - Stellungnahme Nr. 024/2010 des BfR vom 28. Dezember 2009*.
- Blaser, S. A., Scheringer, M., MacLeod, M., & Hungerbühler, K. (2008). Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *Science of the Total Environment*, 390(2–3), 396–409. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.10.010>
- Boedeker, C. (2010). Global Decline of and Threats to *Aegagropila linnaei*, with Special Reference to the Lake Ball Habit. *BioScience*, 60(3). <https://doi.org/10.1525/bio.2010.60.3.5>
- Bour, A., Mouchet, F., Silvestre, J., Gauthier, L., & Pinelli, E. (2015). Environmentally relevant approaches to assess nanoparticles ecotoxicity: A review. In *Journal of Hazardous Materials* (Vol. 283, pp. 764–777). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.10.021>
- Bradford, A., Handy, R. D., Readman, J. W., Atfield, A., & Mühling, M. (2009). Impact of silver nanoparticle contamination on the genetic diversity of natural bacterial assemblages in estuarine sediments. *Environmental Science and Technology*, 43(12), 4530–4536. <https://doi.org/10.1021/es9001949>
- Bresch, H., Beck, H., Ehlermann, D., Schlaszus, H., & Urbanek, M. (1990). *A Long-Term Toxicity Test Comprising Reproduction and Growth of Zebrafish*. 427, 419–427.
- Bundschuh, M., Filser, J., Lüderwald, S., Mckee, M. S., Metreveli, G., Schaumann, G. E., Schulz, R., & Wagner, S. (2018). Nanoparticles in the environment:

- where do we come from, where do we go to? *Environmental Sciences Europe*, 30, 6. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6>
- Burda, C., Chen, X., Narayanan, R., & El-Sayed, M. A. (2005). Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. In *Chemical Reviews* (Vol. 105, Issue 4, pp. 1025–1102). <https://doi.org/10.1021/cr030063a>
- Caquet, T. (2002). Use of aquatic mesocosms in ecotoxicology: State of the art and perspectives. In *CI* (Vol. 37).
- Carboni, A., Slomberg, D. L., Nassar, M., Santaella, C., Masion, A., Rose, J., & Auffan, M. (2021). Aquatic Mesocosm Strategies for the Environmental Fate and Risk Assessment of Engineered Nanomaterials. In *Environmental Science and Technology* (Vol. 55, Issue 24, pp. 16270–16282). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c02221>
- CCME. (2015). *Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life - Silver 2015*.
- Christie, T., & Brathwaite, B. (2007). *Mineral Commodity Report 13-Silver Discovery and Origin of Names*.
- Dang, F., Huang, Y., Wang, Y., Zhou, D., & Xing, B. (2021). Transfer and toxicity of silver nanoparticles in the food chain. In *Environmental Science: Nano* (Vol. 8, Issue 6, pp. 1519–1535). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d0en01190h>
- Danielsson, L. G. (1982). On the use of filters for distinguishing between dissolved and particulate fractions in natural waters. *Water Research*, 16(2), 179–182. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(82\)90108-7](https://doi.org/10.1016/0043-1354(82)90108-7)
- Echavarri-Bravo, V., Paterson, L., Aspray, T. J., Porter, J. S., Winson, M. K., Thornton, B., & Hartl, M. G. J. (2015). Shifts in the metabolic function of a benthic estuarine microbial community following a single pulse exposure to silver nanoparticles. *Environmental Pollution*, 201, 91–99. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2015.02.033>

- Eiser, M. (2023). *“Silver Nanoparticles in the Aquatic Environment-Assessing Uptake and Accumulation in the Aquatic Macrophyte *Myriophyllum spicatum* under Environmentally Relevant Conditions.”*
- Europäische Kommission. (2011). *EMPFEHLUNG DER KOMMISSION vom 18. Oktober 2011 zur Definition von Nanomaterialien (Text von Bedeutung für den EWR)*.
http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/
- Europäische Kommission. (2014). Are silver nanoparticles safe? *Science Fact Sheets*.
- Fijalkowski, K., Rorat, A., Grobelak, A., & Kacprzak, M. J. (2017). The presence of contaminations in sewage sludge – The current situation. *Journal of Environmental Management*, 203, 1126–1136.
<https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2017.05.068>
- Forsythe, B. L. I., La Point, T. W., Cobb, G. P., & Klaine, S. J. (1996). Silver in an experimental freshwater ecosystem. Proceedings. *4th Ar- Gentum International Conference on the Transport, Fate, and Effects Of Silver in the Environment*, 185–189.
- Furtado, L. M., Norman, B. C., Xenopoulos, M. A., Frost, P. C., Metcalfe, C. D., & Hintelmann, H. (2015). Environmental Fate of Silver Nanoparticles in Boreal Lake Ecosystems. *Environmental Science and Technology*, 49(14), 8441–8450.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01116>
- Geranio, L., Heuberger, M., & Nowack, B. (2009). The behavior of silver nanotextiles during washing. *Environmental Science and Technology*, 43(21), 8113–8118. <https://doi.org/10.1021/es9018332>
- Griscom, S. B., Fisher, N. S., & Luoma, S. N. (2002). Kinetic modeling of Ag, Cd and Co bioaccumulation in the clam *Macoma balthica*: quantifying dietary and dissolved sources. *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES*, 240, 127–141.

