

Band 59

Schriftenreihe des Lehrstuhls für
Wasserchemie und Wassertechnologie
und der DVGW-Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut
des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

**Wechselwirkungen zwischen anorganischen Nanopartikeln
und Mikroorganismen –
Nutzungs- und Gefährdungspotentiale**

Heiko Schwegmann

Herausgeber
Harald Horn

Karlsruhe 2013

Heiko Schwegmann

Wechselwirkungen zwischen anorganischen Nanopartikeln
und Mikroorganismen – Nutzungs- und Gefährdungspotentiale

Herausgeber: Harald Horn

Band 59

Schriftenreihe des Lehrstuhls für Wasserchemie und Wassertechnologie und der DVGW-
Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)
Karlsruhe 2013

ISSN: 2195-2973

Lehrstuhl für Wasserchemie und Wassertechnologie und DVGW-Forschungsstelle
am Engler-Bunte-Institut des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

Engler-Bunte-Ring 1

D-76131 Karlsruhe

Tel.: +49-(0)721-608-42581

Fax: +49-(0)721-699154

E-mail: ursula.schaefer@kit.edu

<http://wasserchemie.ebi.kit.edu/>

Titelbild: REM-Aufnahme einer Hefezelle mit adsorbierten Eisenoxid-Nanopartikeln auf einer
Membran (0,2 µm).

Dieses Werk wird durch das deutsche Urheberrechtsgesetz und internationale Verträge urheberrechtlich
geschützt. © 2013 Prof. Dr. H. Horn. Alle Rechte vorbehalten. All rights reserved.

**Wechselwirkungen zwischen anorganischen Nanopartikeln
und Mikroorganismen –
Nutzungs- und Gefährdungspotentiale**

zur Erlangung des akademischen Grades eines
DOKTORS DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN (Dr.-Ing.)

der Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte
DISSERTATION

von
Dipl. Ing. Heiko Schwegmann
aus Osnabrück

Referent: Prof. Dr. Fritz H. Frimmel

Korreferent: Prof. Dr. Clemens Posten

Tag der mündlichen Prüfung: 08.02.2013

Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand am Lehrstuhl für Wasserchemie des Engler-Bunte Instituts des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT). Sie wäre jedoch nie ohne die Unterstützung zahlreicher helfender Hände und Ideen entstanden.

An erster Stelle danke ich Prof. Frimmel für die Aufnahme in seiner Arbeitsgruppe und die Möglichkeit zur Promotion. Sie haben mir die Freiheiten gelassen, eigene Ideen einzubringen und durch ihre wertvollen fachlichen Anregungen sie bereichert.

Ebenso möchte ich Herrn Prof. Posten für die freundliche Übernahme des Koreferats danken.

Meinem ersten Bürokollegen und Leidensgenossen Carsten Jobelius danke ich für das gegenseitige Fachverständnis des jeweiligen komplexen Arbeitsgebiets und die heiße Zeit mit Petra. Alexander Kondrakov, mein zweiter Bürokollege, danke ich für die interessanten Diskussionen über das Thema Titandioxid.

Allen derzeitigen und ehemaligen Mitarbeitern und Kollegen danke ich die tolle Arbeitsatmosphäre, besonderen Dank gelten Markus Ziegmann für seine moralischen Ansichten (...eine Gruppe ist ein Stück weit Verantwortung), Markus Delay für die freundliche Überlassung der Silber-Nanopartikel und Uli Metzger für die fachkundige Kneipeneinführung.

Im Rahmen von Studien- und Diplomarbeiten haben zahlreiche Studenten durch ihren Fleiß und eigenen Ideen zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen, daher großen Dank an Matthias Vollmer, Deny Suharyono, Martin Caporgno, Susanne Sattel, Georg Fröhlich, Santiago Onel, Juan Manuel Don, Eric Noucha, Hussein Sahabi, Johannes Ruppert, Jörg Mießner, Ellen Biegert, Pelin Karakas, Patrick Nsakanya, Sebastian Vogt, Sebastian Pfitzenmaier, Elvira Kircher und Daniel Marcato.

Daneben haben die HiWis Elvira Kircher, Ellen Biegert und Tamara Dolt fleißige Arbeit im Labor geleistet.

Ohne weitere technische Unterstützung wären die verschiedenen Messmethoden der Proben nicht möglich gewesen. In diesem Zusammenhang möchte ich mich bei Matthias Weber, Elly Karle, Rafael Peschke, Ulrich Reichert, Axel Heidt und insbesondere bei Reinhard Sembritzki für die vielen ICP-OES Messungen bedanken.

Für die organisatorische Bewältigung des institutionellen Alltags und die Hilfe bei bürokratischen Fragen möchte ich mich bei Sylvia Heck und Dr. Gudrun Abbt-Braun bedanken.

Natürlich haben auch weitere Personen am KIT ein Teil zu diesem Werk beigetragen. Dietmar Pfundstein vom Laboratorium für Elektronenmikroskopie möchte ich für unkomplizierte Erstellung der REM-Aufnahmen und Carsten Eschenbaum vom Lichttechnischen Institut für die Ausleihmöglichkeit der UV-LED danken. Carsten Weiss und Silvia Andraschko vom Institut für Toxikologie und Genetik danke ich für die Anfertigung der TEM-Aufnahmen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) danke ich für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Graduiertenkollegs 366 „Grenzflächenphänomene in aquatischen Systemen und wässrigen Phasen“ und Birgit Gordalla für die hervorragende Organisation dieses Kollegs.

Martin Schilling, Ellen Biegert, Markus Ziegmann und Uli Metzger danke ich für die kritische Durchsicht der Arbeit.

Zu guter letzt möchte ich mich bei meinen Eltern für ihre Unterstützung und Vertrauen während der Promotionszeit bedanken.

1	Einleitung	1
2	Grundlagen	5
2.1	Nanotechnologie.....	5
2.2	Nanopartikel (NP)	6
2.2.1	Silber	6
2.2.2	Eisenoxid.....	6
2.2.3	Siliziumdioxid	6
2.2.4	Titandioxid	6
2.3	Auswirkungen auf die Umwelt	7
2.3.1	Interaktionen mit Mikroorganismen.....	7
2.3.2	Natürliche organische Materie (NOM)	13
2.4	Photokatalytische Desinfektion.....	13
2.4.1	Photokatalyse	13
2.4.2	Desinfektion	14
2.5	Zellwandstruktur von Mikroorganismen (MO).....	16
2.6	Eingesetzte Modell-MO	18
2.6.1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	18
2.6.2	<i>Escherichia coli</i>	18
2.6.3	<i>Pseudomonas putida</i>	18
2.6.4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	18
2.7	Wachstumskurve von MO.....	18
2.8	Elektrostatische Wechselwirkungen (Zetapotential).....	20
2.9	Thermodynamische Betrachtung.....	22
2.9.1	DLVO-Theorie	22
2.9.2	Erweiterte DLVO-Theorie (XDLVO).....	24
2.9.3	Kontaktwinkel	24
2.10	Adsorption	26
2.10.1	Langmuir-Isotherme.....	26
2.11	Analytische Methoden.....	27
2.11.1	Messung des Zetapotentials	27
2.11.2	Messung der Partikelgröße.....	28
3	Material und Methoden	31
3.1	Geräte	31
3.2	Mikroorganismen	31
3.3	Synthese der Nanopartikel	31
3.3.1	Eisenoxid NP	32
3.3.2	Silber NP	32
3.3.3	Siliziumdioxid und Titandioxid	32
3.4	Messung der Massenkonzentration der NP	33
3.5	Bestimmung des Zetapotentials und der Größenverteilung	33
3.5.1	Zetapotential von NP.....	33
3.5.2	Zetapotential von MO	33
3.5.3	Bestimmung des hydrodynamischen Durchmessers der NP.....	33
3.6	Kontaktwinkelmessung	34
3.6.1	Vorbereitung der Proben	34
3.6.2	Messverfahren	35
3.7	Ermittlung von Adsorptionsisothermen	35
3.7.1	Adsorption von NOM an NP.....	35
3.7.2	Adsorption von NP an MO.....	36
3.8	Umgang mit Mikroorganismen	37
3.8.1	Kultivierung	37

3.8.2	Abtötung durch Säure und Base.....	37
3.8.3	Messung der Wachstumskurve mit Hilfe von Mikrotiterplatten.....	37
3.9	Probenvorbereitung für REM Aufnahmen.....	37
3.10	Photokatalytische Umsetzungen.....	38
3.10.1	Bestrahlung im Sonnenlichtsimulator.....	38
3.10.2	Aktinometrie.....	39
3.10.3	Extinktionsmessungen in Anwesenheit von NOM am Photometer.....	40
3.10.4	Bestimmung von OH-Radikalen.....	40
4	Ergebnisse und Diskussion.....	41
4.1	Charakterisierung der NP.....	41
4.1.1	Zetapotential.....	41
4.1.2	Kontaktwinkel.....	43
4.1.3	Größenverteilung.....	43
4.2	Einfluss von Fulvinsäure (FS) auf die NP.....	45
4.2.1.1	Adsorption von FS an SiO ₂	46
4.2.1.2	Adsorption von FS an FeOx.....	47
4.2.1.3	Adsorption von FS an TiO ₂ und Ag.....	48
4.2.1.4	Vergleich mit Literaturwerten.....	49
4.3	Physico-chemische Charakterisierung der MO.....	50
4.4	Einfluss der NP auf die MO.....	51
4.4.1	Methodenentwicklung zur Messung der Toxizität.....	51
4.4.1.1	Anpassung mit der Gompertzfunktion.....	52
4.4.1.2	Bestimmung von Detektionszeiten.....	57
4.4.1.3	Schlussfolgerung.....	60
4.4.2	Toxizität der vier NP an den vier MO.....	61
4.4.3	Interaktion von FeOx mit <i>E. coli</i> und <i>S. cerevisiae</i>	64
4.4.3.1	Sorption von FeOx an <i>E. coli</i> und <i>S. cerevisiae</i>	65
4.4.3.2	Toxizität der FeOx-NP.....	67
4.4.3.3	Größenverteilung der FeOx-NP.....	69
4.4.3.4	Sorptionsskinetiken.....	72
4.4.3.5	Schlussfolgerung.....	74
4.4.4	Interaktion von Ag mit MO.....	75
4.4.4.1	Adsorption Ag-NP an <i>E. coli</i>	75
4.4.4.2	Stabilität in unterschiedlichen Matrices.....	76
4.4.4.3	Toxizität von Ag gegenüber <i>E. coli</i>	78
4.4.4.4	Wirkungsweise.....	80
4.4.5	Interaktion von SiO ₂ mit MO.....	83
4.4.5.1	Adhäsion (DLVO und XDLVO Theorie).....	83
4.4.5.2	Verhältnis Partikelanzahl zu Mikroorganismenanzahl.....	85
4.4.5.3	Einfluss der NOM auf die Toxizität der NP.....	86
4.5	Photokatalytische Desinfektion.....	90
4.5.1	Einfluss des pH-Werts.....	90
4.5.1.1	Stressfaktor Sonnenlicht und pH-Wert.....	90
4.5.1.2	Desinfektionskinetiken.....	92
4.5.1.3	Einflussfaktor Ionenstärke und Chloridkonzentration.....	96
4.5.1.4	Interpretation durch DLVO und XDLVO Theorie.....	98
4.5.1.5	Zusammenfassung und Schlussfolgerung.....	100
4.5.2	Einfluss der NOM.....	101
4.5.2.1	Desinfektionskinetiken mit und ohne NOM.....	101

4.5.2.2	Extinktionsmessung und OH-Radikal Generierung.....	104
4.5.2.3	Unterscheidung zwischen adsorbierter und freier NOM.....	106
4.5.2.4	Zusammenfassung.....	108
5	Zusammenfassung.....	109
5.1	Ausblick	115
6	Literatur.....	117
7	Abbildungsverzeichnis.....	135
8	Tabellenverzeichnis.....	140
9	Abkürzungsverzeichnis.....	141
9.1	Lateinische Symbole	141
9.2	Griechische Symbole.....	142
A	Anhang.....	143
9.2.1.1	Zusammensetzung der Medien für die MO.....	143
9.2.1.2	Charakterisierung der NP	144
9.2.1.3	Adsorption von NOM an NP.....	145
9.2.1.4	Berechnung der MO-Oberfläche.....	145
9.2.1.5	Wechselwirkungen der Ag-NP mit der Matrix und mit MO	146
9.2.1.6	Wechselwirkungen der SiO ₂ NP mit MO	148
9.2.1.7	Photokatalytische Desinfektion (Zetapotential von TiO ₂).....	149
9.2.1.8	Charakterisierung einer weiteren NOM Quelle	149

*Science may be described as the art
of systematic over-simplification.*
Karl Popper

1 Einleitung

Lernen aus der Geschichte. Wir schreiben das Jahr 1970. In der boomenden Nachkriegswirtschaft wird Asbest als Wunderfaser gepriesen und es kommt durch die positiven Eigenschaften wie Hitzebeständigkeit, minimale thermische Leitfähigkeit und hohe Zugfestigkeit in einer Vielzahl von Produkten zum Einsatz. Der Import und die Anwendung in Baumaterialien und in der Fahrzeugtechnik steigen von Jahr zu Jahr [1]. Erste Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen Asbest und Krebserkrankungen [2]. Elf Jahre später verkündet Innenminister Baum Einschränkungen in der Benutzung von Asbestfasern gegen den Widerstand der Industrie und Arbeitnehmerverbände. Durch das hohe Produktionsaufkommen liegt eine enge Verzahnung zwischen Arbeitgeber und Arbeitnehmer vor, in der beide Seiten denken, dass sie von einer weiteren Produktion Vorteile haben. Daher kommt es erst im Jahr 1993 zu einem vollständigen Verbot der Nutzung von Asbest in Deutschland, Österreich und der Schweiz. Mittlerweile ist bekannt, dass die Entsorgung von asbesthaltigen Materialien Milliarden von Euros kostet und dass bis zum Jahre 2035 eine viertel Million Lungenkrebserkrankungen, ausgelöst durch Asbest, zu erwarten sind [3].

„Was wir aus der Asbestkatastrophe lernen können, ist, bevor wir Stoffe massenhaft irgendwo verbauen und einsetzen, sollten wir uns genau angucken, was damit passiert nach 10, 20 oder 30 Jahren.“¹

Im 21. Jahrhundert zählen die Nanopartikel (NP) zu den neuen Wundern des technologischen Fortschritts. Die Industrie erwartet hohe Umsatzzahlen durch neue Produkt- und Prozessmöglichkeiten mit diesen Partikeln. Ihre neuen Einsatzmöglichkeiten basieren im Wesentlichen auf ihrer geringen Größe und der damit einhergehenden großen Oberfläche im Vergleich zum Volumen. Je kleiner die Partikel werden, umso reaktiver ist ihr Verhalten. Mit Steigerung der Reaktivität können auch die nachteiligen Effekte einer Substanz ansteigen, deren Partikel in der Mikro- und Milliskala noch als ungefährlich galten.

Damit die Gesellschaft nicht erneut ein solches „Waterloo“ erlebt wie mit der Asbestfaser, sind frühestmögliche Studien zum Verhalten der NP unverzichtbar. Die Chancen und Möglichkeiten der Nanotechnologie müssen gegenüber ihren Risiken in Produkten und Anwendungen, die Kontakt mit den Menschen beinhalten oder die Umwelt beeinträchtigen, abgewogen werden. Je früher eventuelle Gefahren erkannt werden, umso einfacher ist es, geeignete Maßnahmen zu treffen und mögliche Spätfolgen so gering wie möglich zu halten.

Bei der Betrachtung der Risiken beschäftigt sich ein Großteil der veröffentlichten Studien mit einer möglichen Gefährdung des Menschen durch die NP. Als mögliche Gefahrenquellen beim Menschen wird der Kontakt mit Lungengewebe durch Inhalation, der Kontakt mit der Darmwand durch Nahrungsaufnahme und der Kontakt mit der Haut durch direkte Auftragung angesehen. Ein weitaus weniger beachteter

¹ Zitat Dirk Steffen, Wissenschaftsjournalist ZDF, Interview auf 3sat in „Die 20 größten Fortschritt-Flops“ vom 16. April 2012

Punkt sind die Auswirkungen auf die Umwelt durch die Exposition der NP in den Wasserkreislauf und ihre Interaktion mit der untersten Stufe der Lebewesen, den Mikroorganismen (MO), welche die Grundlage für ökologische Kreisläufe sind.

In dieser Arbeit werden daher die Auswirkungen von unterschiedlichen NP {Eisenoxid (FeOx), Siliziumdioxid (SiO₂), Silber (Ag) und Titandioxid (TiO₂)} auf vier verschiedene MO (*Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Lactobacillus plantarum* und *Saccharomyces cerevisiae*) untersucht. Die auftretenden Effekte werden dabei nicht im realen System, sondern in vereinfachten Modellsystemen untersucht, um die Wirkprinzipien, die der Wechselwirkung zwischen NP und MO zu Grunde liegen, besser verstehen zu können. Dies ermöglicht eine spätere Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse auf neue, komplexere Systeme und eine Abschätzung von möglichen Auswirkungen weiterer NP auf die aquatische Ökosphäre.

Es sollen aber nicht nur die Gefahren für die Umwelt durch NP, sondern auch ihr möglicher Beitrag für eine nachhaltige Technologie untersucht werden. Die Nanotechnologie kann dabei helfen die gegenwärtigen Probleme der Wasserreinigung durch den Einsatz von Nanosorbentien, Nanokatalysatoren und nanostrukturierten Membranen zu lösen [4]. Der Einsatz von TiO₂ zur umweltfreundlichen Reinigung und Desinfektion von Abwässern ist in diesem Blickfeld ein vielversprechender Ansatz [5]. Seit den EHEC (enterohämorrhagische *Escherichia coli*) Vorfällen im Mai 2011 ist auch die Überwachung und Aufbereitung des Abwassers in den Fokus der Öffentlichkeit gerückt. Während der Epidemie standen verschiedene mit Abwasser bewässerte Gemüsesorten eine Zeit lang als Träger in Verdacht, denn in ariden Gebieten steigt der Verbrauch an behandeltem Abwasser zur Bewässerung der Agrarwirtschaft an [6]. Der aggressive *E. coli* Stamm konnte auch schon in Oberflächengewässern nachgewiesen werden.

Zur Beurteilung unerwünschter Effekte oder vorteilhafter Anwendungen der NP auf aquatische MO wurde diese Arbeit folgendermaßen aufgebaut (Abbildung 1.1).

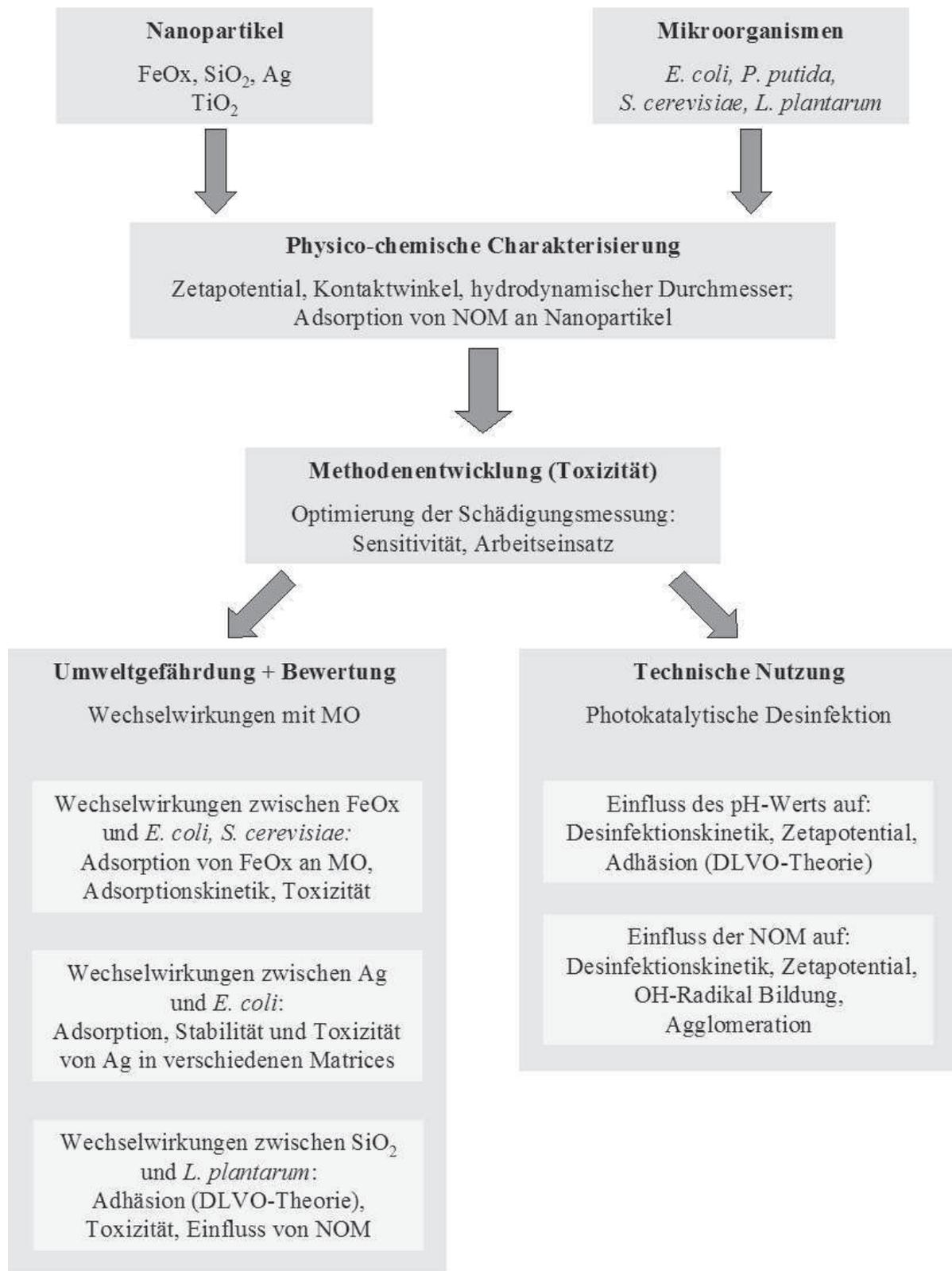


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der Zielsetzung und des Verfahrens dieser Arbeit

Die physico-chemische Charakterisierung der NP ist von entscheidender Bedeutung zur Beurteilung von Toxizitätstests. Die Oberflächenladung, der Kontaktwinkel, die Partikelgröße und das Agglomerationsverhalten sind Schlüsselparameter, um Aussagen über das Verhalten der NP in der Umwelt zu treffen [7]. Daher wurden in

Kapitel 4.1 die Größe und das Zetapotential der eingesetzten NP in den Modellmatrices untersucht.

Bei Eintrag der NP in die Umwelt kommen sie unmittelbar in Kontakt mit natürlicher organischer Materie (NOM) biogenen Ursprungs, die in allen Wässern mit variierender Konzentration vorkommt. Die NOM kann die NP umhüllen, was eine Veränderung der Oberflächeneigenschaften zur Folge hat. Zur Beschreibung dieser Wechselwirkungen (WW) wurden in Kapitel 4.2 Adsorptionsisothermen und die Änderung des Zetapotentials der NP in Anwesenheit von NOM bestimmt.

Zusätzlich wurde in Kapitel 4.3 das Zetapotential der MO in verschiedenen Lösungen gemessen, um bei der Interaktion mit den NP die elektrostatischen WW zwischen NP und MO berücksichtigen zu können.

Im nächsten Schritt (Kapitel 4.4.1) wurde eine Methode entwickelt, um die Toxizität der NP gegenüber den MO durch Absorptionsmessungen in Mikrotiterplatten (MTP) zu bestimmen. Dadurch kann ein höherer Automatisierungsgrad und ein höherer Durchsatz an Messungen als bei den herkömmlichen Toxizitätsbestimmung der Kolonie bildenden Einheiten (KBE) erzielt werden. Basierend auf dem hohen Durchsatz ermöglicht die Methode eine größere Anzahl an Parametern zu untersuchen.

Mit der Toxizitätsmessung in MTP wurden jeweils für vier verschiedene NP Dosis-Wirkungs-Kurven vier unterschiedlicher MO untersucht, um eine mögliche Gefährdung der Umwelt abzuschätzen. Die MO stehen stellvertretend für die vorhandenen Zellwandstrukturen in der Umwelt (*Kapitel 4.4.2*). Aufbauend auf diesen Toxizitätsmessungen wurden einzelne Kombinationen zwischen NP und MO in den folgenden Kapiteln tiefergehend analysiert.

In *Kapitel 4.4.3* wurde die Toxizität zwischen FeOx-NP und den MO *E. coli* und *S. cerevisiae* näher untersucht. Die oxidierte FeOx Spezies, Maghämät (Fe_2O_3), gilt im makroskopischen Bereich als inert. Ein möglicher toxischer Effekt kann daher der geringen Größe zugeschrieben werden. Die Toxizität wurde in Abhängigkeit vom Zetapotential der FeOx-NP bei unterschiedlichen pH-Werten untersucht. Die Sorption des FeOx wurde gleichfalls bei unterschiedlichen pH-Werten bestimmt und eine mögliche Aufnahme des FeOx-NP in *S. cerevisiae* eruiert.

Kapitel 4.4.4 beschreibt die Toxizität der Ag-NP bei unterschiedlichen Hintergrundionen, um die Wirkung der Ag-NP und der Ag^+ -Ionen unterscheiden zu können. Zur Gewährleistung kleiner Partikeldurchmesser wurde die Stabilität der Ag-NP in den unterschiedlichen Matrices per UV-VIS Spektroskopie ermittelt.

Im abschließenden Kapitel 4.5.1 wurde auf eine mögliche Nutzung der NP bei der Wasserreinigung eingegangen. Der Einfluss des Zetapotentials und der Interaktionsenergien zwischen MO und TiO_2 auf die photokatalytische Desinfektion wurde untersucht. Das Zetapotential wurde über die Parameter pH-Wert und Ionenstärke beeinflusst.

Der Einfluss von NOM auf die photokatalytische Desinfektion musste analysiert werden (*Kapitel 4.5.2*), um die Einsatzmöglichkeiten zur Abwasserbehandlung beurteilen zu können. Der Mechanismus der Inhibierung wurde daraufhin untersucht, um zu ergründen, welche der folgenden Eigenschaften der NOM dafür verantwortlich sind: UV-Absorption, Änderung des Zetapotentials, Inhibierung der OH Radikal Generierung, Konkurrenz um die OH-Radikale.

2 Grundlagen

2.1 Nanotechnologie

Die Nanotechnologie beschäftigt sich mit Herstellung, Charakterisierung, Design und Anwendung von NP. Diese sind definiert als Partikel mit einer Größe < 100 nm in mindestens einer Dimension [8, 9]. NP können unterteilt werden in natürliche und anthropogene NP. Zu den natürlichen NP zählen Humin- und Fulvinsäuren, Viren, Eisenoxide oder Rußpartikel, die biogenen oder geogenen Ursprungs sind und früher allgemein als Kolloide bezeichnet wurden [10]. In dieser Arbeit jedoch wird das Hauptaugenmerk auf die anthropogenen NP gelegt, die eine große Bandbreite der Metalloxide und elementaren Metalle abdecken.

Verglichen mit anderen Technologien ist die Nanotechnologie eine recht junge interdisziplinäre Forschungsrichtung, welche Bezüge zur Chemie, Biologie, Physik und den Materialwissenschaften aufweist und mittlerweile als Schlüsseltechnologie des 21. Jahrhunderts diskutiert wird [11]. Richtungsweisend für die Entwicklung der Nanotechnologie war der Vortrag „*There's Plenty of Room at the Bottom*“ von Richard Feynman aus dem Jahr 1959, der verschiedene neuartige Möglichkeiten aufzeigte [12]. Weitere Meilensteine wurden durch die Entwicklung des Rastertunnelmikroskops [13] und die Entdeckung der Fullerene [14] in den 80ern gelegt. Zu dieser Zeit wurde auch zum ersten Mal vor möglichen Konsequenzen, zwar in einer apokalyptischen Endzeitversion, vor der Nanotechnologie gewarnt [15].

Wegen der geringen Größe können die NP neue Eigenschaften und Funktionalitäten aufweisen, die Mikropartikel nicht besitzen. Der Anteil an Atomen, welche sich auf der Oberfläche befinden, steigt invers mit der Größe an. Ein Mikropartikel hat weit unter ein Prozent seiner Atome an der Oberfläche. Im Gegensatz dazu nimmt der Anteil an Oberflächenatomen bei einem sphärischen Partikel mit einem Durchmesser von 30 nm auf 10% und bei einem Partikel mit einem Durchmesser von 3 nm auf ca. 50% zu. Der hohe Anteil an Oberflächenatomen kann zu diskontinuierlichen Kristallflächen und strukturellen Defekten führen, welche als reaktive Stellen für chemische Reaktionen dienen können [16]. Diese Oberflächeneigenschaften machen die NP so interessant für die Industrie, weshalb viele NP ihren Weg in Konsumprodukte der kosmetischen, elektronischen und pharmazeutischen Industrie gefunden haben und Anwendung in einer Vielzahl von Bereichen wie Umwelttechnik, Biomedizin und Katalyse finden [10]. Für die Zukunft wird geschätzt, dass der Markt für Nanotechnologie bis 2015 auf einen Wert von einer Billion Dollar ansteigt [16].

Diese Prognose für einen stetig wachsenden Markt führt mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Exposition der NP in die Umwelt und den Menschen [17]. NP haben zwar schon immer in der Umwelt existiert (natürliche und geogene Kolloide), aber durch das erwartete hohe Produktionsvolumen, z. B. für Ag-NP von 500 t und für TiO_2 5000 t pro Jahr [18], werden die NP in höheren Konzentrationen in der Umwelt auftreten. Pitkethly [19] schätzt, dass bis zum Jahr 2020 die Gesamtproduktion an NP auf bis zu 100.000 t ansteigen kann. In Tabelle 2.1 sind die wichtigsten NP und ihre industriellen Anwendungen zusammengefasst. Eintrittswege der NP in die Umwelt können sowohl die Produktionsstätten als auch Abfalldeponien oder Kläranlagen sein, die Quellen für die Austragung aus den Konsumprodukten

darstellen [18]. Die Mehrheit der NP produzierenden Industrie hat noch keine Risikoabschätzung für ihre NP durchgeführt, da die größeren „Brüder“ als ungefährliche Materialien eingestuft worden sind und es an gesetzlichen Vorschriften mangelt [20].

Tabelle 2.1: NP und ihre Anwendungen

Nanopartikel	Anwendungen	Nanopartikel	Anwendungen
Ag	Textilien, Kosmetika, med. Verbandsmaterialien, Sprays	FeOx	magnetische Kontrastmittel
TiO ₂	Sonnencremes, Farben, Sportartikel	Fullerene	Schmiermittel
SiO ₂	Additiv in Polymeren, Zahnfüllungen	CNT	Plastik, Sportartikel, Elektronikwaren
CeO ₂	Additiv in Treib- und Brennstoffen	Fe ⁰	Altlastensanierung

2.2 Nanopartikel (NP)

Im folgenden wird kurz auf die vier NP eingegangen, die für die Versuche von Bedeutung waren und ihre möglichen Einsatzgebiete und Besonderheiten erläutert.

2.2.1 Silber

Ag zählt zu den nullwertigen Metallen, welche üblicherweise durch Reduktion der jeweiligen Metallsalze hergestellt werden. Die meisten Konsumprodukte, die mit Nanotechnologie werben, beinhalten Ag als Nanopartikel [21]. Die möglichen Anwendungen reichten von Verbandsmaterialien und Textilien bis zu Waschmaschinen und Staubsaugern.

2.2.2 Eisenoxid

FeOx-NP werden weitestgehend in biologischen Anwendungen und als Bestandteil von Pigmenten eingesetzt [22]. Wegen den paramagnetischen Eigenschaften findet sich zudem eine steigende Anzahl an Anwendungen im biomedizinischen Bereich als magnetisches Kontrastmittel [23].

2.2.3 Siliziumdioxid

SiO₂ wird hauptsächlich als Additiv für Polymere genutzt. Das Bulkmaterial wurde bisher als sicher betrachtet, aber es spielt eine wichtige Rolle in der ökotoxikologischen Betrachtung durch die breite Anwendung in der Industrie. Die meisten Firmen, die NP in ihrem Produktionsprozess einsetzen, arbeiten mit SiO₂ NP [24].

2.2.4 Titandioxid

TiO₂ ist ein weißer Feststoff, der in den unterschiedlichen Kristallstrukturen Rutil (tetragonal), Anatas (tetragonal) und Brookit (orthorhombisch) vorkommt. Dabei haben nur die Modifikation Rutil und Anatas eine technische Bedeutung. Der bisher größte Einsatzbereich von TiO₂ ist auf Grund der hohen Brechungszahl die Anwendung als Weißpigment und UV-Filter. Das eingesetzte TiO₂ (P25[®] Evonik) besteht aus den Modifikationen Anatas und Rutil im Verhältnis 3:1.

In den letzten zwei Dekaden ist aber eine weitere Eigenschaft, der Nutzen als Halbleiter für die heterogene Photokatalyse, in den Fokus gerückt. Durch

Bestrahlung mit kurzwelligem Licht können in der wässrigen Phase Radikale entstehen. Diese Eigenschaft wird im Kapitel 2.4 näher erläutert.

2.3 Auswirkungen auf die Umwelt

Ein besorgniserregender Punkt bei der Anwendung und Exposition der NP in die Umwelt ist das Verhalten im Wasserkreislauf. Eine Gefährdung der aquatischen MO ist zur Zeit nicht auszuschließen. Dabei spielen sie eine wichtige Rolle im Aufbau und in der Funktion des Ökosystems. MO stellen die niedrigste Stufe und damit den Eintritt in Nahrungsketten der Ökosysteme dar. So sind MO die Hauptakteure im Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphorzyklus, um abgestorbene Biomasse dem Kreislauf wieder als Nährstoffe zur Verfügung zu stellen [25]. Zum Beispiel sind die Nitrifikation und Denitrifikation, die nur von einigen MO-Arten durchgeführt werden, wichtige Stufen im Stickstoffkreislauf und sind von großer Bedeutung in der Abwasserbehandlung [26].

2.3.1 Interaktionen mit Mikroorganismen

Eine Schädigung der aquatischen MO durch die NP kann durch verschiedene Mechanismen geschehen. Abbildung 2.1 gibt einen schematischen Überblick über die möglichen Interaktionen zwischen Zellen und NP.

Durch die größere exponierte Oberfläche bei NP können von Metallen und Metalloxiden Me^{n+} Ionen in Lösung gehen [27-30]. Diese positiv geladenen Metallionen werden von den Zellen auf Grund der negativen Oberflächenladung sorbiert [31]. Die sorbierten Ionen können eine schädigende Wirkung auf die MO haben, begründet in der irreversiblen Bindung an Membranproteinen [32] oder durch Initiierung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) [33, 34]. Ein weiterer Mechanismus ist die Generierung von ROS in der Suspension durch Umweltfaktoren wie Bestrahlung durch Sonnenlicht. Die ROS können in Kontakt mit der Zelle die äußeren Bestandteile oxidieren, was zu Bruchstellen in der Zellmembran durch Lipidperoxidation und damit einhergehend zum Zelltod führt [35, 36]. Des Weiteren können die NP selbst an die Zelloberfläche adsorbieren, wodurch es einerseits durch RedOx-Reaktionen zu Schädigung der Zelloberfläche kommen kann [37, 38] andererseits kann durch die reine Adsorption die Zell-Umwelt Interaktion beeinflusst werden [39, 40]. Hohe Ionenstärken oder ungünstige pH-Werte können jedoch zu einer Aggregation der NP in aquatischen Systemen führen [41-43], was schließlich die Toxizität gegenüber den MO verringert [44, 45].

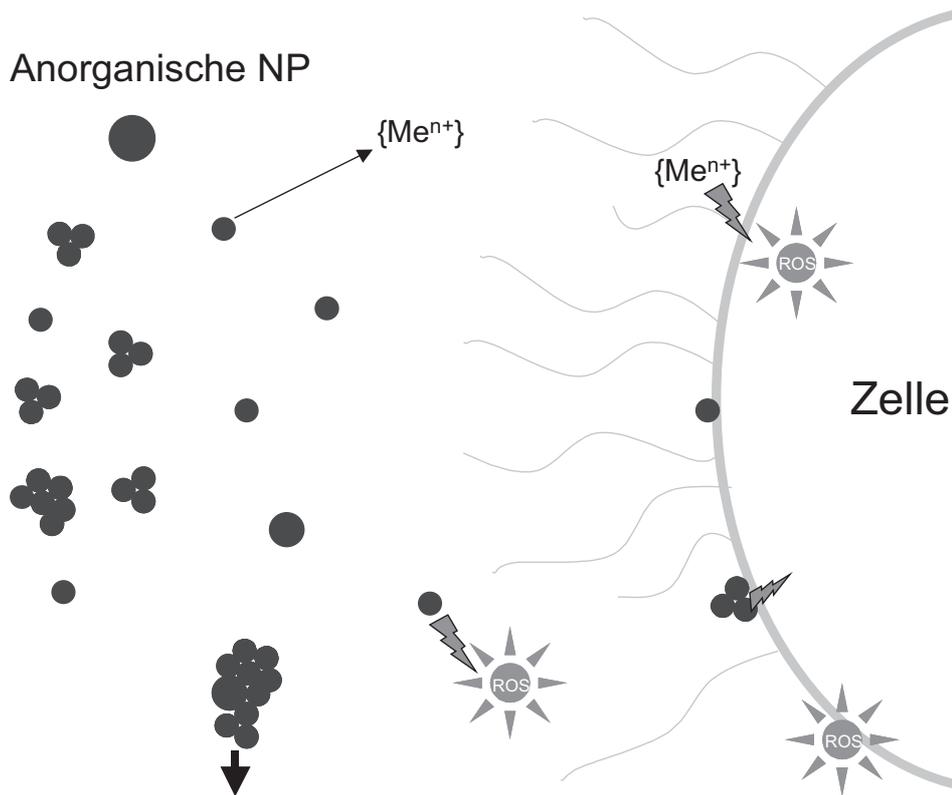


Abbildung 2.1: Schema der möglichen Intraaktionen der NP untereinander und Interaktion mit der Zelle.

Einen aktuellen Überblick über die bakteriostatischen und bakteriziden Eigenschaften der NP auf MO geben Tabelle 2.2 und Tabelle 2.3. In Laborversuchen konnten demnach bei einer Vielzahl von NP negative Effekte gegenüber suspendierten MO gezeigt werden. Auf Grund der variierenden Zellkonzentrationen und der verschiedenen Dispersionsmedien mit unterschiedlichen Ionenstärken ist eine direkte Vergleichbarkeit der Toxizität der einzelnen NP kaum möglich. Beispielsweise variiert die letale Dosis (LD) beim selben Endmarker von Ag-NP, um 99,9% der *E. coli* Bakterien abzutöten, zwischen $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ und 60 mg L^{-1} . Diese Differenzen können durch die unterschiedlichen Synthesewege für die NP hervorgerufen werden, die sich ebenfalls in verschiedenen Größen der NP widerspiegeln. Durch die verschiedenen Methoden der Größenmessung wie der dynamischen Lichtstreuung (DLS) und der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) können sich die Angaben des Durchmessers bei identischen Partikeln ebenfalls unterscheiden [46, 47]. Bei unterschiedlichen Endmarkern können die Ag Konzentrationen, die bei 50% der *E. coli* Population einen Effekt hervorzurufen (EC_{50}) um den Faktor 1000 variieren. Es ist davon auszugehen, dass alle aufgelisteten Parameter (Art des MO, Dispersionsmedium, Spezierung und Größe der NP, Wahl des Endmarkers wie Sauerstoffaufnahme oder Membranschädigung) einen Einfluss auf die gemessene Toxizität der NP haben.

Tabelle 2.2: Übersicht über EC_{50} Werte von verschiedenen NP an MO in Abhängigkeit von der Größe aus der Literatur.

Mikroorganismus	1) Wachstumsmedium	NP	Größe in nm	2) Größenbestimmung	7) EC_{50} in $\mu\text{g mL}^{-1}$	Methode	Literatur
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	MOPS 10 mM	Ag	44	DLS ³⁾	3,6	Photosynthetische Ausbeute	[27]
<i>Escherichia coli</i>	Luria Bertani	SiO ₂	300	DLS ³⁾	>33000	Optische Dichte	[48]
		SiO ₂ /Fe ₃ O ₄	500		>2200		
		Au	45		110		
Nitrifizierende Kultur	NH ₄ NO ₃ 8,3 mM	Ag	9	TEM ⁴⁾	0,5	Sauerstoffaufnahme	[36]
<i>Escherichia coli</i>	Glucose-Lösung 0,35 g L ⁻¹	Ag(PVP)	13	DLS ³⁾	<11,5	Sauerstoffaufnahme	[49]
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	nach OECD	SiO ₂	12,5	DLS ³⁾	>20	Zeldichte	[50]
			27		>28,8		
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	nach OECD	CuO	-	-	0,88	Chlorophyll Fluoreszenz	[51]
		ZnO	-		0,052		
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	nach OECD	CeO ₂	4880	DLS ³⁾	3,5*	Spezifische Wachstumsrate μ	[52]
<i>S. cerevisiae</i>	Malzextrakt	CuO	60		20,7	Reduzierung der KBE	[53]
		ZnO	30		121		
<i>Escherichia coli</i>	BBL	Ag	14	RTEM ⁵⁾	0,45	Membranschädigung gemessen mit SYTO9/PI	[54]
Nitrifizierende Kultur	NH ₄ NO ₃ 8,3 mM	TiO ₂ (bestrahlt im Sonnenlicht-simulator)	25	TEM ⁴⁾	0,3	Sauerstoffaufnahme	
			100		44		
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	nach OECD	ZnO	250	DLS ³⁾	100-250	Optische Dichte	[38]
			9		1-2		
<i>Escherichia coli</i>	Luria Bertani	Ag	-	TEM ⁴⁾	<13	Optische Dichte	[57]
<i>Bacillus subtilis</i>	Nährmedium	C ₆₀ /PVP (bestrahlt)	-	-	1	Lumineszenz	[58]
<i>Vibrio fischeri</i>		C ₆₀	-	-	1,9	Lumineszenz	[28]
<i>Vibrio fischeri</i>		ZnO	79		79	Lumineszenz	[28]
<i>Chlorella kessleri</i>	B5 Medium	SiO ₂	5	-	8000	Optische Dichte	[59]
			26		7100		
			78		9100		

<i>Escherichia coli</i>	NaCl 150 mM	CuO	30	REM ⁶⁾	50	[34]
	Reinstwasser	ZnO	50		183	
		C ₆₀	-		>20800	Lumineszenz
		TiO ₂	60		>20000	
		Ag	<100		571	

¹⁾ Wachstumsmedium: Vornehmlich werden die Kürzel der Wachstumsmedien angegeben. Die exakte Zusammensetzung der Medien kann jedem Artikel entnommen werden.

²⁾ Größenbestimmung: Art der Messung, um die Größe der Nanopartikel zu bestimmen.

³⁾ DLS: Dynamische Lichtstreuung, bestimmt den hydrodynamischen Durchmesser der Nanopartikel in der Suspension.

⁴⁾ TEM: Transmissionselektronen Mikroskopie, bestimmt die Größe der Primärpartikel in trockenem Zustand. Die Größenverteilung kann durch Bildbearbeitung berechnet werden.

⁵⁾ RTEM: Rastertransmissionselektronen Mikroskopie

⁶⁾ REM: Rasterelektronenmikroskopie

⁷⁾ EC₅₀: Konzentration an Nanopartikeln, bei der 50 % der Population einen definierten Effekt zeigt, der jedoch nicht mit einer Letalität der Zellen einhergeht.

^{*}) EC₂₀ wurde an Stelle des EC₅₀ gemessen

Tabelle 2.3: Übersicht über die gemessene Toxizität von NP an MO in Abhängigkeit von der Partikelgröße, der MO-Konzentration und der dispersen Phase.

Mikroorganismus	Zellen mL⁻¹	Kontaktmedium	NP	Größe in nm	¹⁾ Größenbestimmung	²⁾ LD₅₀ in µg mL⁻¹	³⁾ LD_{99,9} in µg mL⁻¹	Methode	Literatur
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁵	Luria Bertani Agar ⁷⁾	Ag		TEM ⁵⁾	15	60	KBE ⁶⁾	[60]
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁷	Nährmedium		150-16	TEM ⁵⁾	8	35	KBE ⁶⁾	[61]
				39		5	11		
				40		4	6		
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁴	nicht angegeben	Ag	16	TEM ⁵⁾	20-40	40-60	KBE ⁶⁾	[62]
<i>Escherichia coli</i>	1.5 x 10 ⁹	KNO ₃ 100 mM	CeO ₂	7	DLS ⁴⁾	100-230	<500	KBE ⁶⁾	[63]
<i>Escherichia coli</i>	5 x 10 ⁷	Wasser (ultrarein)		380	DLS ⁴⁾	>700	>700	KBE ⁶⁾	[37]
				50		700	>700		
				320		175	>700		
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁶	Carbonatpuffer	Fe ⁰ (luftgesättigt) Fe ⁰ (entlüftet)	35	TEM ⁵⁾	70	80	KBE ⁶⁾	[30]
						1.2	4		
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	Phosphatpuffer	MgO	14	TEM ⁵⁾	10000	10000	KBE ⁶⁾	[64]
<i>Escherichia coli</i>	6.4 x 10 ⁷	NaCl 150 mM	MgO	11	TEM ⁵⁾	<1000	<1000	KBE ⁶⁾	[65]
				18		<1000	<1000		
				23		<1000	>1000		
				11		<1000	<1000		
				18		<1000	<1000		
<i>Escherichia coli</i>	5 x 10 ⁷	NaCl 150 mM	single walled CNT	23	TEM ⁵⁾	<1000	>1000	KBE ⁶⁾	[40]
				2000		5			
				0.9					
<i>Bacillus subtilis</i>			SiO ₂	205		2000-5000	5000		
<i>Escherichia coli</i>	10 ³	MD Agar ⁷⁾	TiO ₂	205	DLS ⁴⁾	>5000	>5000	KBE ⁶⁾	[66]
				330		2000	2000		
				480		>5000	>5000		
						10	>500		
						>1000	>1000		
<i>Escherichia coli</i>	2 x 10 ²	Luria Bertani Agar ⁷⁾	ZnO	11	TEM ⁵⁾	210	>210	KBE ⁶⁾	[67]
<i>Escherichia coli</i>	3 x 10 ⁵	MD Medium	C ₆₀	50	DLS ⁴⁾		1.5 – 3	KBE ⁶⁾	[58]
							2 – 4		
<i>Escherichia coli</i>	2 x 10 ⁶	Phosphatpuffer	Ag	<150	TEM ⁵⁾		0,8	KBE ⁶⁾	[68]
<i>Escherichia coli</i>	-	MilliQ	ZnO	486	DLS ⁴⁾	1,25		KBE ⁶⁾	[69]

	-	NaCl 150 mM	1429	12,5	
<i>Bacillus subtilis</i>				5-10	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁷			>30	
<i>Bacillus subtilis</i>		NaCl 0,75 mM	43 TEM ⁵⁾	3-7	KBE ⁶⁾
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁶	Ag		>30	[70]

1) Größenbestimmung: Art der Messung, um die Größe der Nanopartikel zu bestimmen.

2) LD₉₀: Konzentration an Nanopartikeln bei der 90 % der Mikroorganismen abgetötet werden.

3) LD_{99,9}: Konzentration an Nanopartikeln bei der 99,9 % der Mikroorganismen abgetötet werden.

4) DLS: Dynamische Lichtstreuung; bestimmt den hydrodynamischen Durchmesser der Nanopartikel in der Suspension.

5) TEM: Transmissionselektronenmikroskopie; bestimmt die Größe der Primärpartikel in trockenem Zustand. Die Größenverteilung kann durch Bildbearbeitung berechnet werden.

6) KBE: Koloniebildende Einheiten.

7) Die Nanopartikel wurden in Agar suspendiert, was zu einer reduzierten Diffusion der NP führte (verglichen mit flüssigem Medium)

2.3.2 Natürliche organische Materie (NOM)

Bei Exposition der NP in die Umwelt und das aquatische System muss deren Interaktion mit den natürlichen Inhaltsstoffen von Gewässern, insbesondere der NOM, betrachtet werden [71].