- Hamilton, J. F. (1988). The silver halide photographic process. *Advances in Physics*, 37(4), 359–441. <https://doi.org/10.1080/00018738800101399>
- Hellmeier, P. (2022). *Wichtige Wasserinhaltsstoffe. Stadt Wien, Magistratsabteilung 31 - Wiener Wasser.*
- Holden, P. A., Gardea-Torresdey, J. L., Klaessig, F., Turco, R. F., Mortimer, M., Hund-Rinke, K., Cohen Hubal, E. A., Avery, D., Barceló, D., Behra, R., Cohen, Y., Deydier-Stephan, L., Ferguson, P. L., Fernandes, T. F., Herr Harthorn, B., Henderson, W. M., Hoke, R. A., Hristozov, D., Johnston, J. M., ... Nel, A. E. (2016). Considerations of Environmentally Relevant Test Conditions for Improved Evaluation of Ecological Hazards of Engineered Nanomaterials. In *Environmental Science and Technology* (Vol. 50, Issue 12, pp. 6124–6145). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00608>
- Hu, X. L., Niu, J. J., Meng, Q., Chai, Y. H., Chu, K. H., & Chan, K. M. (2019). Effects of two juvenile hormone analogue insecticides, fenoxycarb and methoprene, on *Neocaridina davidi*. *Environmental Pollution*, 253, 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.120>
- Huynh, K. A., & Chen, K. L. (2011). *Aggregation Kinetics of Citrate and Polyvinylpyrrolidone Coated Silver Nanoparticles in Monovalent and Divalent Electrolyte Solutions*. <https://doi.org/10.1021/es200157h>
- Jabłońska, A., Mamos, T., Gruszka, P., Szlauer-Łukaszewska, A., & Grabowski, M. (2018). First record and DNA barcodes of the aquarium shrimp, *Neocaridina davidi*, in Central Europe from thermally polluted River Oder canal, Poland. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 2018-January(419). <https://doi.org/10.1051/kmae/2018004>
- Janes, N., & Playle, R. C. (1995). Modeling silver binding to gills of rainbow trout. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14(11), 1847–1858.
- Jiang, H. S., Yin, L., Ren, N. N., Xian, L., Zhao, S., Li, W., & Gontero, B. (2017). The effect of chronic silver nanoparticles on aquatic system in microcosms.

Environmental Pollution, 223, 395–402.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.036>

Judy, J. D., McNear, D. H., Chen, C., Lewis, R. W., Tsyusko, O. V., Bertsch, P. M., Rao, W., Stegemeier, J., Lowry, G. V., McGrath, S. P., Durenkamp, M., & Unrine, J. M. (2015). Nanomaterials in Biosolids Inhibit Nodulation, Shift Microbial Community Composition, and Result in Increased Metal Uptake Relative to Bulk/Dissolved Metals. *Environmental Science and Technology*, 49(14), 8751–8758. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01208>

Kaegi, R., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Mueller, E., Vonbank, R., Boller, M., & Burkhardt, M. (2010). Release of silver nanoparticles from outdoor facades. *Environmental Pollution*, 158(9), 2900–2905. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2010.06.009>

Kalantzi, I., Mylona, K., Toncelli, C., Bucheli, T. D., Knauer, K., Pergantis, S. A., Pitta, P., Tsiola, A., & Tsapakis, M. (2019). Ecotoxicity of silver nanoparticles on plankton organisms: a review. In *Journal of Nanoparticle Research* (Vol. 21, Issue 3). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s11051-019-4504-7>

Klotz, W., Miesen, F. W., Hüllen, S., & Herder, F. (2013). Two Asian fresh water shrimp species found in a thermally polluted stream system in north Rhine-Westphalia, Germany. *Aquatic Invasions*, 8(3), 333–339. <https://doi.org/10.3391/ai.2013.8.3.09>

Kuhn, D. D., Smith, S. A., Boardman, G. D., Angier, M. W., Marsh, L., & Flick, G. J. (2010). Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. *Aquaculture*, 309(1–4), 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.014>

Lekamge, L. R. S. K. (2019). *Toxicity of silver nanoparticles to selected Australian freshwater biota: influences of coating and age of nanoparticles*.

Levard, C., Hotze, E. M., Colman, B. P., Dale, A. L., Truong, L., Yang, X. Y., Bone, A. J., Brown, G. E., Tanguay, R. L., Di Giulio, R. T., Bernhardt, E. S., Meyer, J. N.,

- Wiesner, M. R., & Lowry, G. V. (2013). Sulfidation of silver nanoparticles: Natural antidote to their toxicity. *Environmental Science and Technology*, 47(23), 13440–13448. <https://doi.org/10.1021/es403527n>
- Levard, C., Mitra, S., Yang, T., Jew, A. D., Badireddy, A. R., Lowry, G. V., & Brown, G. E. (2013). Effect of chloride on the dissolution rate of silver nanoparticles and toxicity to *E. coli*. *Environmental Science and Technology*, 47(11), 5738–5745. <https://doi.org/10.1021/es400396f>
- Levard, C., Reinsch, B. C., Michel, F. M., Oumahi, C., Lowry, G. V., & Brown, G. E. (2011). Sulfidation processes of PVP-coated silver nanoparticles in aqueous solution: Impact on dissolution rate. *Environmental Science and Technology*, 45(12), 5260–5266. <https://doi.org/10.1021/es2007758>
- Li, X., Lenhart, J. J., & Walker, H. W. (2010). Dissolution-accompanied aggregation kinetics of silver nanoparticles. *Langmuir*, 26(22), 16690–16698. <https://doi.org/10.1021/la101768n>
- Lightner, D. V., Hasson, K. W., White, B. L., & Redman, R. M. (1996). Chronic toxicity and histopathological studies with Benlate®, a commercial grade of benomyl, in *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Aquatic Toxicology*, 34(2), 105–118. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(95\)00034-2](https://doi.org/10.1016/0166-445X(95)00034-2)
- Liu, J., Pennell, K. G., & Hurt, R. H. (2011). Kinetics and mechanisms of nanosilver oxysulfidation. *Environmental Science and Technology*, 45(17), 7345–7353. <https://doi.org/10.1021/es201539s>
- Lowry, G. V., Espinasse, B. P., Badireddy, A. R., Richardson, C. J., Reinsch, B. C., Bryant, L. D., Bone, A. J., Deonaraine, A., Chae, S., Therezien, M., Colman, B. P., Hsu-Kim, H., Bernhardt, E. S., Matson, C. W., & Wiesner, M. R. (2012). Long-term transformation and fate of manufactured Ag nanoparticles in a simulated large scale freshwater emergent wetland. *Environmental Science and Technology*, 46(13), 7027–7036. <https://doi.org/10.1021/es204608d>
- Mat Lazim, Z., Salmiati, S., Marpongahtun, M., Arman, N. Z., Mohd Haniffah, M. R., Azman, S., Yong, E. L., & Salim, M. R. (2023). Distribution of Silver (Ag) and

- Silver Nanoparticles (AgNPs) in Aquatic Environment. *Water (Switzerland)*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/w15071349>
- McGeer, J. C., Brix, K. V., Skeaff, J. M., DeForest, D. K., Brigham, S. I., Adams, W. J., & Green, A. (2003). Inverse relationship between bioconcentration factor and exposure concentration for metals: Implications for hazard assessment of metals in the aquatic environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(5), 1017–1037. <https://doi.org/10.1002/etc.5620220509>
- M.D. Guiry. (2023, September 26). *AlgaeBase*. M.D. Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 26 September 2023. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; Searched on 21 August 2024.
- Milne, C. J., Lapworth, D. J., Gooddy, D. C., Elgy, C. N., & Valsami-Jones, E. (2017). *Role of humic acid in the stability of Ag nanoparticles in sub-oxic conditions*. <http://pubs.acs.org>
- Moore, M. N. (2006). Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment International*, 32(8), 967–976. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.06.014>
- Nabi, M. M., Wang, J., Meyer, M., Croteau, M. N., Ismail, N., & Baalousha, M. (2021). Concentrations and size distribution of TiO₂ and Ag engineered particles in five wastewater treatment plants in the United States. *Science of The Total Environment*, 753, 142017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142017>
- Padhye, L. P., Jasemizad, T., Bolan, S., Tsyusko, O. V., Unrine, J. M., Biswal, B. K., Balasubramanian, R., Zhang, Y., Zhang, T., Zhao, J., Li, Y., Rinklebe, J., Wang, H., Siddique, K. H. M., & Bolan, N. (2023). Silver contamination and its toxicity and risk management in terrestrial and aquatic ecosystems. In *Science of the Total Environment* (Vol. 871). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161926>