NOM ist eine komplexe Mischung aus Biopolymeren und deren mikrobiellen Abbauprodukten, die zum größten Teil gelöst vorliegen [72]. Die Konzentrationen liegen im Bereich von 0,1 – 0,2 mg L⁻¹ organisch gebundenen Kohlenstoffs (C) in Grundwässern und Meerwasser und bis zu 1 – 10 mg L⁻¹ C in Fließgewässern. Vereinzelt können in stehenden Gewässern Konzentration bis zu 50 mg L⁻¹ C nachgewiesen werden [73].

Einen bedeutenden Anteil der NOM stellen die Huminstoffe dar, bei denen es sich um heterogene refraktäre organische Substanzen biologischen Ursprungs handelt. Die Huminstoffe werden häufig operationell in Huminsäure (HS) und Fulvinsäure (FS) eingeteilt, je nach Löslichkeitsverhalten im sauren Milieu. Gemeinsam sind an ihnen die funktionellen Gruppen, die aus Carboxyl-, alkoholischen und phenolischen Hydroxy- sowie Carbonylgruppen bestehen, die ihren Ursprung in den Strukturelementen Lignin, Tannin und Isoprenoiden haben. Jedoch haben FS in der Regel ein kleineres Molekulargewicht und sind wasserlöslicher als HS [74].

2.4 Photokatalytische Desinfektion

2.4.1 Photokatalyse

Photokatalyse beschreibt beschleunigte Reaktionen an der Oberfläche eines Halbleiters, die durch Anregung von Photonen initiiert wurden [75]. Halbleiter besitzen eine Bandlücke in der Größenordnung von 2-4 eV zwischen dem Valenz- und dem Leitungsband. Im Gegensatz zu den Halbleitern haben Isolatoren eine größere Bandlücke von ca. 10 eV und bei elektrischen Leitern liegen Valenz- und Leitungsband übereinander [76]. Die Elektronen im Valenzband der Halbleiter können durch Zuführung eines Energiebetrags in Form von Licht- oder Wärmeenergie in das Leitungsband gehoben werden. Für die Anregung von TiO₂ liegt die Bandlücke für die Rutilstruktur etwa bei 3 eV und für Anatas etwa bei 3,2 eV [77]. Bei der Anregung durch Licht absorbiert TiO₂ im UV-Bereich, da dort die Photonen die nötige Energie besitzen, das Elektron aus der O 2p Schale in die Ti 3d Schale zu befördern [78]. Das entstandene Loch im Valenzband wird als Defektelektron h⁺ bezeichnet.



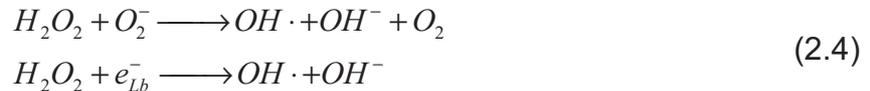
Die Indices *Vb* und *Lb* stehen für Valenzband bzw. Leitungsband. Nach der Elektronenverschiebung kann es durch Rekombination des Elektron-Loch-Paars wieder zu einem Ladungsausgleich kommen. Die Lebenszeit dieses Zustands beträgt etwa 10⁻¹⁵ s. Die entstandenen Ladungen können auch mit Elektronendonatoren und -akzeptoren wie H₂O und O₂ auf der Oberfläche weiter reagieren. Die Elektronen können O₂ zu Superoxidionen reduzieren, wodurch die Rekombination des e⁻/h⁺ Paares nicht mehr möglich ist.



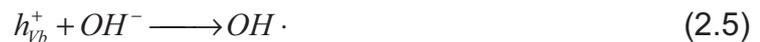
Bei einer weiteren Reduktion eines Superoxidions entsteht im sauren Milieu H_2O_2 .



Durch die Reaktion von H_2O_2 und Superoxidanionen können OH-Radikale via der Harber-Weiss Reaktion gebildet werden. Zusätzlich werden OH-Radikale durch die Reaktion von H_2O_2 mit Elektronen aus dem Leitungsband generiert [79].

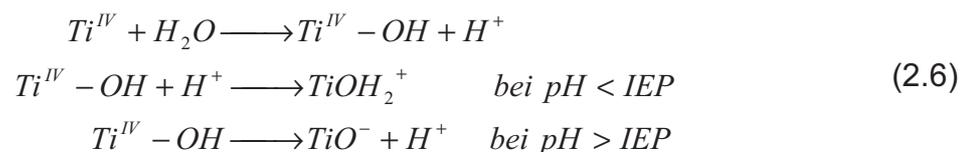


Außerdem können die Defektelektronen auf der Oberfläche direkt OH-Radikale aus der Reaktion mit Hydroxylionen (OH^-) oder Wasser bilden.



Die gebildeten OH-Radikale haben ein sehr hohes Oxidationspotential (2,8 V) und sind die stärksten oxidierenden Spezies der ROS. Daher sind sie sehr kurzlebig und fähig die meisten organischen Verbindungen zu oxidieren [80].

Bei der Suspendierung von TiO_2 in Wasser wird die Oberfläche hydratisiert, gefolgt von einer pH-abhängigen Protonierung und Deprotonierung der Oberflächengruppen [78, 81].



2.4.2 Desinfektion

Seit Matsunaga et al. [82] 1985 zeigten, dass MO in Anwesenheit von TiO_2 bei Bestrahlung mit einer Xenonlampe abgetötet werden, wurde der Weg für eine neue Möglichkeit zur Desinfektion geebnet, der sowohl für die Trinkwasseraufbereitung als auch für die Abwasserbehandlung attraktiv ist. Zwar herrscht noch kein Konsens über den genauen Mechanismus der photokatalytischen Desinfektion, aber Indizien zeigen, dass ein wichtiger Angriffspunkt die Oxidation der ungesättigten Fettsäuren in den Lipiden der Zellmembran ist [83]. Hauptverantwortlich für die bakteriziden Eigenschaften scheinen bei Kontakt die Defektelektronen und die gebundenen OH-Radikale auf der Oberfläche des TiO_2 [84], sowie die freien OH-Radikale [85] und auf größere Entfernung ($> 1 \mu m$) H_2O_2 zu sein [35].

Zur Beschreibung des Desinfektionsprozesses werden verschiedene Modelle genutzt. Einerseits gibt es die theoretisch prozessbasierten Modelle wie den Langmuir Hinshelwood Mechanismus, der eine Beziehung zwischen Adsorption und Reaktion auf der Oberfläche darstellt [86]. In den meisten Fällen jedoch wird ein empirisches Modell genutzt, welches nicht auf physikalischen oder chemischen Prozessen der Desinfektion basiert.

Die erste Desinfektionskinetik wurde von Chick [87] basierend auf Beobachtungen an der Hitzesterilisation entwickelt. Das Konzept wurde von Watson [88] zum Vergleich verschiedener Desinfektionsmittel zu der Gleichung (2.7) erweitert.

$$\log(N / N_0) = kc^n t \quad (2.7)$$

Mit N : MO-Konzentration (aktuell)
 N_0 : MO-Konzentration zum Zeitpunkt $t = 0$
 k : Geschwindigkeitskonstante
 c : Konzentration der desinfizierenden Spezies

Unter der Annahme, dass die gebildete Radikalkonzentration konstant bleibt, reduziert sich die Gleichung zu einer Reaktion pseudo-erster Ordnung, deren Verlauf in Abbildung 2.2 (A) dargestellt ist.

In manchen Fällen existiert eine sogenannte Lag-Phase zu Beginn der Desinfektion. In dieser Phase muss die Zelle erst einen bestimmten Schaden (Denaturierung einer bestimmten Anzahl lebenswichtiger Moleküle) nehmen, bevor sie nicht mehr reproduktionsfähig ist [89]. Mathematisch beschreiben lässt sich der Verlauf in Abbildung 2.2 (B) durch Gleichung (2.8) [90, 91].

$$\begin{aligned} \log(N / N_0) &= 0 && \text{für } t \leq t_{lag} \\ \log(N / N_0) &= kc^n (t - t_{lag}) && \text{für } t > t_{lag} \end{aligned} \quad (2.8)$$

Durch die Aufspaltung in zwei Gleichungen ist das Modell nicht mehr vollständig differenzierbar bei $t = t_{lag}$ und wird statisch. Daher wird die Lag-Phase oft als Schulter modelliert wie in dem Modell von Hom [92]. Durch Einführung eines weiteren Parameters m (siehe Gleichung (2.9)) kann entweder eine Schulter ($m > 1$) oder ein Tailing ($m < 1$) modelliert werden. Ein Tailing kann sich in resistenteren Subpopulationen oder einer Verminderung der desinfizierenden Spezies begründen [93]. Die beiden möglichen Fälle sind in Abbildung 2.2 (C) gezeigt.

$$\log(N / N_0) = kc^n t^m \quad (2.9)$$

In dem Fall, dass eine Schulter und ein Tailing vorkommen, kann der sigmoidale Kurvenverlauf (invers zum Wachstumsmodell) durch verschiedene, komplexe Modelle (Casolari, Sapru, Baranyi) angepasst werden (siehe Abbildung 2.2 D) [89]. Die Unterschiede der einzelnen Modelle werden in dieser Arbeit nicht weiter vertieft.

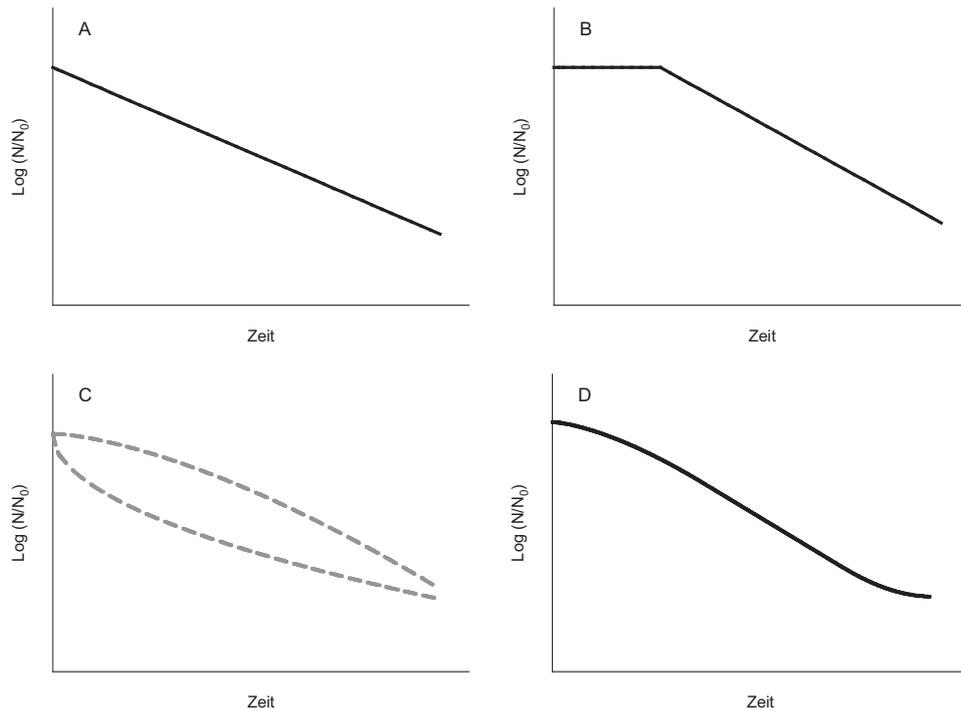


Abbildung 2.2: Schema typischer Desinfektionskinetiken: A) Chick-Watson B) Chick-Watson verzögert C) Hom D) sigmoidaler Desinfektionsverlauf

2.5 Zellwandstruktur von Mikroorganismen (MO)

Im vorherigen Kapitel wurden die verschiedenen Interaktionen der NP mit den MO aufgezeigt. Dabei wurde offensichtlich, dass der erste Kontakt zwischen den NP oder den durch sie herbeigeführten Spezies (ROS) mit der Oberfläche der Zelle geschieht. Daher wird ein kurzer Überblick über den Aufbau der Zellwand der verschiedenen MO gegeben, um die auftretenden Effekte besser diskutieren zu können.

Alle Zellen lassen sich in zwei Gruppen einteilen, die Eukaryoten und die Prokaryoten. Zu den Eukaryoten gehören Gewebezellen, Pflanzenzellen und Pilze. Gewebezellen besitzen im Gegensatz zu den hier genutzten Mikroorganismen keine Zellwände, sondern nur eine Zellmembran. Hefezellen gehören zu den Pilzen und damit zu den Eukaryoten. Hefen sind einzellige Pilze, deren Zellwand 100 – 200 nm dick ist [94] und eine Porosität von 1 nm aufweist [95]. Die Hauptbestandteile der Zellwand sind β -Glucane und Mannoproteine. In der Zellwand liegt der Polysaccharidanteil bei 80 – 85% und der Proteinanteil bei 10 – 15% [96].

Die Prokaryoten werden auf Grund ihrer Zellwandstruktur in zwei Gruppen eingeteilt, die gram-positiven und die gram-negativen Bakterien; benannt nach der Färbemethode zur Unterscheidung von Hans Christian Gram. Der Zellwandaufbau der beiden Bakteriengruppen ist schematisch in den Abbildungen 2.3 und 2.4 dargestellt. Beide Gruppen besitzen wie die Hefezellen auf der Innenseite hin eine Plasmamembran die aus Phospholipiden und verschiedenen Proteinen zusammengesetzt ist. Diese Phospholipidschicht ist in allen Zellen ca. 8 nm dick. Nach außen hin folgt darauf eine Peptidoglycanschicht, die aus kovalent gebundenen Polysacchariden besteht, welche durch Peptide miteinander vernetzt sind. Der Vernetzungsgrad ist bei gram(+) Bakterien größer und die Schicht dicker

(20 – 80 nm) als bei gram(-) Bakterien, deren Schichtdicke nur 5 – 10 nm stark ist. Zusätzlich ist in gram(+) Bakterien noch Teichonsäure in die Peptidoglycanschicht eingebaut, die in der Phospholipidschicht verankert ist und die gesamte Peptidoglycanschicht durchdringen kann. Bei den gram(-) Bakterien existiert dagegen noch eine äußere Zellmembran, die die gleiche Dicke wie die innere Membran aufweist. Abschließend ist auf der Zellmembran noch eine Lipopolysaccharidschicht verankert [97]. Die LPS besteht aus einem Lipid, welches in der Membran gebunden ist, gefolgt von 3-Deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic Säure ($C_8H_{14}O_8$) (KDO), Heptose, Glucose, Galactose und N-Acetyl-glucosamin, die die innere Kernstruktur bilden und dem O-Antigen, welches aus einer wiederholenden Struktur von Hexosen besteht. Von der LPS können etwa 300.000 Moleküle auf der Zelloberfläche existieren, die sich über 30 nm weit in die angrenzende Phase ausbreiten [98].

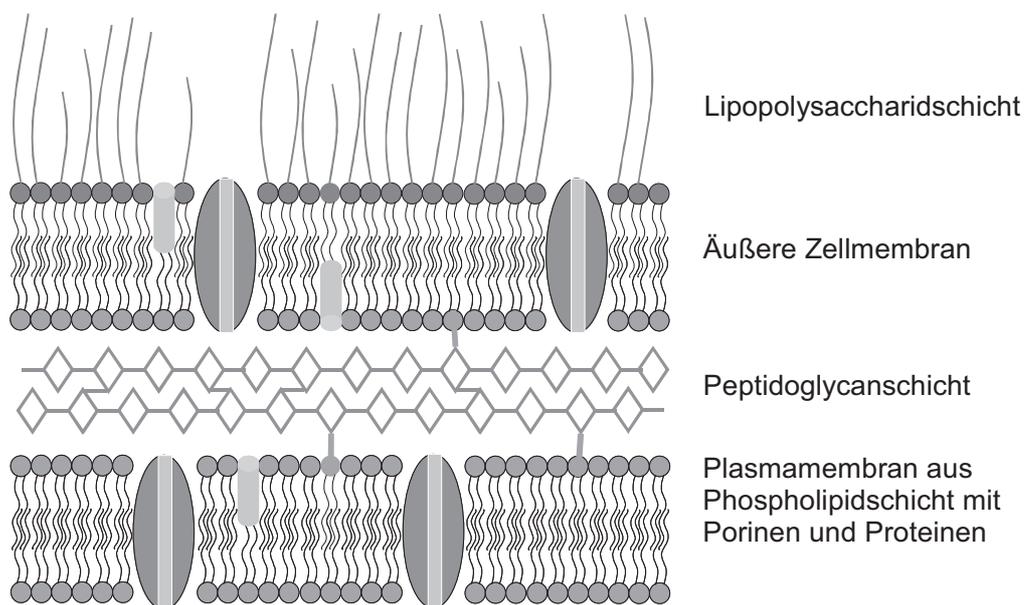


Abbildung 2.3: Zellwandstruktur von gram-negativen Bakterien

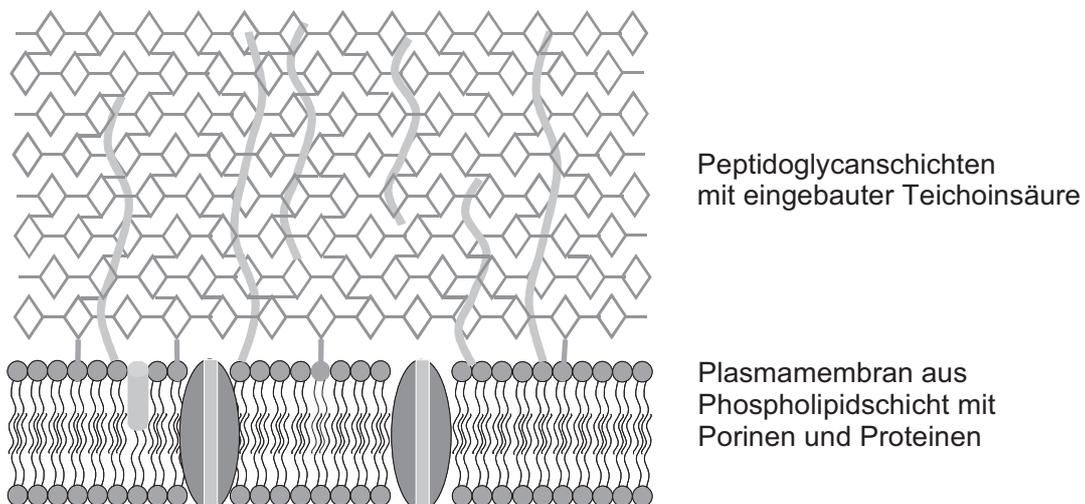


Abbildung 2.4: Zellwandstruktur von gram-positiven Bakterien

2.6 Eingesetzte Modell-MO

Im folgenden Kapitel werden die eingesetzten MO mit ihren Besonderheiten beschrieben. Bei der Auswahl der MO wurde weniger die Umweltrelevanz als die Nicht-Pathogenität beachtet.

2.6.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Als einfachster Vertreter der Eukaryoten wurde die Hefe *S. cerevisiae* gewählt. Der unizelluläre MO hat zwar keine direkte umweltrelevante Bedeutung, aber als Vertreter der Eukaryoten ist er zur Endocytose befähigt, was den Zellen die Aufnahme größerer Partikel (~30 nm) durch Umstülpung der Plasmamembran ermöglicht [99, 100]. Eine mögliche Aufnahme könnte einen unterschiedlichen toxischen Effekt als die alleinige Adsorption auf der Zelloberfläche hervorrufen.

2.6.2 *Escherichia coli*

E. coli ist ein gram(-) Bakterium, welches als Indikatorkeim für fäkale Verunreinigungen in der Trinkwasserverordnung genutzt wird [101]. Zusätzlich ist es der am besten molekularbiologisch untersuchte Organismus über den umfangreiche Datenbanken existieren [102]. Der hauptsächlich eingesetzte *E. coli* Stamm K12 d21 hat eine gekürzte LPS Schicht, die nur aus der Kernstruktur besteht, welche 2-3 nm in den extrazellulären Raum reicht [103].

2.6.3 *Pseudomonas putida*

P. putida kommt als gram(-) Bakterium ubiquitär im Boden, Süß- und teilweise im Salzwasser vor. Es spielt eine wichtige Rolle im Abbau von biologischen oder toxischen Verbindungen, da es eine große metabolische Diversität besitzt [104, 105]. Außerdem existiert eine ISO Norm zur Beurteilung der Toxizität von Substanzen auf Basis des Wachstums von *P. putida* [106, 107].

2.6.4 *Lactobacillus plantarum*

Der Modellorganismus für die gram(+) Bakterien war *L. plantarum*. Das Bakterium besitzt keine große Umweltrelevanz, ist aber nicht-pathogen und schnell zu kultivieren. Als Milchsäurebildner besitzt es zudem eine hohe Säuretoleranz [104].

2.7 Wachstumskurve von MO

Das mikrobielle Wachstum wird beschrieben durch die Gleichung:

$$\frac{dN}{dt} = \mu \cdot N \quad (2.10)$$

mit μ : spezifische Wachstumsrate,

wonach es zu einer Verdopplung der Population in einer bestimmten Zeitspanne kommt, deren Länge von μ abhängt. Bei der Betrachtung der Veränderung der Populationsgröße ab dem Inokulum wird die *exponentielle Phase* aus Gleichung (2.11) durch eine *Lag-Phase* t_{lag} ergänzt, die eine Anpassung der MO des Inokulums an das Wachstumsmedium umschreibt und in der noch kein Wachstum stattfindet.

$$N_{(t)} = N_0 \cdot e^{\mu(t-t_{lag})} \quad (2.11)$$

Insgesamt wird die Wachstumskurve meistens in 3 Phasen unterteilt, die *Lag-Phase*, die *exponentielle Phase* und gegen Ende der exponentiellen Phase die *stationäre Phase*, in der sich das Wachstum auf Grund von Limitierungen verlangsamt und die Populationsgröße konstant bleibt. Die gesamte Wachstumskurve von MO hat danach einen sigmoidalen Verlauf und wird empirisch in der Literatur durch die logistische Funktion, das Gompertz Modell oder nach Weibull beschrieben. Gleichung (2.12) stellt die Gompertz Funktion dar.

$$f(x) = a \cdot e^{-e^{-k(x-x_c)}} \quad (2.12)$$

Zwietering et al. [108, 109] hatten die Gompertz-Funktion modifiziert, so dass die anzupassenden Parameter μ , t_{lag} und B eine biologische Bedeutung bekommen. Das modifizierte Gompertz-Modell ist in Gl. (2.13) beschrieben und modellhaft in Abbildung 2.5 dargestellt. Der Wendepunkt dieser Kurve liegt immer auf der Ordinatenhöhe von B/e .

$$\ln \frac{N_{(t)}}{N_0} = B \cdot e^{-e^{\frac{\mu}{B}(t_{lag}-t)+1}} \quad (2.13)$$

mit B : oberer Grenzwert

Die Parameter hängen von dem jeweiligen MO und dessen Zustand, den Nährstoffbedingungen, der Temperatur und aufkommenden Limitierungen wie Produktinhibierung oder Sauerstoffmangel ab.

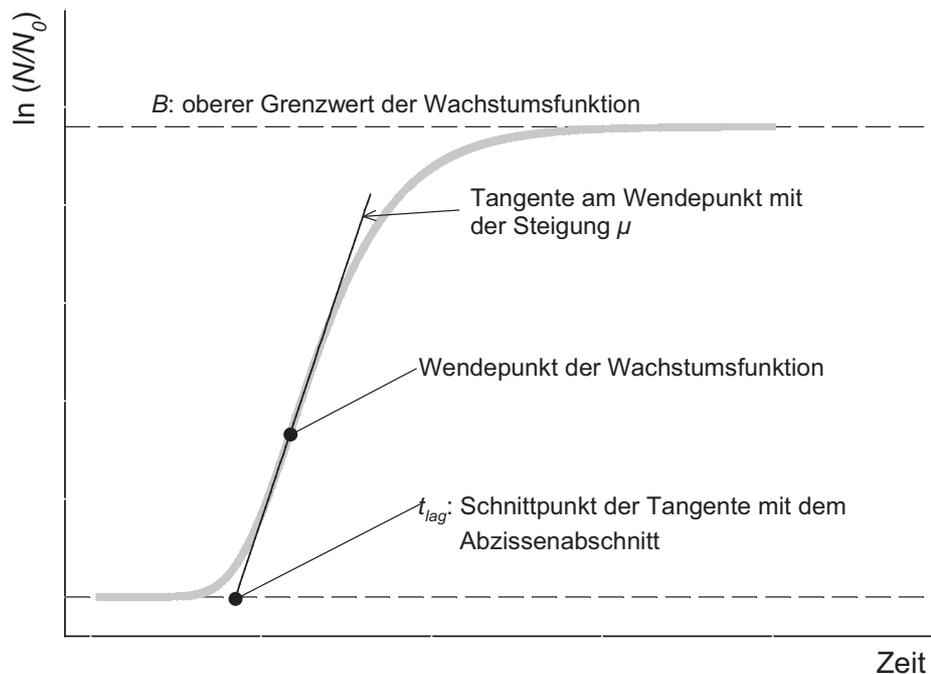


Abbildung 2.5: Modelldarstellung der Wachstumskurve nach Gleichung (2.13)

Bei der Zugabe von toxischen Substanzen wie z. B. Cu^{2+} oder 3,5-Dichlorphenol zum Inokulum verändert sich die Wachstumskurve. In den meisten Fällen verlängert sich

die Anpassungsphase t_{lag} und die spezifische Wachstumsrate μ wird kleiner. Diese Änderung der beiden Parameter wird zusammenfassend beim *P. putida* Wachstumshemmtest [107] genutzt. Dabei wird die optische Dichte (OD) direkt nach Zugabe der MO und nach 24 h gemessen. Eine Reduzierung der End-OD wird durch eine Verlängerung der Lag-Zeit und/oder Reduzierung der Wachstumsrate hervorgerufen. Der EC_{50} lässt sich durch Vergleich mit der Kontrollprobe ohne toxischen Zusatz bestimmen.

2.8 Elektrostatische Wechselwirkungen (Zetapotential)

Ladungen an der Oberfläche von Partikeln können durch verschiedene Mechanismen entstehen. Partikel, die an ihrer Oberfläche funktionelle Gruppen besitzen, können in wässrigen Systemen Protonen abgeben oder aufnehmen. Je nach Art und Anteil der funktionellen Gruppe bilden die Partikel in ihrer Gesamtheit eine negative oder positive Oberflächenladung aus. Außerdem können bei Kristallen durch Fehler in der Gitterstruktur Oberflächenladungen entstehen [110].

In Lösung wird diese Ladung durch gleich- und gegengeladene Ionen ausgeglichen. Ein Partikel mit seinen Oberflächenladungen wird von vorhandenen Elektrolyten umgeben, die eine elektrische Doppelschicht, die Stern- und die Gouy-Chapman Schicht, ausbilden (Abbildung 2.6).

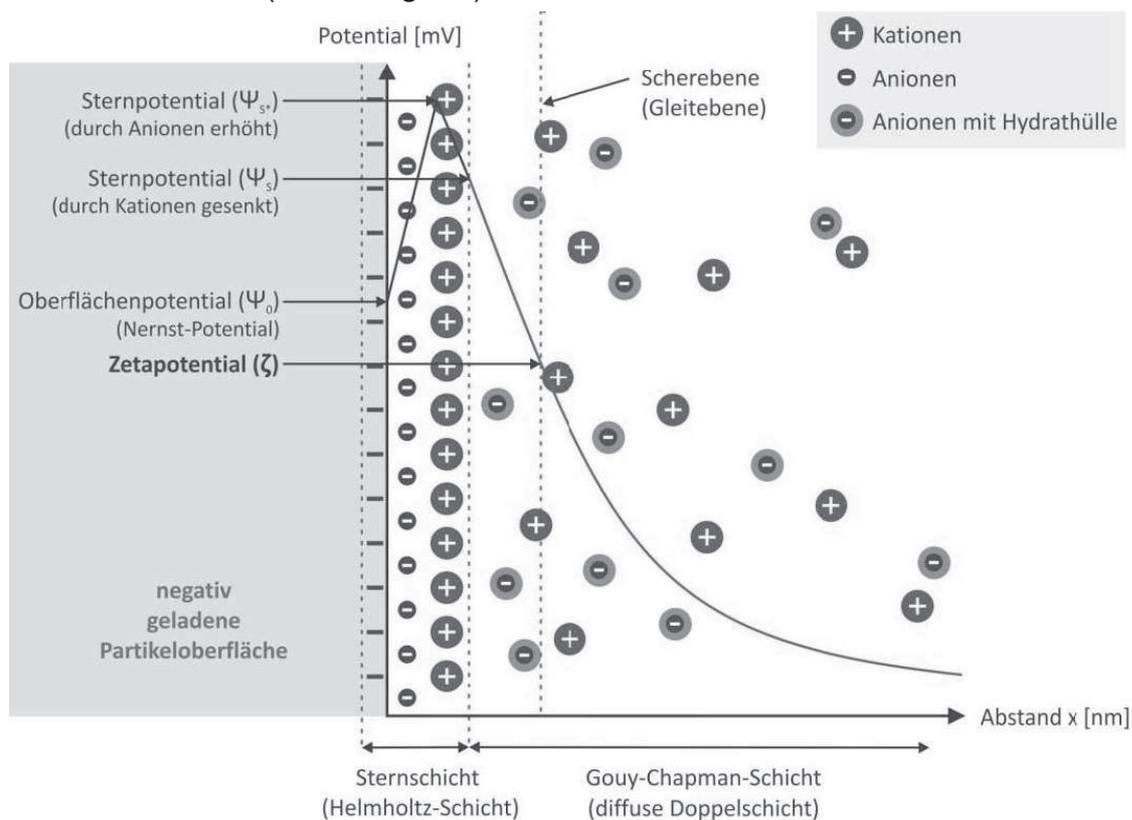


Abbildung 2.6: Schematische Darstellung der elektrischen Doppelschicht und des Zetapotentials an einem negativ geladenen Teilchen in wässriger Lösung

In der Sternschicht sind die Ionen gebunden und können sich nicht bewegen. Bei negativ geladenen Oberflächen kann die erste Schicht aus Anionen bestehen, da sie die umgebende Hydrathülle leichter abstreifen können als Kationen und durch die

höhere Diffusionsgeschwindigkeit über van der Waals Kräfte an die Oberfläche gebunden werden. Daran angrenzend befindet sich eine weitere Monoschicht aus Ionen entgegengesetzter Ladung mit Hydrathülle, die über Coulombkräfte starr gebunden sind. In dieser Sternschicht erfolgt der Potentialverlauf linear.

An die Sternschicht schließt die Gouy-Chapman Schicht, in der die Ionen sich frei bewegen (diffuse Schicht) und es eine ungleiche Verteilung von positiven und negativen Ionen gibt. In dieser Schicht nimmt das Potential exponentiell ab, bis es zu einer ausgeglichenen Verteilung der Ionen in der Lösung kommt [111, 112].

Die Dicke dieser Schicht lässt sich aus dem Debye-Hückel Parameter κ ablesen. Bei einer Entfernung von $1/\kappa$ ist das Potential auf $1/e$ gefallen. Der Debye-Hückel Parameter wird durch folgende Gleichung berechnet [111]:

$$\kappa = \sqrt{\frac{2N_A e^2 I}{\epsilon_0 \epsilon_r k_B T}} \quad (2.14)$$

mit N_A : Avogadro Konstante
 e : Elementarladung des Elektrons
 I : Ionenstärke der Lösung
 ϵ_0 : Dielektrizitätskonstante des Vakuums
 ϵ_r : relative Permittivität
 k_B : Boltzmann-Konstante.

Die Ionenstärke der Lösung berechnet sich durch folgende Formel:

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2 \quad (2.15)$$

mit c_i : Konzentration des Ions i
 z_i : Wertigkeit des Ions i .

Bei Wanderung der Partikel in einem elektrischen Feld stellt sich in der diffusen Schicht eine Scherebene ein, innerhalb derer die Ionen mitwandern. Außerhalb der Scherebene wandern die Ionen nicht mit und verbleiben in der Bulkphase. Das Potential, welches an dieser Scherebene gemessen wird, ist das Zetapotential ζ [112, 113].

Die Größe des Zetapotentials kann als ein Indikator für die Stabilität einer Suspension/Emulsion angesehen werden. Wenn das Zetapotential stark positiv bzw. stark negativ ist (± 30 mV), wird die Suspension/Emulsion als stabil angenommen. Die Begründung liegt im Aufbau einer elektrostatischen Abstoßungskraft bei gleichgeladenen Partikeln. Die elektrostatische Energie zwischen Partikeln kann nach Hogg et al. [114] mit folgender Gleichung berechnet werden:

$$W_{EL} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r r_1 r_2 (\Psi_{0_1}^2 + \Psi_{0_2}^2)}{4(r_1 + r_2)} \left[\frac{2\Psi_{0_1} \Psi_{0_2}}{(\Psi_{0_1}^2 + \Psi_{0_2}^2)} \cdot \ln\left(\frac{1 + e^{(-\kappa d)}}{1 - e^{(-\kappa d)}}\right) + \ln(1 - e^{(-2\kappa d)}) \right] \quad (2.16)$$

mit r_1, r_2 : Radius der Partikel
 Ψ_{0_1}, Ψ_{0_2} : Oberflächenpotential der Partikel

Bei identischen Partikeln reduziert sich die Gleichung zu:

$$W^{EL} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r r \Psi_0^2}{2} \ln(1 + e^{(-\kappa r)}) \quad (2.17)$$

Eine Limitierung bei der Berechnung der elektrostatischen Wechselwirkung (WW) liegt im Oberflächenpotential, welches in den meisten Fällen experimentell nicht zugänglich ist. Üblicher Weise wird es daher in verdünnten Elektrolytlösungen durch das Zetapotential ζ ersetzt oder in selteneren Fällen aus dem Zetapotential mit Gleichung (2.18) extrapoliert [115].

$$\Psi_0 = \zeta (1 + z/r) e^{z\kappa} \quad (2.18)$$

mit z : angenommener Abstand der Oberfläche zu Scherebene

Das Oberflächenpotential und damit die elektrostatische Abstoßung zwischen identischen Partikeln ist vom pH-Wert abhängig. Je nach Konzentration der H^+ und OH^- Ionen wird die Oberfläche protoniert oder deprotoniert. Im Falle einer ausgeglichenen Ladungsbilanz auf der Oberfläche auf Grund der Protonierung/Deprotonierung wird vom isoelektrischen Punkt gesprochen (IEP) [112]. Am IEP gibt es gleich viele positive wie negative Partialladungen auf der Oberfläche. Das Zetapotential ist bei pH-Werten unterhalb des IEP auf Grund fortschreitender Protonierung immer positiv, während es bei pH-Werten oberhalb des IEP negativ ist (Abbildung 2.7) [116].

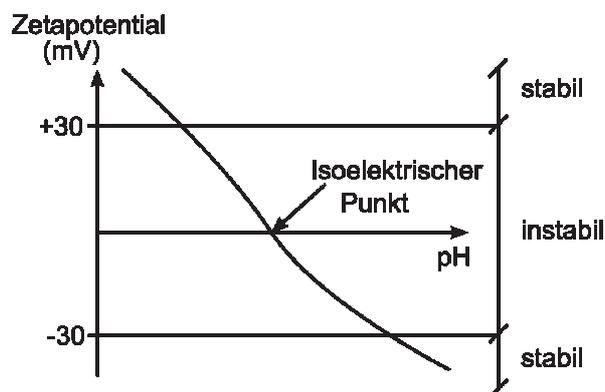


Abbildung 2.7: Schema des Zetapotentialverlaufs in Abhängigkeit vom pH-Wert

2.9 Thermodynamische Betrachtung

2.9.1 DLVO-Theorie

Die DLVO-Theorie, benannt nach ihren Urhebern Derjaguin, Landau, Verwey und Overbeek, beschreibt die WW von kolloidalen Partikeln bei ihrer gegenseitigen Annäherung oder der Annäherung an eine Oberfläche [117]. Die wirkenden Potentiale zwischen Partikeln werden als Gleichgewicht aus der Addition der anziehenden Lifshitz/van der Waals Energie W^{LW} und der abstoßenden elektrostatischen Energie W^{EL} beschrieben [111, 118].

$$W^{DLVO} = W^{LW} + W^{EL} \quad (2.19)$$

Durch die unterschiedlichen Funktionsverläufe der beiden Energien sind typische Charakteristika für ein DLVO Profil gegeben: das primäre Minimum, eine

Energiebarriere und ein sekundäres Minimum. Im primären Minimum besteht Kontakt zwischen den wechselwirkenden Körpern. Dieses kann aber nur erreicht werden, wenn die mögliche Energiebarriere bei der Annäherung nicht zu groß ist. Im sekundären Minimum kann eine reversible Agglomeration stattfinden.

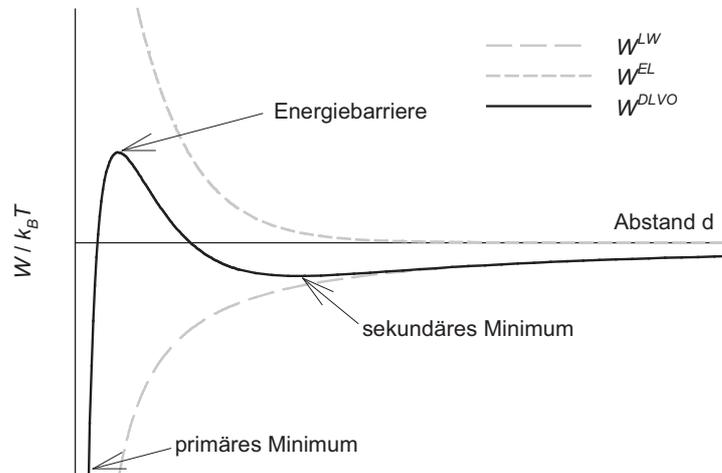


Abbildung 2.8: Modell des DLVO Interaktionsprofils

Die van der Waals Kräfte umfassen drei WW, benannt nach den Entdeckern London (Dispersion), Debye (Dipol – induzierter Dipol) und Keesom (Dipol – Dipol), die auf molekularer Ebene wirken. Lifshitz hat die Theorie auf die WW zwischen makroskopischen Körpern erweitert. Demnach ist die W^{LW} für 2 sphärische NP definiert [118, 119]:

$$W^{LW} = -\frac{A}{6} \left[\frac{2r_1 r_2}{(2r_1 + 2r_2 + d)d} + \frac{2r_1 r_2}{(2r_1 + d)(2r_2 + d)} + \ln \frac{(2r_1 + 2r_2 + d)d}{(2r_1 + d)(2r_2 + d)} \right] \quad (2.20)$$

mit A : Hamaker Konstante
 r_1, r_2 : Radius der Partikel
 d : Abstand zwischen den Partikeloberflächen

Für Annahmen wie $r_1 = r_2$ bei identischen Partikeln und bei anderen geometrischen Systemen lässt sich die Gleichung (2.20) weiter vereinfachen. So gilt bei identischen Partikeln mit $r_1 = r_2 \gg d$:

$$W = -\frac{Ar}{12d} \quad (2.21)$$

Die Hamaker Konstante A aus Gleichung (2.20) ist jedoch systemabhängig und berechnet sich aus folgender Gleichung [118, 120]:

$$A_{132} = (\sqrt{A_{11}} - \sqrt{A_{33}}) \cdot (\sqrt{A_{22}} - \sqrt{A_{33}}) \quad (2.22)$$

Die Indices stehen für die Interaktion verschiedener Körper in ihrer Umgebung. A_{ij} stellt die Interaktion identischer Körper im Vakuum dar. A_{132} beschreibt die Interaktion zweier Körper unterschiedlichen Materials (Indices 1,2) getrennt durch ein Fluid (Index 3). Die Hamaker Konstante A_{ij} ist jedoch wie bei einzelnen Stämmen von MO nicht immer bekannt. Sie liegt in den meisten Fällen in einer Größenordnung von

10⁻²⁰ J. Eine einfache und sehr brauchbare Methode zur Bestimmung von A_{ij} ist die Berechnung der Oberflächenenergie eines Körpers durch Kontaktwinkelmessung mit einer unpolaren Flüssigkeit.

2.9.2 Erweiterte DLVO-Theorie (XDLVO)

Mit Gleichung (2.19) aus der DLVO-Theorie können nicht alle Phänomene und WW-Kräfte, die in der Praxis gemessen wurden, erklärt werden. Durch Adsorption von Polymeren an Partikeln kommt es zu sterischen WW. Die Polarität des umgebenden Medium hat erheblichen Einfluss auf die gemessenen Kräfte. Deswegen wurde der Term durch unterschiedliche WW-Energien, die nicht alle unabhängig von einander sind, je nach Modellansatz mit einem „Zoo“ weiterer Interaktionsenergien erweitert [121].

$$W^{Gesamt} = W^{LW} + W^{EL} + W^{Sterisch} + W^{Hydratation} + W^{Hydrophob} + W^{Solvatation} \quad (2.23)$$

In der biologischen Disziplin, die in vielen Fällen die Adhäsion von MO an Oberflächen beschreibt, hat in den letzten Jahren die Theorie von van Oss [122] Übereinstimmungen mit den gemessenen Kräften zwischen MO und Oberflächen am Rasterkraftmikroskop (engl.: AFM) [123, 124] und der Anzahl an adhärennten MO gezeigt [125-127]. Sie basiert auf der Grundlage, dass gebildete Wasserstoffbrückenbindungen zwischen 2 Oberflächen in einem polaren Medium wie z. B. Wasser berücksichtigt werden müssen [128-131]. Daher wurde ein Term W_{AB} eingeführt, der die Kräfte zwischen zwei Oberflächen basierend auf den polaren Interaktionen beschreibt.

Nach van Oss wird die Wechselwirkungsenergie dementsprechend aus den Termen

$$W_{(d)} = W_{(d)}^{EL} + W_{(d)}^{LW} + W_{(d)}^{AB} \quad (2.24)$$

berechnet. Die Gleichungen für $W_{(d)}^{EL}$ und $W_{(d)}^{LW}$ sind in (2.16) und (2.20) beschrieben. Die Lewis-Säure-Base Interaktionsenergie $W_{(d)}^{AB}$ kann durch folgenden Term ausgedrückt werden [122].

$$W_{(d)}^{AB} = 2\pi \left(\frac{r_1 r_2}{r_1 + r_2} \right) \lambda_0 \cdot \Delta W^{AB} e^{-\frac{d_0 - d}{\lambda_0}} \quad (2.25)$$

mit ΔW^{AB} : Säure-Basen Komponente der freien Energie bei Abstand $d = d_0$
 d_0 : minimalster Abstand zweier Körper (0,158 nm)
 λ_0 : Korrelationslänge der Moleküle in der dispersen Phase (0,6 nm)

2.9.3 Kontaktwinkel

Die freie Oberflächenenergie der NP und MO kann durch Kontaktwinkelmessungen an der 3-Phasen-Grenzfläche berechnet werden (Abbildung 2.9). Bei dieser Methode wird ein Flüssigkeitstropfen auf die Oberfläche des Körpers aufgetragen und der Winkel θ zwischen Tropfen und Oberfläche gemessen (Abbildung 2.9). Durch eine Kräftebilanz (Young-Gleichung (2.26)) können die Oberflächen-spannungen in Beziehung gebracht werden [132].

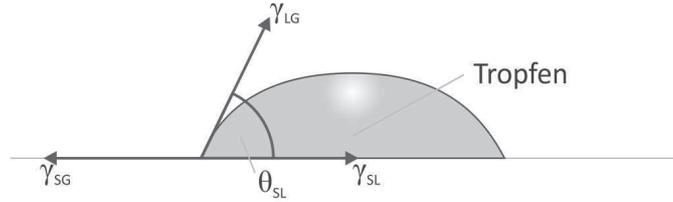


Abbildung 2.9: Kontaktwinkel eines Flüssigkeitstropfens auf einer Oberfläche

$$\gamma_{sv} = \gamma_{sl} + \gamma_{lv} \cos \theta \quad (2.26)$$

Unter Berücksichtigung bekannter Stoffdaten kann die Oberflächenenergie nach der erweiterten Young-Dupré-Gleichung berechnet werden (2.27), da der Kosinus des Kontaktwinkels θ eine Maßeinheit des Gleichgewichts zwischen der Kohäsionsenergie der Moleküle in der Flüssigkeit (linke Seite der Glg. (2.27)) und der Adhäsionsenergie zwischen der Flüssigkeit und dem Feststoff (rechte Seite der Glg. (2.27)) ist [122, 133]. Nach van Oss [122, 130, 134] kann die Adhäsionsenergie in einen unpolaren (Index LW) und in einen polaren Teil (Index AB) aufgeteilt werden.

$$(1 + \cos \theta) \gamma_l = -\Delta W_{sl}^{tot} = -\Delta W_{sl}^{LW} - \Delta W_{sl}^{AB} \quad (2.27)$$

Die Terme für die Adhäsionsenergien ΔW lassen sich ebenfalls durch die Oberflächenenergien des Feststoffs γ_s und der Flüssigkeit γ_l ausdrücken [129].

$$\Delta W_{sl}^{LW} = 2\sqrt{\gamma_s^{LW} \gamma_l^{LW}} \quad \text{und} \quad \Delta W_{sl}^{AB} = 2(\sqrt{\gamma_s^+ \gamma_l^-} + \sqrt{\gamma_s^- \gamma_l^+}) \quad (2.28)$$

Die Indices + bzw. - stehen für die Elektronen-Akzeptor bzw. Elektronen-Donator Parameter der Oberflächenenergien. Durch die Gleichung wird deutlich, dass die drei Parameter der Oberflächenenergien eines Feststoffs γ_s^{LW} , γ_s^+ und γ_s^- durch die Messung von Kontaktwinkeln mit 3 unterschiedlich polaren Flüssigkeiten bestimmt werden können.

Dementsprechend können die Interaktionsenergien bei Kontakt ΔW_{132}^{LW} und ΔW_{132}^{AB} zwischen Körper 1 und Körper 2 suspendiert in einer Flüssigkeit 3 berechnet werden. Für ΔW_{132}^{LW} gilt:

$$\Delta W_{132}^{LW} = 2(\sqrt{\gamma_3^{LW}} - \sqrt{\gamma_1^{LW}})(\sqrt{\gamma_2^{LW}} - \sqrt{\gamma_3^{LW}}) \quad (2.29)$$

Der unpolare Anteil der Adhäsionsenergie steht mit der Hamaker Konstante aus Gleichung (2.20) in folgender Beziehung [135]:

$$A = \Delta W_{132}^{LW} \cdot 12\pi \cdot d_0^2 \quad (2.30)$$

Der polare Anteil der Adhäsionsenergie ΔW_{132}^{AB} berechnet sich gemäß [128] nach:

$$\Delta W_{132}^{AB} = 2\left[\sqrt{\gamma_3^+}(\sqrt{\gamma_1^-} + \sqrt{\gamma_2^-} - \sqrt{\gamma_3^-}) + \sqrt{\gamma_3^-}(\sqrt{\gamma_1^+} + \sqrt{\gamma_2^+} - \sqrt{\gamma_3^+}) - (\sqrt{\gamma_1^+ \gamma_2^-} + \sqrt{\gamma_1^- \gamma_2^+})\right] \quad (2.31)$$

Durch die Messung von Kontaktwinkeln und Zetapotential ist es daher möglich die verschiedenen Anteile der Interaktionsenergien nach der DLVO (Gleichungen (2.16) und (2.20)) und XDLVO Theorie ((2.16), (2.20) und (2.25)) in Abhängigkeit vom Abstand der NP zum MO zu berechnen.