- Pulit-Prociak, J., & Banach, M. (2016). Silver nanoparticles - A material of the future...? *Open Chemistry*, 14(1), 76–91. <https://doi.org/10.1515/chem-2016-0005>
- Purcell, T. W., & Peters, J. J. (1998). Sources of silver in the environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(4), 539–546. <https://doi.org/10.1002/etc.5620170404>
- Ratte, H. T. (1999). Annual Review BIOACCUMULATION AND TOXICITY OF SILVER COMPOUNDS: A REVIEW. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(1), 89–108. <https://doi.org/10.1002/etc.5620180112>
- Riedel, E., & Janiak, C. (2007). *Anorganische Chemie, 7. Auflage*.
- Romo Quiñonez, C. R., Alvarez-Ruiz, P., Mejía-Ruiz, C. H., Bogdanchikova, N., Pestryakov, A., Gamez-Jimenez, C., Valenzuela-Quíñonez, W., Montoya-Mejía, M., & Pérez, E. N. (2022). Chronic toxicity of shrimp feed added with silver nanoparticles (Argovit-4r) in *Litopenaeus vannamei* and immune response to white spot syndrome virus infection. *PeerJ*, 10. <https://doi.org/10.7717/peerj.14231>
- Solomon, K. R., & Hanson, M. (2014). Mesocosms and Microcosms (Aquatic). In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition* (pp. 223–226). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00568-6>
- Sprague, J. B. (1969). Measurement of pollutant toxicity to fish I.* Bioassay methods for acute toxicity. *Fisheries Research*, 3, 793–821.
- StatNano. (2024). *Nanotechnology Products Database*. <https://Product.Statnano.Com/>.
- Stefan Kornobis. (n.d.). *Zierfischforum.at - Cladophora aegagrophila*. <https://www.zierfischforum.at/Magazin/Lesecke/Cladophora-Aegagrophila.html>, Last Viewed on 29.10.2024. Retrieved October 29, 2024, from <https://www.zierfischforum.at/magazin/lesecke/cladophora-aegagrophila.html>

- Tejamaya, M., Römer, I., Merrifield, R. C., & Lead, J. R. (2012). Stability of citrate, PVP, and PEG coated silver nanoparticles in ecotoxicology media. *Environmental Science and Technology*, 46(13), 7011–7017.
<https://doi.org/10.1021/es2038596>
- Temizel-Sekeryan, S., & Hicks, A. L. (2020). Global environmental impacts of silver nanoparticle production methods supported by life cycle assessment. *Resources, Conservation and Recycling*, 156.
<https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104676>
- The Silver Institute. (2000). *World Silver Survey 2000*.
- The Silver Institute. (2024). *World Silver Survey 2024*.
- US Geological Survey. (2024). *Mineral Commodity Summaries 2024*.
<https://www.silverinstitute.org/wp-content/uploads/2023/04/World-Silver-Survey-2023.pdf>.
- US Geological Survey, & Minerals Information Team. (2004). *SILVER (Data in metric tons 1 of silver content, unless otherwise noted)*.
- Wang, T., & Liu, W. (2022). *Environmental Science Nano CRITICAL REVIEW Emerging investigator series: metal nanoparticles in freshwater: transformation, bioavailability and effects on invertebrates †*.
<https://doi.org/10.1039/d2en00052k>
- Weber, S., & Traunspurger, W. (2016). Influence of the ornamental red cherry shrimp *Neocaridina davidi* (Bouvier, 1904) on freshwater meiofaunal assemblages. *Limnologica*, 59, 155–161.
<https://doi.org/10.1016/j.limno.2016.06.001>
- WHO. (2021). *Silver in drinking-water Background document for development of*.
<http://apps.who.int/bookorders>.
- Zhang, W., Xiao, B., & Fang, T. (2018). Chemical transformation of silver nanoparticles in aquatic environments: Mechanism, morphology and toxicity.