2.10 Adsorption

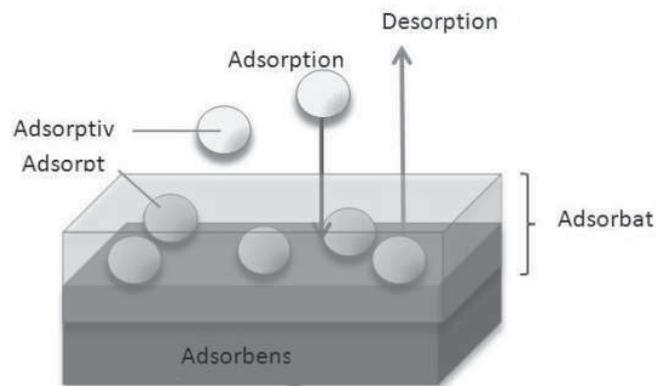


Abbildung 2.10: Grundbegriffe der Adsorption

Unter Adsorption wird die Anlagerung einer Substanz (Adsorptiv) an der Oberfläche (Adsorbens) einer benachbarten Phase verstanden. Im thermodynamischen Gleichgewicht hat sich ein konstantes Verhältnis zwischen der Konzentration der freien Substanz in der dispersen Phase und der Beladung am Adsorbens eingestellt, welches durch folgende Massenbilanz definiert ist:

$$V_{Ges}(c_0 - c_{eq}) = m(q - q_0) \quad (2.32)$$

- mit
- V_{ges} : Volumen der dispersen Phase
 - c_0 : Anfangskonzentration des Adsorptivs in der dispersen Phase
 - c_{eq} : Gleichgewichtskonzentration des Adsorptivs in der dispersen Phase
 - m : Masse an Adsorbens
 - q_0 : Beladung im Anfangszustand
 - q : Beladung im Gleichgewicht

Adsorptionsisothermen können durch verschiedene mathematische Modelle beschrieben werden. Zu den bekanntesten und verbreitetsten Modellen gehören die Langmuir-, Freundlich- und die BET-Isotherme. Da in dieser Arbeit das Langmuir-Modell benutzt wurde, wird nur die theoretische Grundlage für dieses Modell beschrieben [136].

2.10.1 Langmuir-Isotherme

Das Langmuir-Modell beschreibt das Gleichgewicht zwischen der Tendenz von Partikeln an der Oberfläche zu haften (Erniedrigung der Enthalpie) und der Tendenz der Partikel sich auf Grund des Entropiegewinns wieder zu lösen. Das Modell beinhaltet die Annahmen einer monomolekularen Beladung und der Gleichwertigkeit der Adsorptionsplätze [137]. Daraus ergibt sich folgende mathematische Beschreibung des Modells:

$$q = \frac{q_{max} \cdot K_L \cdot c_{eq}}{1 + K_L \cdot c_{eq}} \quad (2.33)$$

- mit
- q_{max} : maximale Beladung
 - K_L : Langmuir Konstante

2.11 Analytische Methoden

2.11.1 Messung des Zetapotentials

Auf Grund der Oberflächenladung der Partikel treten in einem angelegten elektrischen Feld verschiedene elektrokinetische Effekte auf.

Elektrophorese ist die Bewegung der geladenen Partikel relativ zu der umgebenden Flüssigkeit. *Elektroosmose* ist die Strömung einer ionisierten Flüssigkeit relativ zu der geladenen Oberfläche. *Strömungspotential* ist ein elektrisches Feld, welches bei Überströmung einer geladenen Oberfläche durch die Flüssigkeit generiert wird. *Sedimentationspotential* entsteht, wenn ein geladenes Partikel sedimentiert [112].

Im elektrischen Feld werden die Partikel in der Suspension zum Gegenpol hin beschleunigt. Strömungswiderstandskräfte, die abhängig von der Viskosität sind, wirken der Beschleunigung entgegen, bis die Kräfte im Gleichgewicht sind und die Partikel eine konstante Geschwindigkeit erreichen.

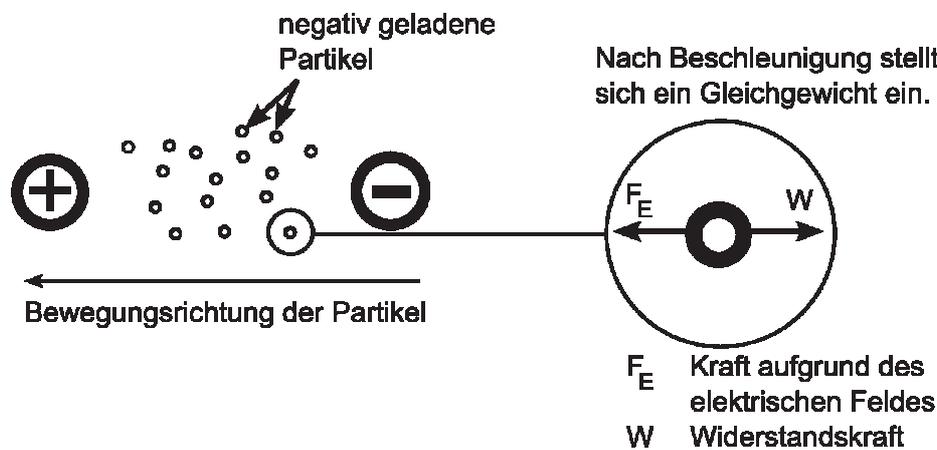


Abbildung 2.11: Schematische Darstellung der Partikelbewegung im elektrischen Feld

Die Geschwindigkeit eines Partikels wird als elektrophoretische Mobilität u angegeben und ist durch Gleichung (2.34) mit dem Zetapotential verknüpft.

$$u = \frac{2\varepsilon_0\varepsilon_r\zeta \cdot f(\kappa r)}{3\eta(T)} \quad (2.34)$$

mit $\eta(T)$: dynamische Viskosität der Suspension
 $f(\kappa r)$: Henry-Funktion

Bei Partikeln, bei denen $r > \kappa^{-1}$ gilt, nimmt die Henry-Funktion den Wert 1,5 an und das Zetapotential wird nach Smoluchowski berechnet. Für Partikel ($\kappa r \ll 1$) hat die Henry-Funktion den Wert 1 und ist als Hückel-Näherung bekannt [111, 112].

Der Aufbau eines Systems zur Messung des Zetapotentials ist in Abbildung 2.5 dargestellt. Ein Laser wird verwendet, um die Partikel in der Probe zu bestrahlen. Dieser Laserstrahl wird aufgeteilt, um einen Referenzstrahl zu erhalten. Der einfallende Strahl passiert das Zentrum der Probenmesszelle, und das gestreute Licht wird detektiert. Durch Anlegen eines elektrischen Feldes während der Messung ergibt sich eine Frequenzverschiebung (Dopplereffekt), welche proportional zur Partikelgeschwindigkeit ist.

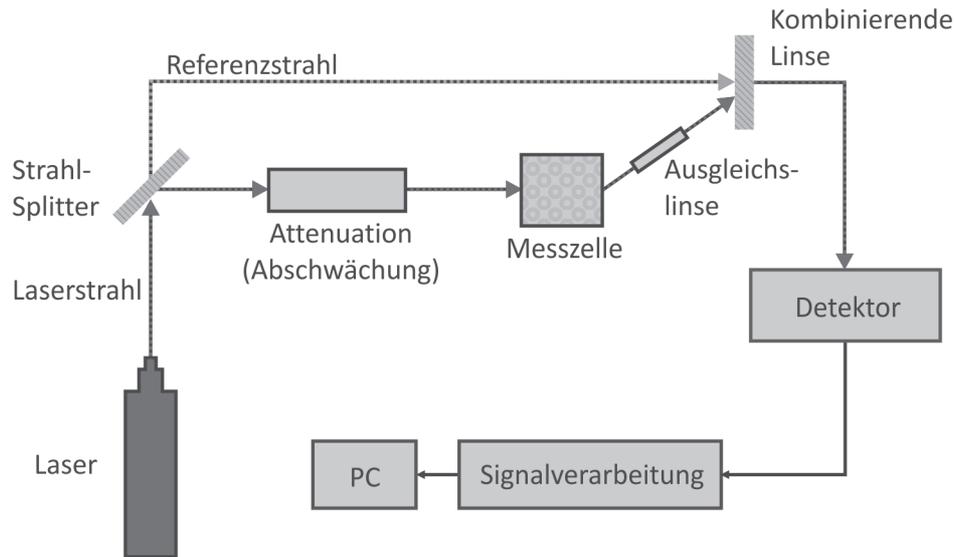


Abbildung 2.12: Aufbau des Zetasizers

2.11.2 Messung der Partikelgröße

Der hydrodynamische Durchmesser d_h eines Partikels kann mittels der dynamischen Lichtstreuung (DLS) ermittelt werden. Die Messung und Berechnung des Durchmessers basiert auf der Stokes-Einsteinschen Gleichung für die Diffusion von Teilchen.

$$d_h = \frac{k_B T}{3\pi \cdot \eta(T) \cdot D} \quad (2.35)$$

mit d_h : hydrodynamischer Durchmesser des Partikels
 D : Diffusionskoeffizient

Die Partikel in einer Suspension, in der keine konvektiven Stoffströme auftreten, bewegen sich auf Grund der Brownschen Bewegung ungerichtet. Damit keine konvektiven Ströme auftreten, wird die Temperatur konstant gehalten. Der Diffusionskoeffizient wird zur Berechnung von d_h bestimmt. Der Diffusionskoeffizient wird aus der Geschwindigkeit des Partikels in einer Dimension ermittelt, welche durch Streuung eines Lasers in einem Winkel von 173° gemessen werden kann (Abbildung 2.13). Auf Grund von Interferenzen kommt es in bestimmten Bereichen zur Auslöschung der Amplitude (Phasenverschiebung um 180°) oder zur Verdopplung der Amplitude (Phasenverschiebung um 0°).

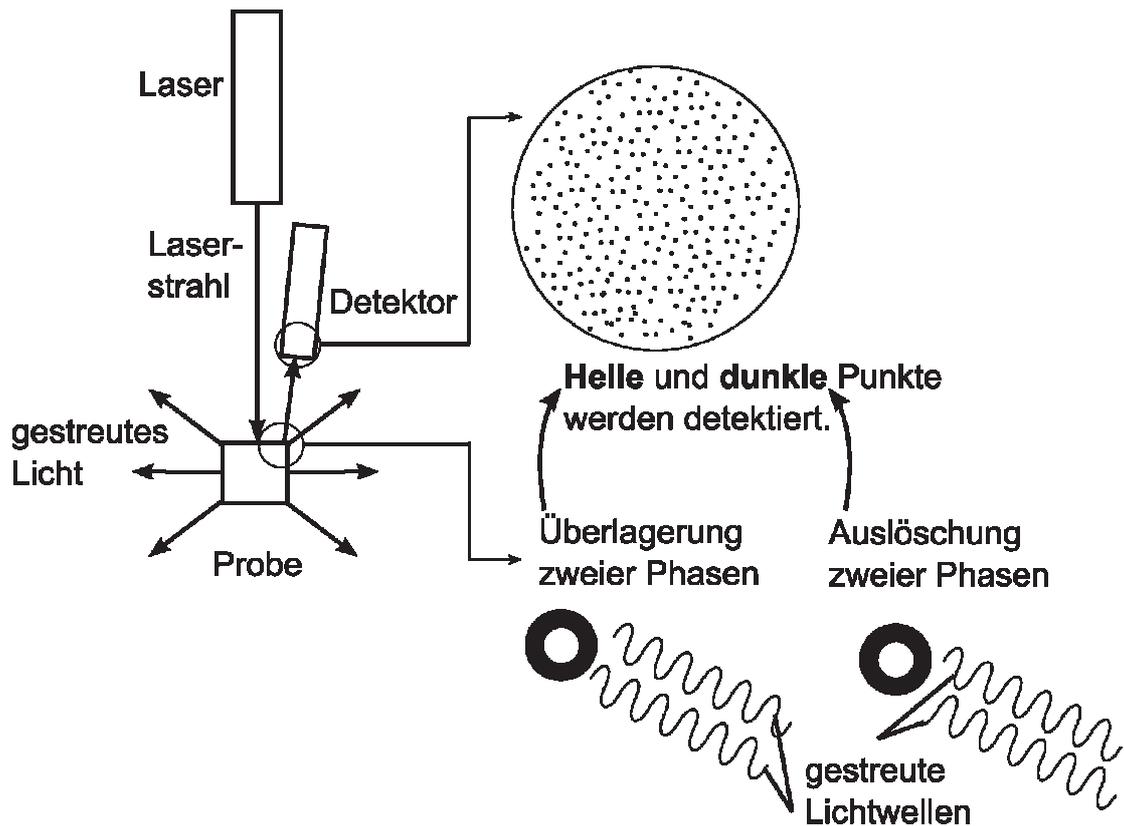


Abbildung 2.13: Prinzip der DLS Messung

Durch die Brownsche Bewegung der Partikel variiert das Intensitätssignal über der Zeit. Je nach Partikelgröße verändert sich der Verlauf mit der Zeit und die Intensität zu einem Zeitpunkt t wird mit sich selbst zu späteren Zeitpunkten ($t + \Delta t$, $t + 2\Delta t$, ...) verglichen. Bei großen Partikeln, die ihre Richtung und Geschwindigkeit langsamer ändern wie kleinere Partikel, korrelieren die Intensitäten über einen längeren Zeitraum. Bei Auftragung des Korrelationskoeffizienten über der Zeit (Abbildung 2.14) ist der Zeitpunkt an dem die Kurve signifikant abfällt ein Hinweis auf die Größe der Partikel. Je steiler dieser Abfall, desto monodisperser ist die Suspension.

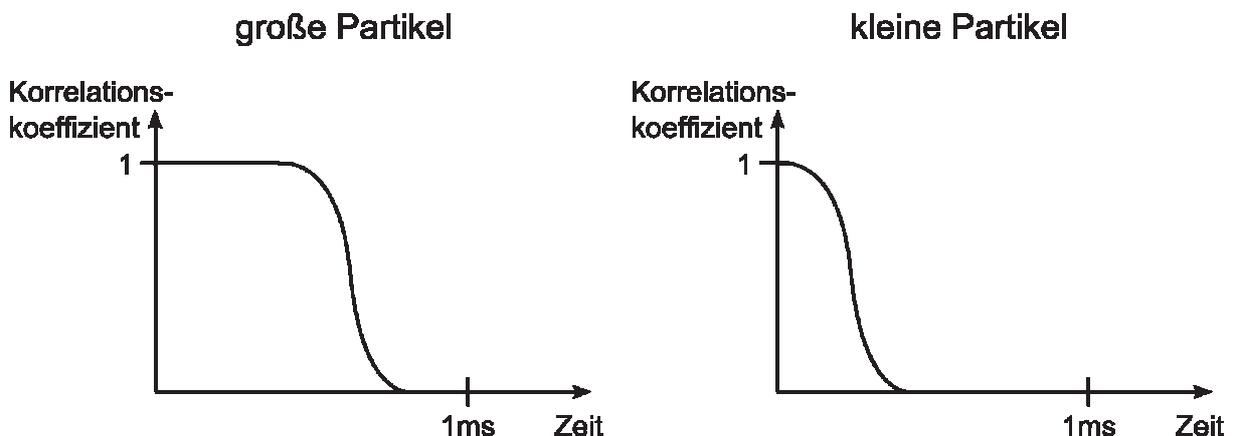


Abbildung 2.14: Zeitlicher Verlauf des Korrelationskoeffizienten bei der DLS Messung für große und kleine Partikel

Der Durchmesser der Partikel wird aus der Korrelationsfunktion berechnet und steht mit der relativen Intensität des gestreuten Lichts in Beziehung. Für Nanopartikel gilt

auf Grund der Rayleigh-Näherung, dass die Intensität proportional zum Durchmesser in der 6. Potenz ist ($I \propto d^6$). Dies kann zu einer Limitierung der Größenbestimmung bei polydispersen Proben führen, da einzelne große Partikel das Signal für kleinere überlagern können. Mit Hilfe der Mie-Theorie können die Intensitätsverteilungen in Volumenverteilungen umgewandelt werden. Abbildung 2.15 zeigt vergleichend die Anzahl-, Volumen- und Intensitätsverteilungen für ein 1:1 Gemisch aus 10 nm und 100 nm Partikeln.

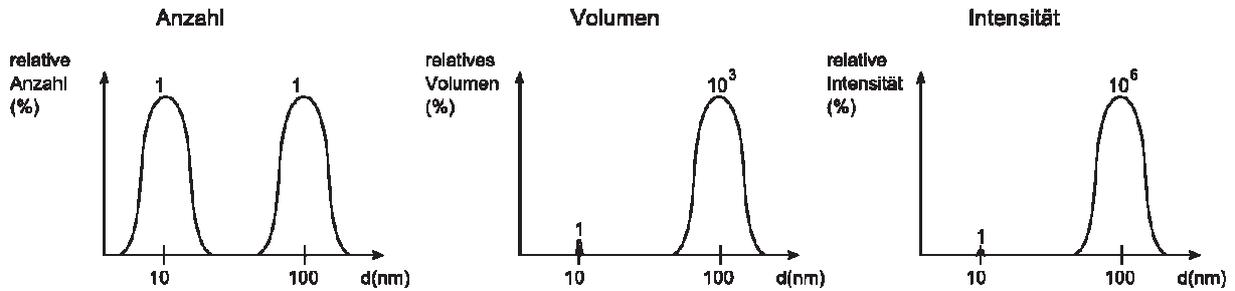


Abbildung 2.15: Verteilungen einer 1:1 Mischung von 10 nm und 100 nm Partikeln

3 Material und Methoden

3.1 Geräte

<u>Bezeichnung</u>	<u>Hersteller und Modell</u>
ICP-OES	Varian, Vista-PRO-CCD
DLS u. Zetapotentialmessgerät	Malvern Ltd., Zetasizer NanoZS
Kontaktwinkelmessgerät	dataphysics, OCA 20
MTP-Lesegerät	Perkin Elmer, Victor ³ Wallac 1420
Zentrifuge	Hettich, Rotanta 460
UV/VIS Spektroskop	Varian, Cary 50
REM	LEO ElectronMicroscopy Ltd, Gemini 1530
Sonnenlichtsimulator	LOT-Oriel Europe GmbH
DOC/TOC-Analyse	Shimadzu, Total Carbon Analyzer TOC 5000

3.2 Mikroorganismen

<u>Mikroorganismus</u>	<u>Bezugsquelle</u>
<i>Escherichia coli</i> K12 d21	CGSC, Coli Genetic Stock Center
<i>Escherichia coli</i> K12 DSM 498	DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
<i>Pseudomonas putida</i> DSM 291	DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 20174	DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> DSM 70459	DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen

3.3 Synthese der Nanopartikel

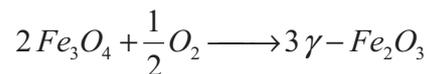
<u>Nanopartikel</u>	<u>Bezugsquelle</u>
Eisenoxid (FeOx)	Synthetisiert am Lehrstuhl
Ag	Synthetisiert am Lehrstuhl
TiO ₂ (P25)	Evonik Industries AG
SiO ₂ -CL™	GRACE Davison
SiO ₂ -SM™	GRACE Davison

3.3.1 Eisenoxid NP

Die Synthese wurde nach [138] durchgeführt und wird hier nur kurz dargestellt. FeCl_2 und FeCl_3 wurden im molaren Verhältnis von 1:2 in Reinstwasser (RW), welches angesäuert und sauerstofffrei war, gelöst. Die Lösung wurde unter anoxischen Verhältnissen unter ständigem Rühren tropfenweise zu sauerstofffreier Natronlauge ($c = 1,5 \text{ mol L}^{-1}$) gegeben.

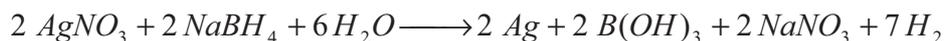


Der gebildete Magnetit wurde im magnetischen Feld vom Überstand getrennt und in O_2 -freiem RW resuspendiert. Die Suspension wurde 3 mal unter Sauerstoffausschluss bei 4000 g für 30 min zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Sediment erneut resuspendiert. Die letzte Resuspension fand in $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ HCl statt und die nun saure Suspension wurde 18 h lang unter anoxischen Verhältnissen gerührt. Bei der abschließenden Zentrifugation lagen die kolloidalen Magnetit-Nanopartikel im Überstand vor und wurden unter Druckluftzufuhr bei $100 \text{ }^\circ\text{C}$ für 30 min zu Maghämät oxidiert. Die Farbe änderte sich dabei von schwarzblau zu rotbraun.



3.3.2 Silber NP

Die NP wurde in RW durch Reduktion von AgNO_3 mit NaBH_4 hergestellt. Dabei wurde zu einer Lösung $c(\text{AgNO}_3) = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ NaBH_4 hinzugegeben bis zu einer Endkonzentration von $c(\text{NaBH}_4) = 1 \text{ mmol L}^{-1}$. Die Lösung wurde anschließend 24 h gerührt [139].



3.3.3 Siliziumdioxid und Titandioxid

Beim verwendeten SiO_2 handelte es sich um kolloidales, amorphes SiO_2 , das unter dem Markennamen LUDOX[®] von GRACE Davison vertrieben wird. Die beiden eingesetzten NP $\text{SiO}_2\text{-SM}^{\text{TM}}$ und $\text{SiO}_2\text{-CL}^{\text{TM}}$ unterscheiden sich in ihrer Oberflächenmodifikation (Abbildung 3.1).



Abbildung 3.1: Oberflächenmodifikation der eingesetzten SiO_2 NP. $\text{SiO}_2\text{-CL}$ (links) und $\text{SiO}_2\text{-SM}$ (rechts) unterscheiden sich durch die Aluminat-Beschichtung beim $\text{SiO}_2\text{-CL}$. Quelle: Grace Davison LUDOX[®] Produktbroschüre.

Beim Titandioxid handelte es sich um P25 TiO₂ von Evonik Industries AG, welches eine Mischung aus den Kristallstrukturen Anatas und Rutil darstellt.

3.4 Messung der Massenkonzentration der NP

Die Konzentration der Metalloide in selbstsynthetisierten FeOx-NP und Ag-NP wurden durch optische Emissionsspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) bestimmt. Die FeOx-NP wurden mit 200 µL HCl (32%) versetzt, um Fe-Ionen in Lösung zu bringen. Zum Ansäuern der Ag-NP wurden 100 µL HNO₃ (65%) verwendet. Die angesäuerten Proben wurden durch ein Zerstäubersystem als Aerosol in die Argon-Plasma-Flamme eingetragen und dort bei 6500 °C ionisiert und angeregt. Die emittierten Spektrallinien wurden quantitativ durch Vergleich mit Kalibrierstandards ausgewertet.

3.5 Bestimmung des Zetapotentials und der Größenverteilung

3.5.1 Zetapotential von NP

Das Zetapotential wurde aus der gemessenen elektrophoretischen Mobilität der NP mittels der Smoluchowski Approximation bestimmt. Die Messung der elektrophoretischen Mobilität erfolgte in einer Kapillarzelle mit einem Gesamtvolumen $V = 1$ mL im Zetasizer NanoZS. Die verschiedenen NP mit Ausnahme von Ag wurden bei Konzentrationen im Bereich von 200 – 400 mg L⁻¹ in einer NaCl- und CaCl₂-Lösung mit $c = 10$ mmol L⁻¹ gemessen. Die verschiedenen pH-Werte wurden mit HCl und NaOH der Konzentrationen $c = 0,1$ mol L⁻¹ und $c = 1$ mol L⁻¹ eingestellt.

Ag wurde bei einer Konzentrationen von 20 mg L⁻¹ in einer NaNO₃- und Ca(NO₃)₂-Lösung mit $c = 10$ mmol L⁻¹ vermessen. Die Variation des pH-Werts erfolgte mit HNO₃ und NaOH.

3.5.2 Zetapotential von MO

Analog zu der Zetapotentialbestimmung der NP wurde die elektrophoretische Mobilität der MO in 10 mmolarer NaCl- und CaCl₂-Lösung bei verschiedenen pH-Werten bestimmt. Die Konzentration an Prokaryoten wurden für die Messung auf eine OD von 0,1 eingestellt. *S. cerevisiae* wurde bei einer OD von 1 gemessen.

3.5.3 Bestimmung des hydrodynamischen Durchmessers der NP

Die Größenmessung erfolgte in einer 4 mL Polyacrylküvette analog zur Bestimmung des Zetapotentials (3.5.1) mit den gleichen Massenkonzentrationen und Modellsalzlösungen im Zetasizer NanoZS. Die Größenverteilung der NP wurde bei den pH-Werten gemessen, bei welchen die Adsorptions- und Toxizitätsexperimente durchgeführt wurden und bei denen die NP eine Größenverteilung mit möglichst kleinen Werten aufwiesen (Tabelle 3.1).

Tabelle 3.1: pH-Werte zur Messung des hydrodynamischen Durchmessers der NP per DLS

NP	pH-Wert
SiO ₂ -CL	7
SiO ₂ -SM	7
FeOx	4
Ag	7
TiO ₂	4

3.6 Kontaktwinkelmessung

3.6.1 Vorbereitung der Proben

Die gewaschenen MO (s. 3.8.1) wurden über eine Dead-End Filtration auf einen 0,45 µm Filter aufgebracht, wie in Abbildung 3.2 a) schematisch dargestellt. Zuerst wurde der Filter mit 10 – 20 mL RW gespült bevor die MO Suspension filtriert wurde. Die Konzentration an MO wurde so eingestellt, dass sich auf dem Filter eine Schicht aus 50 – 100 Lagen MO aufbaute. Nach der Filtration wurde der Filter für 30 min bei Raumtemperatur getrocknet und anschließend auf eine Agarplatte gelegt. Durch diese Trocknung wurde das exzessive Wasser entfernt [140], aber die Zellen behielten ihren nativen Zustand über einen längeren Zeitraum, da durch den Agar eine ausreichende Feuchte für die MO bereitgestellt wurde.

Die NP wurden mittels Nanofiltration aufbereitet. 100 mL einer 1 g L⁻¹ Nanosuspension wurden mit einem Druck von 4 bar durch eine Nanofiltrationsmembran (NF-270) mit einer nominellen Porengröße von etwa 1 nm filtriert. Der Aufbau der Anlage ist in Abbildung 3.2 b) dargestellt. Nach der Filtration wurde die Membran für 30 min bei Raumtemperatur getrocknet.

Die ebenen Oberflächen auf den Filtern aus NP und MO konnten für die Kontaktwinkelmessung genutzt werden.

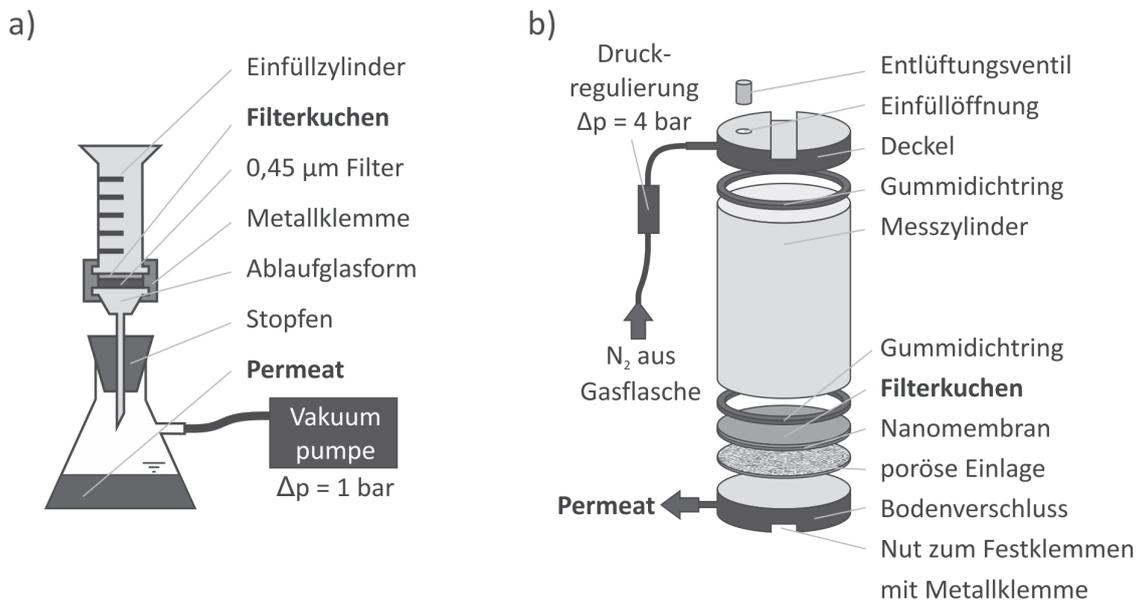


Abbildung 3.2: Aufbau der Filtrationseinrichtungen zur Messung der Kontaktwinkel.

a) 0,45 µm Filtration für MO; b) Nanofiltration für NP

3.6.2 Messverfahren

Die Proben auf den Filtern wurden mittels eines Kontaktwinkelmessgeräts mit elektronischem Mehrfachdosiersystem und Hochgeschwindigkeits-Videokamera vermessen. Abbildung 3.3 zeigt den schematischen Aufbau. Zur Messung des Kontaktwinkels wurden 0,6 μL Tropfenvolumen der jeweiligen Flüssigkeit (Wasser, Formamid, Diiodomethan) aufgegeben. Für die Tropfenaufgabe auf die Probe wurde der Probenstisch nach oben bewegt, bis der an der Pipettenspitze haftende Tropfen an die Probe gebunden wurde. Anschließend wurde der Probenstisch nach unten bewegt bis der Tropfen keinen Kontakt zur Pipettenspitze mehr aufwies. Mit der Hochgeschwindigkeitskamera wurde der Tropfen über mehrere Sekunden aufgenommen und der Kontaktwinkel mit Hilfe der Software bestimmt. Für jede der drei Flüssigkeiten wurden 8 Kontaktwinkel an verschiedenen Stellen des Filters gemessen. Die eingesetzten Flüssigkeiten und ihre Oberflächeneigenschaften sind in Tabelle 3.2 beschrieben.

Tabelle 3.2: Oberflächenenergien in mJ m^{-2} der eingesetzten Flüssigkeiten. Die Gesamtenergie (tot) berechnet sich aus der Addition des unpolaren Anteils (LW) mit dem polaren Anteil der Energie (AB). Der polare Anteil setzt sich aus dem Elektronenakzeptor und dem Elektronendonator Parameter nach folgender Gleichung $\gamma^{AB} = 2\sqrt{\gamma^+ \gamma^-}$ zusammen.

	γ_L^{LW}	γ_L^+	γ_L^-	γ_L^{AB}	γ_L^{tot}
Wasser	21,8	25,5	25,5	51,0	72,8
Formamid	39,0	2,3	39,6	19,0	58,0
Diiodmethan	50,8	0,0	0,0	0,0	50,8

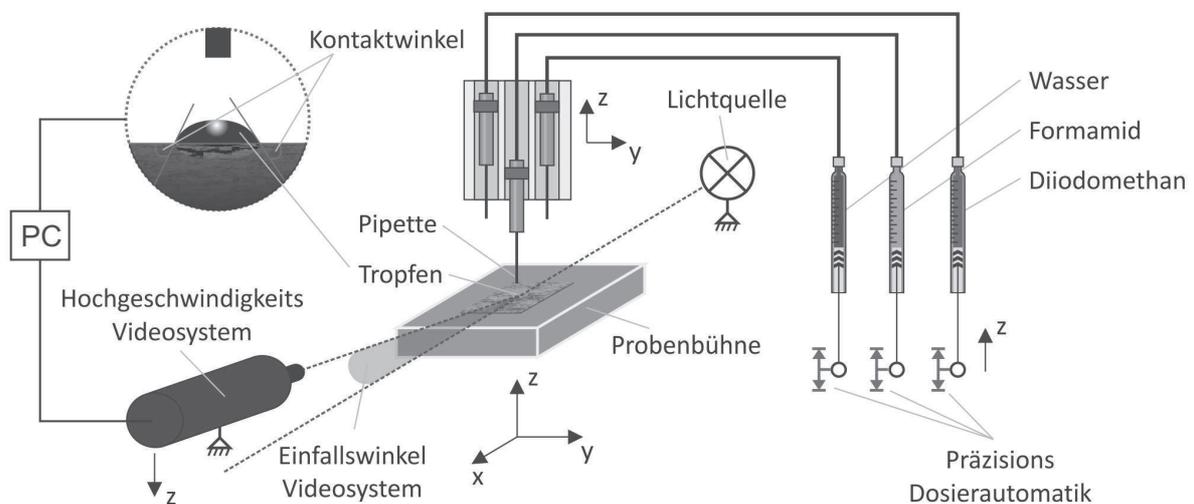


Abbildung 3.3: Aufbau des Kontaktwinkelmessgeräts

3.7 Ermittlung von Adsorptionsisothermen

3.7.1 Adsorption von NOM an NP

Für die Adsorption wurde die Konzentration an NP konstant gehalten und die Konzentration an NOM variiert. Als NOM wurde eine Fulvinsäure-Fraktion (FS) verwendet, die aus dem Hohlohsee nach der Methode von Abbt-Braun et al. [141] isoliert war. Es wurden jeweils 4 mL der Suspension in Polystyrol (PS)-Röhrchen angesetzt und für 30 min in einem Überkopfschüttler ins Adsorptionsgleichgewicht

gebracht. Von den jeweils 4 mL wurden 0,8 mL zur Zetapotentialmessung der NP wie unter 3.5 beschrieben benutzt. Die restlichen 3,2 mL wurden in einer Ultrazentrifuge bei $100.000 \text{ U min}^{-1}$ für 30 min zentrifugiert, um die freie FS von der an den NP adsorbierten zu trennen. Die Negativprobe wurde ohne NP angesetzt und diente zur Überprüfung des DOC-Verlusts auf Grund der Ultrazentrifugation. Die spektrale Absorption der FS im Überstand wurde am UV/VIS Spektrometer bei $\lambda = 254 \text{ nm}$ gemessen und mit der Kalibriergeraden (s. Abbildung A.2) in die DOC-Konzentration umgerechnet.

Tabelle 3.3: Endkonzentrationen der NP im PS-Röhrchen

NP	Zugabe an NP in μL	Endkonzentration in mg L^{-1}
$\text{SiO}_2\text{-CL}$	100	52,9
$\text{SiO}_2\text{-SM}$	100	102,9
FeOx	400	73,5
Ag	1000	5,3

3.7.2 Adsorption von NP an MO

In PS-Röhrchen wurden verschiedene Konzentrationen der Nanopartikel mit einer Salzlösung, wenn nicht anders beschrieben $c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ auf 4 mL aufgefüllt. Die relevanten Konzentrationen wurden aus Vorversuchen ermittelt. Das Zugabevolumen an MO wurde entsprechend der Konzentration der gewaschenen MO angepasst, so dass die Messsuspension eine $\text{OD} = 0,1$ für alle Prokaryoten und eine $\text{OD} = 1$ für *S. cerevisiae* aufwies. Nach Zugabe der MO wurden die Proben für 30 min in einem Überkopfschüttler durchmischt und anschließend für 15 min bei 2000 g zentrifugiert. 1 mL des Überstands wurde entnommen und die Bestimmung der Gleichgewichtskonzentration je nach NP entweder mit UV/VIS Spektroskopie oder mit ICP-OES bestimmt (siehe Abbildung 3.4).

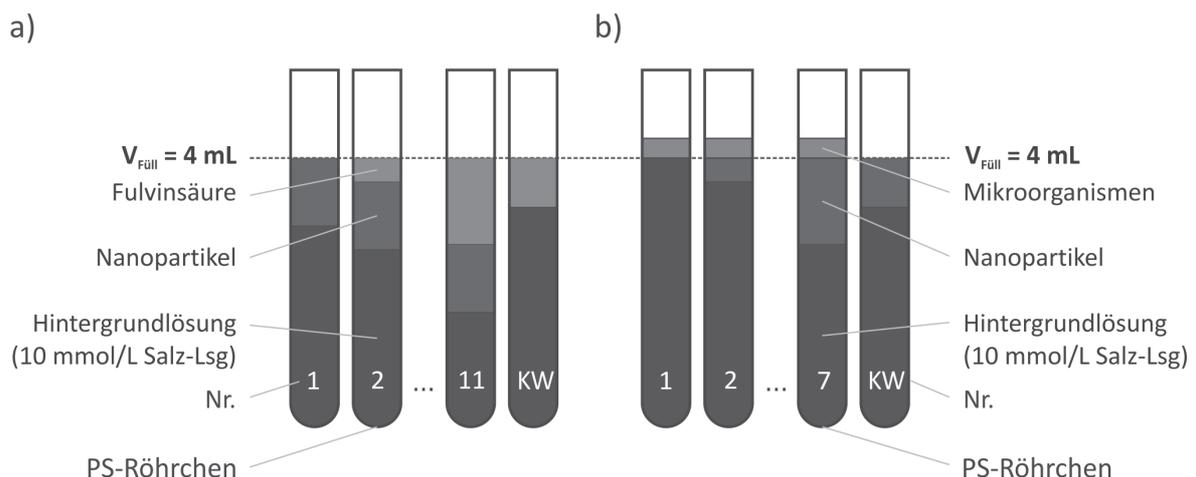


Abbildung 3.4: Zusammensetzung der Messproben zur Erstellung von Adsorptionsisothermen; a) NOM an NP; b) NP an MO

3.8 Umgang mit Mikroorganismen

3.8.1 Kultivierung

50 mL des entsprechenden autoklavierten Mediums (9.2.1.1) wurden mit 20 μL der jeweiligen Gefrierkultur überimpft und bei 30 °C auf einem Orbitalschüttler über Nacht kultiviert. Das Wachstum der MO wurde durch Messung der OD (Extinktionsmessung bei $\lambda = 600 \text{ nm}$) überprüft. Die MO wurden zu Beginn der stationären Phase bei 8000 g für 10 min abzentrifugiert und der Überstand verworfen. Das Pellet wurde resuspendiert und erneut abzentrifugiert, bevor die gewaschenen MO für die Experimente genutzt wurden. Zur Bestimmung der Zellkonzentration wurde erneut die OD gemessen.

3.8.2 Abtötung durch Säure und Base

Für die Schädigung der MO durch starke Säure oder Base wurde die resuspendierte Bakteriensuspension auf eine $\text{OD}_{600} = 0,1$ in NaCl Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) verdünnt. Jeweils 4 mL wurden in ein PS-Röhrchen gegeben und durch Zugabe von NaOH und HCl auf unterschiedliche pH-Werte eingestellt. Nach 60 min im Überkopfschüttler wurden die Proben mit einem Phosphatpuffer (1 mol L^{-1} , pH 7) neutralisiert und die Anzahl der ungeschädigten MO nach der in 3.8.3beschriebenen Methode quantifiziert.

3.8.3 Messung der Wachstumskurve mit Hilfe von Mikrotiterplatten

Zur Messung der Toxizität in einer Modellsalzlösung wurden die Proben nach dem selben Schema wie bei der Adsorptionsmessung (3.7.2) vorbereitet. Nach der Kontaktzeit wurden 20 μL als Triplikat in eine Kavität, welche vorher mit 180 μL Medium befüllt wurde, überführt.

Zur Messung der Toxizität im Medium wurden durch UV-Licht sterilisierte PS-Röhrchen mit Medium und der zu untersuchenden Substanz auf $V_{\text{ges}} = 4 \text{ mL}$ in der Sterilbank befüllt und vermischt. Für die Messung wurden jeweils 180 μL dieser Lösung/Suspension in 3 Kavitäten einer 96-well MTP überführt und mit 20 μL einer Bakteriensuspension beimpft.

Die MTP wurde mit einer sterilen, gasdurchlässigen Folie verschlossen und die Trübung der Kavitäten je nach MO alle 7 - 15 min an einem MTP-Lesegerät bei $\lambda = 620 \text{ nm}$ über 12 – 24 h gemessen.

3.9 Probenvorbereitung für REM Aufnahmen

Die NP-MO Suspensionen wurden wie bei der Erstellung der Adsorptionsisothermen (3.7.2) angesetzt. Nach der Durchmischungszeit wurde ein Teil über einen mit RW gespülten Polycarbonatfilter ($0,2 \mu\text{m}$) abfiltriert. Das Volumen der abfiltrierten Probe wurde auf Basis der Konzentration der NP und MO mit dem Ziel berechnet, dass die Belegung des Filters durch die abgetrennten MO unterhalb einer Monolage war.

Ohne vorhergehende Trocknung wurde der Filter mit ansteigenden Acetonlösungen (50, 70, 90, 100 %) gespült, um das Wasser in den Zellen durch Aceton zu ersetzen. Die Filter wurden anschließend in Aceton aufbewahrt, bevor sie in überkritischem

CO₂ getrocknet wurden. Dafür wurde in einer Trocknungsanlage das Aceton durch flüssiges CO₂ ersetzt und Temperatur und Druck auf 31 °C und 80 bar eingestellt, um das flüssige CO₂ in den überkritischen Zustand zu überführen. Durch Druckablass wurden die Filter getrocknet und bis zur weiteren Verwendung im Exsikkator gelagert.

Die anschließende Analyse erfolgte nach Aufdampfen eines Platinfilms am Rasterelektronenmikroskop im Labor für Elektronenmikroskopie (LEM, KIT, Karlsruhe).

3.10 Photokatalytische Umsetzungen

3.10.1 Bestrahlung im Sonnenlichtsimulator

Die Bestrahlung wurde mittels eines Sonnenlichtsimulators, der mit einer ozonfreien 1000 W Xenon-Kurzbogenlampe als Lichtquelle ausgestattet ist, durchgeführt. Um die atmosphärische Absorption zu simulieren, ist eine mehrfache Filterung notwendig. Mit einem atmosphärischen Abschwächungsfilter der Dicke 1 mm wurde jegliche Strahlung mit einer Wellenlänge kleiner als 320 nm abgeschwächt. Die harte UV-Strahlung mit $\lambda < 295$ nm wurde zusätzlich durch einen optischen Filter über den Proben komplett absorbiert. Die Proben wurden durch einen Kühlwasserkreislauf auf eine Temperatur von 20 °C ± 2°C temperiert, um die Verdunstung zu minimieren. Die Magnetrührer wurden alle mit der gleichen Leistung angetrieben, um eine gleichmäßige Durchmischung aller Proben zu gewährleisten.

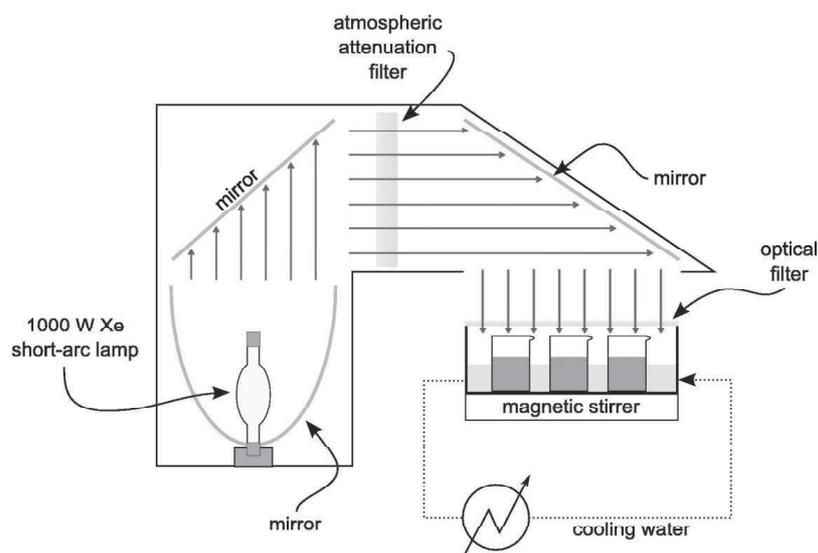


Abbildung 3.5: Schematischer Aufbau des Sonnenlichtsimulators [142]

Für die Proben wurden 50 mL Bechergläser verwendet, die 40 mL der Suspension und einen Rührfisch enthielten. Dabei wurde die TiO₂-Konzentration zwischen 0 mg L⁻¹ und 1000 mg L⁻¹ variiert und die pH-Werte mit HCl und NaOH eingestellt. Das TiO₂ wurde im Dunkeln zugegeben und die Bestrahlung nach einer Gleichgewichtseinstellung von 30 min begonnen. Zur Probenentnahme bei verschiedenen Bestrahlungszeiten wurde je 1 mL der Probe entnommen und in

einem Eppendorfcup im Dunkeln bis zur Quantifizierung der Mikroorganismen in MTP aufbewahrt.

Bei gleichzeitiger Messung des Zetapotentials des TiO_2 im Laufe der Bestrahlung wurde ein zweites Becherglas mit der identischen Matrix, abgesehen von der Zugabe der MO, verwendet. Die MO hätten die Zetapotentialmessung behindert. 1 mL Probe wurde zeitgleich mit den anderen Proben zur Zetapotential Messung genommen und im Dunkeln aufbewahrt.

3.10.2 Aktinometrie

Bei der chemischen Aktinometrie wird der Photonenstrom in einem System bekannter Geometrie bestimmt. In der vorliegenden Arbeit wurde Kaliumferrioxalat ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$) als Aktinometer verwendet. Durch die Bestrahlung mit Licht wird Oxalat zu CO_2 und Eisen(III) zu Eisen(II) reduziert. Die gebildeten Eisen(II)Ionen werden mit einem 1,10-Phenanthrolin Reagenz komplexiert und die Absorption bei einer Wellenlänge von $\lambda = 510 \text{ nm}$ gemessen.

Dazu wurde eine Mischung von 2,5 mL einer Kaliumoxalatlösung ($c = 0,12 \text{ mol L}^{-1}$) mit 2,5 mL einer schwefelsauren Eisen(III)chloridlösung ($c(\text{FeCl}_3) = 0,04 \text{ mol L}^{-1}$, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) hergestellt. Jeweils 5 mL dieser Mischung wurden in Petrischalen gegeben, welche unterhalb der Proben positioniert wurden und bei denen das Licht nicht durch die Seite einfallen konnte. Abbildung 3.6 zeigt den schematischen Aufbau.



Abbildung 3.6: Schematischer Aufbau der Aktinometrie

Bei der Aktinometrie wurde der Sonnenlichtsimulator ohne Wasserkühlung betrieben. Die Bestrahlungsdauer lag bei max. 4 min, was einer Zeit von 30 s zwischen den Probeentnahmen entspricht. 100 μL der bestrahlten Probe wurden zu 900 μL einer Reagenz-lösung gegeben. Die Reagenzlösung bestand aus 650 μL RW, 200 μL Phenanthrolin-Lösung (0,2%) und 500 μL schwefelsaurem Acetatpuffer ($c(\text{Acetat}) = 0,40 \text{ mol L}^{-1}$, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,0 \text{ mol L}^{-1}$). Die Proben wurden 1 h im Dunkeln aufbewahrt bevor sie am UV/Vis Photometer bei $\lambda = 510 \text{ nm}$ gemessen wurden.

3.10.3 Extinktionsmessungen in Anwesenheit von NOM am Photometer

Die Extinktion der TiO₂-Suspensionen wurde im UV/Vis Photometer mit zwei in Reihe gestellten Küvetten gemessen, um die zusätzliche Absorption der NOM im Wellenlängenbereich $\lambda = 290 - 380 \text{ nm}$ zu ermitteln. Mittels der zwei Küvetten wurde der Einfluss vom TiO₂ räumlich getrennter NOM im Gegensatz zu einer homogenen NOM-TiO₂-Suspension untersucht.

Zur Messung des zeitlichen Verlaufs der Extinktion bei gleichzeitiger Bestrahlung mit UV-Licht wurde die Extinktion der TiO₂-Suspension in einer Küvette bei $\lambda = 600 \text{ nm}$ untersucht. Gleichzeitig wurde die Suspension durch eine UV-LED ($\lambda = 365 \text{ nm}$) Lichtquelle von oben bestrahlt, um den Photokatalysator anzuregen.

3.10.4 Bestimmung von OH-Radikalen

Die OH-Radikale wurden mit einer Testmethode nach Nash bestimmt [143]. Dabei wurde Methanol als Radikalfänger eingesetzt. Methanol reagiert mit OH-Radikalen in freier Lösung [144], sowie mit den Defektelektronen auf der TiO₂ Oberfläche [84] zu Formaldehyd (HCHO). Mit den Reagenzien des Nashtests reagiert Formaldehyd zum gelben Diacetyldihydrolutidin (DDL), welches bei $\lambda = 412 \text{ nm}$ quantifiziert werden kann. Für das Reagenz wurden 2 mol L^{-1} Ammoniumacetat, $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ Essigsäure und $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ Acetylaceton in einem Messkolben gemischt und mit RW auf 100 mL aufgefüllt.

Die Proben für die Bestimmung der OH-Radikale wurden in 40 mL Bechergläsern angesetzt. Zu der TiO₂-Suspension wurden $144 \mu\text{L}$ Methanol ($\approx 100 \text{ mmol L}^{-1}$) gegeben. In einem Zeitraum von fünf Minuten wurde jede Minute eine Probe mit $1,7 \text{ mL}$ entnommen und im Dunkeln aufbewahrt. Die TiO₂ Partikel wurden anschließend bei 13000 U min^{-1} über 8 min abzentrifugiert. Vom Überstand wurde 1 mL mit ebenfalls 1 mL Nash-Reagenz in Photometerküvetten gemischt und für 30 min bei $50 \text{ }^\circ\text{C}$ in den Trockenschrank gestellt. Während dieser Zeit reagierte das gebildete Formaldehyd mit der Nash Reagenz zum DDL.

Der Vergleich der gebildeten OH-Radikale erfolgte über die Steigung der Absorptionswerte innerhalb des fünfminütigen Zeitraums. Sie repräsentiert die Bildungskinetik der Radikale bei verschiedenen Versuchsbedingungen (Abbildung 3.7).

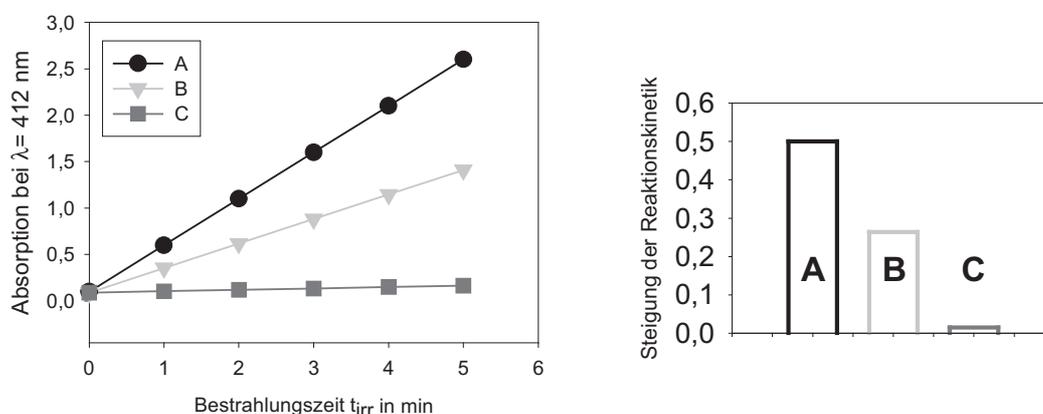


Abbildung 3.7: Vergleich der OH-Bildungskinetiken auf Grund unterschiedlicher Reaktionsbedingungen

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Charakterisierung der NP

4.1.1 Zetapotential

Die eingesetzten NP wurden hinsichtlich ihres Zetapotentials bei verschiedenen pH-Werten untersucht (Abbildung 4.1). Das Zetapotential der NP wurde bis auf Ag in $c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ und $c(\text{CaCl}_2) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ gemessen. Bei Ag wurde aufgrund des geringen Löslichkeitsprodukts von AgCl $c(\text{NaNO}_3) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ und $c(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ als Hintergrundlösung verwendet.

Die Ag-NP zeigten den IEP bei einem pH-Wert von 2 während sie bei einem pH-Wert von 7 in der NaNO_3 -Lösung ein Zetapotential von $\zeta \approx -40 \text{ mV}$ aufwiesen. Bei der $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung stieg das Zetapotential auf Grund der höheren Ionenstärke an, blieb aber negativ.

FeOx hatte seinen IEP in der NaCl-Lösung bei einem pH-Wert von 7 - 8. Unterhalb dieses pH-Werts war das Zetapotential in der CaCl_2 -Lösung nicht signifikant unterschiedlich zu dem in der NaCl-Lösung. Oberhalb von pH 7 fiel das Zetapotential um 10 – 20 mV ab, blieb jedoch konstant positiv. Dieser Effekt wurde durch die Anlagerung des CaOH^+ Hydroxykomplexes an die Partikeloberfläche erklärt. Bei Überschreitung des Löslichkeitsprodukts an der Grenzfläche kann es zu Präzipitation von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ kommen, was ein positives Oberflächenpotential vermittelt [145].

Die SiO_2 -SM-NP waren bei allen pH-Werten negativ geladen. Bei der CaCl_2 -Lösung zeigte sich der gleiche Effekt wie bei den Ag-NP. Das Zetapotential stieg etwas an. Im Gegensatz zu den SiO_2 -SM-NP hatten die SiO_2 -CL-NP einen IEP in der NaCl-Lösung bei einem pH-Wert von 9. In der CaCl_2 -Lösung blieb das Zetapotential auch bei höheren pH-Werten positiv.

TiO_2 hat in der NaCl Lösung einen IEP bei pH 6-7 und besitzt ein Zetapotential von $\zeta = 40 \text{ mV}$ bzw. $\zeta = -40 \text{ mV}$ bei pH-Werten unterhalb von 4 bzw. oberhalb von 8. Für das eingesetzte TiO_2 existieren in der Literatur schon Messungen der elektrophoretischen Mobilität und des Zetapotentials nach Smoluchowski. Die erhaltenen Werte in der 10 mmolaren NaCl-Lösung stimmen überein mit den Ergebnissen anderer Gruppen [146, 147]. In der CaCl_2 -Lösung zeigten sich die gleichen Effekte wie bei FeOx und SiO_2 -CL

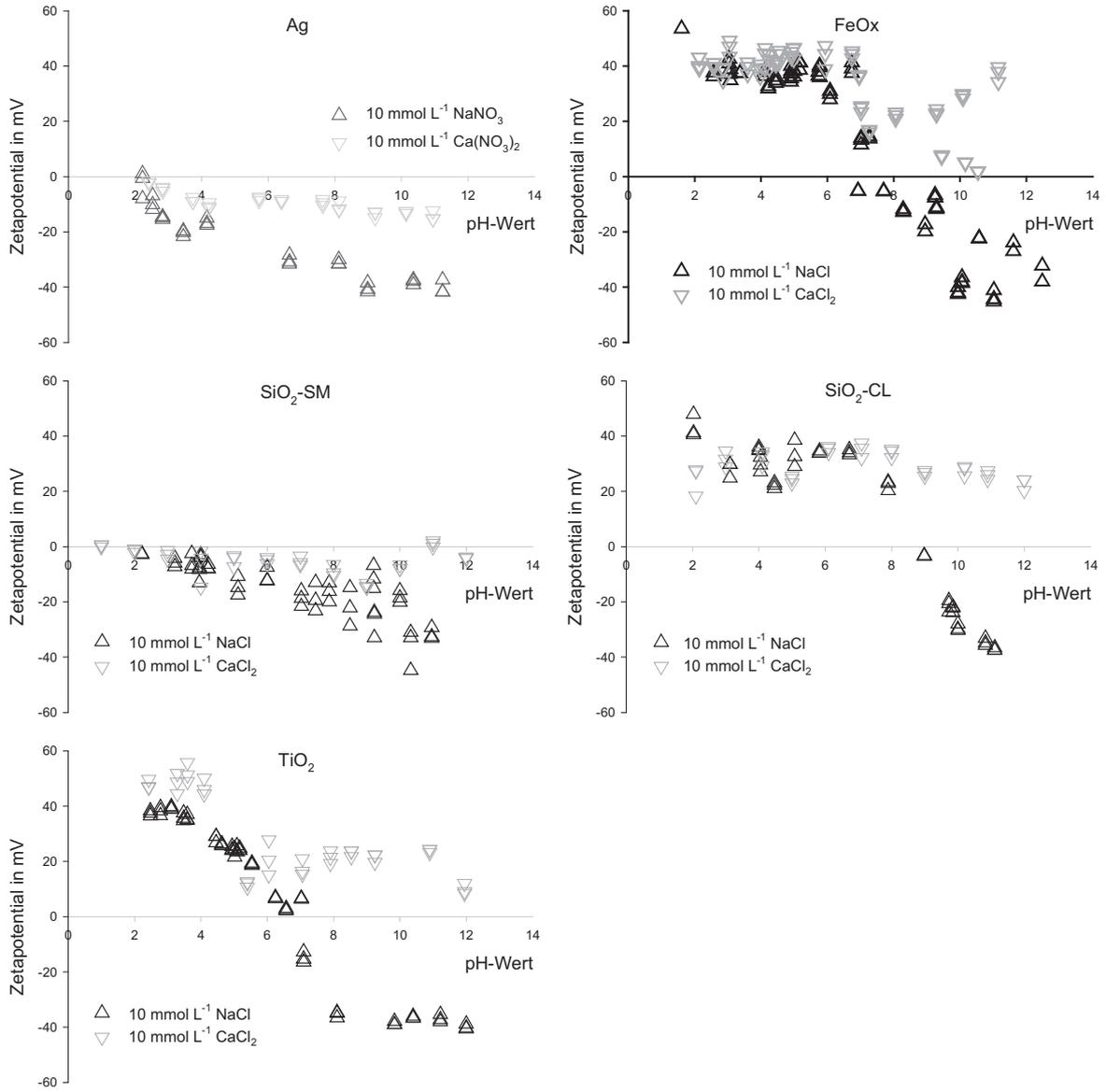


Abbildung 4.1: Zetapotential der NP in Na⁺ und Ca²⁺ Lösungen bei verschiedenen pH-Werten

4.1.2 Kontaktwinkel

Die Kontaktwinkel der NP wurden mit den Flüssigkeiten Wasser, Formamid und Diiodomethan bestimmt. In den weiteren Kapiteln können aus den Kontaktwinkeln die Hamaker Konstante A und die Oberflächenenergien berechnet werden. Das TiO_2 wurde vor Messung der Kontaktwinkel im Sonnenlichtsimulator bestrahlt.

Tabelle 4.1: Gemessene Kontaktwinkel in $^\circ$ mit Wasser, Formamid und Diiodomethan an den NP

Nanopartikel	θ_{Wasser}	θ_{Formamid}	$\theta_{\text{Diiodomethan}}$
FeOx	34	47	47
SiO ₂ -SM	49	13	42
SiO ₂ -CL	70	46	48
TiO ₂	9	< 5	93

4.1.3 Größenverteilung

Bei der Größenmessung wurde zwischen dem Primärdurchmesser der einzelnen Partikeln und der Größenmessung in wässriger Suspension unterschieden, in der sich verschiedene Aggregatgrößen aus den Primärpartikeln bilden. Der Primärdurchmesser wurde mittels REM- oder TEM-Messungen bestimmt. Die Aggregatgröße der NP in Suspension wurde mit der DLS gemessen. Tabelle 4.2 zeigt den Vergleich zwischen der Größe der Primärpartikel und dem mittels DLS gemessenen Z-Average, der den Mittelwert der Größenverteilung charakterisierte. Bei SiO₂ und TiO₂ wurde der Primärdurchmesser von den Angaben des Herstellers übernommen.

Tabelle 4.2: Vergleich der Primärdurchmesser der NP mit dem Z-Average aus der DLS

	Primärdurchmesser in nm	Z-Average in nm
FeOx	5-10	38
Ag	2-3	9
SiO ₂ -SM	7	19
SiO ₂ -CL	12	48
TiO ₂	20-30	300

Die gemessene Größenverteilung der verschiedenen NP in Suspension ist in Abbildung 4.2. dargestellt. Die pH-Werte wurden so gewählt, dass sie nicht bei den jeweiligen IEP lagen. SiO₂ und Ag wurden bei einem pH-Wert von 7 und FeOx und TiO₂ bei einem pH-Wert von 4 gemessen. Dies führte zu der kleinstmöglichen Aggregatbildung. Alle eingesetzten NP außer TiO₂ zeigten eine monomodale Verteilung und waren kleiner als 100 nm, aber nur Ag zeigte eine Verteilung im Bereich ihres Primärdurchmessers. Im Fall von SiO₂ und FeOx lagen kleinere Aggregate in der Suspension vor, wie die TEM Messungen (Abbildung A.1) bestätigten. Jiang et al. [148] erhielten für die SiO₂-CL-NP in einer NaCl-Lösung ($\rho = 1 \text{ g L}^{-1}$) eine identische Verteilung. Bei TiO₂ sind die gebildeten Aggregate zu groß, um eine Größenverteilung mittels DLS zu messen.

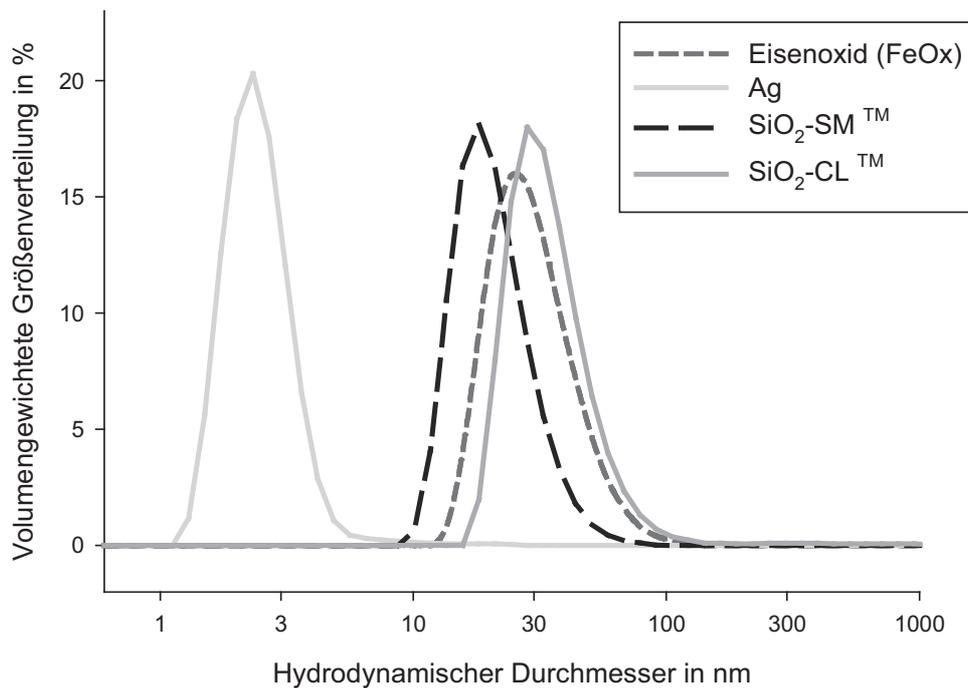


Abbildung 4.2: Größenverteilung von SiO₂, Ag und FeOx-NP in Salzlösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$)

Abbildung 4.3 zeigt die Abhängigkeit der Größe vom pH-Wert und damit einhergehend vom Zetapotential am Beispiel der FeOx-NP. Der Z-Average wurde bei verschiedenen pH-Werten und Ionenstärken in einer NaCl-Lösung bestimmt. Am IEP bei pH-Wert 7 - 8 nahm der gemessene Z-Average den höchsten Wert an. Durch die fehlende elektrostatische Abstoßung der gleichgeladenen Teilchen kam es, bedingt durch Diffusion und van der Waals Anziehung, zu Aggregation bei diesem pH-Wert. In der NaCl-Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) agglomerierten die NP bei pH 5 – 10. Unter- und oberhalb dieser pH-Werte blieb die Nanaosuspension stabil. Bei geringerer Ionenstärke verkleinerte sich der pH Bereich bei dem es zu Agglomeration kam. Eine geringere Ionenstärke verringerte den Debye-Hückel-Parameter, was gleichbedeutend mit einer Vergrößerung der diffusen Doppelschicht war.

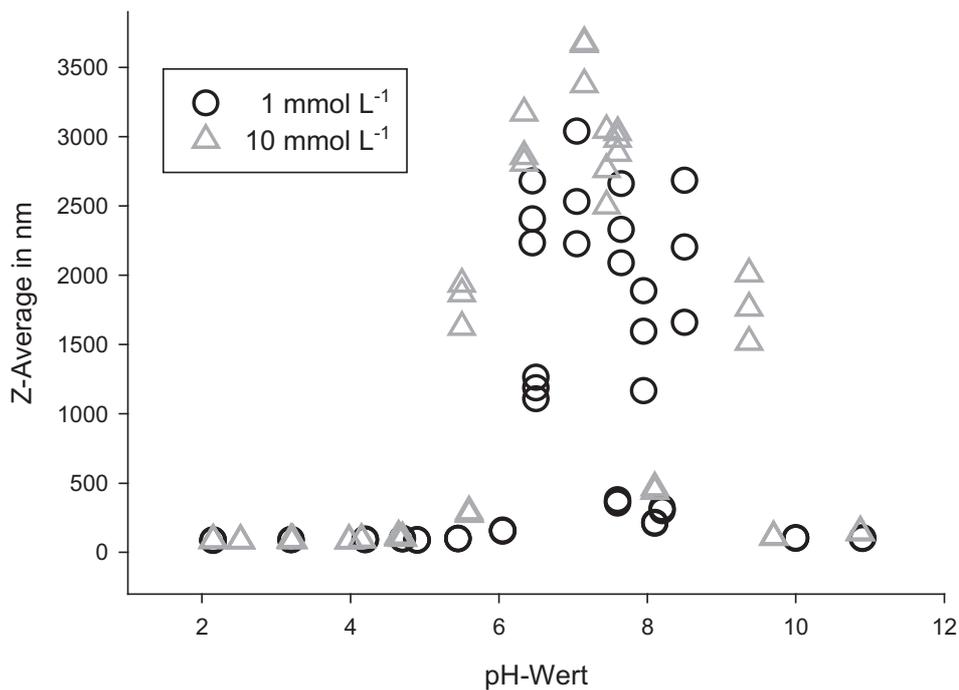


Abbildung 4.3: Größe der FeOx-NP in Abhängigkeit von der Ionenstärke und dem pH-Wert

4.2 Einfluss von Fulvinsäure (FS) auf die NP

Hypothese: Die Adsorption von FS an NP ist stark abhängig vom Zetapotential der NP. FS ist negativ geladen und sollte an positiv geladene Oberflächen stärker adsorbieren.

Adsorptionsisothermen von NOM an NP wurden bei verschiedenen pH-Werten und in unterschiedlichen Salzlösungen gemessen. FS diente beispielhaft als NOM. Die Isothermen wurden mit SigmaPlot (Systat Software, Inc.) an die Langmuir Funktion (2.33) angepasst. Die Parameter q_{max} und K_L , die Anzahl der Messpunkte und die Güte der Anpassung sind in Tabelle 4.3. angegeben.

Tabelle 4.3: Parameter und Bestimmtheitsmaß für die Anpassungen nach Langmuir bei der Adsorption von FS an NP

NP	Hintergrundsalzlösung	pH-Wert	K_L in $L \text{ mg}^{-1}$	q_{max} in $\mu\text{g mg}^{-1}$	Messpunkte	R^2
SiO ₂ -CL	NaCl 10 mmol L ⁻¹	4	0,52 ±0,16	161 ±23	11	0,976
		7	0,86 ±0,42	147 ±27	11	0,928
		10	0,63 ±0,29	41 ±5	11	0,939
	CaCl ₂ 10 mmol L ⁻¹	7	0,38 ±0,23	221 ±76	11	0,901
		10	0,50 ±0,20	168 ±33	11	0,961
FeOx	NaCl 10 mmol L ⁻¹	4	5,07 ±2,48	86 ±13	7	0,862
		7	2,54 ±1,51	58 ±11	7	0,663
		10	0,62 ±0,21	20 ±2	7	0,961
	CaCl ₂ 10 mmol L ⁻¹	4	4,53 ±1,56	111 ±7	7	0,962
		7	1,85 ±0,48	125 ±9	7	0,980
		10	1,60 ±0,41	96 ±9	7	0,965
TiO ₂	NaCl 10 mmol L ⁻¹	4	1,23 ±0,48	31 ±3	11	0,889
		7	kein Fit möglich		11	./.

4.2.1.1 Adsorption von FS an SiO₂

Die Adsorption von FS an SiO₂-CL-NP war in den pH-Bereichen, in denen die NP ein positives Zetapotential aufwiesen, signifikant höher (vgl. Abbildung 4.1). Zwischen den pH-Werten 4 und 7, bei denen SiO₂-CL das gleiche positive Zetapotential besaß, wurde kein signifikanter Unterschied in der Beladung nachgewiesen. Die negativ geladenen funktionellen Gruppen der FS wurden von dem positiv geladenen Aluminat auf der SiO₂-Oberfläche (vgl. Abbildung 3.1) angezogen, wobei es zu einer Ummantelung des NP durch die FS kam. Durch die Sorption der FS fiel das Zetapotential der gemessenen NP von +20 mV auf -20 mV. Die beschriebene Ummantelung der NP mit der FS ließ die Partikel gegenüber ihrer Umwelt als negativ geladenes Teilchen erscheinen. Bei einem pH-Wert von 10 war die maximale Beladung auf 41 $\mu\text{g mg}^{-1}$ gesunken, da bei hohen pH-Werten OH⁻-Ionen mit der FS um die Adsorption an der Al⁺ Oberfläche konkurrierten. Die geringere Beladung zeigte sich auch in der kleineren Differenz bei der Änderung des Zetapotentials, welches nur ein Delta von ca. 10 mV (von -35 mV auf -45 mV) aufwies. Bei den SiO₂-SM-NP, die bei allen pH-Werten ein negatives Zetapotential aufwiesen, konnte keine Adsorption der FS nachgewiesen werden. SiO₂-SM trägt auch keine positiven Ladungen nach außen wie SiO₂-CL. Daher adsorbierte selbst bei gleichem Zetapotential weniger FS an die Partikel (SiO₂-SM bei pH 7 im Vergleich zu SiO₂-CL bei pH 10).

Bei der Adsorption der FS an die SiO₂ NP mit einer CaCl₂-Hintergrundlösung ließ sich im Gegensatz zur NaCl-Lösung kein Unterschied in der Beladung zwischen pH 7 und 10 ausmachen. Dies war auch aus den Zetapotentialmessungen zu erwarten, da SiO₂-CL bei pH 10 ein positives Zetapotential aufwies. Insgesamt lag die maximale Beladung in der CaCl₂-Lösung über dem q_{max} in der NaCl-Lösung, trotz der höheren Ionenstärke der CaCl₂-Lösung, die die elektrostatische Anziehungskraft zwischen FS und SiO₂ reduziert ($I(\text{CaCl}_2) = 30 \text{ mmol L}^{-1}$; $I(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$). Aber die zweiwertigen Kalziumionen konnten als Brückenbildner zwischen der FS und den NP dienen [149], wodurch es insgesamt zu einer höheren Beladung kam.

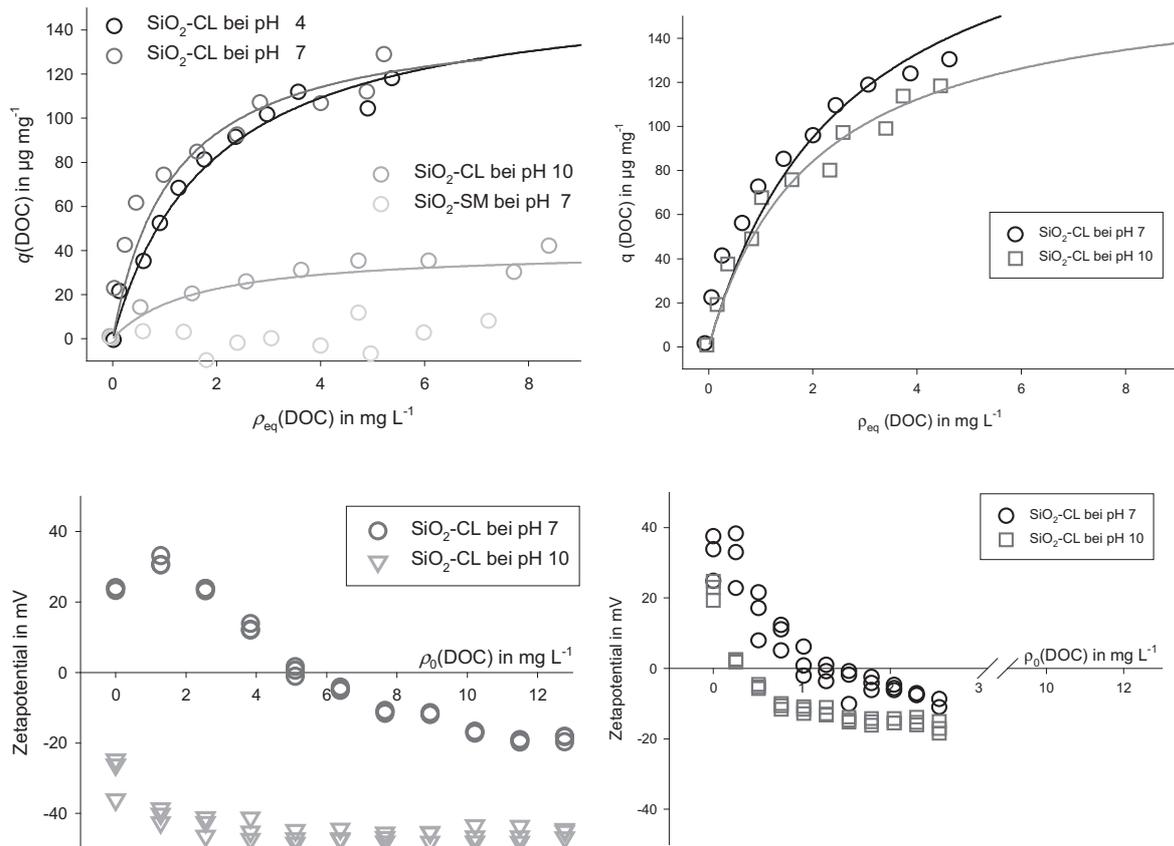


Abbildung 4.4: Adsorptionsisothermen mit Langmuir Fits von FS an SiO₂ NP (oben) und korrespondierende Zetapotentialmessungen (unten) bei verschiedenen pH-Werten in einer 10 mmol L⁻¹ NaCl-Lösung (links) und in einer 10 mmol L⁻¹ CaCl₂-Lösung (rechts)

4.2.1.2 Adsorption von FS an FeOx

Die Adsorption an FeOx-NP zeigte die gleiche Abhängigkeit vom pH-Wert und somit vom Zetapotential (Abbildung 4.5.). Mit sinkendem Zetapotential der NP in der NaCl-Lösung stieg die Beladung mit sinkendem pH-Wert an. Mit Sorption der FS sank das Zetapotential und erreicht ein Plateau bei ca. -40 mV ± 4 mV. Dieses Plateau wurde bei der Konzentration erreicht, bei der die Adsorptionsisotherme ihre maximale Beladung hatte. Anzumerken ist, dass auf den Abzissen üblicherweise bei der Adsorption die freie Konzentration ρ_{eq} und bei der Zetapotentialmessung die Startkonzentration ρ_0 aufgetragen ist. Bei einem pH-Wert von 7 wurde ein Plateau beim Zetapotential bei einer DOC Konzentration ρ_0 von 3,7 mg L⁻¹ bis 4,9 mg L⁻¹ erreicht. Dieses entsprach einer Gleichgewichtskonzentration c_{eq} bei der Adsorptionsisotherme von 0,6 mg L⁻¹ bis 1,3 mg L⁻¹.

Bei der Adsorption in der CaCl₂-Lösung ergab sich ein ähnliches Bild wie beim SiO₂-CL. Die maximale Beladung erreichte insgesamt ein höheres Niveau und die Unterschiede in q_{max} waren bei den verschiedenen pH-Werten geringer. Das Zetapotential ohne DOC Zugabe zeigte geringere Differenzen zwischen den pH-Werten. Bei Zugabe von DOC fiel es bei allen drei pH-Werten auf einen Grenzwert von ca. -15 mV, der wie beim SiO₂-CL höher lag als der Grenzwert in der NaCl-Lösung.

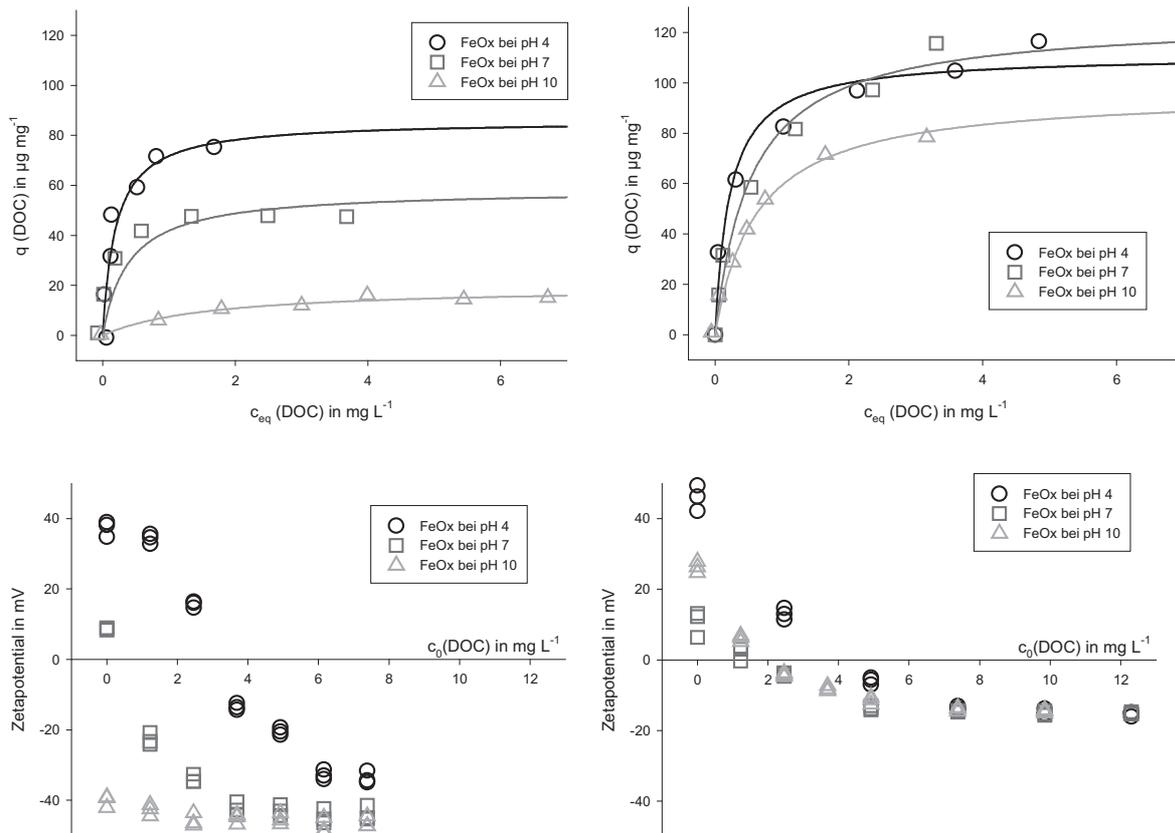


Abbildung 4.5: Adsorptionsisothermen mit Langmuir Fits von FS an FeOx-NP (oben) und korrespondierende Zetapotentialmessungen (unten) bei verschiedenen pH-Werten in einer 10 mmol L⁻¹ NaCl-Lösung (links) und in einer 10 mmol L⁻¹ CaCl₂-Lösung (rechts)

4.2.1.3 Adsorption von FS an TiO₂ und Ag

Bei TiO₂ wurde ebenfalls eine zetapotentialabhängige Adsorption von FS festgestellt. Die maximale Beladung mit 34 µg mg⁻¹ bei pH 4 lag unterhalb der Beladungen der anderen NP. Eine mögliche Erklärung findet sich im größeren Durchmesser der Primärpartikel und in der größeren Aggregatbildung, wodurch weniger freie Oberfläche zu Verfügung steht. Das Zetapotential fiel beim TiO₂ verglichen mit FeOx und SiO₂ schon bei geringeren DOC Konzentrationen ab. Bei pH 4 hatte es ab $\rho_0(\text{DOC}) = 2 \text{ mg L}^{-1}$ einen konstanten Wert. Die maximale Beladung der Oberfläche war bei dieser Konzentration aber nur zu 50% erreicht. Lam et al. [150] konnten an P25 TiO₂ für verschiedene organische Verbindungen zeigen, dass bei höherem Adsorptionsgrad der Abfall des Zetapotentials gleichfalls höher ausfiel.

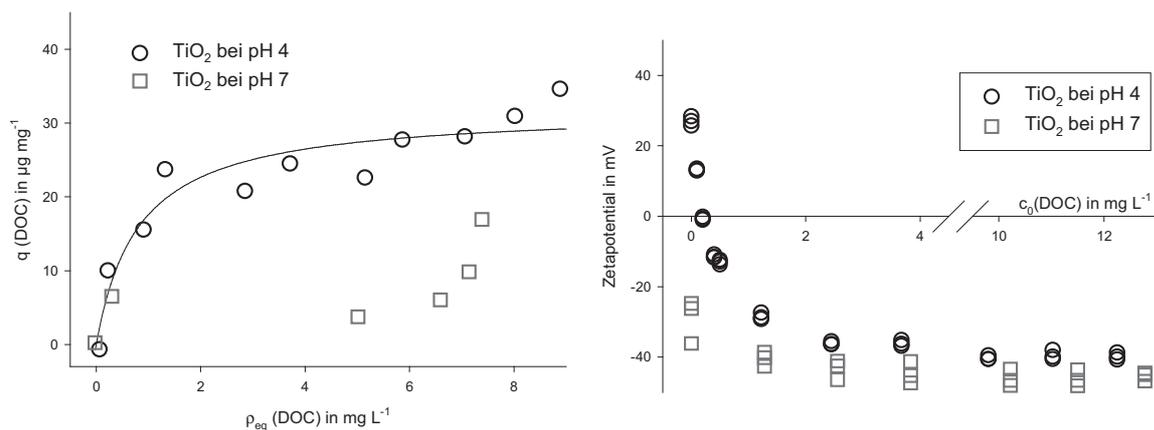


Abbildung 4.6: Adsorptionsisothermen mit Langmuir Fits von FS an TiO₂ NP und korrespondierenden Zetapotentialmessungen bei verschiedenen pH-Werten in einer 10 mmol L⁻¹ NaCl Lösung

An den Ag-NP war keine messbare Adsorption erkennbar. Unter Berücksichtigung des Herstellungsverfahrens könnte ein Grund die deutlich geringere Konzentration an NP sein. Daher lag eine mögliche Abnahme der freien FS innerhalb der messtechnischen Abweichungen. Li et al. [151] konnten mit einer aquatischen nordischen FS eine Beladung von 15 µg mg⁻¹ an Ag-NP messen.

4.2.1.4 Vergleich mit Literaturwerten

Die Absenkung des Zetapotentials durch die Sorption von Huminstoffen an Metalloxiden konnte in anderen Studien ebenfalls nachgewiesen werden [41, 152-154]. Des Weiteren konnte in NaCl-Lösung eine signifikante Abhängigkeit zwischen Beladung und Zetapotential der NP gezeigt werden. Die höchsten Beladungen wurden bei den SiO₂-CL-NP erzielt, die nach den Kontaktwinkelmessungen die hydrophobsten NP waren. Dies ist konsistent mit der Begründung von van Oss [134], dass Proteine in höherem Ausmaß an hydrophoben Grenzflächen sorbieren. Die Ergebnisse zeigen weiterhin, dass in realen Systemen nicht nur der pH-Wert, sondern auch die Konzentrationen an NOM im Gewässer eine entscheidende Rolle auf den IEP hat. Die Konzentration an NOM kann daher einen entscheidenden Einfluss auf die Mobilität oder die Aggregation von Nanomaterialien in der Umwelt haben.

Im Widerspruch zu den vorliegenden Ergebnissen erzielten Liang et al. [155] an 20 nm SiO₂ NP, die ein negatives Zetapotential aufwiesen, in einer NaNO₃-Lösung (10 mmol L⁻¹) eine maximale Beladung von 390 µg mg⁻¹ bei Adsorption einer isolierten FS aus Waldboden. Das Adsorptionsgleichgewicht wurde dabei erst nach 24 h erreicht, während in dieser Arbeit das Adsorptionsgleichgewicht nach wenigen Minuten erreicht war (Abbildung A.3). Eine mögliche Ursache für den Unterschied könnte die Herkunft der isolierten Huminstoffe sein. Bei Untersuchungen von Adsorptionskinetiken aquatischer FS an Hämatit konnten mit der Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung ähnliche Ergebnisse wie in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden. Das Adsorptionsgleichgewicht wurde nach wenigen Minuten erreicht. Ausgehend von einer Langmuir Adsorption wurde eine maximale Beladung von 0,8 µg cm⁻² angegeben, was einer Beladung von 109 µg mg⁻¹ entspricht [156].

Yang et al. [153] fanden wie in dieser Arbeit eine Korrelation zwischen Zetapotential der NP und Sorption von Huminsäuren (HS), die aus Torfboden extrahiert wurden. Auf Basis von FTIR-Messungen wurde angenommen, dass die Phenol- und Carboxylgruppe der HS an die NP bindet. Zhang et al. [154] wiesen ebenfalls nach, dass FS nicht an negativ geladenen SiO_2 NP adsorbieren und es keine Änderung des Zetapotentials bei FS Zugabe gibt. Van Hoecke et al. [52] konnten an CeO_2 die gleiche pH-Abhängigkeit bei der Adsorption von NOM beobachten. Bei höheren pH-Werten und kleineren Ionenstärken sank die Adsorption. Die Beladung variierte zwischen $1,4$ und $14 \mu\text{g mg}^{-1}$.

4.3 Physico-chemische Charakterisierung der MO

Wie bei den NP wurde bei den MO die elektroforetische Mobilität und daraus folgend die Zetapotentiale in einer NaCl- und CaCl_2 -Lösung gemessen, wie Abbildung 4.7 zeigt. Die IEP der verschiedenen MO in der NaCl-Lösung lagen, falls vorhanden, alle im sauren Milieu im pH-Bereich < 3 . Im neutralen pH Bereich wiesen alle MO ein negatives Zetapotential auf, was konsistent mit der Theorie von Kleijn und van Leeuwen [157] ist, dass fast alle MO im physiologischen pH-Bereich ein negatives Zetapotential besitzen. Die Oberflächenladungen der Zellwand begründen sich in der Dissoziation und Protonierung der Carboxyl- (pK_S : $2,8 - 5,0$), Phosphat- (pK_S : $2,1 - 7,2$) und Aminogruppen (pK_S : $9,0 - 9,8$), die je nach Molekülbindung unterschiedliche pK_S -Werte besitzen. Da die Anzahl der Carboxyl- und Phosphatgruppen die der Aminogruppen übersteigt, ergibt sich eine negative Oberflächenladung [158].

Bei Vergleichen zwischen gram(+) und gram(-) MO konnte bisher auch kein Zusammenhang mit dem Zetapotential nachgewiesen werden [159]. Es scheint mehr ein Zusammenhang zwischen Zetapotential der MO und Art des Substrats zu bestehen [160].

In Anwesenheit von Ca^{2+} Ionen erhöht sich zwar das Zetapotential, bleibt aber im Gegensatz zu den Nanopartikeln trotzdem negativ.

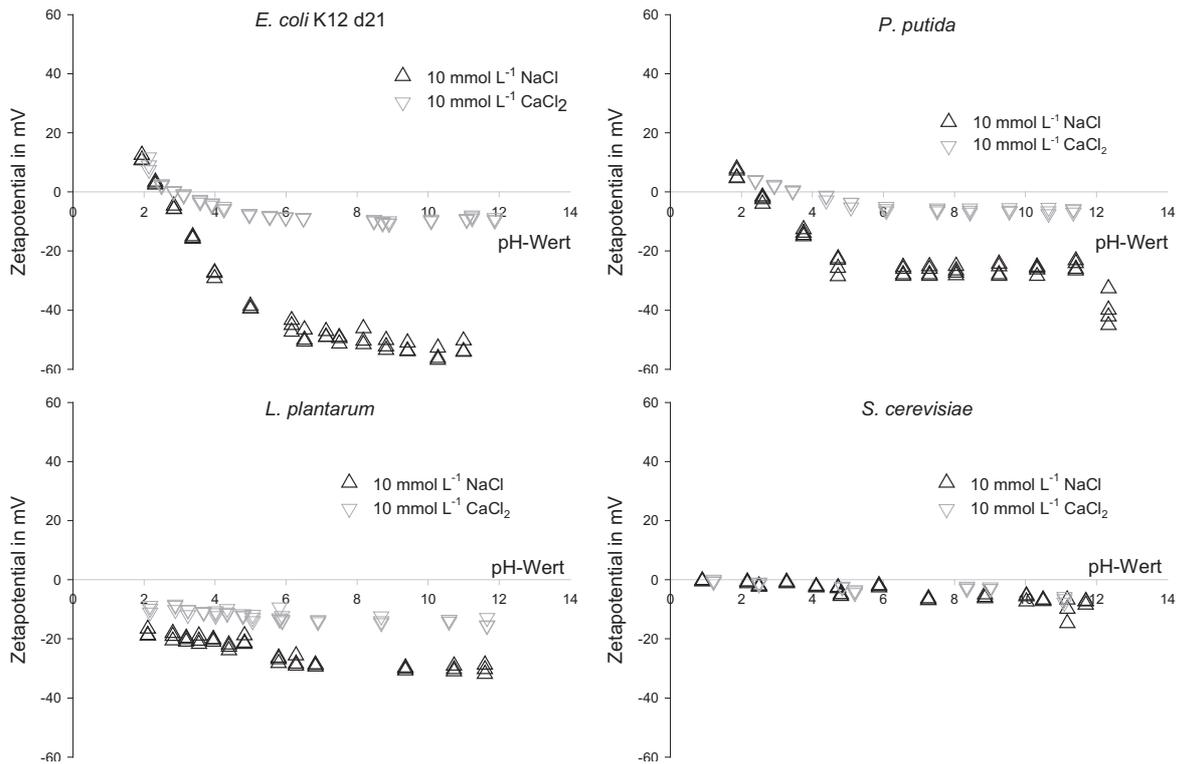


Abbildung 4.7: Zetapotential der MO in Na^+ und Ca^{2+} Lösungen bei verschiedenen pH-Werten

In Tabelle 4.4 sind die gemessenen Kontaktwinkel der MO dargestellt. Ein Vergleich mit Literaturdaten ist nicht trivial, da sich die Hydrophobizität und Kontaktwinkel von Stamm zu Stamm beim gleichen MO unterscheiden [140]. In den Kapiteln 4.4.5 und 4.5.1 werden sie zur Berechnung der Interaktionsenergien genutzt.

Tabelle 4.4: Gemessene Kontaktwinkel in $^\circ$ mit Wasser, Formamid und Diiodomethan an den MO

Mikroorganismus	θ_{Wasser}	θ_{Formamid}	$\theta_{\text{Diiodomethan}}$
<i>E. coli</i>	31	24	102
<i>P. putida</i>	16	21	90
<i>L. plantarum</i>	43	31	57
<i>S. cerevisiae</i>	10	12	74

4.4 Einfluss der NP auf die MO

4.4.1 Methodenentwicklung zur Messung der Toxizität

Bei der Toxizitätsmessung von NP an MO wird in vielen Fällen die Anzahl der Kolonien bildenden Einheiten (KBE) angegeben, wie es in Tabelle 2.3 dargestellt ist. Diese Methode ist jedoch sehr zeit- und arbeitsintensiv, insbesondere bei hohen Ausgangskonzentration der MO. Auf einer Agarplatte kann nur eine bestimmte Anzahl an Kolonien ausgezählt werden und es müssen somit verschiedene Verdünnungen ausplattiert werden.

Bei der Messung von pathogenen MO gibt es seit knapp 20 Jahren Literatur über den Einsatz von MTP zur Modellierung der Wachstumskurven über die spektrale Absorptionsmessung [161-163]. Dieses Verfahren bietet den Vorteil der Automatisierung gegenüber dem klassischen Verfahren mit Hilfe der KBE [164]. Ein

Nachteil der Messmethode liegt aber in der Nachweisgrenze, da Zellkonzentrationen im Bereich von $10^5 - 10^7$ Zellen mL^{-1} für die Absorptionsmessung benötigt werden [164].

In dieser Arbeit wurde alternativ zu den KBE ein Verfahren zur Messung der Toxizität auf Basis von Absorptionsmessungen entwickelt. Dazu wurde die Wachstumskurve der MO durch Absorption bei $\lambda = 620 \text{ nm}$ gemessen und der Wachstumsverlauf mit der mod. Gompertzfunktion angepasst und überprüft.

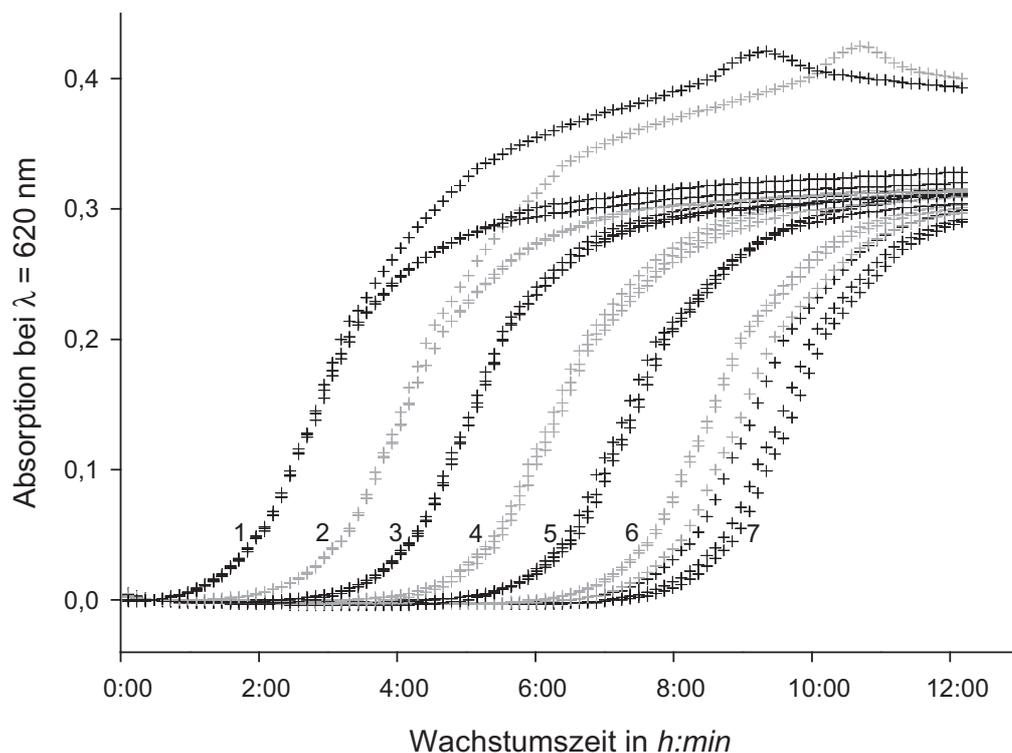


Abbildung 4.8: Wachstumskurven von verschiedenen Verdünnungen von *P. putida* durch Absorptionsmessungen. Die Zellkonzentration des Inokulums betrug bei 1) $1,4 \cdot 10^8$ Zellen mL^{-1} und wurde für die weiteren Wachstumskurven jeweils 1:10 verdünnt bis zu einer Konzentration bei 7) von $1,4 \cdot 10^2$ Zellen mL^{-1} .

4.4.1.1 Anpassung mit der Gompertzfunktion

Abbildung 4.8 zeigt beispielhaft den Verlauf von 7 verschiedenen Verdünnungen einer *P. putida* Suspension mit einem Inokulumsvolumen von $20 \mu\text{L}$ und einer Zellkonzentration von $1,4 \cdot 10^8$ bis $1,4 \cdot 10^2$ Zellen je mL . Die Messungen wurden als Triplikat durchgeführt und es wurden jeweils alle drei Wachstumsverläufe dargestellt. Die unerwartete Variation der Daten oberhalb der Absorption von 0,3 für Kurve 1 und 2 wird bedeutungslos bei der weiteren Betrachtung in der logarithmierten Form (Abbildung 4.9).

Der zeitliche Versatz der 7 Verdünnungen basiert auf der hohen Nachweisgrenze bei der photometrischen Bestimmung von Zellzahlen. Daher war ein Anstieg der Absorptionsmessung erst ab 10^7 bis 10^8 Zellen mL^{-1} detektierbar. Während der Anstieg der Wachstumskurven bei den Wiederholungsmessungen 1 bis 5 gut übereinstimmte, stieg die Absorption bei Kurve 7 zeitlich versetzt zwischen den einzelnen Messungen an. Dies lag bei geringen Zellkonzentrationen an der Poisson-Verteilung der MO im Inokulum. Bei der Zellkonzentration $1,4 \cdot 10^2$ Zellen je mL ist der

Erwartungswert $E(x) = 2,8$ Zellen je Inokulum, die zu folgender Wahrscheinlichkeitsverteilung der Zellen im Inokulum führt (Tabelle 4.5):

Tabelle 4.5: Wahrscheinlichkeitsverteilung für die Zellzahl im Inokulum bei der größten Verdünnungsstufe $1,4 \cdot 10^2$ Zellen mL^{-1}

0	6,1%	3	22,2%	6	4,1%
1	17,0%	4	15,6%	7	1,6%
2	23,8%	5	8,7%	8	0,6%

Die unterschiedlichen Zellzahlen führten demnach immer zu einer Aufspaltung der einzelnen Wachstumskurven. Erst oberhalb eines Inokulumlevels von 40 Zellen ist der Effekt nach Pin und Baranyi [165] nicht mehr nachweisbar.