Chemosphere, 191, 324–334.

<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.10.016>

6 Anhang

<i>Parameter</i>	<i>Mesokosmos</i>	<i>Woche 1</i>	<i>Woche 6</i>	<i>Unterschied [%]</i>
<i>Leitfähigkeit [$\mu\text{S}/\text{cm}$]</i>	Referenz	426,6	458,3	+7,43
	Nanopowder	425,4	434,7	+2,19
	Nanospheres	427,3	437,7	+2,43
	Ionisches Ag	429,4	421,5	-1,84
<i>pH</i>	Referenz	8,42 $\pm$ 0,017	8,62	+2,37
	Nanopowder	8,42 $\pm$ 0,017	9,00	+6,89
	Nanospheres	8,42 $\pm$ 0,017	8,69	+3,21
	Ionisches Ag	8,42 $\pm$ 0,017	8,59	+2,02
<i>Mg²⁺ [mg/L]</i>	Referenz	18,15 $\pm$ 0,284	17,91	-1,34
	Nanopowder	18,15 $\pm$ 0,284	16,88	-7,01
	Nanospheres	18,15 $\pm$ 0,284	16,28	-10,28
	Ionisches Ag	18,15 $\pm$ 0,284	16,89	-6,91
<i>Ca²⁺ [mg/L]</i>	Referenz	53,83 $\pm$ 1,16	62,41	+15,93
	Nanopowder	53,83 $\pm$ 1,16	57,64	+7,07
	Nanospheres	53,83 $\pm$ 1,16	60,39	+12,17
	Ionisches Ag	53,83 $\pm$ 1,16	54,00	+0,31
<i>K⁺ [mg/L]</i>	Referenz	3,45 $\pm$ 0,050	2,88	-16,58
	Nanopowder	3,45 $\pm$ 0,050	2,69	-21,97
	Nanospheres	3,45 $\pm$ 0,050	2,72	-21,28
	Ionisches Ag	3,45 $\pm$ 0,050	2,44	-29,25
<i>Na⁺ [mg/L]</i>	Referenz	9,01 $\pm$ 0,228	8,98	-0,34
	Nanopowder	9,01 $\pm$ 0,228	8,87	-1,52
	Nanospheres	9,01 $\pm$ 0,228	8,60	-4,58
	Ionisches Ag	9,01 $\pm$ 0,228	8,82	-2,11

<i>Cl⁻ [mg/L]</i>	Referenz	14,74 ± 0,046	14,40	-2,34
	Nanopowder	14,74 ± 0,046	14,18	-3,81
	Nanospheres	14,74 ± 0,046	13,67	-7,25
	Ionisches Ag	14,74 ± 0,046	13,93	-5,53
<i>SO₄²⁻ [mg/L]</i>	Referenz	35,52 ± 0,066	33,91	-4,56
	Nanopowder	35,52 ± 0,066	33,51	-5,68
	Nanospheres	35,52 ± 0,066	32,23	-9,28
	Ionisches Ag	35,52 ± 0,066	32,93	-7,31
<i>NO₃⁻ [mg/L]</i>	Referenz	4,19 ± 0,533	4,10	-2,06
	Nanopowder	4,19 ± 0,533	3,42	-18,48
	Nanospheres	4,19 ± 0,533	3,64	-13,16
	Ionisches Ag	4,19 ± 0,533	3,81	-9,05
<i>DOC [mg/L]</i>	Referenz	1,38 ± 0,187	1,54	+11,76
	Nanopowder	1,38 ± 0,187	1,62	+17,70
	Nanospheres	1,38 ± 0,187	1,49	+7,84
	Ionisches Ag	1,38 ± 0,187	1,29	-6,54
<i>TOC [mg/L]</i>	Referenz	2,64 ± 0,332	1,80	-31,75
	Nanopowder	2,64 ± 0,332	1,77	-32,81
	Nanospheres	2,64 ± 0,332	1,74	-34,15
	Ionisches Ag	2,64 ± 0,332	1,55	-41,23
<i>Ionenbilanzfehler [%]</i>	Referenz	-2,81 ± 0,919	-2,21	-21,38
	Nanopowder	-2,81 ± 0,919	-3,41	+21,43
	Nanospheres	-2,81 ± 0,919	-2,24	-20,10
	Ionisches Ag	-2,81 ± 0,919	-3,31	+17,89

Tabelle 6-1: Zusammenfassung der gemessenen physiochemischen Parameter.

Die meisten Werte aus Woche 1 wurden im selben Startmedium gemessen und sind deshalb für alle Mesokosmen gleich.