Die Datenpunkte der Wachstumskurve wurden nach dem modifizierten Gompertz Modell angepasst, um die Parameter des oberen Grenzwerts B , der Wachstumsrate μ und der Lag-Zeit t_{lag} zu bestimmen. Abbildung 4.9 zeigt die Anpassung der Kurven 1, 3, 5 und 7 und die Güte der Anpassung.

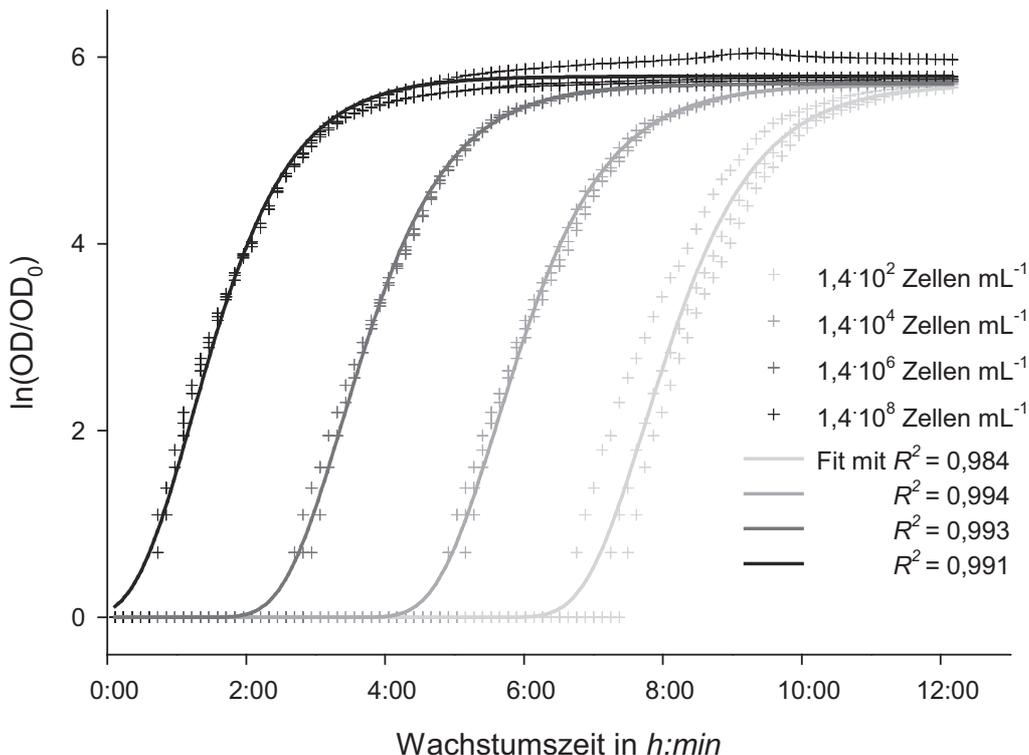


Abbildung 4.9: Anpassung von verschiedenen Verdünnungen von *P. putida* mit der mod. Gompertzfunktion

Durch die logarithmierte Darstellung ergeben sich in den unteren Wertebereichen größere Sprünge, da die optische Dichte nur in diskreten Werten gemessen wird. Der Sprung bei 0 entspricht einer Erhöhung der Absorption bei $\lambda = 620$ nm von 0,001. Insgesamt konnten die verschiedenen Verdünnungen durch die mod. Gompertzfunktion mit einem $R^2 > 0,98$ angepasst werden. Die erhaltenen Parameter aus der Anpassung der verschiedenen Verdünnungen wurden in Abbildung 4.10 (I) grafisch dargestellt. Der obere Grenzwert B der Funktion, den alle Verdünnungen erreichen, zeigt in Übereinstimmung mit der Theorie keine signifikanten Unterschiede. Der Parameter t_{lag} zeigt eine lineare Zunahme. Die Lag-Zeit ist nach

der Theorie die Anpassung der Zellen an die Umwelt bis zur Proliferation und sollte daher bei verschiedenen Verdünnungen konstant bleiben. Da in Abbildung 4.9 aber nicht wie in Gleichung (2.13) beschrieben die Zellzahlen, sondern die OD als Anpassung genutzt wurde, resultiert dieser scheinbare Anstieg der Lag-Zeit aus der hohen Nachweisgrenze bei der photometrischen Bestimmung von Zellzahlen. Bei der spezifischen Wachstumsrate μ sind leichte Schwankungen zwischen den einzelnen Verdünnungen erkennbar. Diese Schwankungen zeigen die Grenzen der Modellierung, denn zwischen den einzelnen Verdünnungen sollte es kein Unterschied in der maximalen spezifischen Wachstumsrate geben.

Zusätzlich zu den Verdünnungsreihen wurde die Modellierung und Parameteranpassung für verschiedene Konzentrationen von Dichlorphenol (DCP) und Ag-NP bei der höchsten MO-Konzentration aus der Verdünnungsreihe durchgeführt. Mit Erhöhung der Konzentration an DCP nahm die spez. Wachstumsrate μ kontinuierlich ab (Abbildung 4.10.). Gleichzeitig sank der obere Grenzwert der Wachstumskurve mit höheren Konzentrationen an DCP, so dass die mögliche erreichbare Populationsdichte deutlich geringer wurde. Der Parameter t_{lag} erhöhte sich erst signifikant ab einer Konzentration von $\rho_0 = 15,1 \text{ mg L}^{-1}$. Dies könnte durch die geringere spezifische Wachstumsrate μ hervorgerufen werden, da erst bei mehreren Verdopplungszyklen der Zellen das Detektionslimit erreicht war. Beim *P. putida* Wachstumshemmtest ISO 10712 [107] wird für DCP, welches als Referenzsubstanz benutzt wird, ein EC_{50} von $\rho_0 = 21,4 \text{ mg L}^{-1}$ angegeben. Bei diesem Verfahren wird nur die End-OD nach 24 h gemessen und in Beziehung zur Start-OD gesetzt, aber keine Parameteranpassung an ein Modell durchgeführt. Auf Basis der Abnahme der Wachstumsrate μ lag bei diesem Test der EC_{50} zwischen $9,8 \text{ mg L}^{-1}$ und $15,1 \text{ mg L}^{-1}$ DCP. Im Gegensatz zum Wachstumshemmtest, der bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt wird, wurde diese Messung bei $30 \text{ }^\circ\text{C}$ vollzogen. Insgesamt wurden bei dieser Methode ähnliche toxische Konzentrationen ermittelt.

In Abbildung 4.10 III und IV sind die Ergebnisse der Methode am Beispiel der Ag-NP sichtbar. Der Grund für den Unterschied zwischen III und IV lag im Dispersionsmedium. Bei III kamen die NP im Wachstumsmedium in Kontakt mit dem Ag, wohingegen bei IV der Kontakt in einer Salzlösung stattfand. Sofern es zu Wachstum kam, wurde bei allen Ag-Konzentrationen der gleiche obere Grenzwert B wie aus der Verdünnungsreihe erreicht. Bei der Wachstumsrate μ traten bei III die gleichen minimalen Schwankungen auf wie bei der Verdünnungsreihe unter I. Die Lag-Zeit hatte bis zu einer Konzentration von $\rho_0 = 2,1 \text{ mg L}^{-1}$ die gleichen Werte wie für die kleinste Verdünnung bei I, was auf keine Verzögerung der Proliferation bis zu dieser Konzentration deutete. Insgesamt wirkten sich bei III die NP nur auf den Parameter t_{lag} aus, sofern es zu einem Wachstum von *P. putida* kam.

Bei Kontakt mit NP in der Salzlösung stellte sich vom Wirkungsmechanismus ein ähnliches Bild dar. Der obere Grenzwert B blieb unverändert und die ermittelte Lag-Zeit stieg mit zunehmender Ag-Konzentration an. Die Wachstumsrate μ nahm bei steigenden Lag-Zeiten leicht ab und die Standardabweichung von μ erhöhte sich. Dies lässt vermuten, dass nur wenige lebensfähige Bakterien inkubiert wurden, was zu einer Vergrößerung der Standardabweichung führt (s. Abbildung 4.8). Zusätzlich vergrößerte sich die Regenerationszeit von geschädigten MO und sie ist höheren Schwankungen unterworfen, da sich die einzelnen Zellen unterschiedlich schnell

anpassen [166-168]. Diese beiden Effekte erklären die höhere Standardabweichung von μ .

Zusammenfassend wirkten sich die Ag-NP bei der Parametermodellierung hauptsächlich auf die Lag-Zeit t_{lag} aus, während bei DCP die Parameter B und μ eher Abweichungen von der Kontrollprobe zeigten. Bemerkenswert war weiterhin, dass bei Kontakt im Medium eine deutlich höhere NP-Konzentration benötigt wurde, um einen Effekt zu erzielen, als bei Kontakt in Salzlösung. Begründet wird dies durch die Wechselwirkungen zwischen den NP und den Nährmediumbestandteilen, wie der Interaktionen mit Proteinen [169, 170] oder der Aggregation der NP durch die hohe Ionenstärke [43]. Diese Effekte können zu einer Reduzierung der Toxizität führen. Li et al. [69] demonstrierten mit ZnO, dass die Toxizität in RW um den Faktor 10 höher war als in 150 mmol L⁻¹ NaCl Lösung. Bei Zugabe der NP zum LB-Medium musste die Konzentration um den Faktor 5000 gesteigert werden, um den gleichen toxischen Effekt wie im RW zu erzielen.

Zur Messung und Auswertung der Toxizität ist dieses Verfahren in der Literatur nur vereinzelt zu finden. Toussaint et al. [171, 172] untersuchten die Auswirkung von gentoxischen Substanzen auf die Wachstumskurve von Hefezellen, wobei davon ausgegangen wurde, dass sich die Lag-Zeit der Hefezellen vergrößerte und es zu keiner Abtötung kam. Diese Annahme war aber nur schwer zu verifizieren, da eine Unterscheidung zwischen Lag-Zeit und Abtötung bei dem Verfahren nicht möglich ist. Dumas et al. [173] teilten in ihrem Modell die MO in 3 Subpopulationen: eine Fraktion mit exponentieller Abnahme, eine Fraktion im exponentiellem Wachstum und eine Fraktion, in der die Subpopulation sich weder vermehrt noch abnimmt. Die Summe der Fraktionen führte zu einem Modell mit 6 Parametern. In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch keine exponentielle Abnahme in den Wachstumskurven festgestellt werden.

Da sich die NP auf den Messparameter t_{lag} auswirkten, wurde zusätzlich eine vereinfachte Auswertung durchgeführt, die sich nur auf die Detektionszeit einer bestimmten optischen Dichte bezog und damit angelehnt an Quantifizierungsverfahren von DNA bei der Real-Time-PCR ist [174]. Bei dieser Methode wurde nicht die gesamte Wachstumskurve, sondern nur die Detektionszeit t_{det} , bei der ein Wachstum erkennbar und die Kultur eine bestimmte OD aufwies, ausgewertet. Die Verdünnungsreihe wird dabei als Kalibrierfunktion benutzt.



Abbildung 4.10: Vergleich der gefitteten Parameter aus der mod. Gompertzfunktion für I) Verdünnungsreihe von *P. putida* II) Zugabe von Dichlorphenol ins Medium III) Kontakt von Ag-NP und *P. putida* im Medium und IV) Kontakt von Ag-NP und *P. putida* in $10\text{ mmol}\ L^{-1}\ NaCl$ Lösung

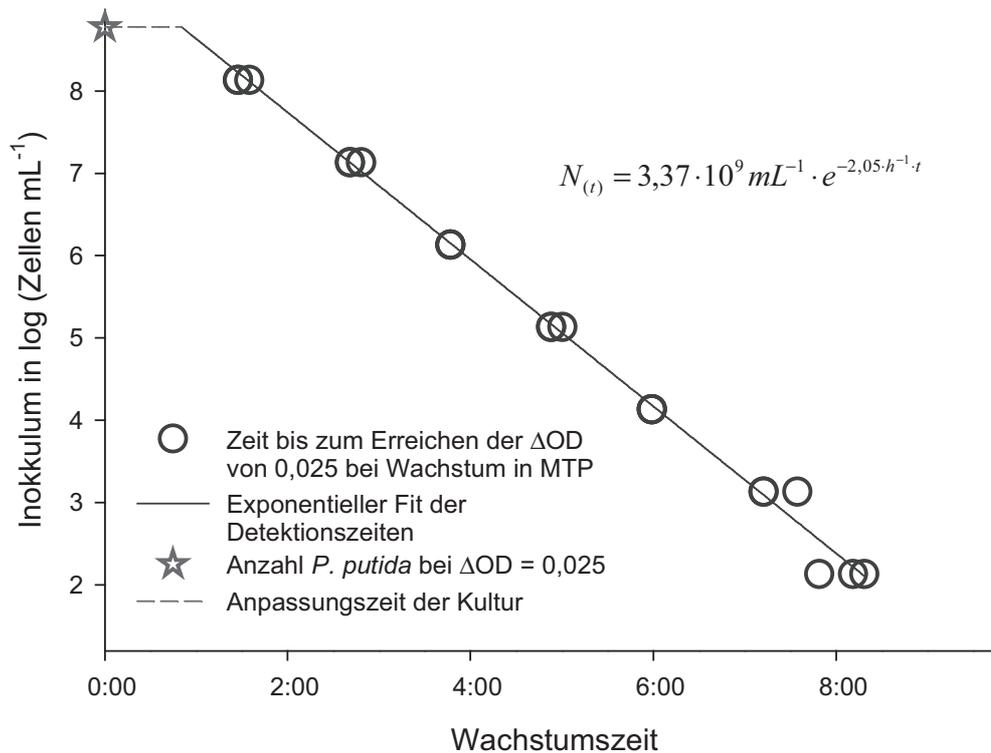


Abbildung 4.11: Exponentieller Fit der Detektionszeiten der verschiedenen Verdünnungen von *P. putida*

4.4.1.2 Bestimmung von Detektionszeiten

In Abbildung 4.11 sind die Detektionszeiten dargestellt, die von den MO aus der Verdünnungsreihe in Abbildung 4.8 benötigt wurden, um eine OD von 0,025 zu erreichen. Diese Daten wurden mittels einer exponentiellen Funktion angepasst, bei der die Steigung des Fits gleich der Wachstumsrate μ war. Durch Ausplattieren der Kavitäten, die die OD von 0,025 erreicht hatten, wurde eine Zellkonzentration von $N_{Det} = 5,9 \cdot 10^8$ Zellen mL^{-1} bestimmt. Dieser Wert ist in der Abbildung durch den Stern markiert. Dadurch ermittelte sich die Zeit der Anpassungsphase, indem der Zeitpunkt errechnet wurde, bei dem die exponentielle Funktion die gleiche MO-Konzentration aufwies [175]. Diese Anpassungsphase betrug 50 min und ist durch die gestrichelte Linie parallel zur Abszisse dargestellt.

Bei der Messung der Toxizität von NP gegenüber MO wurde bei einem Inokulumlevel N_0 der MO und verschiedenen Konzentrationen an NP untersucht, wie sich die Detektionszeiten t_{Det} verschoben. Für t_{Det} in der exponentiellen Wachstumsphase gilt nach Gleichung (2.11):

$$t_{Det} = t_{lag} + \frac{\ln N_{Det} - \ln N_{lebensfähig}}{\mu} \quad (4.1)$$

mit t_{lag} : Lag-Zeit der Population nach Kontakt mit den NP
 N_{Det} : Zellkonzentration bei der Detektionszeit
 $N_{lebensfähig}$: lebensfähige Zellkonzentration im Inokulum nach Kontakt mit NP

Die beiden Variablen μ und N_{Det} in Gleichung (4.1) waren aus einer Verdünnungsreihe von unbeschädigten MO ermittelbar, welche die Bedeutung einer Kalibrierfunktion hatte, wie in Abbildung 4.11 gezeigt ist. Es konnte aber nicht zwischen t_{lag} und N_{lebend} mit dem Messprinzip unterschieden werden, da zwei Effekte auftraten:

- I) Durch den Kontakt mit NP konnten MO abgetötet werden und damit gilt:
 $N_{lebend} < N_0$.
- II) Jegliche Schädigung durch die NP konnte die Lag-Zeit t_{lag} vergrößern.

Sowohl die Verlängerung der Lag-Zeit, als auch die Abtötung der MO verschob die Detektionszeit in höhere Bereiche.

In Abbildung 4.12 wird schematisch aufgezeigt, wie sich ein Inokulum entwickelt in dem sich ungeschädigte, geschädigte und tote MO befinden. Die ungeschädigten MO können sich nach einer Anpassungsphase, die der gleichen Zeit entspricht wie bei der Verdünnungsreihe, vermehren. Außerdem gibt es unterschiedlich stark geschädigte MO im Inokulum, die im Vergleich zu den Ungeschädigten zusätzlich zur Lag-Phase weitere Zeit zur Regeneration benötigen. Bei einer großen Varianz der Lag-Zeit der individuellen Zellen τ wird die Lag-Zeit der Population t_{lag} durch die schnell wachsenden MO bestimmt [176], die in diesem Fall die ungeschädigten MO sind. Dieses Verhalten lässt sich mathematisch beschreiben, wenn Gleichung (2.11) als eine Aufsummierung aller einzelnen Zellen im Inokulum aufgestellt wird [177]:

$$N_{(t)} = \sum_{i=1}^{N_0} e^{\mu(t-\tau_i)} \quad (4.2)$$

mit τ_i : Lag-Zeit einer einzelnen Zelle
Danach folgt für die Lag-Zeit einer Population:

$$t_{lag} = -\frac{1}{\mu} \ln \frac{\sum_{i=1}^{N_0} e^{-\mu \tau_i}}{N_0} \quad (4.3)$$

Bei einem großen Wert für τ_i geht der Term im Summenzeichen auf Grund der e-Funktion gegen 0 und die Lag-Zeit der Population t_{lag} wird nur von den Zellen mit kleinen Werten für τ_i bestimmt. Guillier et al. [178] konnte bei *L. monocytogenes* zeigen, dass sich τ_i durch verschiedene Stressfaktoren um 2 – 15 h gegenüber Zellen aus der exponentiellen Wachstumsphase verlängerte.

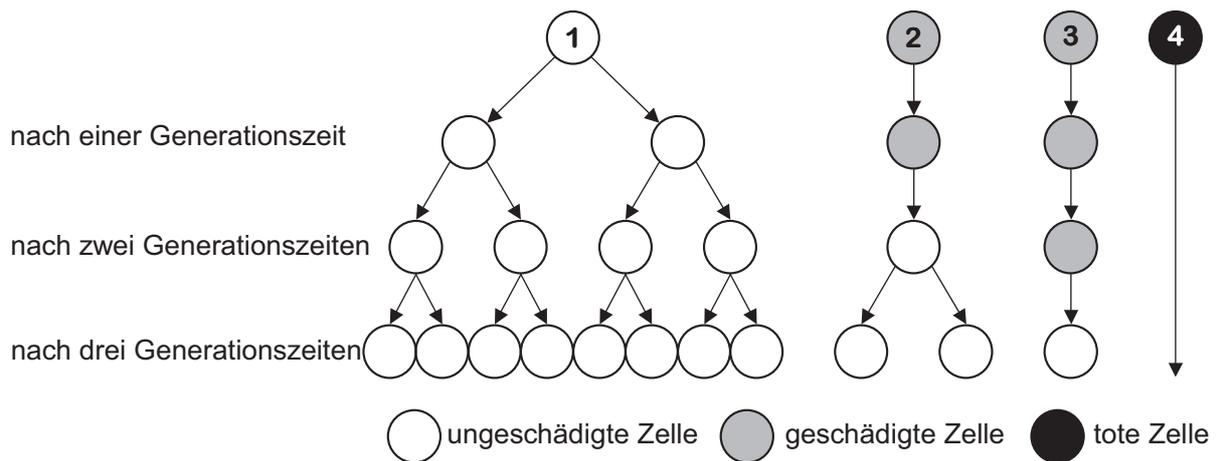


Abbildung 4.12: Schema der Verdopplung von geschädigten und ungeschädigten MO

Deshalb werden die detektierten MO dieses Messprinzips als *ungeschädigten MO* definiert. Die Gleichung (4.1) wird dadurch zu (4.4) und t_{lag} der Population kann bestimmt werden.

$$t_{Det} = t_{lag} + \frac{\ln N_{Det} - \ln N_{ungeschädigt}}{\mu} \quad (4.4)$$

Zur Validierung der Methode wurde *E. coli* in einer Salzlösung verschiedenen Ag-Konzentrationen ausgesetzt. Die Toxizität wurde mit dem entwickelten Verfahren der Detektionszeit ausgewertet und mit den Resultaten aus einem standardisierten und aufwendigeren Verfahren zur Messung der MPN (eng.: Most Probable Number) verglichen [179].

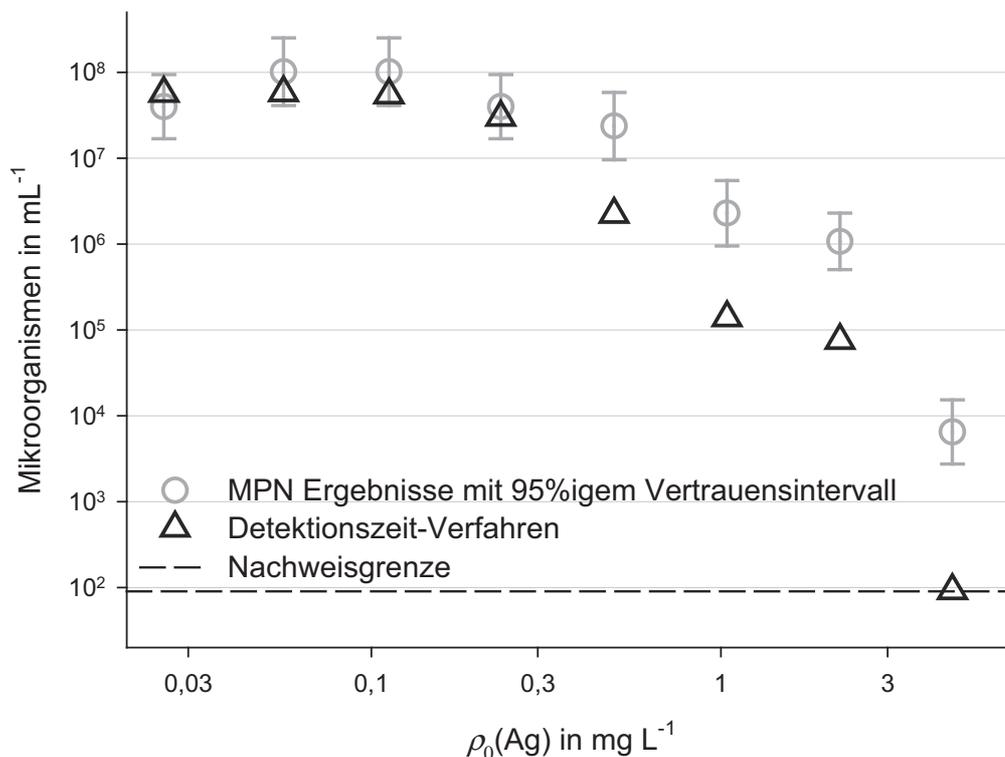


Abbildung 4.13: Vergleich der Ergebnisse vom MPN- mit dem Detektionszeit-Verfahren bei der Schädigung von *E. coli* durch Ag-NP in NaCl-Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$)

Der Vergleich zwischen dem MPN- und dem Detektionszeit-Verfahren zeigte, dass bei geringen Ag-Konzentrationen ($\rho_0 < 0,3 \text{ mg L}^{-1}$), bei denen noch keine Schädigung an den MO auftraten, beide Verfahren die gleichen Resultate lieferten. Bei höheren Konzentrationen ergaben sich mit der MPN Methode höhere MO-Konzentrationen. Die Diskrepanz zwischen der MPN Methode und dem Verfahren zur Messung der Detektionszeit wurde erwartet und basiert auf der längeren Messdauer beim MPN Verfahren, bei der jede Zelle genug Zeit bekommt, sich zu regenerieren. Bei der Methode werden alle lebenden Zellen, das heißt alle ungeschädigten wie auch die geschädigten, erfasst.

Mit dem Verfahren zur Messung der Detektionszeit wurden die Auswirkungen der NP gegenüber MO bei verschiedenen Hintergrundlösungen noch weitergehend mit anderen NP-MO-Kombinationen untersucht. In Abbildung 4.14 ist die unterschiedliche schädigende Wirkung von $\text{SiO}_2\text{-CL}$ und Ag bei Kontakt in einer Salzlösung gegenüber dem Kontakt im Wachstumsmedium der MO abgebildet.

Während es bei der Interaktion zwischen Ag und *P. putida* ab $\rho_0(\text{Ag}) > 1 \text{ mg L}^{-1}$ zu toxischen Effekten im Medium kam, war bei SiO_2 kaum ein messbarer Effekt im Medium zu verzeichnen. Für die gleiche toxische Auswirkung wie in der Salzlösung musste die Konzentration an SiO_2 bei *L. plantarum* im Medium mindestens um den Faktor 1000 erhöht werden. Bei Ag und *P. putida* lag der Faktor bei ca. 100.

Eine mögliche Proteinkorona oder die Aggregation auf Grund der Ionenstärke im Medium konnte die Toxizität der NP reduzieren. Unter der Annahme, dass bei Überführung einer NP-MO Suspension in das Wachstumsmedium der toxische Effekt um einen Faktor 100 reduziert wird, können die Auswirkungen für weitere Messungen in Abhängigkeit von der Kontaktzeit genutzt werden.

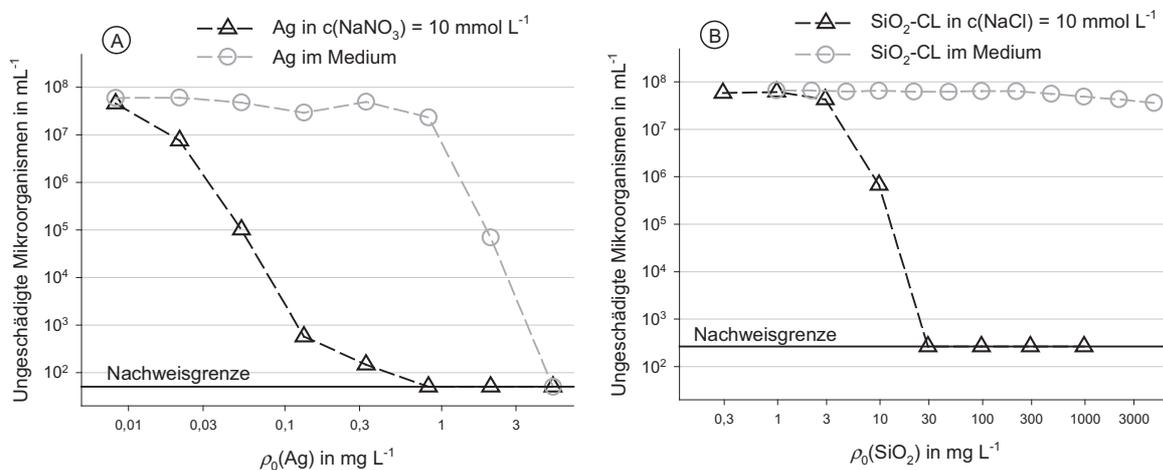


Abbildung 4.14: Auswirkungen der Hintergrundlösung auf die Toxizität von NP; A) *P. putida* + Ag-NP; B) *L. plantarum* + $\text{SiO}_2\text{-CL}$ -NP

4.4.1.3 Schlussfolgerung

Die Wachstumskurven konnten auf Basis von Absorptionmessungen ausreichend mit der mod. Gompertzfunktion angepasst und die relevanten Parameter berechnet werden. Zusätzlich konnte die Bestimmung der Detektionszeiten nach Wachstum in MTP als eine arbeitssparende und reproduzierbare Methode genutzt werden, um die schädigende Wirkung von NP auf MO zu messen, da die Voraussetzung, dass die Wachstumsrate μ trotz Kontakt mit NP konstant bleibt, erfüllt war. Das Verfahren

benötigt im Gegensatz zu den KBE keine vorherige Abschätzung der MO Konzentration und kann problemlos über weite MO-Konzentrationen eingesetzt werden. Es ist sensitiver als gängige Standardverfahren, da es vorwiegend die ungeschädigten MO detektiert. Durch die Abschirmung der toxischen Effekte im Medium ermöglicht das Verfahren bei Interaktion von NP und MO in Salzlösung eine Messung des toxischen Effekts in Abhängigkeit von der Zeit.

4.4.2 Toxizität der vier NP an den vier MO

In den Abbildungen 4.15 – 4.18 ist die Toxizität der verschiedenen NP auf *E. coli*, *P. putida* (gram(-) Bakterien), *L. plantarum* (gram(+) Bakterium) und *S. cerevisiae* (Eukaryot) dargestellt. In diesem Abschnitt wird kurz auf die Gemeinsamkeiten und/oder Unterschiede zwischen den verschiedenen Kombinationen NP-MO eingegangen, bevor einzelne Effekte in den folgenden Kapiteln im Detail diskutiert werden.

Bei allen vier MO sind die Ag-NP die Spezies mit der höchsten Toxizität. Silber und insbesondere Ag^+ gelten als bakterizid und wirken gegen ein breites Spektrum an MO. Daher besitzen sie eine Jahrhunderte lange Tradition als Antiseptikum gegenüber pathogenen MO in der Wundbehandlung [180]. Abgesehen von den Kosten wird die Behandlung von Wasser mit Silber von der WHO als geeignete Maßnahme zur Desinfektion angesehen [181]. Wegen der nicht-selektiven Wirkungsweise war der Konzentrationsverlauf der Schädigung bei allen MO nahezu identisch. Der schädigende Effekt setzte ab einer Konzentration von $\rho_0(\text{Ag}) \approx 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ein. Bei $\rho_0 \approx 5 \text{ mg L}^{-1}$ war eine Reduzierung der ungeschädigten Zellen um mehrere Log-Stufen feststellbar. Die Toxizität verschiedener Silberspezies in unterschiedlichen Matrices wird in Abschnitt 4.4.4 weiter evaluiert.

Bei SiO_2 zeigten die SiO_2 -SM-NP kaum eine toxische Wirkung. Eine geringe Schädigung konnte erst bei Konzentrationen $\rho_0(\text{SiO}_2) \approx 10 \text{ g L}^{-1}$ festgestellt werden, die nicht mehr umweltrelevant sind. Die SiO_2 -SM-NP hatten die selbe Oberflächenladung wie die eingesetzten MO, wodurch es zu elektrostatischen Abstoßung kam. Die SiO_2 -CL-NP, die im untersuchten pH-Bereich positiv geladen waren und von den MO elektrostatisch angezogen wurden, zeigten eine höhere Toxizität als die SiO_2 -SM-NP. Die NP wirkten toxisch ab einer Konzentration von $\rho_0(\text{SiO}_2) \approx 1 \text{ g L}^{-1}$. Eine Ausnahme bildete dabei die Toxizität gegenüber den gram(+) MO *L. plantarum*, bei dem eine Abnahme der ungeschädigten MO ab einer Konzentration von $\rho_0(\text{SiO}_2) \approx 5 \text{ mg L}^{-1}$ eintrat. Die Wechselwirkungen zwischen den SiO_2 -NP und *L. plantarum* werden in Kapitel 4.4.5 näher beschrieben.

Die FeOx-NP wirkten unterschiedlich stark toxisch auf die MO. Bei *E. coli* konnte eine Keimreduzierung um 99% bei einer Konzentration $\rho_0(\text{FeOx}) \approx 20 \text{ mg L}^{-1}$ festgestellt werden, während bei *P. putida* und *S. cerevisiae* kein Effekt messbar war. *P. putida* bildet EPS aus [182], welche den MO vermutlich vor den toxischen Auswirkungen schützen konnten. In Abschnitt 4.4.3 werden die Auswirkungen und Sorption der FeOx-NP an *E. coli* und *S. cerevisiae* in einem engeren Konzentrationsbereich ($\rho_0(\text{FeOx}) = 1 - 100 \text{ mg L}^{-1}$) noch genauer untersucht.

Zusammenfassend lässt sich folgende Toxizitätsreihe mit fallender Toxizität aufstellen: $\text{Ag} > \text{SiO}_2\text{-CL} (\textit{L. plantarum}), \text{FeOx} (\textit{E. coli}) > \text{SiO}_2\text{-SM}$.

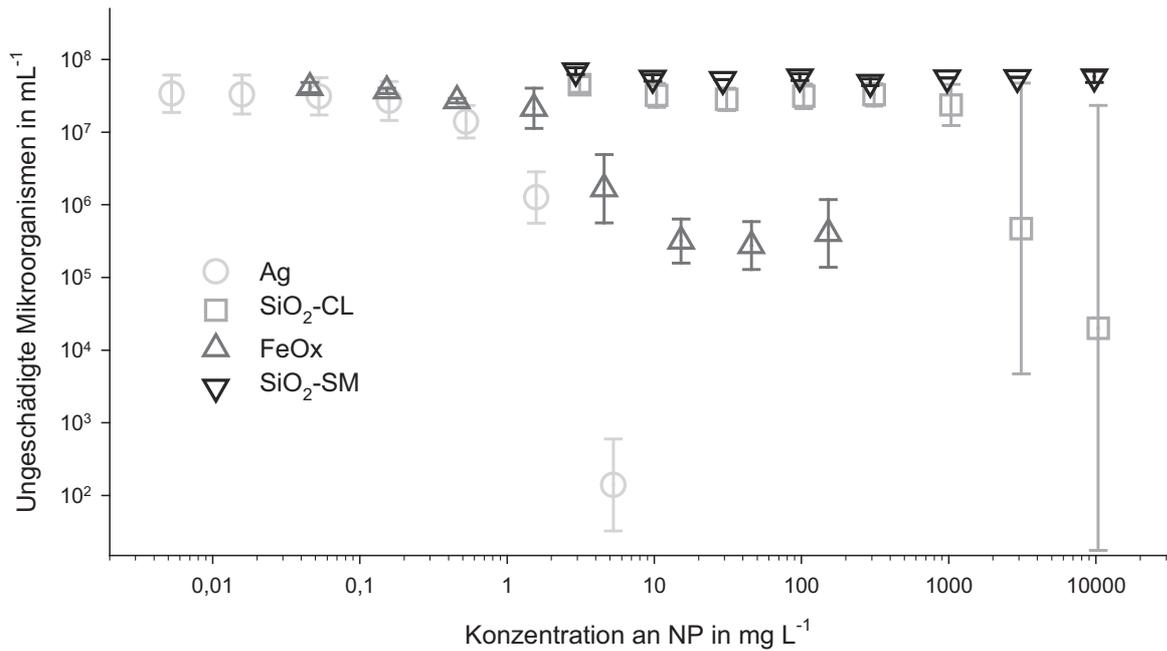


Abbildung 4.15: Schädigung von *E. coli* bei einer Zellkonzentration von $7 \cdot 10^7$ mL⁻¹ in Abhängigkeit von der Partikelart und -konzentration

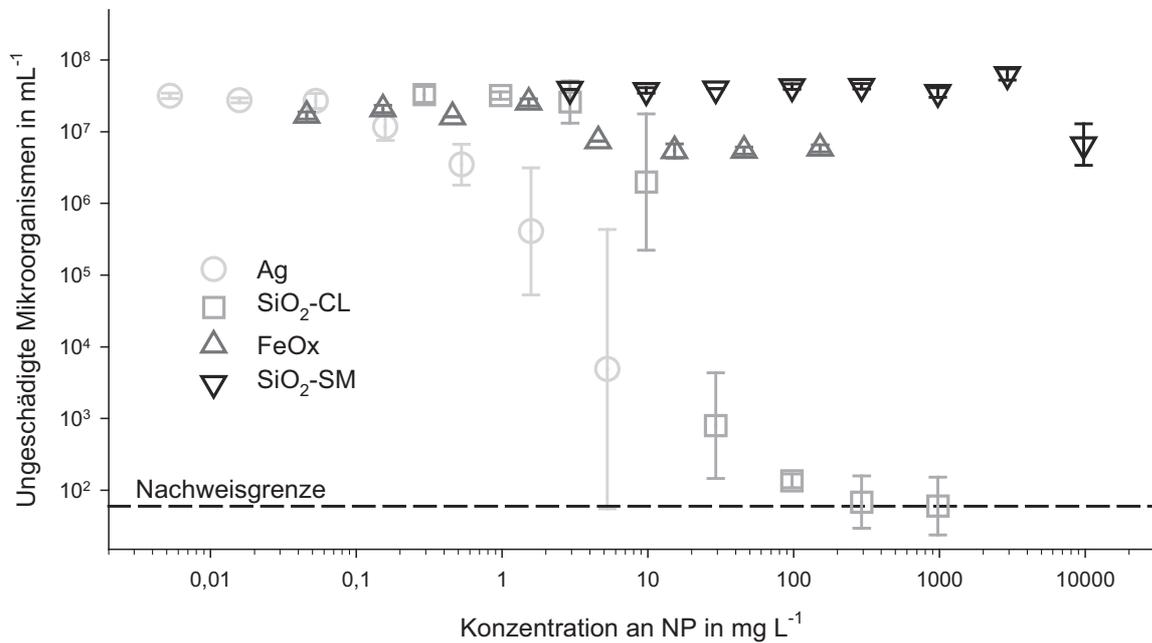


Abbildung 4.16: Schädigung von *L. plantarum* bei einer Zellkonzentration von $4 \cdot 10^7$ mL⁻¹ in Abhängigkeit von der Partikelart und -konzentration

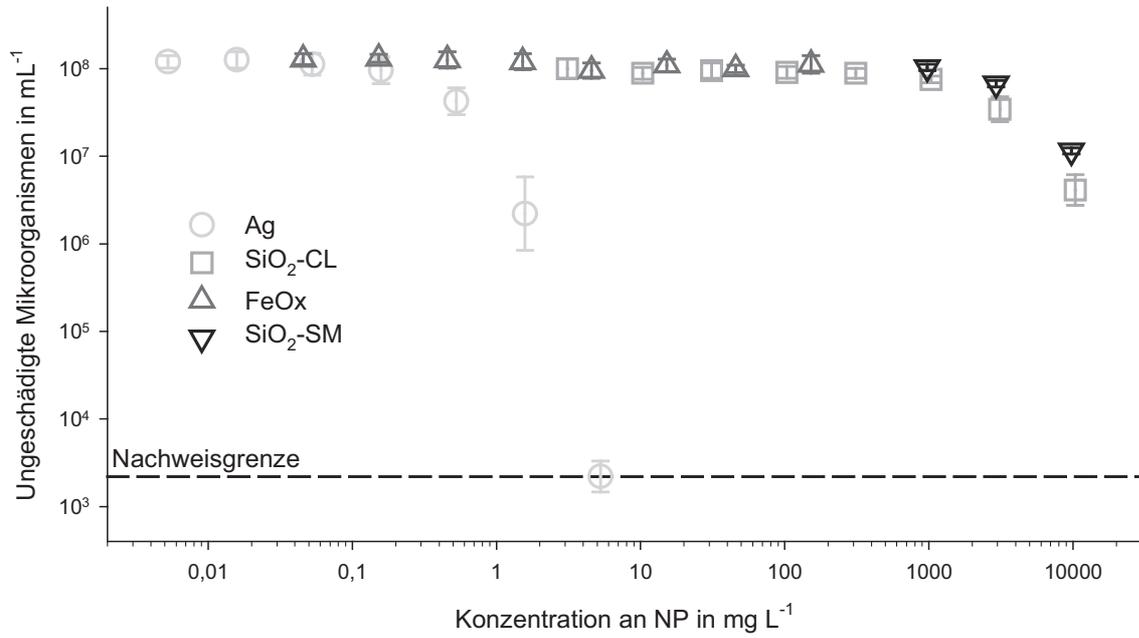


Abbildung 4.17: Schädigung von *P. putida* bei einer Zellkonzentration vom $1,4 \cdot 10^8 \text{ mL}^{-1}$ in Abhängigkeit von der Partikelart und -konzentration

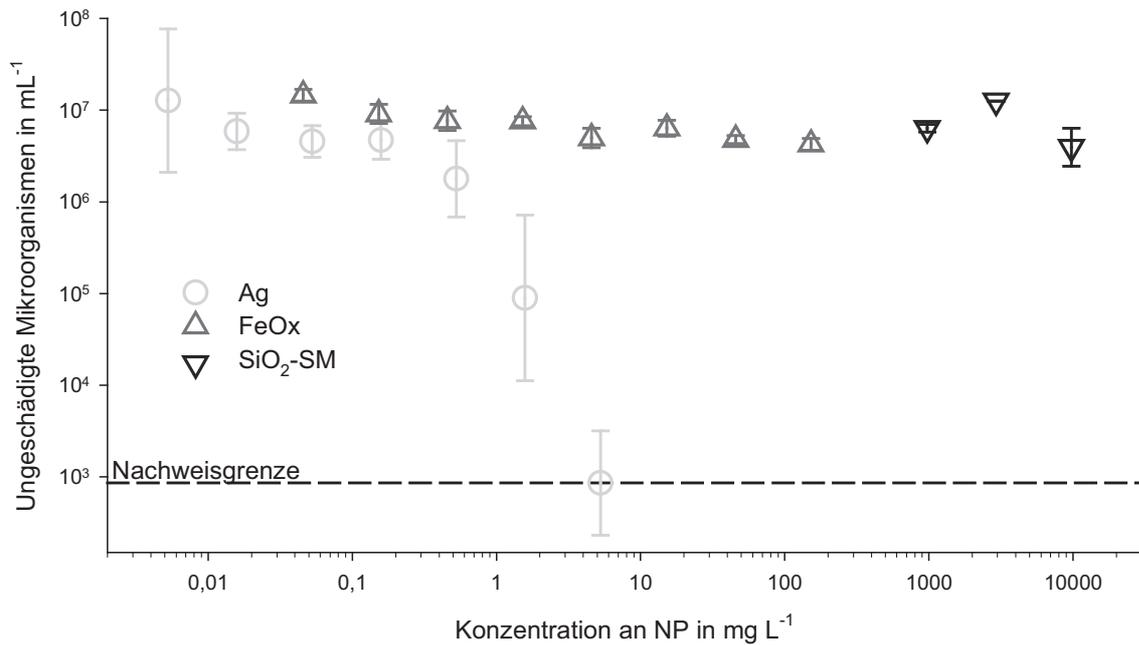


Abbildung 4.18: Schädigung von *S. cerevisiae* bei einer Zellkonzentration von $3 \cdot 10^6 \text{ mL}^{-1}$ in Abhängigkeit von der Partikelart und -konzentration

4.4.3 Interaktion von FeOx mit *E. coli* und *S. cerevisiae*

Hypothese: Die Adsorption von NP an MO wird durch das Zetapotential stark beeinflusst, da die elektrostatischen Kräfte maßgeblichen Einfluss auf die Adsorption haben. Für einige toxischen Effekte ist die Adhäsion der NP an der Zelloberfläche erforderlich. Die Toxizität sollte daher mit steigender Sorption korrelieren.

Die Versuche zur Interaktion von FeOx mit MO wurden an *E. coli* K12 (DSM 498) und *S. cerevisiae* (DSM 70459) bei verschiedenen pH-Werten durchgeführt. Um eine konstante Ionenstärke bei verschiedenen pH-Werten zu garantieren, wurde die Hintergrundmatrix mit $c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ eingestellt. Zur Bestimmung der Adsorption und der Toxizität von FeOx an den MO mussten drei Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Die FeOx-NP durften im Versuchszeitraum nicht agglomerieren und mussten einen kleinen hydrodynamischen Durchmesser aufweisen, um eine Trennung der freien NP von den adsorbierten zu gewährleisten.
2. Die ausgewählten pH-Werte sollten einen Vergleich zwischen elektrostatischen Anziehungs- und Abstoßungskräften ermöglichen.
3. Es musste gewährleistet sein, dass der pH-Wert keinen großen Einfluss auf die Überlebensfähigkeit der MO während des Versuchszeitraums hatte.

FeOx hatte in der gewählten Matrix einen IEP bei einem pH-Wert von 7 (Abbildung 4.1) und unter- und oberhalb von pH 4 bzw. pH 10 ein Zetapotential von $\zeta > 30 \text{ mV}$, was ein Indikator für eine stabile Suspension ist [112]. Die Vergleichbarkeit der Größenverteilung der FeOx-NP wurde daher bei pH 4 und 10 überprüft. Bei beiden pH-Werten hatte das FeOx die gleiche Verteilung. Zusätzlich zeigte sich, dass das FeOx über einen Versuchszeitraum von 48 h in den Matrices nicht weiter agglomerierte (Abbildung 4.19).

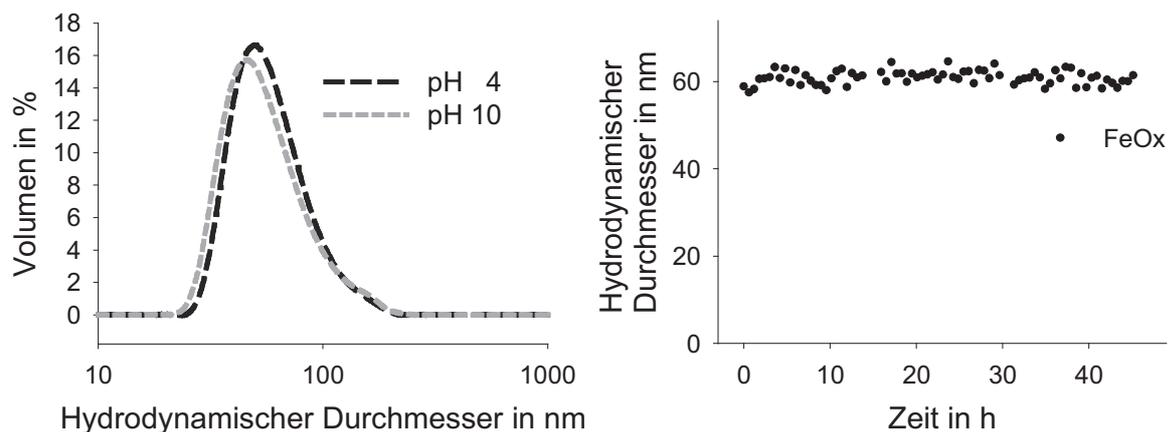


Abbildung 4.19: Volumenverteilung des hydrodynamischen Durchmessers von FeOx bei pH 4 und 10 in $c(\text{NaCl})=10 \text{ mmol L}^{-1}$ (links). Stabilität der FeOx-Suspension über die Zeit (rechts)

FeOx hatte bei pH 4 ein positives Zetapotential und bei pH 10 ein negatives Zetapotential, während die MO bei beiden pH-Werten ein negatives Zetapotential aufwiesen, wie in Tabelle 4.6 dargestellt. Daher herrschten anziehende elektrostatische Kräfte zwischen MO und FeOx bei pH 4 und abstoßende elektrostatische Kräfte bei pH 10, womit die zweite Voraussetzung erfüllt war.

Tabelle 4.6: Zetapotential der NP und MO bei den ausgewählten pH-Werten

Zetapotential	FeOx	<i>E.coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>
pH 4	33 mV	- 54 mV	-5 mV
pH 10	-34 mV	-56 mV	-10 mV

Zur Kontrolle der dritten Voraussetzung wurden die MO den beiden pH-Werten über den Versuchszeitraum ausgesetzt und die Schädigung gemessen (Abbildung 4.20). Für *E. coli* konnte keine signifikante Beeinträchtigung nachgewiesen werden, während *S. cerevisiae* bei pH 10 eine leichte Abnahme zeigte. Damit war gewährleistet, dass auftretende Schädigungen der Zellen bei *E. coli* nicht durch den pH-Wert, sondern durch die NP hervorgerufen wurden. Dies trifft auch im Wesentlichen für *S. cerevisiae* zu.

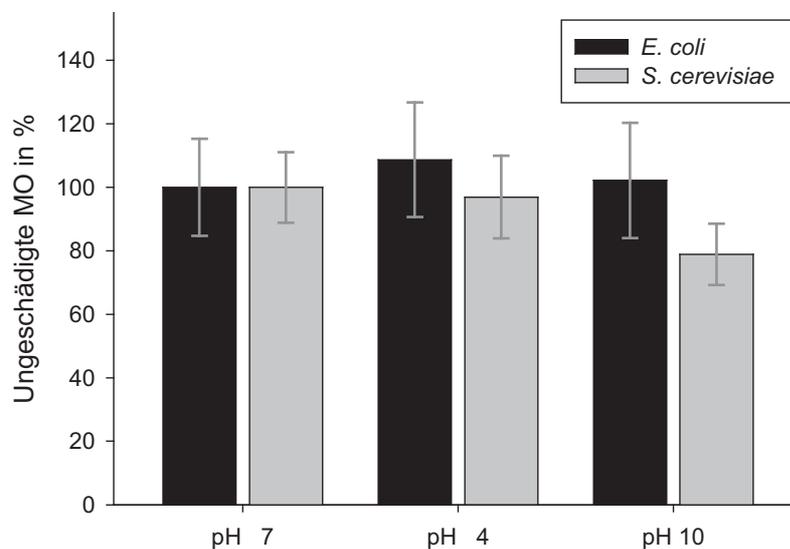


Abbildung 4.20: Vitale Zellen von *E. coli* und *S. cerevisiae* in Abhängigkeit vom pH-Wert

4.4.3.1 Sorption von FeOx an *E. coli* und *S. cerevisiae*

Die folgenden Experimente wurden bei den pH-Werten 4 und 10, welche die erforderlichen Voraussetzungen erfüllten, durchgeführt. Die pH-Werte ($\text{pH } 4 \pm 0,2$ und $\text{pH } 10 \pm 0,3$) blieben während der Expositionszeit von 20 min für die Sorption annähernd konstant. Die Beladung pro Zelle wurde aus der Konzentration an FeOx im Überstand und der Anzahl an Zellen für die spezifische OD_{600} berechnet. Dabei galt die Voraussetzung, dass die NP, die nicht in der überstehenden Lösung suspendiert waren, zum größten Teil an den MO fixiert waren. Die Ergebnisse wurden an die Langmuir-Adsorptionsisotherme (Gl. (2.33)) angepasst. Abbildung 4.21 zeigt den Verlauf der Sorptionsisothermen von FeOx-NP an *E. coli* und *S. cerevisiae* und REM-Aufnahmen der adsorbierten NP bei einer Anfangskonzentration von $\rho_0(\text{FeOx}) = 24 \text{ mg L}^{-1}$. Die modellierten Parameter der Isotherme sind in Tabelle 4.7 dargestellt.

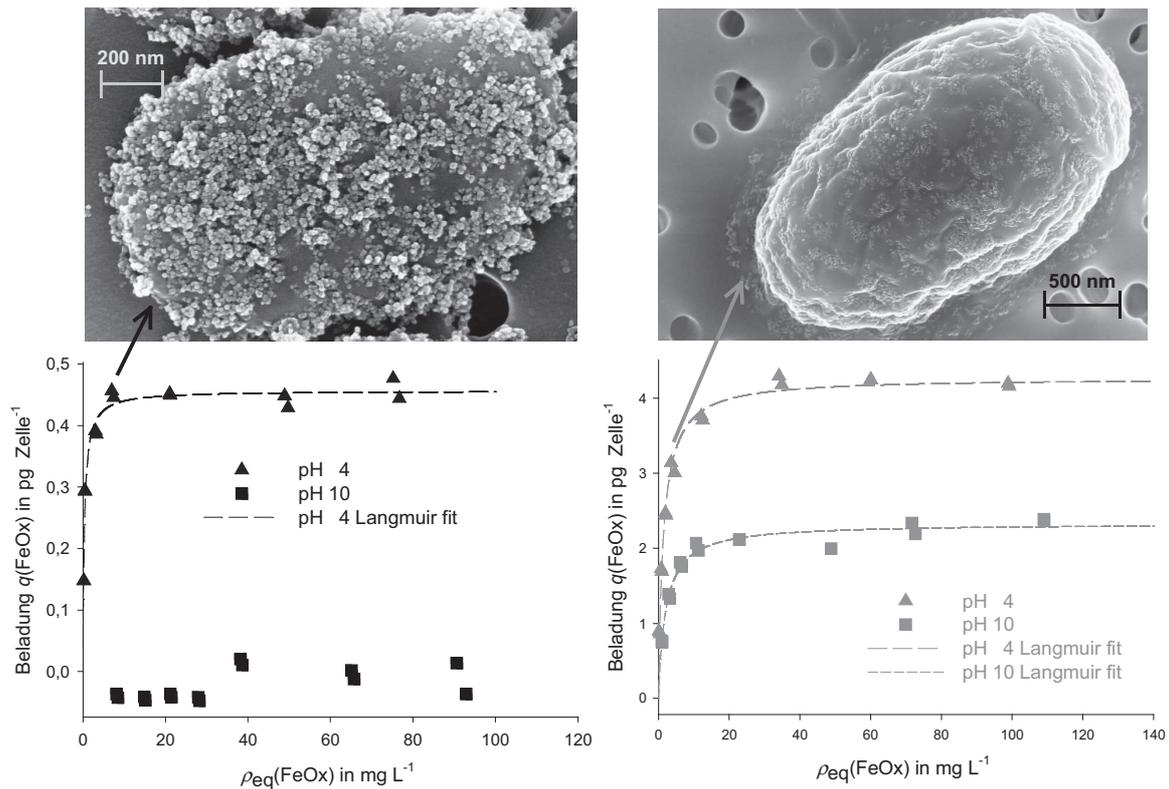


Abbildung 4.21: Sorptionsisothermen und REM Aufnahmen der Beladung von FeOx an *E. coli* (links) und *S. cerevisiae* (rechts)

Der Langmuir Parameter k_L , der die Affinität der FeOx-NP zur Zelloberfläche repräsentiert, nahm den höchsten Wert bei der Sorption an *E. coli* bei pH 4 an. Die Werte für den Parameter k_L waren konsistent mit den Ergebnissen der Zetapotentialmessungen, welche zeigten, dass die stärkste elektrostatische Anziehungskraft zwischen FeOx und *E. coli* bei pH 4 bestand, gefolgt von *S. cerevisiae* bei pH 4. Bei pH 10 existierte eine schwache Abstoßung zwischen FeOx und *S. cerevisiae*. Auf der Oberfläche von *E. coli* konnte bei pH 10 bis zu einer Konzentration von $\rho_0(\text{FeOx}) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ keine Sorption festgestellt werden, bei der die Abstoßung am stärksten war. Die Daten konnten nicht mit dem Langmuir Modell angepasst werden. Der Parameter q_{max} war für *S. cerevisiae* größer als bei *E. coli*, da *S. cerevisiae* eine größere Oberfläche besitzt. Daher wurden die Oberflächen der beiden MO auf der Basis von Mikroskopie Bildern berechnet. Gemessen wurden die jeweiligen Längen der Halbachsen und die Oberfläche nach dem Modell einer Ellipse berechnet (9.2.1.4). Bei Normierung auf das Verhältnis $q_{\text{max}}/\text{Zelloberfläche}$ ist die Reihenfolge der Beladung übereinstimmend mit der Reihenfolge des Parameters k_L und den elektrostatischen Interaktionen.

Die pH-Abhängigkeit bei der Interaktion von FeOx und MO konnte beim vertauschten Fall, der Adhäsion von MO an Kaolinit und Goethit ummanteltem Sand, schon gezeigt werden. Unterhalb des IEP vom ummantelten Sand verblieben mehr MO in der jeweiligen Säule im Gegensatz zu pH-Werten oberhalb des IEP [183, 184]. Bei Brustkrebszellen wurde festgestellt, dass die zelluläre Aufnahme von positiv geladenen FeOx-NP größer als die bei negativ geladenen FeOx-NP war [185]. Bertorelle et al. [186] berichteten für HeLa Zellen (Epithelzellen aus einem Karzinom)

von einer Partikelaufnahme von $\rho_0(\text{Fe}) = 5,8 \text{ pg Zelle}^{-1}$, die auch intrazellulär vorkamen. Die NP in deren Studie waren Maghämät NP gekoppelt mit Fluoreszenzfarbstoffen. HeLa Zellen sind mit einem mittleren Durchmesser von $14,6 \mu\text{m}$ größer als *S. cerevisiae* Zellen ($d \approx 6 \mu\text{m}$). Daher hätte eine größere Aufnahme erwartet werden können, verglichen mit *S. cerevisiae* ($q_{\text{max}}(\text{FeOx}) = 4,3 \text{ pg Zelle}^{-1}$ entsprechen $q_{\text{max}}(\text{Fe}) = 3,0 \text{ pg Zelle}^{-1}$). Die Messungen wurden jedoch bei einem neutralen pH-Wert durchgeführt, bei dem die NP ein Zetapotential von -36 mV hatten im Gegensatz zu unseren positiv geladenen FeOx-NP bei pH 4. In beiden Referenzen wurden keine Zetapotentialmessungen der Zellen durchgeführt, aber es kann angenommen werden, dass sie eine negative Ladung aufwiesen [157].

Tabelle 4.7: Parameter der Langmuir Anpassung für die Sorption von FeOx an *S. cerevisiae* und *E. coli*

	q_{max} in pg Zelle^{-1}	k_L in L mg^{-1}	$q_{\text{max}}/\text{Zelloberfläche}$ in mg m^{-2}
<i>S. cerevisiae</i> , pH 4	4,27	0,719	28,5
<i>S. cerevisiae</i> , pH 10	2,33	0,488	15,5
<i>E. coli</i> , pH 4	0,46	2,684	67,6
<i>E. coli</i> , pH 10	./.	./.	./.

4.4.3.2 Toxizität der FeOx-NP

In Abbildung 4.22 ist die Schädigung der MO durch die FeOx-NP gezeigt. Die Auftragung der Konzentration auf der Abszisse erfolgte nicht wie üblich mit der Konzentration ρ_0 , sondern die Toxizität wurde über die Gleichgewichtskonzentration ρ_{eq} nach dem Sorptionsvorgang aufgetragen. Dies ermöglichte eine Vergleichbarkeit mit den Adsorptionsisothermen. Die größte toxische Wirkung hatte FeOx auf *E. coli* bei pH 4. Die Überlebensrate für *E. coli* sank auf 1% für eine Anfangskonzentration $\rho_0 = 24 \text{ mg L}^{-1}$ (äquivalent zu $\rho_{\text{eq}} = 7,2 \text{ mg L}^{-1}$). Eine Erhöhung der Konzentration $\rho_0(\text{FeOx})$ bis 120 mg L^{-1} änderte die beobachtete Toxizität nicht weiter. Diese Ergebnisse stimmen mit dem Verlauf der Adsorptionsisotherme (Abbildung 4.21) überein. Bei $\rho_0 = 24 \text{ mg L}^{-1}$ wurde die maximale Beladung erreicht und es folgte keine weitere Sorption. Bei pH 10 war keine signifikante Abnahme der Überlebensrate von *E. coli* in Übereinstimmung mit der Adsorptionsisotherme festzustellen. Die gemessenen bakteriziden Effekte übertrafen die Toxizität von CeO-NP an *E. coli*, bei denen eine Konzentration von 200 mg L^{-1} benötigt wurde, um eine Reduzierung der MO um 2 log Stufen zu erreichen [63]. Auffan et al. [37] konnte bei der Toxizität von FeOx gegenüber *E. coli* eine Abhängigkeit von dem Redoxzustand des Eisens ausmachen. Je niedriger die Oxidationszahl, desto bakterizider waren die Partikel. Jedoch hatten die Partikel begründet in ihrer unterschiedlichen Herstellung verschiedene Durchmesser. Bei dem oxidierten Fe_2O_3 , welches in dieser Arbeit auch eingesetzt wurde, konnten nur geringe toxische Auswirkungen ($LD_{90} > 700 \text{ mg L}^{-1}$) gemessen werden. Der hydrodynamische Durchmesser der Partikel betrug jedoch 380 nm im Gegensatz zu 60 nm der NP dieser Arbeit. Bei anderen Metalloxiden mit einem Durchmesser von 330 bis 480 nm wurde eine Konzentration an NP von 1000 mg L^{-1} benötigt, um den gleichen toxischen Effekt zu erreichen [66].

Die Überlebensrate von *S. cerevisiae* sank auf $25 \pm 10\%$ bei der höchsten Konzentration an FeOx ($\rho_0 = 120 \text{ mg L}^{-1}$) und pH 4. Die Toxizität bei pH 10 war höher, sie erreichte 90% bei der höchsten Konzentration. Bei geringen FeOx

Konzentrationen war die Abnahme in der Überlebensrate bei pH 4 ausgeprägter als bei pH 10. Für die Unterschiede in der Konzentrationsabhängigkeit bei verschiedenen pH-Werten konnte keine Erklärung gefunden werden.

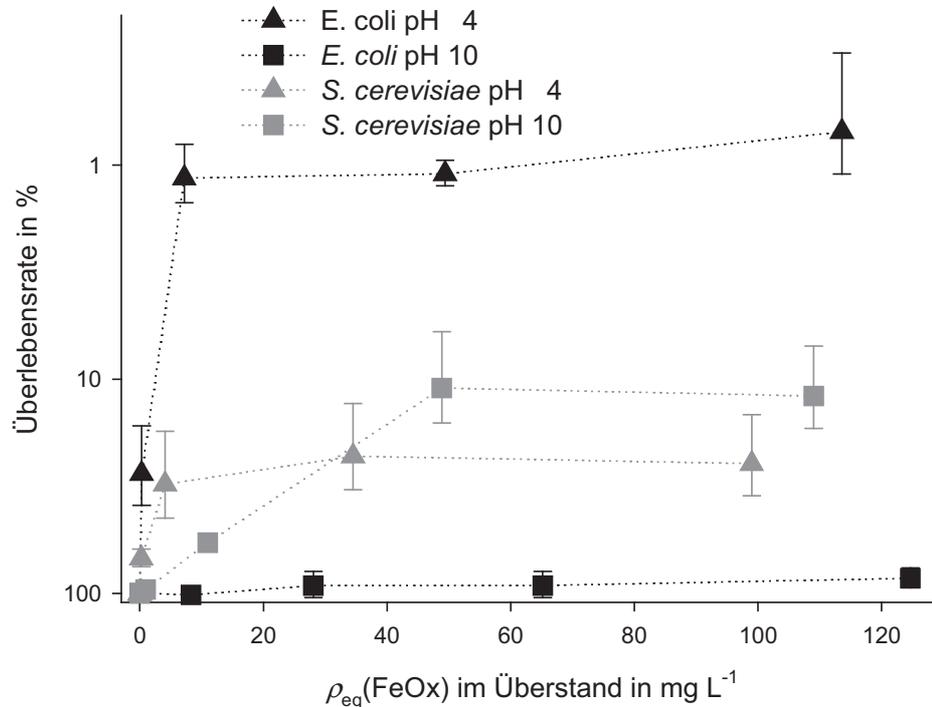


Abbildung 4.22: Toxizität von FeOx an *S. cerevisiae* und *E. coli* bei verschiedenen pH-Werten

Die toxische Wirkung von FeOx auf *E. coli* wurden bei mehreren pH-Werten getestet (Abbildung 4.23). Beim Verlauf ohne FeOx zeigte sich ein starker Abfall der ungeschädigten MO außerhalb des physiologischen pH-Bereichs. Unterhalb von pH 4 und oberhalb von pH 10 führte der Stress zu einer Abnahme der vitalen MO. Bei Zugabe von FeOx verlief die Kurve oberhalb von pH 6 kongruent mit dem Schädigungsverlauf ohne FeOx. In stark alkalischen Bereichen lag dies an der elektrostatischen Abstoßung zwischen FeOx-NP und den *E. coli* Zellen. Der IEP von FeOx lag im physiologischen pH-Bereich, bei dem es zu Agglomeration der NP kam. Die Agglomerate im μm -Bereich hatten keinen toxischen Einfluss auf die Zellen mehr. Der pH-Bereich zwischen 3 und 6 zeigte ein Fenster, indem die schädigende Wirkung der NP nachweisbar war. Bei Vergleich mit Abbildung 4.1 und Abbildung 4.7 korrelierte dieser schädigende Bereich mit den elektrostatischen Anziehungskräften zwischen *E. coli* und FeOx. Unterhalb von pH 3 liegt der IEP von *E. coli*, wodurch es wieder zu einer Abstoßung zwischen Zelle und NP kommt.

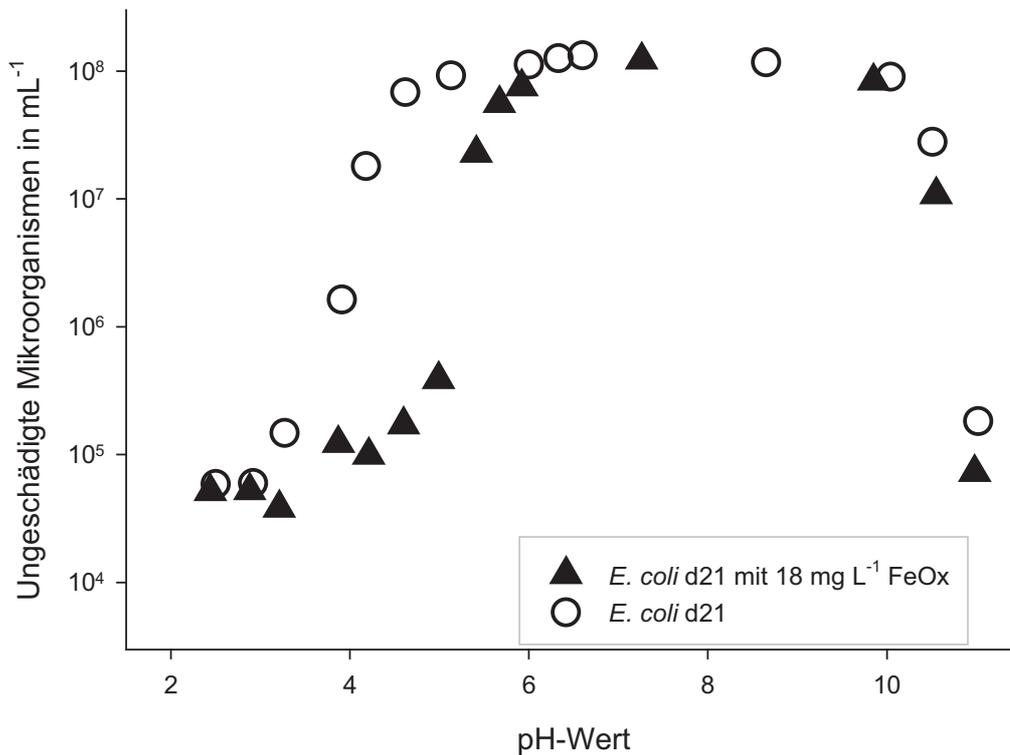


Abbildung 4.23: Schädigung von *E. coli* in Abhängigkeit vom pH-Wert mit und ohne Zugabe von FeOx-NP

4.4.3.3 Größenverteilung der FeOx-NP

Abbildung 4.24 zeigt die Änderung des mittleren hydrodynamischen Durchmessers der suspendierten FeOx-NP vor und nach der Sorption an den MO. Ohne den Prozessschritt der Sorption war der mittlere Durchmesser konstant bei $59,7 \pm 0,4$ nm für verschiedene Konzentrationen von FeOx. Nach dem Sorptionsprozess stieg der Durchmesser mit abnehmender Gleichgewichts- und Anfangskonzentration. Je höher die Gleichgewichtskonzentration von FeOx und dementsprechend die Anfangskonzentration war, desto mehr näherte sich der Durchmesser den Werten von FeOx ohne Sorption an. Ein Messartefakt auf Grund der höheren Verdünnungen der FeOx-NP kann dabei ausgeschlossen werden, da in der Negativkontrolle ohne Sorption die Partikel im untersuchten Konzentrationsbereich annähernd den gleichen Durchmesser aufwiesen. Der Anstieg des Partikeldurchmessers war nach der Sorption an *E. coli* größer als bei *S. cerevisiae*.

Zur Identifizierung dieses Effekts wurde nicht nur der mittlere Durchmesser untersucht, sondern die gesamte Größenverteilung. Abbildung 4.25 zeigt die gemessenen Größenverteilungen mittels DLS für FeOx vor der Sorption und bei unterschiedlichen Anfangskonzentrationen nach der Sorption. Mit abnehmenden Gleichgewichtskonzentrationen schien die Verteilung sich zu größeren hydrodynamischen Durchmessern verschieben. Bei der Messung der Größenverteilung wird jedoch die Fläche unter der Kurve jeweils auf 100% normiert. Daher wurden die gemessenen Werte mit dem Verhältnis aus $\rho_{\text{eq}} / \rho_0$ multipliziert, um einen Bezug zur gemessenen Konzentration an FeOx herzustellen. Nach dieser Umformung waren die Kurven der Größenverteilungen nach der Sorption (FeOx im Überstand) immer

unterhalb der Kurve des FeOx ohne Sorption. Die hellgraue Fläche in Abbildung 4.25 (rechts) fehlt im Überstand und repräsentiert den sorbierten Anteil. Eine geringere Konzentration von $\rho_0(\text{FeOx})$ resultiert in einem höheren Anteil sorbierter FeOx-NP und daraus folgernd, verkleinert sich die schwarze Fläche. Bei größeren $\rho_0(\text{FeOx})$ konvergiert die schwarze Fläche gegen die Kurve von FeOx ohne Sorption.

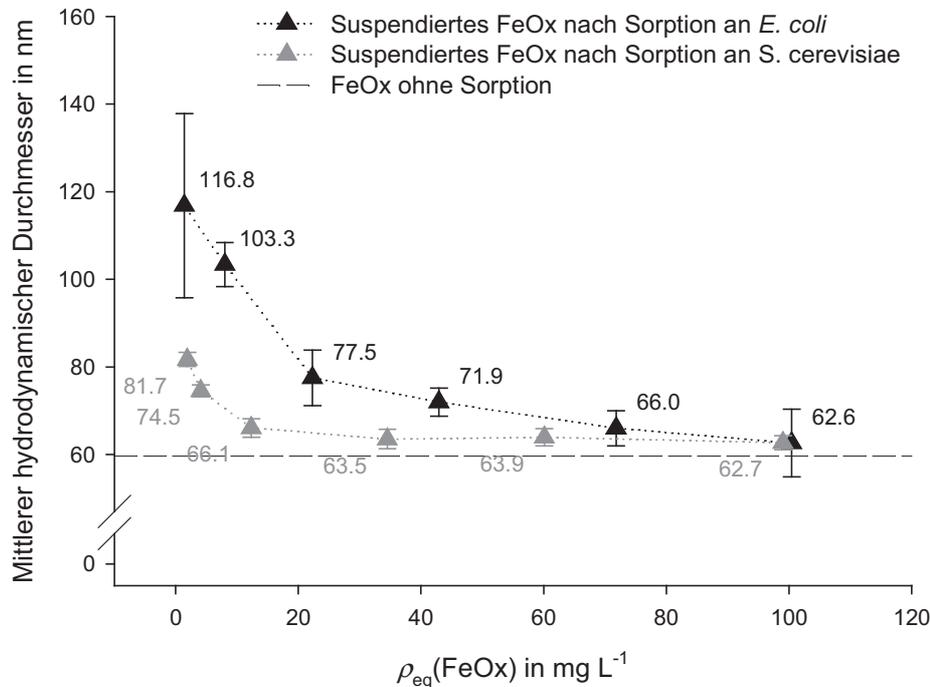


Abbildung 4.24: Mittlerer hydrodynamischer Durchmesser von FeOx im Überstand nach der Sorption in Abhängigkeit von der Gleichgewichtskonzentration

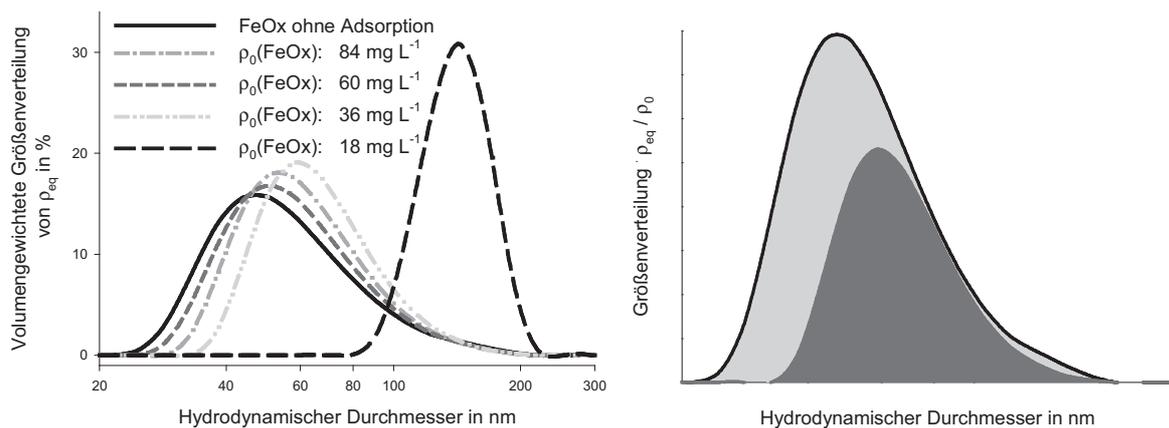


Abbildung 4.25: Volumengewichtete Größenverteilung von FeOx vor und nach der Sorption an *E. coli* in Abhängigkeit von der Anfangskonzentration (links) und Modellschaubild zur Kurvenanpassung in Relation zur Sorption (rechts)

Der Verlauf der Kurven der Größenverteilung von *E. coli* (Abbildung 4.26, links) zeigt, dass hauptsächlich Fraktionen mit einem kleinen hydrodynamischen Durchmesser (kleine Aggregate) an der Zelle sorbierten. NP mit einem größeren hydrodynamischen Durchmesser blieben in Suspension, daher wurde die Größenverteilung schmaler und verschob sich nach rechts. Bei der Sorption von Ag-

NP fanden Morones et al. [187] durch annulare Dunkelfeld RTEM ebenfalls heraus, dass nur NP mit einem Durchmesser kleiner 10 nm mit der *E. coli* Zelle interagierten. Im Fall von *S. cerevisiae* schienen Aggregate mit einem größeren Durchmesser von der Zelle sorbiert zu werden, da die Maxima der Kurvenverläufe annähernd beim gleichen Durchmesser auftraten. Im Gegensatz dazu wanderten bei kleineren Konzentrationen von FeOx die Maxima zu größeren Durchmessern bei *E. coli* Zellen.

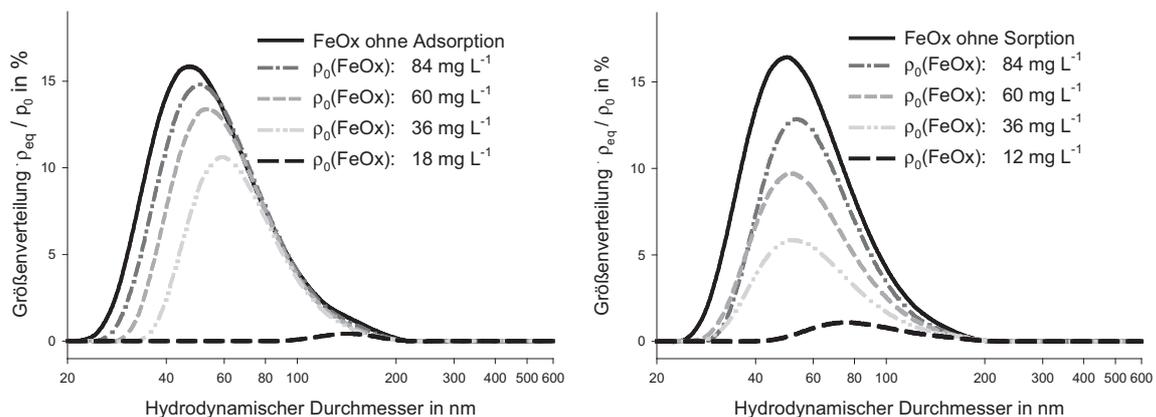


Abbildung 4.26: Variation der hydrodynamischen Größenverteilung in Abhängigkeit von $\rho_0(\text{FeOx})$ nach der Sorption bei pH 4 an *E. coli* (links) und *S. cerevisiae* (rechts)

Eine Agglomeration der FeOx-NP durch eine mögliche Proteinabsonderung aus der Zelle und deren Einfluss auf das FeOx wurde ausgeschlossen, weil die Verschiebung der Größenverteilung sich nur auf den unteren Grenzwert (die kleinsten Partikel Agglomerate) auswirkte. Der obere Grenzwert (größte Partikel Agglomerate) blieb bei den untersuchten Konzentrationen konstant. Bei einer durch Proteine hervorgerufenen Agglomeration sollte der obere Grenzwert ebenfalls ansteigen.

Zusätzlich wurde untersucht, ob vereinzelte *E. coli* Zellen, die auf Grund der nicht vollständigen Trennung im Überstand verbleiben konnten, einen Einfluss auf die Messung der Größenverteilung hatten. Größere Partikel (MO) haben durch die größenabhängige Lichtstreuung schon bei geringen Konzentrationen eine große Auswirkung auf die Größenmessung mittels DLS. Abbildung 4.27 zeigt diese Validierung. Bei einer Konzentration von $\rho_0(\text{FeOx}) = 3 \text{ mg L}^{-1}$ stieg der hydrodynamische Durchmesser ab einer MO-Konzentration von 10^4 Zellen je mL bzw. bei $\rho_0(\text{FeOx}) = 7 \text{ mg L}^{-1}$ ab 10^5 Zellen je mL stark an. Bei der Separation von MO und NP durch Zentrifugation wurden in der Negativkontrolle (ausschließlich MO) 4 log-Stufen von *E. coli* entfernt. Bei einer Anfangskonzentration von $7 \cdot 10^7$ Zellen pro mL befanden sich nach der Zentrifugation nur noch 7000 Zellen im Überstand und lagen im unkritischen Bereich, wodurch eine Beeinträchtigung der Größenmessung durch Zellen im Überstand vernachlässigt werden konnte.

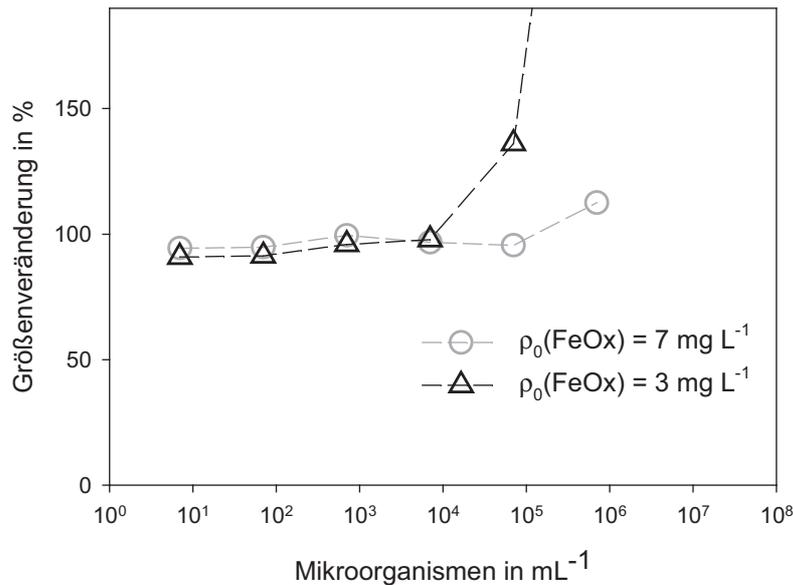


Abbildung 4.27: Beeinträchtigung der Größenmessung von NP in Anwesenheit von MO bei der DLS

4.4.3.4 Sorptionskinetiken

Die Sorptionskinetiken wurden nur bei pH 4 und nicht bei pH 10 gemessen. Der pH Wert wurde bei pH 10 durch Eintrag von atmosphärischem CO₂ und Bildung von Kohlensäure bei langen Expositionszeiten gesenkt. Dadurch näherte sich der pH-Wert dem IEP und der Trennungsschritt der Zentrifugation wurde gestört. *E. coli* zeigte bei pH 4 keine Zeitabhängigkeit innerhalb des experimentellen Aufbaus. Die Sorption von FeOx an der Zelle war nach wenigen Minuten abgeschlossen und blieb bei einer Beladung von 0,47 pg je Zelle annähernd für 20 h konstant (Abbildung 4.28).

Die Beladung für *S. cerevisiae* lag nach 9 min Expositionszeit bei $q(\text{FeOx}) = 3,2 \text{ pg Zelle}^{-1}$ und stieg auf $q(\text{FeOx}) = 6,8 \text{ pg Zelle}^{-1}$ nach 20 h Expositionszeit an. Der stetige Anstieg in der Sorption von FeOx an *S. cerevisiae* kann in den kleineren absoluten Werten für das Zetapotential begründet sein, verglichen mit den elektrostatischen Kräften zwischen *E. coli* und FeOx. Eine alternative Erklärung für den Anstieg könnte die Möglichkeit der Aufnahme von Partikeln durch Endocytose bei Eukaryoten sein. Dabei können NP durch Einschluss mit Teilen der Zellmembran und Absonderung als endocytische Vesikel aufgenommen werden. Es gibt verschiedene Regulationsmechanismen in eukaryotischen Zellen für die Aufnahme von Makromolekülen aus der Umwelt durch Vesikel mit einem Durchmesser von 60 nm [188, 189].

In Abbildung 4.29 sind TEM Aufnahmen verschiedener Größenausschnitte der Hefezelle nach mehreren Stunden Kontaktzeit mit FeOx dargestellt. In Bild A ist der Zellschnitt komplett mit FeOx umlagert. Bild B zeigt eine Vergrößerung eines Ausschnitts aus Bild A. Einzelne dunkle Punkte sind in der helleren Lipid-Doppelschicht erkennbar, die FeOx-NP darstellen können. In Bild C ist eine Vergrößerung einer weiteren Zelle dargestellt. Einzelne dunklere Objekte, die anscheinend die gleiche Form wie die NP außerhalb der Zelle haben, sind in der Zellmembran und im Cytoplasma erkenntlich. Diese Aufnahmen verstärken den Verdacht, dass *S. cerevisiae* mit der Zeit NP aufnehmen kann. Für eine endgültige

Bestätigung müssten die Zellorganellen mit einem anderen Fixierungsschritt aus Bild A besser aufgelöst werden, um den Transport der NP innerhalb der Zelle zu verfolgen. Prescianotto-Baschong und Riezman [100] konnten bei positiv geladenen Gold NP und einer 30 minütigen Expositionszeit bereits 12% der NP innerhalb der Zelle ausmachen. Ihr Versuche wurden aber mit Spheroplasten durchgeführt, bei denen ein Teil der Zellwand abgebaut wird und nicht als physikalischer Filter gegenüber den NP zur Verfügung steht.

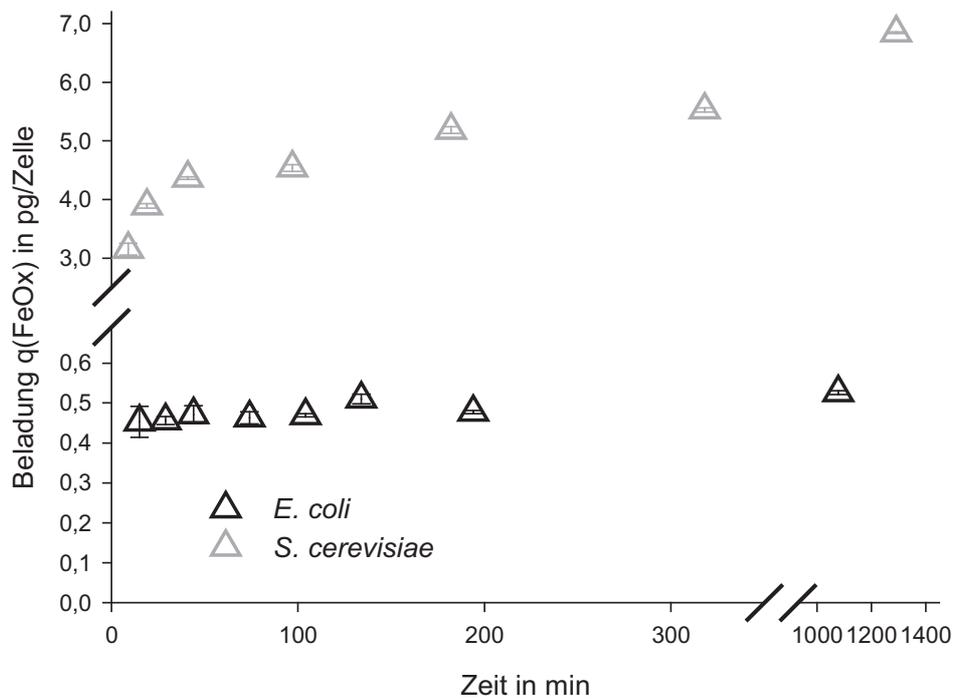


Abbildung 4.28: Sorptionskinetiken bei einer Startkonzentration $\rho_0(\text{FeOx}) = 60 \text{ mg L}^{-1}$ an *E. coli* und *S. cerevisiae* bei pH 4.

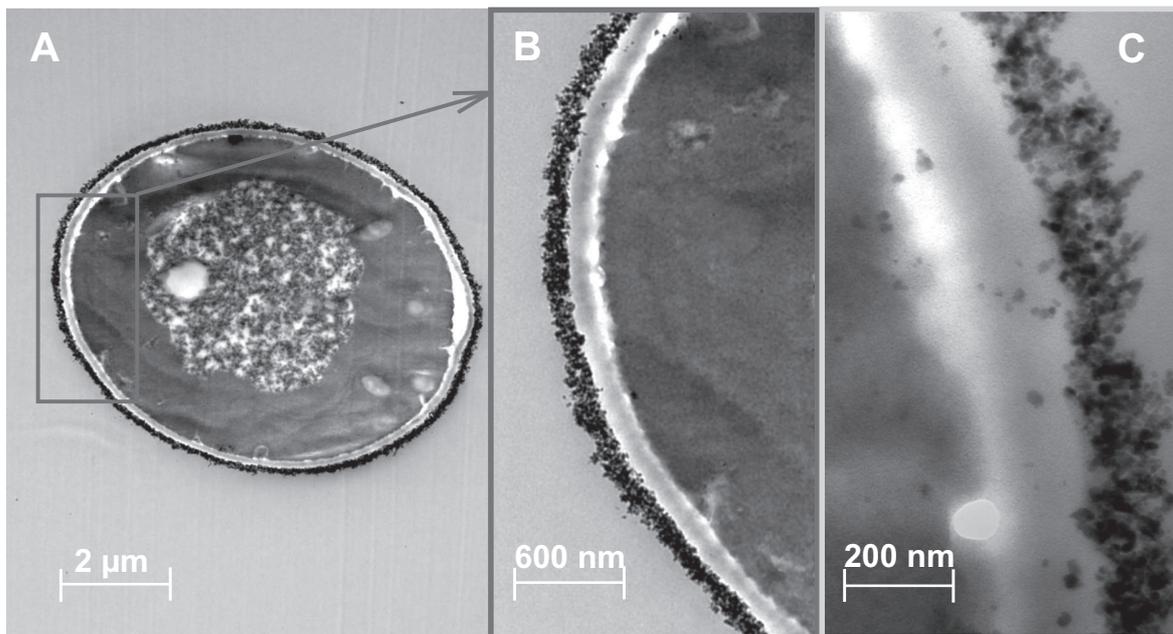


Abbildung 4.29: TEM Aufnahmen von *S. cerevisiae* mit sorbierten FeOx-NP und deren mögliche Aufnahme bei pH 4

4.4.3.5 Schlussfolgerung

Die Sorption von FeOx-NP an MO ist abhängig von den elektrostatischen Kräften und daraus folgernd vom Zetapotential. Bei stärkeren elektrostatischen Anziehungskräften ist die Sorption der NP größer. Im Fall von *E. coli* korrelierte der bakterizide Effekt mit dem Maß der Sorption und zeigte einen ähnlichen Verlauf. Dabei wurden hauptsächlich kleine Aggregate an der Oberfläche sorbiert. Bei *S. cerevisiae* konnte kein Zusammenhang zwischen Toxizität und Sorption gefunden werden. Während die Sorption der NP an *E. coli* bereits nach wenigen Minuten abgeschlossen war, erhöhte sich die Beladung bei *S. cerevisiae* über 24 h stetig. Aus TEM Aufnahmen ließ sich vermuten, dass der stetige Anstieg in der Aufnahme von NP begründet war.

4.4.4 Interaktion von Ag mit MO

Hypothese: Die Toxizität der Ag-NP ist abhängig von der Konzentration an gelösten Ag^+ -Ionen oder dem direkten Kontakt zwischen NP und MO. Bei Erniedrigung der Ag^+ -Konzentration durch Cystein und Chlorid sollte die Toxizität sinken und nur von der Menge an adsorbierten Ag-NP am MO abhängig sein.

Zur Identifizierung des toxischen Effekts, der am Institut synthetisierten Ag-NP, wurde überprüft, wie hoch die Konzentration an freien Ag^+ -Ionen war, die beim Reduktionsvorgang im Syntheseprozess nicht zu NP umgesetzt wurden oder sich nachträglich wieder gelöst haben. Die Ag-Konzentration wurden vor und nach einer Ultrazentrifugation (UZ) bei $100.000 \text{ U min}^{-1}$ mit Hilfe der ICP-OES gemessen. Es wurde davon ausgegangen, dass sich nach der UZ keine NP im Überstand befinden und das Verhältnis von Ag^+ zu Ag-NP durch die UZ nicht beeinflusst wird. Die Ag-Konzentration im Überstand lag nach der UZ bei $\rho(\text{Ag}) = 2,4 \text{ mg L}^{-1}$ und entsprach 12% von ρ_0 . Es kann daher von einem Verhältnis von 1:8 von Ag^+ zu Ag-NP ausgegangen werden.

4.4.4.1 Adsorption Ag-NP an *E. coli*

Zur Beurteilung des Grads der Adhäsion wurde eine Adsorptionsisotherme der Ag-NP an *E. coli* aufgenommen. Nach der Langmuir Anpassung der aufgenommenen Adsorptionsisotherme für Ag-NP wurde für q_{\max} ein Wert von $0,032 \text{ pg je Zelle}$ berechnet (Abbildung 4.30). Die Konzentrationen des nicht adsorbierten Silbers wurden photometrisch bestimmt, um die Sorption der Ag^+ Ionen nicht mitzubilanzieren. Gegenüber den FeOx-NP bei pH 4 (Kapitel 4.4.3.1) entspricht dies einer Abnahme der Beladung um ca. 93%. Es konnte aber eine höhere Beladung als bei FeOx bei pH 10 nachgewiesen werden, obwohl beide NP ein negatives Zetapotential aufzeigten. Dies könnte in der geringeren Größe der Ag-NP (vgl. Abbildung 4.2) und den damit resultierenden größeren Diffusionskoeffizienten begründet sein.

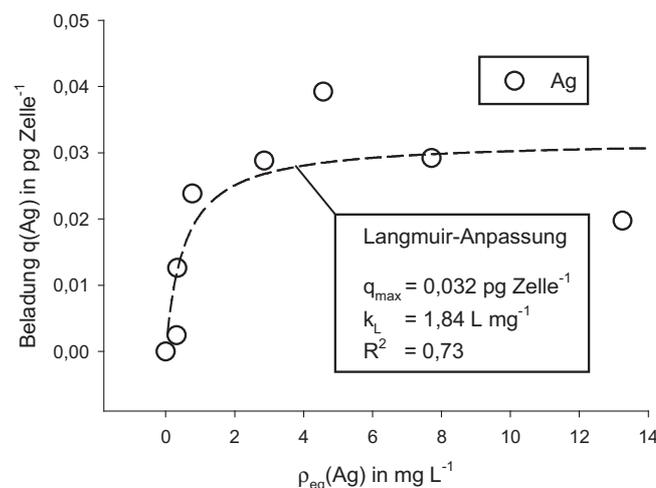


Abbildung 4.30: Sorptionsisotherme der Beladung von Ag an *E. coli*

4.4.4.2 Stabilität in unterschiedlichen Matrices

Vor und nach der UZ wurden verschiedene Volumina der Ag-NP Suspension entnommen und deren Toxizität gegenüber *E. coli* in einer Lösung mit $c(\text{NaNO}_3) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ getestet (Abbildung A.4). Der Grad der Schädigung zwischen den Proben vor und nach der UZ war identisch. Da nach der UZ keine NP mehr vorhanden waren, wurde die Schädigung durch die Ag^+ Ionen hervorgerufen. Trotz des geringeren Anteils an Ag^+ gegenüber den Ag-NP war die toxische Wirkung hauptsächlich auf die Ag^+ Ionen zurückzuführen, da die Vergleichsproben vor der UZ ansonsten eine höhere Schädigung aufgewiesen hätten. Aus diesem Grund wurde die Toxizität der einzelnen Spezies (Ag^+ / Ag-NP) in verschiedenen Matrices (NaCl, NaNO_3 und Cystein) mit der Konzentration $c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ untersucht.

Während NaNO_3 keine spezifische Interaktion mit Ag^+ Ionen zeigte, kann Cystein Ag^+ an der Thiolgruppe komplexieren. Bei NaCl wird sich auf Grund des geringen Löslichkeitsprodukts ($L_{\text{AgCl}} = 1,8 \cdot 10^{-10} \text{ mol}^2 \text{ L}^{-2}$) AgCl bilden. Die Stabilität der unterschiedlichen Matrices wurde durch spektroskopische Messungen überprüft, um sicher zu stellen, dass die Ag-NP nicht vollständig agglomerierten. In Abbildung 4.31 ist das Absorptionsspektrum der Ag-NP dargestellt. Die NP haben ein Absorptionsmaximum bei $\lambda = 392 \text{ nm}$, welches durch die Anregung der Valenzelektronen im Plasmonband entsteht [190].

Bei Zugabe von NaNO_3 verschob sich das Absorptionsmaximum zu einer größeren Wellenlänge mit $\lambda = 396 \text{ nm}$ und die Absorption im Maximum nahm ab (Abbildung 4.31 B). Diese Verschiebung und Abnahme des Maximums deutete auf eine Aggregation und Präzipitation der NP hin [191, 192], hervorgerufen durch die höhere Ionenstärke und damit der Kompression der elektrischen Doppelschicht. Der leichte Anstieg im Wellenlängenbereich von 420 – 550 nm deutete ebenfalls auf eine Präzipitation hin. Der Anstieg unterhalb von 340 nm wurde durch das hinzugegebene Nitrat hervorgerufen. In Abbildung 4.32 ist der zeitliche Verlauf des maximalen Absorptionspeaks dargestellt. Nach 10 h war noch 60% des maximalen Werts zu messen. Bei einer reinen Aggregation sollte die Konzentration und damit einhergehend die Absorption der NP in NaNO_3 einer Reaktion 2. Ordnung folgen. Der steile Abfall der Absorption in den ersten 15 Minuten konnte aber dadurch nicht erklärt werden. Li et al. [151] nahmen an, dass durch Zugabe von NaNO_3 zu Beginn das Lösungsgleichgewicht gestört wurde und eine Nitrat geförderte oxidative Korrosion stattfand.

Im Fall von Cystein trat die gleiche Verschiebung des Maximums um wenige nm auf. Jedoch war bei höheren Wellenlängen kein signifikanter Anstieg zu verzeichnen. Die stetige Abnahme der Absorption, die in Abbildung 4.32 dargestellt ist, deutete auf eine kontinuierliche Auflösung der Ag-NP durch Komplexierung der losgelösten Ag^+ durch Cystein hin. Nach 10 h konnten nur noch 50 % der Anfangsabsorption gemessen werden.