7 Zusammenfassung

Silber gilt als eines der toxischsten Elemente im aquatischen Milieu. Die weit verbreitete Verwendung von Silbernanopartikeln (Ag-NP) in verschiedenen Anwendungsfeldern und der damit einhergehende Eintrag in die Umwelt macht es notwendig das Verhalten von Ag-NP im aquatischen Milieu gut zu verstehen, um das von ihnen ausgehende Umweltrisiko richtig einschätzen zu können. Wichtige Kriterien für ihre ökotoxikologische Einordnung sind unter anderem ihre Verteilung im Ökosystem und ihre Akkumulation in Pflanzen und Tieren. In dieser Arbeit wurde die Verteilung zweier Ag-NP und ionischem Silber in aquatischen Ökosystemen und ihre subakute Toxizität gegenüber der Süßwassergarnele *Neocaridina davidi* in einer sechswöchigen Mesokosmenstudie untersucht. Um eine Balance zwischen realistischer Umweltbelastung und ausreichender analytischer Empfindlichkeit zu finden, wurde für die beiden Ag-NP wurde eine nominale Exposition von 30 µg/L über drei Wochen gewählt. Für das ionische Silber musste eine niedrigere Exposition von 3 µg/L gewählt werden, um während der ganze Versuchsdauer unter der letalen Dosis für die Garnelen zu bleiben. Bei den gewählten Silberkonzentrationen (30 µg/L und 3 µg/L) konnten im Versuchszeitraum keine letal-toxischen Effekte festgestellt werden und die Messungen nach Versuchsende zeigen, dass sich unabhängig von der Form der Zugabe, Silber in/an den Garnelen angereichert hat. Auch wenn die Silberkonzentration in/an den Garnelen, die ionischem Silber ausgesetzt waren signifikant niedriger ist als die der mit Ag-NP belasteten, ist sie doch größer als man von einer um einen Faktor 10 niedrigeren Dosis erwarten würde. Neben diesem Umstand sprechen auch die um ein vielfach niedrigeren Bioakkumulationsfaktoren (BAF) der Ag-NP für eine schlechtere Bioverfügbarkeit der Nanopartikel.

Obwohl der Großteil des zugesetzten Silbers nach Versuchsende nicht wiedergefunden werden konnte, lassen die Messergebnisse und Vergleiche mit anderen Versuchen aus der Literatur vermuten, dass ein großer Teil des Silbers der Ag-NP seinen Weg ins Sediment gefunden hat. Die Ag-NP scheinen sich stärker im Sediment abzusetzen als das ionische Silber aber aufgrund der geringen Anzahl an genommen Proben und der hohen Schwankung der einzelnen Messwerte konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

8 Abstract

Silver is considered one of the most toxic elements in the aquatic environment. The widespread use of silver nanoparticles (Ag-NP) in various fields of application and the associated entry into the environment makes it necessary to understand the behaviour of Ag-NP in the aquatic environment in order to be able to correctly assess the environmental risk they pose. Important criteria for their ecotoxicological classification include their distribution in the ecosystem and their accumulation in plants and animals. In this study, the distribution of two Ag-Np and ionic silver in aquatic ecosystems and their subacute toxicity to the freshwater shrimp *Neocaridina davidi* was investigated in a six-week mesocosm study. To find a balance between realistic environmental exposure and sufficient analytical sensitivity, a nominal exposure of 30 µg/L over three weeks was chosen for the two Ag-NPs. For the ionic silver, a lower exposure of 3 µg/L had to be selected in order to remain below the lethal dose for the shrimp throughout the duration of the experiment. At the selected silver concentrations (30 µg/L and 3 µg/L), no toxic effects were observed during the test period and the measurements after the end of the test show that silver accumulated in the shrimp regardless of the form of addition. Even though the silver concentration in the shrimps exposed to ionic silver is significantly lower than that of those exposed to Ag-NP, it is still higher than would be expected from a dose that is a factor of 10 lower. In addition to this fact, the bioaccumulation factors (BAF) of Ag-NP, which are several times lower, also indicate a poorer bioavailability of the nanoparticles.

Although the majority of the added silver could not be recovered after the end of the experiment, the measurement results and comparisons with other experiments from the literature suggest that a large proportion of the silver from the Ag-NPs found its way into the sediment. The Ag-NPs appear to settle more strongly in the sediment than the ionic silver, but due to the small number of samples taken and the high fluctuation of the individual measured values, no significant difference could be determined.