In der NaCl-Matrix nahm die Absorption im gesamten Wellenlängenbereich zu. Diese Zunahme war bedingt durch den ansteigenden Streuungsanteil der sich bildenden AgCl -Kolloide. Im Bereich des Absorptionsmaximums bei $\lambda = 392 \text{ nm}$ kam es daher zu einer Überlagerung von zwei Effekten: I) der Anstieg durch die Streuung und II) die Abnahme durch Auflösung und Präzipitation der NP. In hohen Wellenlängenbereichen wie bei λ_{600} ist nur der Streuungsanteil messbar. Daher wurde der

Anteil der Streuung durch Messung der Absorption von AgNO_3 in NaCl in Abhängigkeit von der Zeit korrigiert (Abbildung A.5) [29]. Der Anstieg der Absorption erfolgte in diesem System nur auf Grund der Streuung der AgCl -Kolloide. Die Erhöhung der Absorption wurde bei $\lambda = 392$ nm durch eine Umrechnung aus den Absorptionswerten bei λ_{600} angepasst. Mit dieser Korrektur konnte aus dem Anstieg der Absorption bei λ_{600} im Ag-NP/NaCl System der Streuungsanteil bei λ_{392} berechnet und vom Messwert subtrahiert werden. Das Ergebnis zeigt die Abnahme des Absorptionswerts (Abbildung 4.32) auf Grund des Auflösens der Ag-NP . Basierend auf dieser Korrektur lägen nach 10 h noch 50% der NP in der Suspension vor.

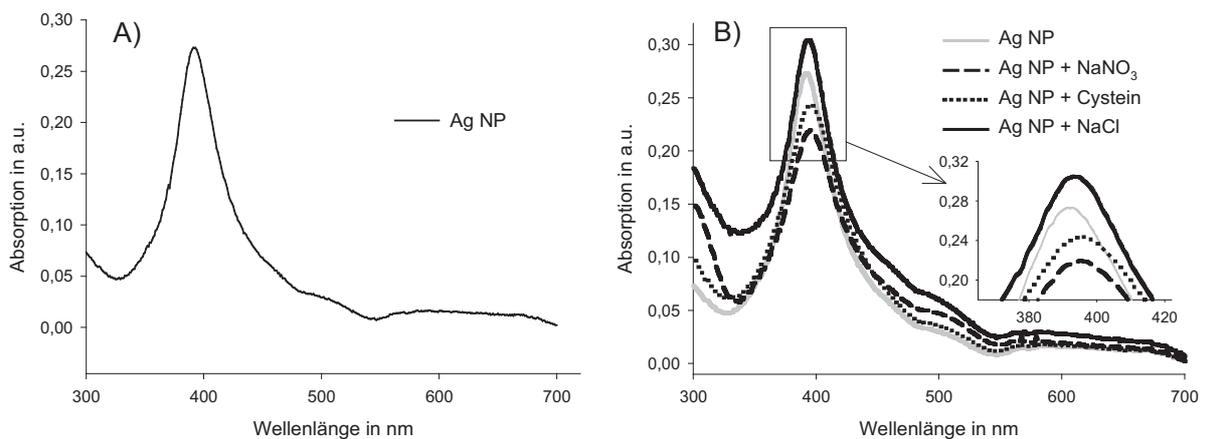


Abbildung 4.31: A) UV/VIS Absorptionsspektrum der Ag-NP $\rho_0(\text{Ag}) = 21 \text{ mg L}^{-1}$ und B) Absorptionsspektren nach Zugabe verschiedener Matrizes mit der jeweiligen Konzentration $c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ zum Zeitpunkt $t = 60 \text{ min}$. Die innere Grafik zeigt die Verschiebung der Absorptionsmaxima.

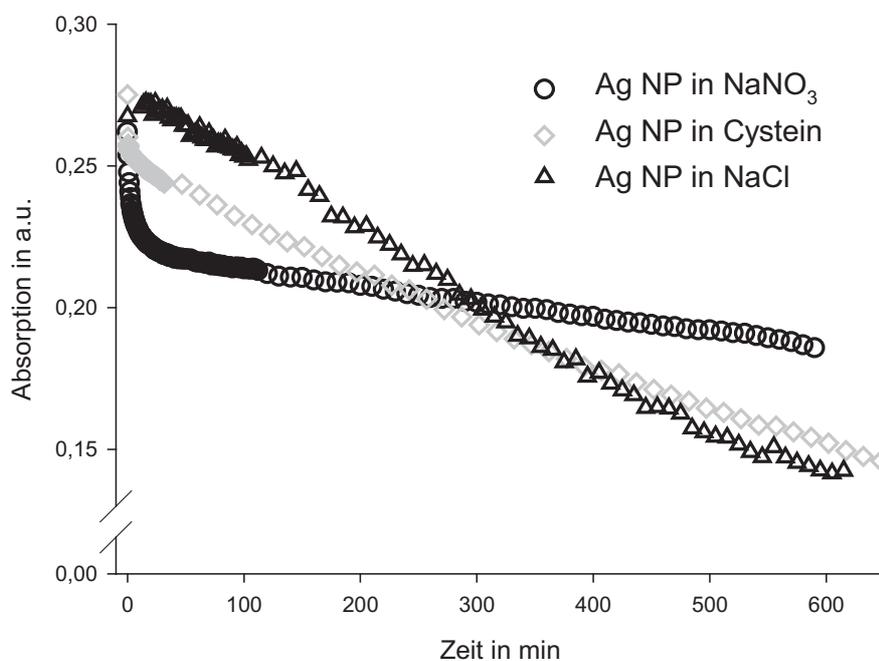


Abbildung 4.32: Abnahme der Absorption ($\lambda = 392 \text{ nm}$) der Ag-NP $\rho_0(\text{Ag}) = 19,8 \text{ mg L}^{-1}$ in Abhängigkeit von der Zeit und Hintergrundmatrix ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$)

Die Messung der Absorptionsspektren zeigte, dass die NP im Rahmen des Versuchszeitraums nicht vollständig aggregiert waren. Zur Messung der Toxizität waren die Partikel der Versuchsmatrix für weniger als 60 min ausgesetzt.

4.4.4.3 Toxizität von Ag gegenüber *E. coli*

In Abbildung 4.33 ist die Schädigung von *E. coli* in Abhängigkeit von der Ag-Konzentration bei einer Kontaktzeit von Ag und *E. coli* von 30 min dargestellt. Die Messpunkte wurden zusätzlich mit Sigmaplot an eine Wirkungs-Dosis-Funktion angepasst (Linien im Diagramm), um einen Wert für den EC_{50} -Parameter zu erhalten, welcher eine quantitative Vergleichbarkeit ermöglicht.

Bei Vorlage von Cystein konnte kein toxischer Effekt in den untersuchten Konzentrationen festgestellt werden. Der toxizitätsmindernde Effekt von Cystein gegenüber Ag wurde ebenfalls bei der photosynthetischen Aktivität der Alge *C. reinhardtii* festgestellt [27]. $AgNO_3$ in $NaNO_3$ -Lösung zeigte die größte Toxizität. Bei $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ lag die Anzahl der ungeschädigten MO unterhalb der Bestimmungsgrenze. Bei Vergleich der ermittelten EC_{50} Werte aus Tabelle 4.8 lag der Wert für $AgNO_3$ in der $NaNO_3$ -Lösung etwa um den Faktor neun unterhalb des Werts von Ag-NP in der $NaNO_3$ -Lösung, was den Anteil an Ag^+ Ionen in den Ag-NP widerspiegelte. Diese Korrelation ist ein weiteres Indiz dafür, dass die Ionen die allein verantwortliche toxische Spezies waren.

Der Wechsel der Hintergrundmatrix von $NaNO_3$ zu $NaCl$ verringerte erwartungsgemäß die Toxizität. Aber der EC_{50} Wert von $AgNO_3$ in der $NaCl$ -Lösung lag geringfügig unterhalb der Kombination von Ag-NP in der $NaNO_3$ -Lösung, obwohl nach dem Löslichkeitsprodukt nur noch maximal $0,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1} \text{ Ag}^+$ in der Lösung vorlagen (gegenüber $22 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ bei den Ag-NP). Daher ist davon auszugehen, dass die gebildeten $AgCl$ Kolloide auch eine Toxizität aufweisen. Die geringste Toxizität wiesen die Ag-NP in $NaCl$ auf. In diesem System war die Reihenfolge der Toxizität $Ag^+ \gg AgCl > Ag\text{-NP}$. Mit der kommerziell erwerblichen Ag-NP Suspension von AgPure[®] konnte an *E. coli* diese Reihenfolge bestätigt werden (Abbildung A.6).

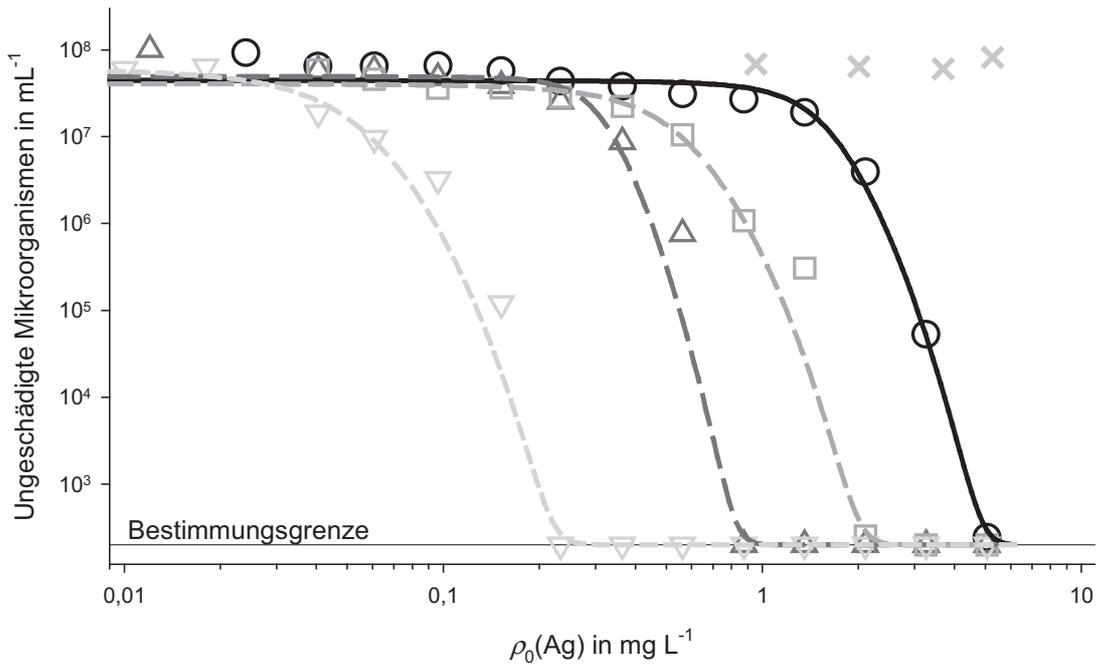


Abbildung 4.33: Schädigung von *E. coli* durch Ag-NP und Ag^+ Ionen in unterschiedlicher Hintergrundmatrix. Die Konzentration der Hintergrundmatrix war $c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$. Die Linien sind die jeweiligen Anpassungen der Dosis-Wirkungs-Kurve.

Tabelle 4.8: Ermittelte EC_{50} Werte für unterschiedliche Ag Spezies

	EC_{50} in mg L^{-1}
Ag NP in NaCl	$1,32 \pm 0,169$
Ag NP in NaNO_3	$0,28 \pm 0,034$
AgNO_3 in NaCl	$0,40 \pm 0,074$
AgNO_3 in NaNO_3	$0,033 \pm 0,012$

Die schädigende Wirkung der Ag-NP in NaCl und der Ag^+ -Ionen in NaNO_3 in Abhängigkeit von der Zeit ist in Abbildung 4.34 dargestellt. Beide Spezies zeigten einen Abtötungsverlauf wie im Chick-Watson Modell [87, 88]. Die exponentielle Abtötung konnte sowohl bei einer Kontaktzeit von 60 min als auch nach mehreren Stunden gemessen werden. Bei der längeren Kontaktzeit wurde die Toxizität mit geringeren Ag-Konzentrationen gemessen.

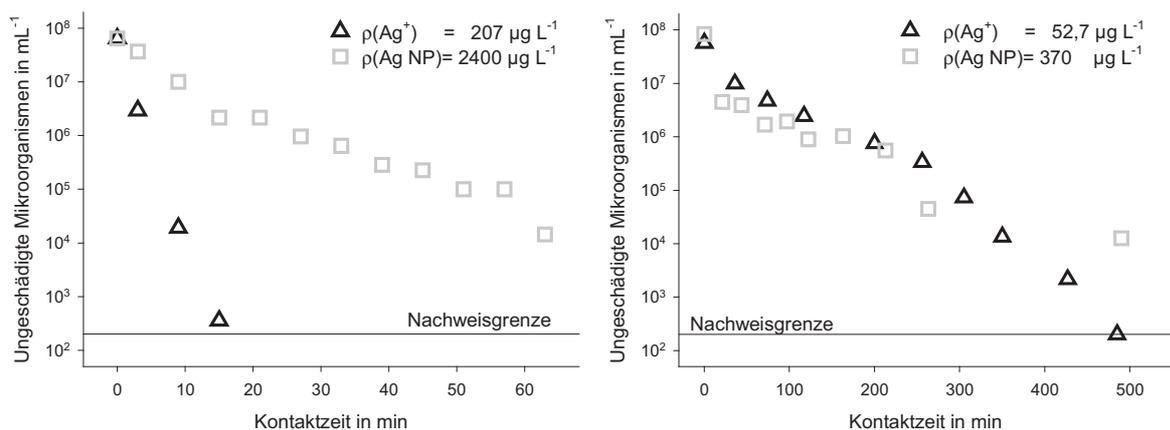


Abbildung 4.34: Schädigung von *E. coli* durch Ag-NP in Abhängigkeit von der Kontaktzeit in der Salzlösung

4.4.4.4 Wirkungsweise

Die Ag-NP zeigten in Gegenwart von Cystein keine toxischen Effekte. Zusätzlich wurde davon ausgegangen, dass Cystein nicht die Adsorption der NP auf die Zelloberfläche unterbindet. Dies deutet darauf hin, dass die Oberfläche der NP nicht direkt mit der Zellwand interagiert. Eine Oxidation des Ag^0 und das Lösen der entstehenden Ag^+ -Ionen war notwendig, um eine Schädigung hervorzurufen. Die gelösten Ag^+ -Ionen konnten im Fall von Cystein unverzögert komplexiert werden. In Anwesenheit von Cl^- -Ionen in der Hintergrundmatrix bildet sich AgCl . In Kontakt mit der Zelle oxidiert und denaturiert das Ag^+ aus dem AgCl schwefelhaltige Proteine in der Zellwand, da die Bindung an deren Thiolgruppen eine hohe Komplexbildungskonstante und Stabilität aufweist [32, 61]. Dies konnte durch Zugabe von Cystein (als Modell für ein schwefelhaltiges Protein) zu einer AgCl Suspension gezeigt werden. Die Trübung der Suspension nahm unmittelbar ab (Abbildung A.7). Die Wirkungsweise und Toxizität von AgCl und Ag^+ basierten nach der Annahme auf dem selben Effekt. Die deutlich höhere Toxizität der Ag^+ Ionen erklärt sich durch die stärkere Sorption der positiv geladenen Ionen an der Zelloberfläche. Die AgCl Kolloide weisen dagegen auf Grund ihrer Hydrophobizität ein negatives Zetapotential auf [193] und ihre Sorption an die Zelle ist geringer. Im Verlauf von mehreren Stunden lösten sich die Ag-NP in der NaCl-Lösung (Abbildung 4.32) auf und im selben Maße erhöhte sich die Toxizität (Abbildung 4.34).

Basierend auf der Annahme, dass die schädigende Wirkung des Silbers auf einer Reaktion mit der Zelloberfläche beruht und dass während der Kontaktzeit keine Exkretion von schwefelhaltigen Proteinen durch die Zelle stattfindet, ist keine Abnahme der desinfizierenden Spezies zu erwarten. Bei $\rho_0(\text{Ag}) = 50 \mu\text{g L}^{-1}$ liegen ca. $3 \cdot 10^{17}$ Ag^+ Ionen pro mL vor. Die Konzentration an MO betrug $7 \cdot 10^7$ Zellen pro mL und in der äußeren Membran einer einzelnen Zelle befinden sich etwa 300.000 Proteine [102]. Auf jedes Protein in der Zellmembran kommen nach diesem Modell über 10^4 Ag^+ -Ionen. Ein einziges Ag^+ Ion ist jedoch schon in der Lage, den Transport von Kalium durch Reaktion mit den Transporter-Proteinen zu unterbinden [32].

Ein Vergleich der Toxizität mit Ergebnissen für Ag-NP aus der Literatur (vgl. Tabelle 2.2 und Tabelle 2.3) ist nicht trivial, da die gemittelte Toxizität der getesteten Silberkonzentration von Studie zu Studie variiert und von zahlreichen Faktoren wie Größe

[36, 194], Oberflächenbeladung [195], Kristallgitter oder Form [61] abhängig zu sein scheint. Die ermittelten EC_{50} Werte der Ag-Konzentrationen aus dieser Arbeit lagen verglichen mit anderen Studien im unteren Konzentrationsbereich. Ein möglicher Grund liegt in der höheren Sensitivität des angewendeten Testverfahrens. Insgesamt gesehen sind Ag-NP ein wirksames Bakterizid, welches in den eingesetzten Konzentrationsbereichen mit Antibiotika wie Penicillin konkurrieren kann [196].

In der Literatur wird der Mechanismus, durch den die Ag-NP gegenüber MO toxisch wirken, kontrovers diskutiert. Manche Forscher nehmen an, dass die gelösten Ag^+ -Ionen von den NP die tatsächlich aktive Spezies sind, während in anderen Arbeiten die toxische Wirkung dem NP selbst zugesprochen wird.

So stellten Lok et al. [56] fest, dass während des Wachstums von *E. coli* die effektive antimikrobielle Konzentration für Ag^+ verglichen mit BSA umhüllten Ag-NP 1000fach größer war. Die MO in Kontakt mit den NP zeigten bei einer Proteomik Analyse eine Anreicherung an Membranprotein-Vorstufen. Daher könnten Ag-NP die Zellmembran beeinflussen, was zu einem Verlust des elektrochemischen Protonengradienten führte. In Untersuchungen mit einer nitrifizierenden Kultur und Ag-NP konnten hingegen bei Konzentrationen von $\rho_0(Ag) = 1 \text{ mg L}^{-1}$ keine Beweise für Änderungen in der Membranintegrität gefunden werden [54].

Außerdem wurde gezeigt, dass die Inhibierung einer nitrifizierenden Kultur mit dem Anteil an Ag-NP $< 5 \text{ nm}$ bei verschiedenen Ag Stammlösungen korrelierte [36]. Hauptsächlich NP im Bereich von $1 - 10 \text{ nm}$ sorbierten an der Zelloberfläche verschiedener gram(-) MO und drangen in die Zelle ein [187]. Raffi et al. [62] konnten durch TEM Aufnahmen adsorbierte und intrazelluläre NP in *E. coli* zeigen. Das Eindringen in die Zelle von Ag-NP, die mit Mercato-1,2-propandiol beschichtet waren, konnte auch ohne toxische Auswirkungen beobachtet werden [197]. Es wurde geschlussfolgert, dass eine Größenreduzierung der NP zu einer Erhöhung der Kontaktfläche mit den MO führt [61].

Zusätzlich wurde beobachtet, dass Ag^+ Ionen verglichen mit Ag-NP weniger intrazelluläre ROS generieren. Es wurde gefolgert, dass NP $< 5 \text{ nm}$ durch Porine leichter in die Zelle eindringen können als geladene Ionen [36]. Entgegen diesen Ergebnissen wurden in anderen Studien Schäden an der Zellmembran durch Ag-NP festgestellt [60]. Diese Bruchstellen in der Oberfläche verursachten den Zelltod, da die Membran ihre Transportmechanismen durch sie hindurch nicht mehr aufrecht erhalten konnte [60]. Dagegen behaupteten Choi und Hu [36], dass der Zelltod durch intrazelluläre Generierung von ROS basierend auf den eingedrungenen NP geschah. Hwang et al. [198] schrieben den toxischen Effekt den gebildeten Ag^+ Ionen außerhalb der Zelle zu. Die gebildeten Ag^+ Ionen drangen dann in die Zelle ein und riefen dort den Zelltod durch Bildung von ROS hervor. Die NP blieben außerhalb der Zelle und schädigten die Zellmembran in einem geringeren Ausmaß durch Störung der Ionen Effluxpumpen. Zhang et al. [49] kamen durch Messung der Sauerstoffaufnahme zu dem Schluss, dass die desinfizierende Wirkung von Ag^+ im Gegensatz zu den der NP zu vernachlässigen sei. Smetana et al. [197] kamen zum Schluss, dass reduzierte Silberionen innerhalb der Zelle agglomerieren und sich wieder Ag-NP bilden.

Zusammenfassend wird eine Vielzahl möglicher Mechanismen diskutiert, die zur Schädigung der MO führen. Konsens herrscht darüber, dass Silber auf Grund

mindestens einer der drei folgenden Mechanismen toxisch wirkt [180]:
I) Beeinträchtigung von zellulären Prozessen durch Bindung an Sulfhydryl- und Disulfidgruppen von Proteinen, II) Unterbrechung der DNA Replikation und III) Generierung von oxidativem Stress durch Bildung von ROS.

Im Test Design dieser Arbeit konnte die Bildung von ROS nicht bestätigt werden. Dahingegen gab es deutliche Indizien, dass Ag mit den schwefelhaltigen Proteinen Reaktionen eingeht.

4.4.5 Interaktion von SiO₂ mit MO

Hypothese: *Unter der Annahme, dass die Toxizität mit der Adhäsion der NP an der Zelloberfläche korreliert, ist nicht nur die Konzentration der NP, sondern auch die Anfangskonzentration der MO entscheidend, da sie die Adsorbensoberfläche stellen. Durch die durch Adsorption von NOM hervorgerufene Änderung der Oberflächeneigenschaften von SiO₂-CL sollte die Toxizität abnehmen.*

In Kapitel 4.4.2 wurde aufgeführt, dass die SiO₂-NP abhängig von ihrer Oberflächenladung toxisch auf die MO wirken. Die bei physiologischen pH-Werten positiv geladenen SiO₂-CL weisen besonders bei *L. plantarum* eine deutlich höhere toxische Wirkung auf.

Jiang et al. [148] konnten bei verschiedenen gram(+) wie gram(-) Bakterien eine toxische Wirkung mit den gleichen SiO₂-CL-NP ($\rho_0 = 20 \text{ mg L}^{-1}$) feststellen, während größere SiO₂-Partikel nicht toxisch waren. TEM-Aufnahmen von *Pseudomonas fluoreszenz* zeigten eine Ummantelung der Zelle mit NP. Van Hoecke et al. [50] erhielten an der Alge *Pseudokirchneriella subcapitata* ab einer Konzentration von $\rho = 10 \text{ mg L}^{-1}$ eine Wachstumsinhibierung. Der Inhibierungseffekt erwies sich als größenabhängig. TEM Aufnahmen belegten dabei die Anhaftung der NP an den Algen, obwohl die SiO₂ NP in diesem Fall negativ geladen waren. Die abgelösten SiO₄⁴⁻ Ionen vom SiO₂ waren im Gegensatz zum Silber nicht toxisch, da die gelösten Ag⁺ Ionen eine toxische Wirkung zeigten. Fujiwara et al. [59] konnten ebenfalls eine größenabhängige Toxizität gegenüber der Alge *Chlorella kessleri* messen, wobei die kleineren SiO₂-NP eine größere Toxizität aufwiesen. Bei Adams et al. [66] trat ein toxischer Effekt an *E. coli* erst ab einer Konzentration von 500 mg L^{-1} auf. Die toxische Wirkung sollte dabei unabhängig von der Größe sein. Die Ladung der NP und eine mögliche Adhäsion wurden nicht untersucht

4.4.5.1 Adhäsion (DLVO und XDLVO Theorie)

Die schädigende Wirkung konnte daher auf die Partikel selbst zurückgeführt werden. Eine mögliche Ursache könnte die Störung der Ionenkanäle durch Adhäsion von NP an der Zellwandoberfläche sein. Daher wurde auf Basis der Interaktionsenergien nach der DLVO- und XDLVO-Theorie überprüft, in wie weit sich eine Adhäsion zwischen SiO₂ und dem Bakterium vorhersagen lässt. Die benötigten Kontaktwinkel und die daraus resultierenden Anteile an der Oberflächenenergie zur Berechnung sind in Tabelle 4.9 beschrieben. Mit den gemessenen Zetapotentialen aus Kapitel 4.1 und 4.3 wurden die einzelnen Energieanteile W^{EL} , W^{LW} und W^{AB} in Abhängigkeit vom Abstand NP-MO berechnet. Bei den SiO₂-CL-NP waren alle Energieanteile negativ, daher kommt es sowohl bei der DLVO- wie bei der XDLVO-Theorie zu einer Adhäsion im primären Minimum (Abbildung 4.35 A). Bei den SiO₂-SM-NP ergibt sich durch das gleiche Vorzeichen in der Oberflächenladung eine leichte elektrostatische Abstoßung, die aber von dem LW Anteil überwogen wird. Daher baut sich kaum eine Energiebarriere auf und nach der DLVO Theorie müsste es zu einer Adhäsion kommen. Durch den zusätzlichen AB Anteil in der XDLVO Theorie, welche den dominantesten Energieanteil widerspiegelt und positiv ist, kommt es zu einer starken Abstoßung zwischen MO und NP. Die beiden Interaktionsprofile von SiO₂-CL und SiO₂-SM werden maßgeblich durch den AB Term beeinflusst, welcher im ersten Fall anziehend und im anderen abstoßend wirkt. Durch die Aluminatbeschichtung beim

SiO₂-CL ändert sich nicht nur die Oberflächenladung, sondern es zeigen sich geringere Kontaktwinkel mit Wasser und Formamid. Demzufolge ist der Elektronen Donor Parameter γ^- und der polare Energieanteil γ^{AB} signifikant kleiner, welches auf die hydrophobe Eigenschaft der Partikel deutet [124, 199].

Die Adhäsion der SiO₂-CL und SiO₂-SM-NP wurde mit Ergebnissen von REM Aufnahmen kontrolliert (Abbildung 4.36). Die positiv geladenen NP adsorbierten in einem signifikant größeren Ausmaß an der Zelloberfläche als die negativ geladenen SiO₂-SM-NP, wie die XDLVO-Theorie es prognostiziert. Durch die geringe Größe der Primärpartikel und Agglomerate ist eine komplette Belegung der Oberflächenstrukturen der Zelle möglich. Im Gegensatz dazu fällt bei größeren Partikeln die Kontaktfläche geringer aus und ein Großteil der Zelloberfläche bleibt unberührt.

Tabelle 4.9: Gemessene Kontaktwinkel und die daraus berechneten Anteile der Oberflächenenergien für SiO₂ und *L. plantarum*

	Θ_{Wasser}	Θ_{Formamid}	$\Theta_{\text{Diiodmethan}}$	γ^+	γ^-	γ^{AB}	γ^{LW}	γ^{tot}
	in °			in mJ m ⁻²				
<i>L. plantarum</i>	42	30	53	2,9	32,5	19,4	30,2	49,6
SiO ₂ -CL	64	44	48	1,4	9,2	7,1	34,9	42,0
SiO ₂ -SM	13	10	40	1,6	49,4	17,7	38,4	56,2

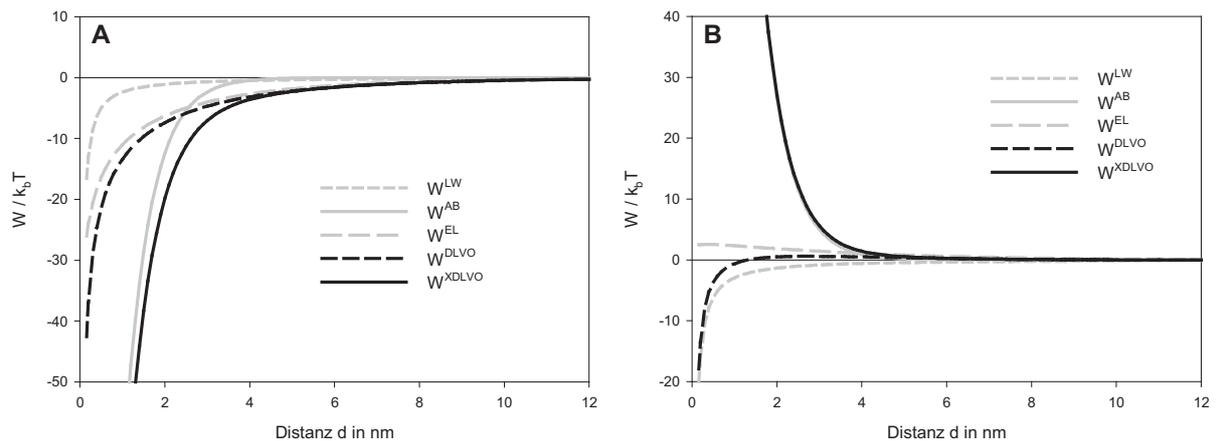


Abbildung 4.35: Energieanteile und deren Summe bei der Interaktion von *L. plantarum* mit A) SiO₂-CL und B) SiO₂-SM in Abhängigkeit vom Abstand in $c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$

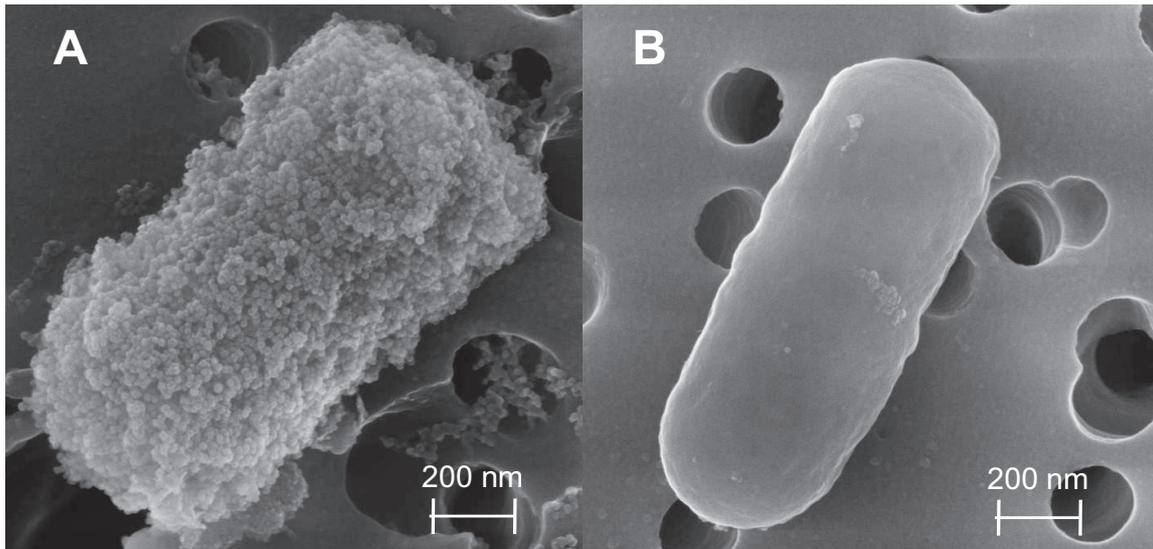


Abbildung 4.36: *L. plantarum* mit anhaftenden NP A) SiO₂-CL und B) SiO₂-SM. Die MO wurden für 30 min mit SiO₂ ($\rho_0 = 10 \text{ mg L}^{-1}$) in einer NaCl Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) in Kontakt gebracht und anschließend über einen 0,2 μm Filter abfiltriert

4.4.5.2 Verhältnis Partikelanzahl zu Mikroorganismenanzahl

Anscheinend war die komplette Belegung der Zelloberfläche Ursache für die bakterizide Wirkung. Daher wurde in weiteren Experimenten überprüft, ob die Massenkonzentration ρ oder das Verhältnis der Partikelzahl zu MO-Anzahl die entscheidenden Parameter sind. Für die Umweltgefährdung durch Chemikalien wird standardmäßig der EC_{50} in einer Massenkonzentration ausgedrückt. In Abbildung 4.37 (A) ist die traditionelle Darstellung der Toxizität in Abhängigkeit von der Massenkonzentration an NP dargestellt. Aus der Abbildung 4.37 wird ersichtlich, dass bei einer Erniedrigung der Anfangszellzahl in gleicher Weise die notwendige Konzentration an SiO₂-CL sank, um einen toxischen Effekt zu bewirken. Während bei einer Anfangszellzahl $N_0 = 4 \cdot 10^7 \text{ Zellen mL}^{-1}$ ein negativer Effekt auf die Bakterien erst ab einer Konzentration von 4 mg L^{-1} SiO₂ bemerkbar war, wirkten die NP bei einer geringeren Zellzahl von $1,6 \cdot 10^5 \text{ Zellen mL}^{-1}$ ab einer Konzentration von $0,06 \text{ mg L}^{-1}$ toxisch.

Daher wurde die Toxizität im Verhältnis zu der Anzahl der Agglomerate je Zelle berechnet. Dabei wurde von einer mittleren Agglomeratgröße $d_h(\text{SiO}_2\text{-CL}) = 30 \text{ nm}$ ausgegangen (vgl. Abbildung 4.2). Bei einer Dichte von $\rho(\text{SiO}_2) = 2200 \text{ kg m}^{-3}$ ergaben sich Partikelkonzentrationen von $8 \cdot 10^8$ bis $2 \cdot 10^{12}$ Agglomerate pro mL für die angegebenen Konzentrationen. Die Partikelkonzentrationen wurden durch die Anfangszellzahl dividiert, um eine Auftragung über das Verhältnis der SiO₂ Agglomerate pro Bakterium zu erhalten. Das Ergebnis ist in Abbildung 4.37 (B) dargestellt. Vier von fünf Toxizitätskurven zeigen den gleichen Verlauf, dabei ist eine toxische Wirkung etwa ab ca. 3000 Agglomeraten je Bakterium festzustellen. Bei Annahme einer sphärischen Form der Agglomerate berechnet sich für diesen Wert eine Projektionsfläche von $2,1 \mu\text{m}^2$, die in der gleichen Größenordnung wie die Oberfläche einer *L. plantarum* Zelle ($6 \mu\text{m}^2$) liegt. Bei der Kurve mit der geringsten Anfangszellzahl und dementsprechend geringeren Konzentrationen an SiO₂ ist eine höhere Agglomeratanzahl je Zelle notwendig, um einen Effekt zu erzielen. Eine

mögliche Ursache war die Adsorption der NP am Probengefäß, die auf Grund der geringen Konzentration einen signifikanten Einfluss auf die absolute Partikelzahl in der Probe haben könnte.

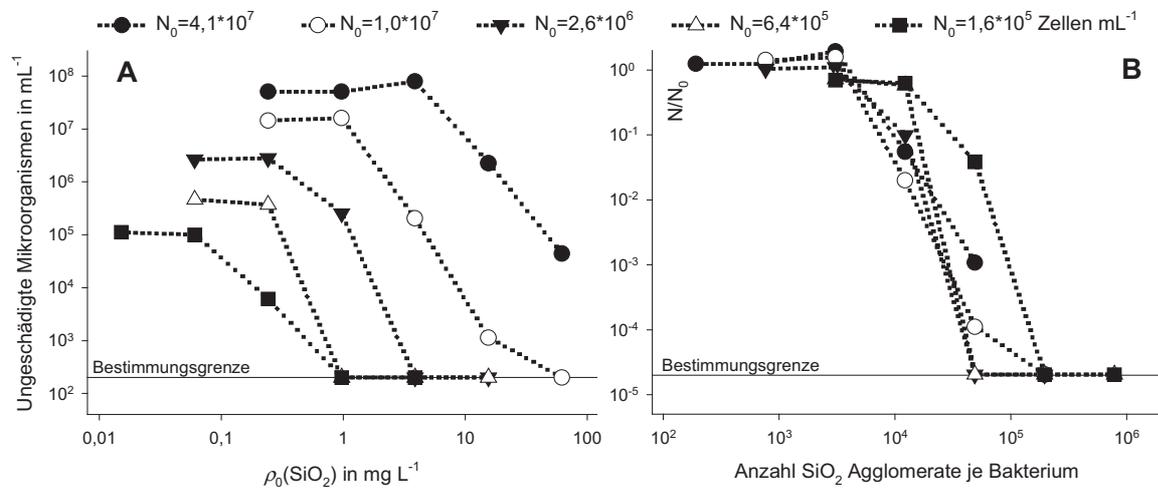


Abbildung 4.37: Toxizität von SiO₂-CL an *L. plantarum* in Abhängigkeit von der Anfangszellzahl und der NP Konzentration (A). Toxizität in Abhängigkeit von der Anzahl der SiO₂ Agglomerate je Bakterium bezogen auf die Anfangszellzahl (B).

4.4.5.3 Einfluss der NOM auf die Toxizität der NP

Die bisherigen Ergebnisse bestätigten die Hypothese, dass bei nicht reaktiven NP die Anlagerung der NP an die Zelle einen toxischen Effekt hervorruft. Die Adhäsion der NP basierte zum Teil auf der unterschiedlichen elektrostatischen Ladung. In Kapitel 4.4.3 konnte bei FeOx gezeigt werden, dass durch Änderung des Zetapotentials der gleichen NP die Stärke der Sorption beeinflusst wurde. Aus Kapitel 4.2 war bekannt, dass das Zetapotential von SiO₂-CL durch die Adsorption von NOM verändert wird. Daher wurde im nächsten Schritt untersucht, ob eine Zugabe von NOM in Form von FS die Toxizität der NP reduziert. Die mögliche Inhibierung der Toxizität wurde durch zwei unterschiedliche Ansätze verifiziert.

- Das Verhältnis zwischen den Konzentrationen an FS und SiO₂ wurde als konstant eingestellt. Aus den Adsorptionsisothermen von FS an SiO₂ wurde ein Faktor berechnet, bei dem von einer maximalen Beladung ausgegangen werden kann (Abbildung 4.38) und dementsprechend das Zetapotential einen konstanten negativen Wert aufweist.

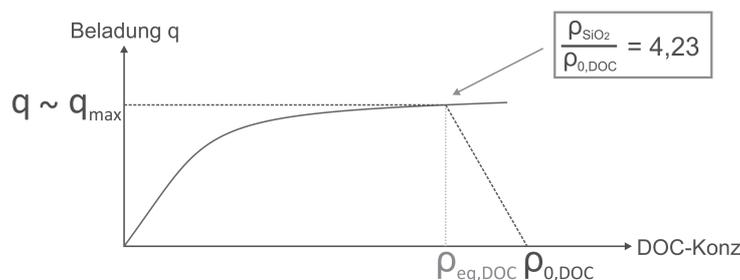


Abbildung 4.38: Schematische Darstellung der Adsorptionsisotherme und der Kopplung der Konzentration an FS an die Konzentration von SiO₂ NP

- Die Konzentration an SiO_2 blieb konstant und die Konzentration an FS wurde variiert. Dieser Ansatz gewährleistet einen möglichen Vergleich mit den Adsorptionsisothermen.

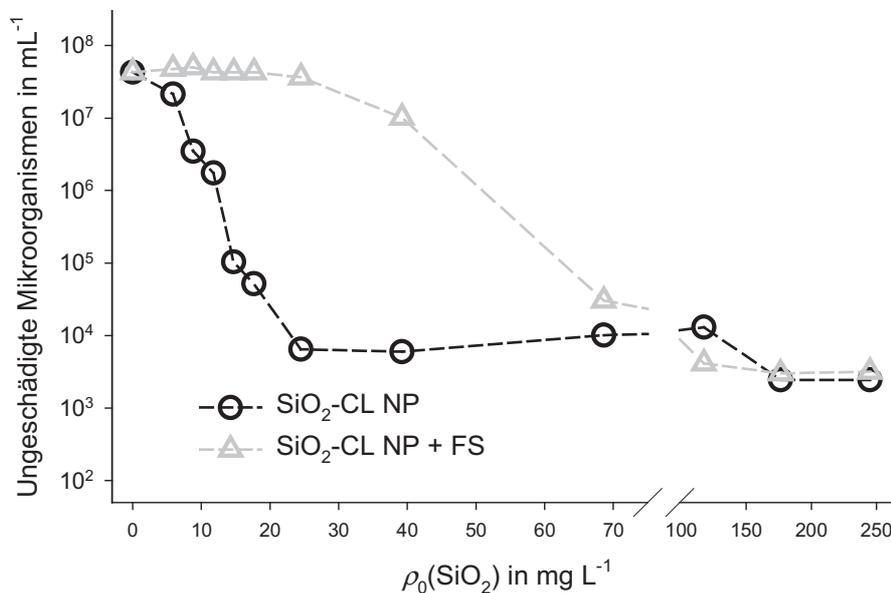


Abbildung 4.39: Vergleich der Toxizität von $\text{SiO}_2\text{-CL}$ an *L. plantarum* mit ohne vorheriger Beladung der NP mit FS. Die Konzentration an DOC der Fulvinsäure betrug 24% der Konzentration von SiO_2

Durch Zugabe von FS in einem konstanten Verhältnis zwischen DOC und SiO_2 trat ein schädigender Effekt erst in höheren Konzentrationen auf (Abbildung 4.39). Während bei SiO_2 ohne NOM eine Konzentration von $\rho = 5,9 \text{ mg L}^{-1}$ eine schädigende Wirkung hervorrief, war ein toxischer Effekt bei einer Maximalbeladung der NP mit NOM erst bei $\rho_0(\text{SiO}_2) = 30 \text{ mg L}^{-1}$ messbar. Bei $\rho_0(\text{SiO}_2) > 70 \text{ mg L}^{-1}$ verlaufen die Kurven mit und ohne NOM kongruent und die FS kann den toxischen Effekt nicht mehr abmindern. Bei den hohen SiO_2 Konzentrationen führte auch eine Erhöhung der Konzentration an DOC oberhalb der maximalen Beladung zu keiner Abschwächung der Toxizität (Abbildung A.9). Ein toxischer Effekt auf Grund höherer Konzentrationen an FS war auszuschließen, da bei $\rho_0(\text{DOC}) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ die Anzahl der ungeschädigten Bakterien in der Kontrollprobe um weniger als eine log-Stufe reduziert wurde.

In Abbildung 4.40 (A) sind die Ergebnisse des zweiten Versuchsansatzes jeweils mit einer konstanten SiO_2 Konzentration dargestellt. Der toxische Effekt konnte schon bei geringeren Konzentrationen an DOC abgewendet werden, als für die maximale Beladung notwendig gewesen wäre. Die maximale Beladung wurde in den beiden Fällen bei einer Konzentration $\rho_0(\text{DOC}) = 3,7 \text{ mg L}^{-1}$ bzw. $\rho_0(\text{DOC}) = 5,9 \text{ mg L}^{-1}$ erreicht. In Abbildung 4.40 (B) wurden die eingesetzten DOC Konzentrationen ρ_0 mit Hilfe der aufgestellten Langmuir Gleichung für $\text{SiO}_2\text{-Cl}$ (Tabelle 4.3) in eine Adsorptionsisotherme umgerechnet. Die Abbildung zeigt, dass etwa bei 30% der maximalen Beladung q_{max} die $\text{SiO}_2\text{-CL-NP}$ ihre toxische Wirkung verloren. Diese Reduzierung der Toxizität wurde auf zwei Merkmale zurückgeführt.

Erstens verringerte sich bei Erhöhung der DOC-Konzentration das Zetapotential, wie in Abbildung 4.4 gezeigt, und die Partikel begannen durch die geringere elektrostatische Abstoßung zu aggregieren. Abbildung 4.41 bestätigte die

Größenveränderung der SiO₂-CL-NP in Abhängigkeit von der DOC Konzentration. Bei geringer Zugabe von DOC stieg die Aggregatgröße stark an, während sie bei hohen DOC Konzentrationen annähernd auf den Anfangswert zurückfiel. Die größeren Aggregate waren gegenüber den Zellen geringer toxisch. Zweitens führte eine weitere Erhöhung der DOC Konzentration zu einer Umkehr des Vorzeichens des Zetapotentials und es fand keine elektrostatische Anziehung zwischen Partikel und MO statt.

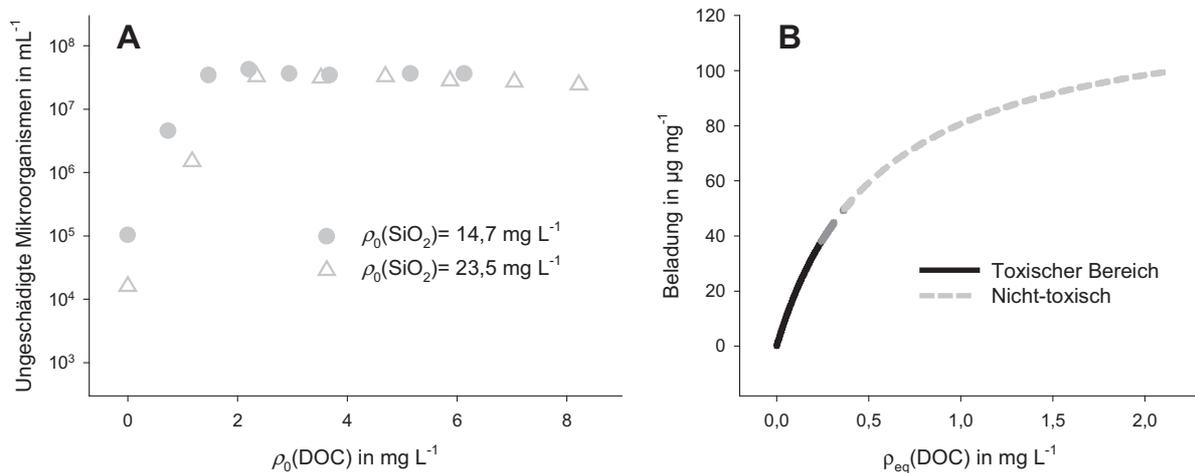


Abbildung 4.40: A) Abnahme der Toxizität an *L. plantarum* bei Erhöhung der Konzentration an DOC. B) Darstellung der Toxizität von SiO₂-CL-NP gegen *L. plantarum* als Adsorptionsisotherme in Abhängigkeit von der Beladung der NP mit Fulvinsäure.

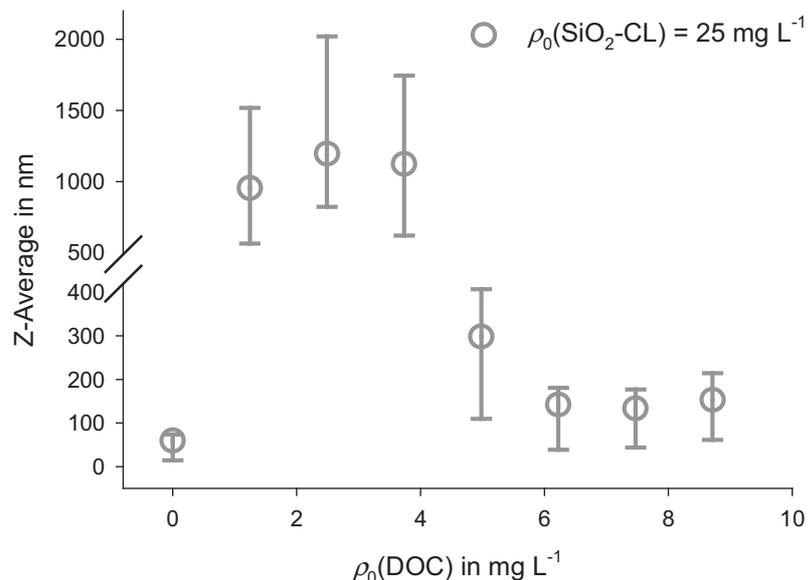


Abbildung 4.41: Größenveränderung der SiO₂-CL Agglomerate in Abhängigkeit von der DOC Konzentration

Im Gegensatz zu der gemessenen Agglomeration der SiO₂-CL-NP durch Zugabe von NOM in unseren Versuchen, konnte eine Disaggregation und Reduzierung der Größe durch Zugabe von NOM zu NP Suspensionen an verschiedenen NP wie TiO₂ [71, 154], Ag [49, 182], ZnO, Fe₂O₃, NiO [154], Fe [200] und CeO₂ [52] nachgewiesen

werden. In den meisten Fällen handelte es sich dabei um getrocknete, pulverförmige NP, die in die wässrige Phase dispergiert wurden. Durch die Trocknung und Lagerung können sich stabile Aggregate bilden, die durch Ultraschall im Wasser nicht bis zur Größe der Primärpartikel aufgebrochen werden [201]. Die benutzten NP in dieser Arbeit lagen bis auf TiO_2 nicht pulverförmig sondern als Nanosuspension vor. Die Stabilität der Nanosuspension wurde durch NOM gestört, was zur Agglomeration führte.

Die Toxizität der $\text{SiO}_2\text{-CL-NP}$ konnte gegenüber anderen MO durch Zugabe von FS ebenfalls abgeschwächt werden (Abbildung 4.42). Bei *P. putida* zeigt sich ein ähnlicher Verlauf wie für *L. plantarum* mit der Ausnahme, dass die Konzentrationen an $\text{SiO}_2\text{-CL}$ deutlich höher waren. Bei *E. coli* konnte nur ein geringer toxischer Effekt durch die $\text{SiO}_2\text{-CL-NP}$ erzielt werden, der durch die FS noch weiter abgeschwächt wurde.

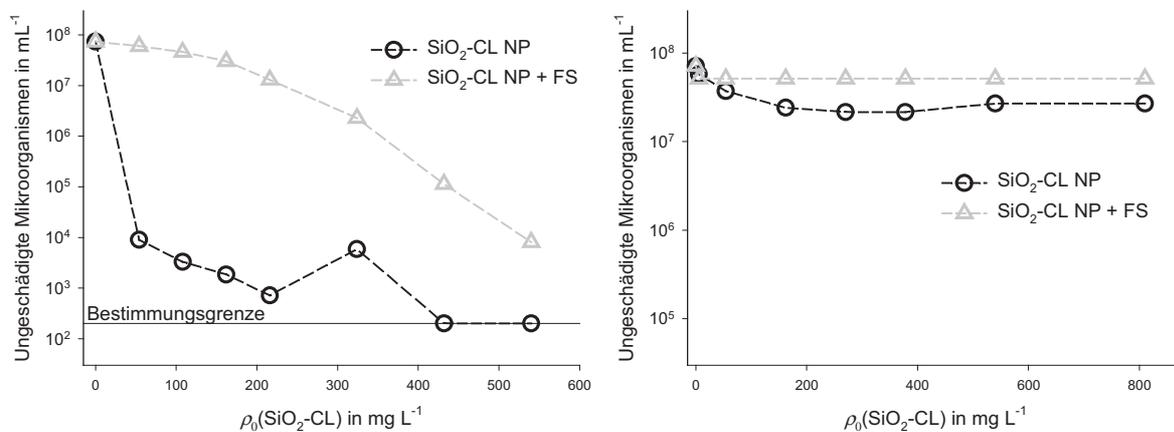


Abbildung 4.42: Vergleich der Toxizität von $\text{SiO}_2\text{-CL}$ an *P. putida* (links) und *E. coli* (rechts) mit und ohne vorheriger Beladung der NP mit FS

Obwohl in anderen Arbeiten die Agglomeratgröße sich bei Zugabe von NOM reduzierte, verringerte sich auch die toxische Wirkung der NP. Im Fall von ummanteltem Ag war keine Abnahme der Biomasse wie ohne NOM Zugabe in einem Biofilm detektierbar [182]. Bei Fe^0 NP konnte die Abtötung von *E. coli* durch Zugabe von NOM vollständig inhibiert werden [200, 202]. Li et al. [202] erklärten die geringere Toxizität ebenfalls über die Veränderung der physico-chemischen Oberfläche. Durch die Adsorption von NOM käme es zu einer sterischen und elektrostatischen Abstoßung zwischen MO und NP. Die Toxizität von CeO_2 gegenüber Algen konnte durch NOM je nach Ionenstärke und pH-Wert um den Faktor 3-100 reduziert werden [52]. Bei mehrzelligen Lebewesen wie Daphnien wurde eine Reduzierung der Toxizität von Quantum Dots durch NOM nachgewiesen. Die Größe der Abschwächung zeigte eine Abhängigkeit von der Hydrophobizität der NOM [203].

Abschließend kann festgestellt werden, dass bei dem derzeitigen Stand des Wissens aus der Literatur und unseren Ergebnissen die toxische Wirkung der NP gegenüber aquatischen MO durch NOM abgeschwächt wird oder im ungünstigsten Fall unbeeinflusst bleibt. Ein möglicher Anstieg der Toxizität durch die Maskierung mit NOM konnte nicht nachgewiesen werden.

4.5 Photokatalytische Desinfektion

4.5.1 Einfluss des pH-Werts

Hypothese: Die Abtötungskinetik ist abhängig vom Abstand zwischen Mikroorganismus und Halbleiter, da die gebildeten radikalen Sauerstoffspezies nur eine begrenzte Lebensdauer haben und daher nicht weit in die Lösung diffundieren können. Der Abstand wird zum großen Teil durch die elektrostatisch anziehenden und abstoßenden Kräfte determiniert.

Die elektrostatischen Kräfte, die zwischen MO und TiO_2 herrschen, können über den pH-Wert beeinflusst werden, da sich auf den NP und MO unterschiedliche Ladungen ausbilden. Aus Abbildung 4.1 und Abbildung 4.7 kann entnommen werden, dass bei einem pH-Wert von 4 in $c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ elektrostatische Anziehungskräfte zwischen *E. coli* und TiO_2 herrschen, wohingegen bei einem pH-Wert von 10 die Kräfte abstoßend sind.

4.5.1.1 Stressfaktor Sonnenlicht und pH-Wert

Um eine Schädigung der MO allein durch den pH-Wert auszuschließen, wurde die Überlebensfähigkeit der MO bei verschiedenen pH-Werten überprüft (Abbildung 4.43). Für *E. coli* konnte in einem pH-Bereich von 3 bis 10, dem die Zellen für 60 min ausgesetzt waren, keine Zellschädigung, die die Proliferation verzögerten, gemessen werden. Buchanan et al. [90] kamen bei *L. monocytogenes* zu ähnlichen Ergebnissen. Dort setzte die Abtötung der MO in einer HCl-Lösung von pH 3 erst nach 4 Stunden ein. Unter- und oberhalb dieses pH-Bereichs zeigt sich eine stark toxische Wirkung. Bei Einstellung des pH-Werts mit schwachen Säuren oder Basen wäre der nicht-toxische pH-Bereich kleiner [204]. *P. putida* zeigte im untersuchten pH-Bereich keine Effekte.

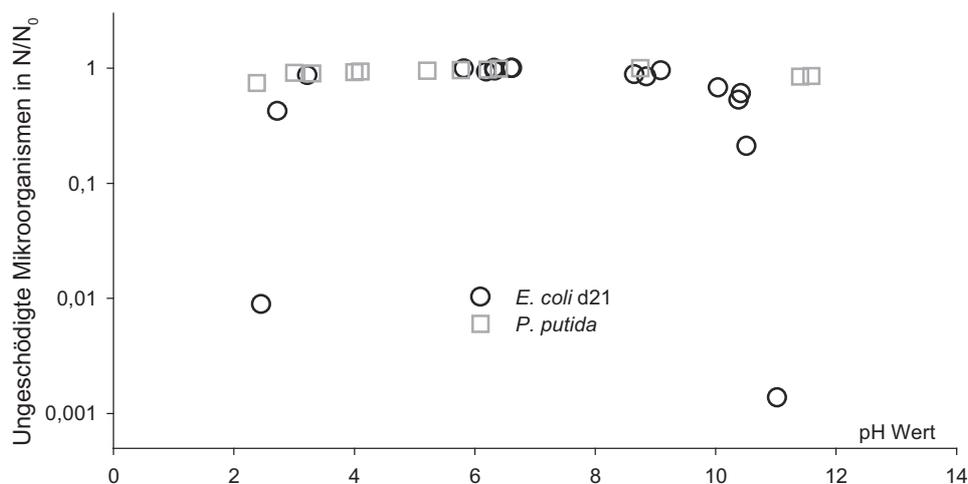


Abbildung 4.43: Einfluss des pH-Werts auf die Überlebensrate der Mikroorganismen

Die Bestrahlung am Sonnenlichtsimulator ohne TiO_2 sollte zeigen ob es synergistische Effekte zwischen den Stressfaktoren Sonnenlicht und pH-Wert gab. Abbildung 4.44 zeigt bei neutralem pH-Wert und einer Bestrahlungszeit von 105 min

eine Reduzierung der wachsenden MO um 3 Zehnerpotenzen für *E. coli*. Die gestressten Zellen bei pH 4 und 10, die ohne Bestrahlung keinen Unterschied zu den Zellen bei pH 7 aufwiesen, wurden schneller geschädigt. Bei einem pH-Wert von 4 kam es in der selben Zeit zu einer Abnahme von über 4 Zehnerpotenzen und bei pH 10 reduzierte sich die Zellzahl um 5 Zehnerpotenzen.

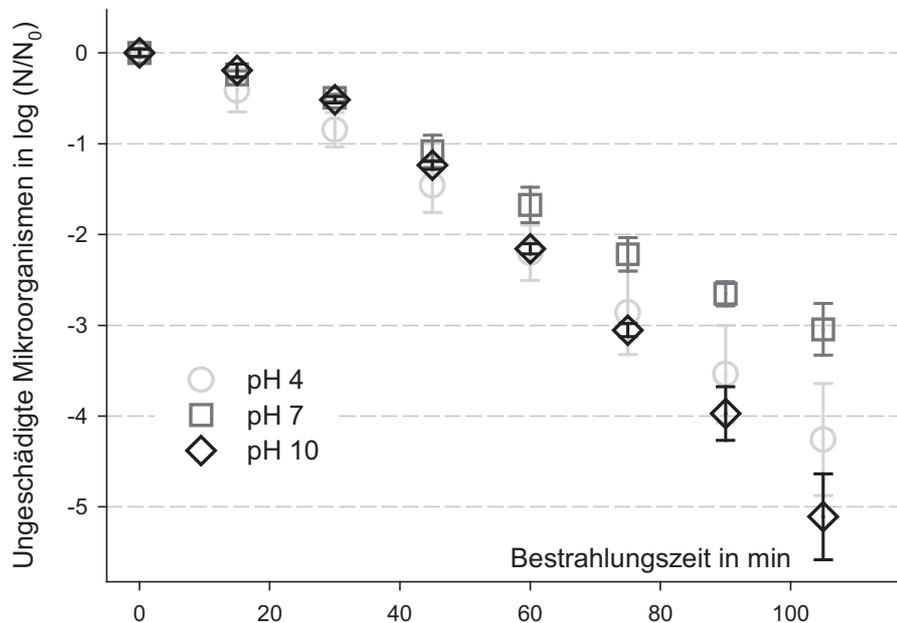


Abbildung 4.44: Schädigung von *E. coli* bei unterschiedlichen pH-Werten durch Bestrahlung mit simuliertem Sonnenlicht

Mit einer Aktinometrie wurde zuerst überprüft, ob ab einer bestimmten TiO_2 -Konzentration kein Photon mehr den Boden des Probengefäßes erreicht und die Desinfektion nur in den oberen Schichten stattfindet. Daher wurde der Photonenstrom im Sonnenlichtsimulator mit einem Kaliumferrioxalat Aktinometer auf Basis der Komplexierung von Fe^{2+} -Ionen mit Phenanthrolin bestimmt. Der eingestrahle Photonenstrom lag bei $10^{-7} \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. In Abbildung 4.45 ist das Verhältnis des Photonenstroms in Abhängigkeit von der TiO_2 -Konzentration dargestellt. Die Transmission nimmt bis zu einer Konzentration von $30 \text{ mg L}^{-1} \text{ TiO}_2$ schnell ab und wird bis zu einer Konzentration von $300 \text{ mg L}^{-1} \text{ TiO}_2$ stetig geringer, aber nie gleich Null. Die Abnahme der Photonenanzahl, die den Aktinometer erreicht, wird zum einen durch die spektrale Absorption des TiO_2 begründet, wobei Elektronen vom Valenzband ins Leitungsband befördert werden. Zum anderen wird ein Großteil der Abschattung durch die Streuung am Partikel erzeugt [205]. Im Innenbild der Abbildung 4.45 wird deutlich, dass das Probengefäß mit Wasser keinen Einfluss auf den Photonenstrom hat. Bei der MO- TiO_2 Suspension mit $N_0 = 7 \cdot 10^7 \text{ Zellen mL}^{-1}$ und $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ gab es eine Reduktion des Photonenstroms um 20%.

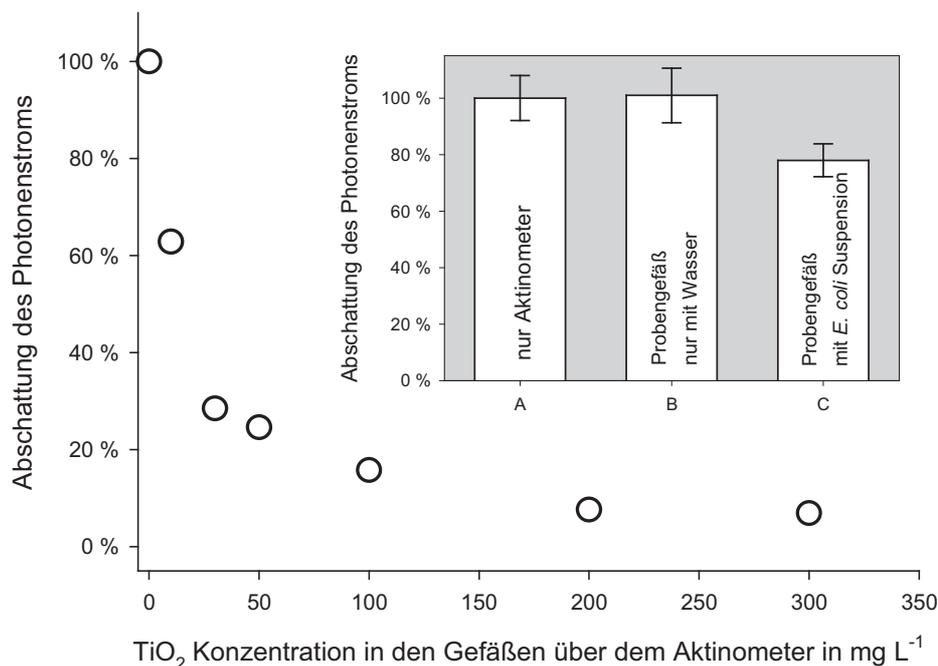


Abbildung 4.45: Abnahme der Transmission in Abhängigkeit von der TiO₂-Konzentration. Das Nebendiagramm zeigt die Abnahme der Photonen durch Wasser und eine MO-Suspension im Vergleich zum Versuch ohne Proben über dem Aktinometer.

4.5.1.2 Desinfektionskinetiken

Die Konzentration an TiO₂ wurde im Bereich von 3 bis 1000 mg L⁻¹ variiert und die Schädigung der Zellen in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit gemessen. Die Konzentration an *E. coli* betrug $7 \cdot 10^7$ Zellen mL⁻¹. Die Desinfektionskinetik wurde mit einem Modell angepasst, welches eine Schulter in der Kinetik beschreiben kann (siehe 2.4.2). Marugán et al. [86] erklärten bei der photo-katalytischen Desinfektion das Auftreten einer Schulter in der Kinetik durch einen kumulativen Schaden bei der Reaktion mit TiO₂. Eine einzelne Zelle muss mit einer bestimmten Anzahl an Radikale reagieren, bevor sie nicht mehr lebensfähig ist.

Das Tailing, welches zum Ende der Desinfektion auftreten kann, wurde nicht berücksichtigt. Bei der photokatalytischen Desinfektion können durch Lyse der Zellen zu späten Zeitpunkten Abbauprodukte entstehen, die in Konkurrenz zu den intakten Zellen um die Radikale stehen. Jedoch bestätigten DOC Messungen, dass die DOC Konzentration nach einer Bestrahlungsdauer von 20 min mit $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ im 0,45 µm Filtrat nur um 0,2 mg L⁻¹ gestiegen ist. Die OD₆₀₀ von 0,1 entspricht bei *E. coli* einer Konzentration von $\rho(\text{DOC}) \approx 12 \text{ mg L}^{-1}$. Daher konnte ein mögliches Tailing bei der Modellauswahl vernachlässigt werden.

Die Kinetik wurde mit einem Modell von Geeraerd et al. [89, 206] angepasst (4.5), welches die Parameter S_l für die Schulterlänge und k_{max} als Geschwindigkeitskonstante beinhaltet. Es wurde ursprünglich für die Modellierung der Hitzesterilisation entwickelt, aber schon erfolgreich für die Anpassung von photokatalytischen Desinfektionskinetiken eingesetzt [207, 208].

$$N(t) = N_0 \cdot e^{-k_{max} \cdot t} \cdot \frac{e^{k_{max} \cdot S_I}}{1 + (e^{k_{max} \cdot S_I} - 1) \cdot e^{-k_{max} \cdot t}} \quad (4.5)$$

Für eine Konzentration von $\rho_0(\text{TiO}_2) = 30 \text{ mg L}^{-1}$ sind die Desinfektionskinetik und Auswertung beispielhaft in Abbildung 4.46 dargestellt. Bei pH 4 ist die Geschwindigkeitskonstante $k_{max} = 0,44$ etwa viermal so groß wie bei pH 7 und ca. neunmal größer als bei pH 10 (Abbildung 4.46). Der Abfall der *E. coli* Konzentration zum Zeitpunkt $t = 0 \text{ min}$ und pH 4 erklärt sich aus der Toxizität der NP bei Dunkelheit, die bei geringen pH-Werten wegen der elektrostatischen Anziehung zwischen TiO_2 und MO größer ist [209, 210].

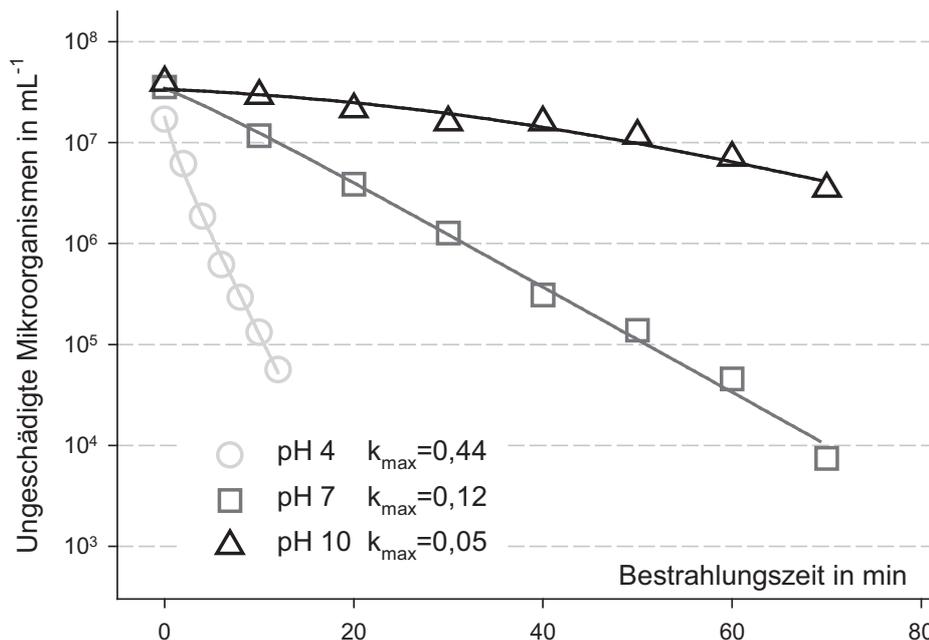


Abbildung 4.46: Schädigung von *E. coli* bei verschiedenen pH-Werten mit fortschreitender Bestrahlungszeit und $\rho_0(\text{TiO}_2) = 30 \text{ mg L}^{-1}$

Die ermittelten Geschwindigkeitskonstanten k_{max} gegenüber *E. coli* sind in Abbildung 4.47 für verschiedene TiO_2 -Konzentrationen dargestellt. Die Abtötungsgeschwindigkeiten k_{max} stiegen stets mit fallendem pH-Wert an. Mit Erhöhung der TiO_2 -Konzentration stieg die k_{max} ebenfalls an. Bei konzentrationsabhängigen Experimenten mit der selben Kultur zeigte sich ein signifikanter Anstieg von k_{max} , aber die Zusammenführung der Ergebnisse aus mehreren Versuchen zeigte eine große Variation der ermittelten Werte. Eine mögliche Ursache könnte im unterschiedlichen Kulturalter der MO vor der Abzentrifugation liegen. Mit zunehmendem Kulturalter sinkt die Wachstumsgeschwindigkeit μ und die Zellen können unempfindlicher gegenüber Desinfektion mit Sonnenlicht sein, wie Berney et al. [211] demonstrierten. Des Weiteren konnte eine Abhängigkeit des Zetapotentials von der Wachstumsphase nachgewiesen werden [212].

Trotz der Abschattungseffekte durch das TiO_2 (siehe Abbildung 4.45) konnte keine optimale TiO_2 -Konzentration gefunden werden, da bei den höchsten eingesetzten TiO_2 -Konzentrationen die höchsten k_{max} Werte ermittelt wurden. Mit höheren TiO_2 -Konzentrationen wurden keine weiteren Experimente durchgeführt, da dies zu

einer hohen Schädigung der Zellen ohne Bestrahlung führte, was in einer verfälschten Geschwindigkeitskonstante k_{max} resultierte.

Zum Vergleich wurden Experimente mit den gleichen TiO_2 -Konzentrationen und *P. putida* durchgeführt (Abbildung 4.48). Die höchsten Geschwindigkeitskonstanten k_{max} wurden ebenfalls bei einem pH-Wert von 4 erreicht, aber insgesamt waren die erzielten Werte für k_{max} kleiner als bei *E. coli*. *P. putida* produziert im Gegensatz zu *E. coli* vermehrt extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) [213]. Diese EPS können die Zelle schützen, da die OH-Radikale unselektiv zuerst die EPS oxidieren.

Die Abtötung mit TiO_2 bei pH 10 verlief insgesamt langsamer als bei pH 7. Dies ist ein Indiz dafür, dass die synergistische Wirkung aus Sonnenlicht und den nicht-physiologischen pH-Werten aus Abbildung 4.44 keinen signifikanten Einfluss auf die Desinfektion mit TiO_2 hat.

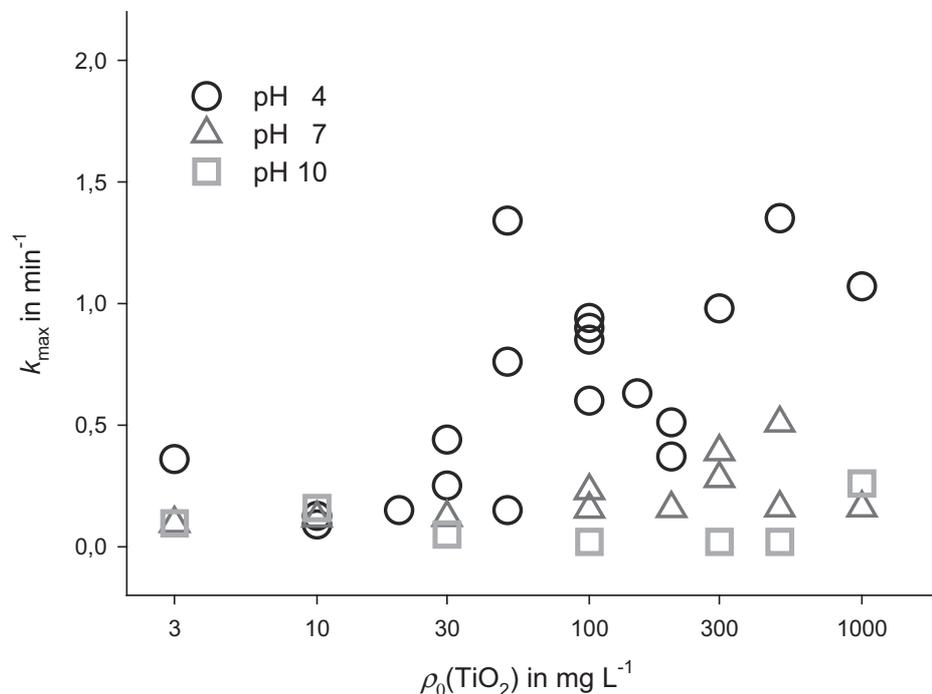


Abbildung 4.47: Geschwindigkeitskonstante k_{max} in Abhängigkeit von der TiO_2 -Konzentration bei der photokatalytischen Desinfektion von *E. coli*

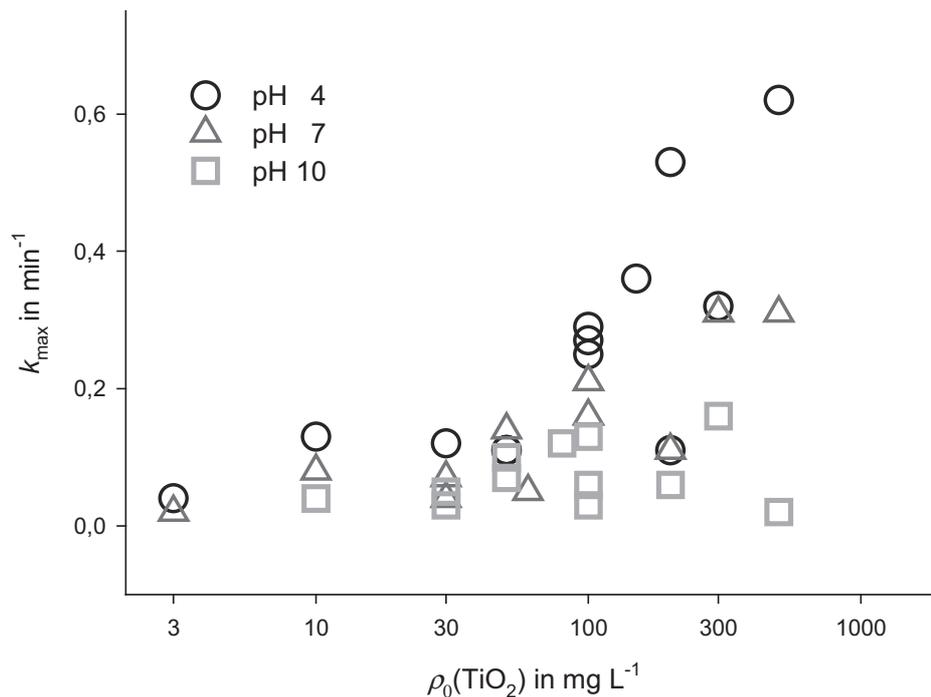


Abbildung 4.48: Geschwindigkeitskonstante k_{max} in Abhängigkeit von der TiO_2 -Konzentration bei der photokatalytischen Desinfektion von *P. putida*

Die Ergebnisse stützen die Hypothese, dass die elektrostatischen Kräfte zwischen Photokatalysator und MO eine bedeutende Rolle spielen. Bei abstoßenden elektrostatischen Kräften müssen die TiO_2 -NP eine Energiebarriere überwinden, um an den MO zu adsorbieren, ansonsten existiert ein räumlicher Abstand zwischen Photokatalysator und MO. In der Literatur finden sich dabei widersprüchliche Ergebnisse über den Einfluss des pH-Werts auf die photokatalytische Desinfektionsleistung. Während Chong et al. [214] mit einer selbstsynthetisierten Titanat-Nanofaser eine schnellere Abtötung bei pH-Werten unterhalb des IEP der Nanofaser messen konnten, fanden Cho et al. [85] und Sontakke et al. [215] keinen signifikanten Unterschied in der Abtötung von *E. coli* mit P25 TiO_2 bzw. selbstsynthetisiertem TiO_2 bei pH-Werten von 5,6 und 8,1 bzw. 4,0, 7,0 und 9,2. Die pH-Werte wurden dabei jedoch jeweils mit einem Phosphatpuffer eingestellt. Die mehrwertigen Anionen können an das TiO_2 adsorbieren und den IEP zu geringeren pH-Werten verschieben, wodurch sich ein negatives Zetapotential am TiO_2 bei pH 4 ausbildet (Abbildung A.10). Damit ergeben sich bei den verschiedenen pH-Werten die selben elektrostatischen Kräfte zwischen TiO_2 und MO, im Gegensatz zu dieser Arbeit bei welcher der pH-Wert ausschließlich mit HCl und NaOH eingestellt wurde. Zur Bestätigung der Unabhängigkeit der Desinfektionsleistung vom pH-Wert wird Watts et al. [216] häufig zitiert, der die Abtötung coliformer Keime bei pH 6,7 und 8 untersuchte. Dabei bildete die Hintergrundmatrix jedoch ein Kläranlagenablauf. Die NOM des Ablaufs kann dabei am TiO_2 adsorbieren und dessen Oberflächenladung beeinflussen (vgl. Abbildung 4.5). Rincon und Pulgarin [217] und Alrousan et al. [218] bestimmten jeweils den Einfluss des pH-Werts auf die Abtötung in demineralisiertem Wasser mit suspendierten bzw. immobilisierten P25 TiO_2 . Obwohl die untersuchten pH-Werte wie in der vorliegenden Arbeit mit HCl und NaOH eingestellt wurden,

konnten beide Gruppen keinen Einfluss messen. Alrousan et al. [218] vermuteten, dass eine gute Durchmischung des Reaktionsvolumens den Einfluss des pH-Werts bei immobilisierten TiO_2 unterdrücken würde. Ein weiterer Faktor könnte die Reihenfolge der Zugaben sein. In den vorliegenden Untersuchungen wurden die pH-Werte vor Zugabe der MO mit HCl und NaOH eingestellt. Bei Einstellung des pH-Werts der gemischten MO- TiO_2 Suspension kann es zu einer Sorption kommen, die durch eine Erhöhung des pH-Werts nicht reversibel ist.

In der diskutierten Literatur wurde aber nur der Einfluss des pH-Werts auf die Abtötung evaluiert und nicht der mögliche Unterschied in der Sorption zwischen MO und TiO_2 . In verschiedenen anderen Veröffentlichungen wurde jedoch die Relevanz des Kontakts zwischen Photokatalysator und Substanz sowohl bei gelösten, organischen Stoffen [219, 220] wie auch bei MO [221] identifiziert. In der Arbeit von Gogniat et al. [221] wurden *E. coli* in einer NaCl/KCl Matrix photokatalytisch schneller abgetötet als in Na_2HPO_4 Lösung. Durch Lichtmikroskopie und Durchflusszytometrie wurde gezeigt, dass in der Phosphat-Matrix keine Sorption zwischen TiO_2 und *E. coli* stattfand. Aus diesem Grund wurde der Unterschied in der Sorption von *E. coli* und TiO_2 bei pH 4 und pH 10 näher untersucht.

Abbildung 4.49 zeigt die REM-Aufnahme adsorbierter TiO_2 -Partikel und Aggregate an einer *E. coli* Zelle mit $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ auf einem Membranfilter. Bei dem pH-Wert von 4 ist signifikant mehr TiO_2 in direktem Kontakt mit der Zelle als bei einem pH-Wert von 10 bei dem die elektrostatischen Kräfte abstoßend wirken. Dort befinden sich die TiO_2 -Aggregate mehrheitlich neben der Zelle auf dem Filter.

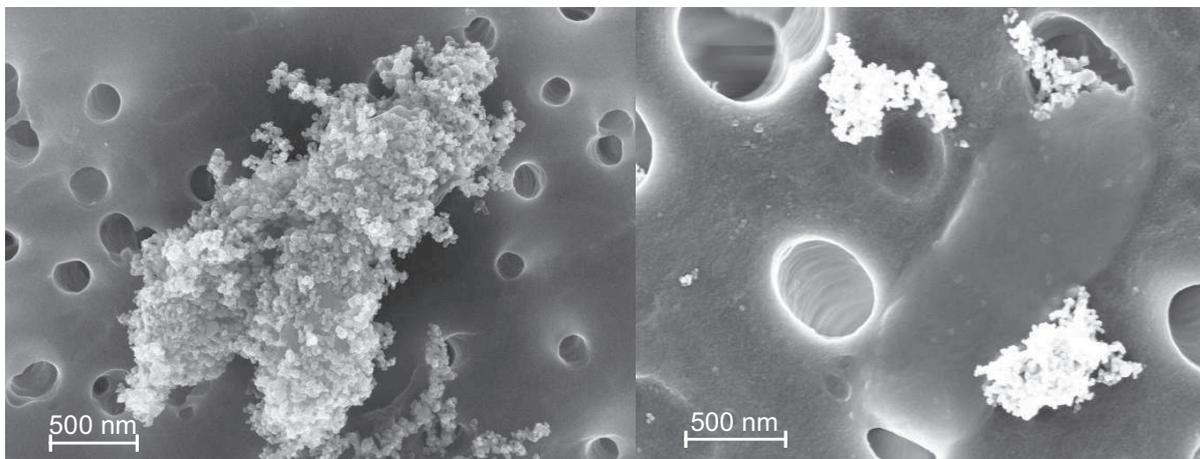


Abbildung 4.49: REM-Aufnahmen von adsorbiertem TiO_2 an *E. coli* bei links) pH 4 und rechts) pH 10. Die *E. coli* - TiO_2 Suspensionen wurden auf einem $0,2 \mu\text{m}$ (links) und $0,4 \mu\text{m}$ (rechts) Polycarbonatfilter abgetrennt

4.5.1.3 Einflussfaktor Ionenstärke und Chloridkonzentration

Zur Verifizierung des Einflusses der elektrostatischen Kräfte wurde die photokatalytische Desinfektion bei einem pH-Wert von 10 und zwei verschiedenen Matrices ($c_1(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$, $c_2(\text{NaCl}) = 150 \text{ mmol L}^{-1}$) untersucht, da bei höherer Ionenstärke, der Debye-Hückel Parameter κ (siehe Gl.(2.14)) größer und das Zetapotential kleiner wird. Die Ionenstärke hat jedoch nicht nur einen Einfluss auf das Zetapotential, sondern auch auf den osmotischen Druck. Sichel et al. [208] zeigten, dass der osmotische Stress bei geringen Salzkonzentration wie c_1 gegenüber der physiologischen Konzentration c_2 die Abtötung in einem Photoreaktor beschleunigte.

Trotz des möglichen gegenläufigen Effekts durch den osmotischen Stress zeigt die Abbildung 4.50, dass mit höherer Ionenstärke die Geschwindigkeitskonstante k_{max} signifikant steigt. Diese Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass die Anziehungskräfte und damit das Zetapotential einen bedeutenden Einfluss auf die Geschwindigkeit der Desinfektion haben.

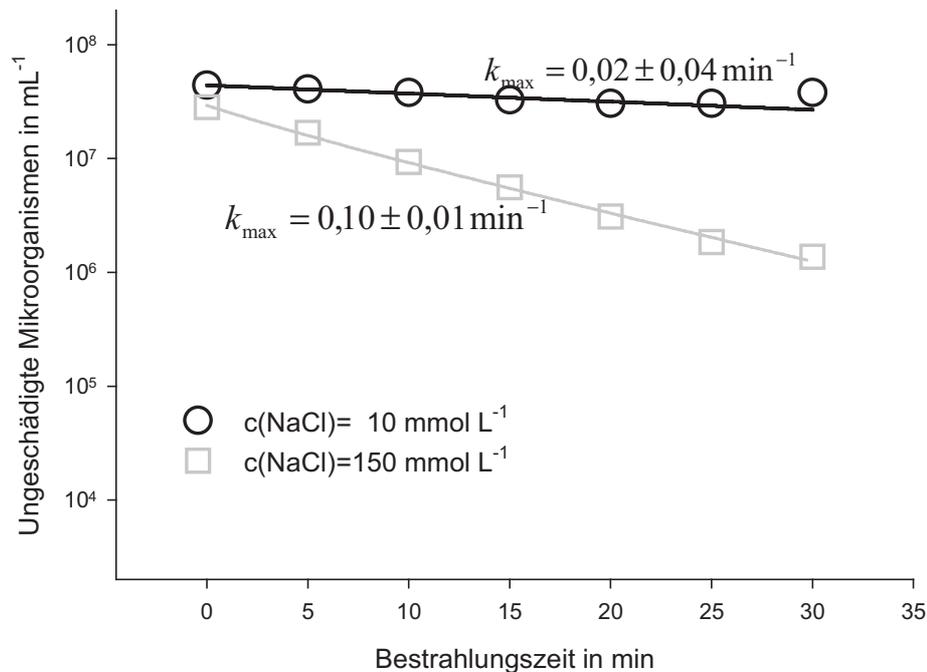


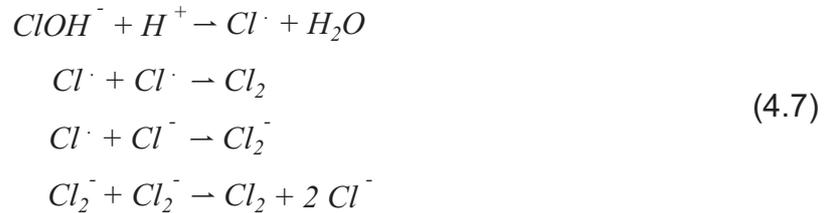
Abbildung 4.50: Schädigung von *E. coli* mit $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ bei pH 10 in NaCl-Lösungen

In Abbildung 4.1 wurde die Änderung des Zetapotentials durch zweiwertige Ca-Ionen gezeigt. Nach der formulierten Hypothese müsste die Desinfektionsleistung in Anwesenheit von Ca-Ionen bei höheren pH-Werten gegenüber der NaCl-Matrix ansteigen. Daher wurde die Abtötung jeweils bei pH 4 und 10 in einer NaCl- und CaCl₂-Matrix mit $c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ getestet (Abbildung 4.51). Bei einem niedrigen pH-Wert, bei dem das Zetapotential des TiO₂ keinen Unterschied zwischen Na⁺ und Ca²⁺ aufwies, war die Geschwindigkeitskonstante k_{max} gleich. Bei höheren pH-Werten sank das Zetapotential bei Na⁺ als Kation ins Negative, was sich in einer signifikant geringeren Konstante k_{max} widerspiegelte. In Anwesenheit von Ca²⁺ blieb das Zetapotential im Positiven und die Hypothese unterstützend resultierte dies in einem höheren k_{max} . Die Korrelation zwischen k_{max} und dem Zetapotential war mit $r = 0,992$ sehr hoch. Der Anstieg der Geschwindigkeitskonstante beim Wechsel der Hintergrundmatrix von NaCl zu CaCl₂ kann nicht nur durch den Anstieg der Ionenstärke von $I(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ zu $I(\text{CaCl}_2) = 30 \text{ mmol L}^{-1}$ erklärt werden.

Nach Rincon und Pulgarin [217] kann die Anwesenheit von Chlorid die photokatalytische Desinfektion im sauren Milieu verstärken, da sich Cl₂ und daraus folgernd die desinfizierende hypochlorige Säure HOCl bilden kann. Die OH-Radikale können mit den Chlorid folgende Gleichgewichtsreaktion eingehen [222]:



Die Rückreaktion ($k_{back} = 6,1 \cdot 10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) verläuft geringfügig schneller als die Hinreaktion ($k_{hin} = 4,3 \cdot 10^9 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) und daher liegt das Gleichgewicht mehr auf der linken Seite. In Anwesenheit von H^+ Ionen reagiert das ClOH^- nach folgenden Reaktionsmechanismen mit einer größeren Geschwindigkeitskonstante weiter ($k = 2,1 \cdot 10^{10} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) [223]:



Um zu verifizieren, dass die desinfizierende Wirkung bei pH 4 auf den elektrostatischen Anziehungskräften und nicht auf der Bildung der hypochlorigen Säure basiert, ist in Abbildung 4.51 ein Vergleich mit der Geschwindigkeitskonstanten bei pH 4 in RW dargestellt. Zwischen beiden Geschwindigkeitskonstanten bei pH 4 gibt es keinen signifikanten Unterschied, daher ist eine mögliche Desinfektionswirkung von gebildeter HOCl vernachlässigbar.

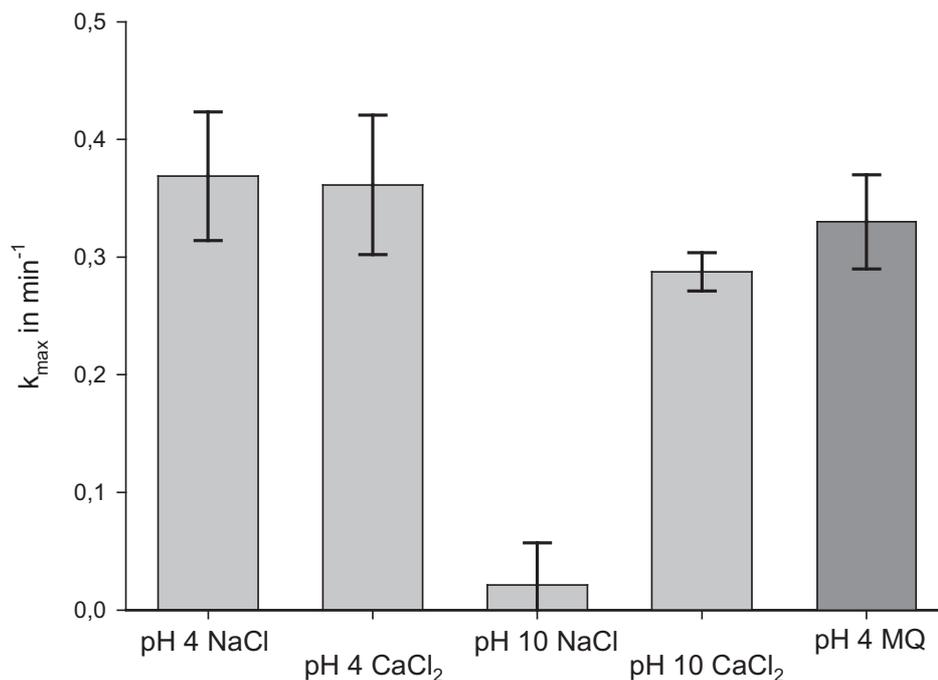


Abbildung 4.51: k_{max} bei $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Wertigkeit des Kations im Vergleich zu RW

4.5.1.4 Interpretation durch DLVO und XDLVO Theorie

Der pH-Wert und daraus folgernd das Zetapotential und die elektrostatischen Kräfte haben einen Einfluss auf die Abtötungsgeschwindigkeit bei der photokatalytischen Desinfektion. Da aber bei der Anziehung von Partikel und MO nicht nur die elektrostatischen Kräfte von Bedeutung sind, sondern in der DLVO- bzw. XDLVO-Theorie zusätzlich die Lifshitz/van der Waals Kräfte bzw. Lifshitz/van der Waals- und polare Kraftanteile die Interaktion bestimmen, wurden für die Interaktion in der NaCl-

Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) bei den pH-Werten 4, 7 und 10 die DLVO und XDLVO Profile nach Gleichung (2.19) und (2.24) berechnet. Das Oberflächenpotential Ψ wurde aus dem Zetapotential ζ nach Gleichung (2.18) berechnet.

Zur Bestimmung der Energien W^{LW} und W^{AB} wurden die Kontaktwinkel auf den abfiltrierten MO und TiO_2 -Partikeln gemessen und mit den Gleichungen (2.27) und (2.28) die einzelnen Anteile an den Oberflächenenergien berechnet (Tabelle 4.10).

Tabelle 4.10: Berechnete Oberflächen- und Adhäsionsenergien von *E. coli* und TiO_2 . Die Hamaker Konstante A_{132} steht für das System *E. coli*/Wasser/ TiO_2 .

	γ_L^+	γ_L^-	γ_L^{AB}	γ_L^{LW}	γ_L^{tot}	ΔW^{LW}	ΔW^{AB}	A_{132}
	in mJ m^{-2}							in 10^{-20} J
<i>E. coli</i>	20,7	38,9	56,7	7,9	64,6	-4,9	4,0	0,46
TiO_2	25,6	52,1	73,0	4,6	77,6			

In Abbildung 4.52 sind die Verläufe für die DLVO-Plots (A) und XDLVO-Plots (B) dargestellt. Die *E. coli* Zelle wurde als sphärisch mit einem Radius von $1 \mu\text{m}$ angenommen. Beim TiO_2 wurde die Polydispersität der Probe außer Acht gelassen und ebenfalls vereinfachend das TiO_2 -Agglomerat als sphärisch mit einem Radius von 200 nm eingesetzt, was dem Radius der Agglomerate auf den REM-Bildern entsprach. Nach der DLVO Theorie existierten bei allen 3 pH-Werten primäre Minima, jedoch besteht bei pH 10 eine Energiebarriere, wodurch die TiO_2 Agglomerate sich der Zelle nicht weiter nähern können. In den beiden anderen Fällen kann das TiO_2 sich der Zelle nähern bis es zum Kontakt kommt. Ausgehend von der Annäherung der Partikel nach der DLVO-Theorie kann die langsamere Desinfektion bei pH 10 erklärt werden, aber bei pH 4 und 7 sollten im Gegensatz zu den Ergebnissen die gleiche Abtötungsgeschwindigkeit vorliegen, da beide Verläufe keine Energiebarriere aufweisen.

Bei der XDLVO Theorie wird zusätzlich ein polarer Kraftanteil zu den DLVO-Kräften addiert. In diesem Fall handelt es sich um einen starken abstoßenden Energienanteil, der bei Abständen $< 4 \text{ nm}$ die Interaktion bestimmt. Nach [115] ist die polare Interaktionsenergie W^{AB} in wässrigen Phasen die dominante Form. Daher existiert kein primäres Minimum in den drei Fällen. Bei pH 10 steigt die Energiebarriere ab einem Abstand von 10 nm zwischen dem TiO_2 und der Zelle an. Bei pH 7 gibt es ein geringfügiges sekundäres Minimum bei 10 nm und die Abstoßung der beiden Körper steigt ab einem Abstand von 4 nm an. Bei pH 4 gibt es ein sekundäres Minimum in der Größenordnung von $20 k_B T$ in einem Abstand von 2 nm . Im Gegensatz zur DLVO lassen sich mit der XDLVO Theorie die unterschiedlichen Desinfektionsgeschwindigkeiten qualitativ erklären, da das TiO_2 Agglomerat sich der Zelle unterschiedlich weit annähern kann.

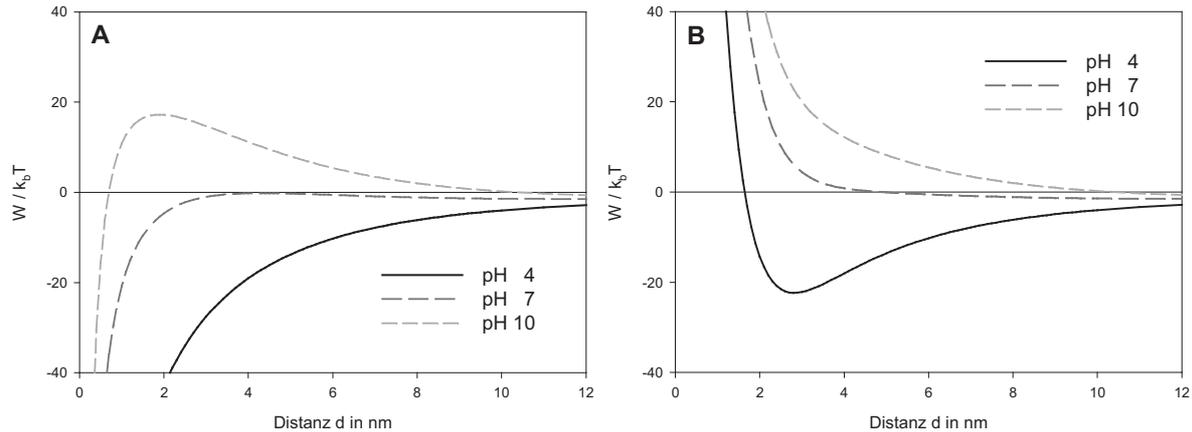


Abbildung 4.52: Interaktionsprofil von *E. coli* mit TiO_2 in NaCl-Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$)

Ein Problem bei der Nutzung der DLVO und der XDLVO Theorie ist jedoch die Bestimmung des Zetapotentials. In fast allen Fällen, wenn in der Literatur überhaupt angegeben, wird die Smoluchowski Näherung für die Bestimmung des Zetapotentials aus der elektrophoretischen Mobilität genutzt. Diese Näherung setzt zum einen voraus, dass I) $kr \gg 1$ und II) die Oberfläche fest, glatt und Ionen undurchlässig ist. Bei NP kann es bei verdünnten Lösungen zu Grenzbereichen der ersten Annahme kommen [224]. MO hingegen verstoßen gegen die zweite Voraussetzung auf Grund ihrer Zellwandstruktur und der Ionendurchlässigkeit [158, 225].

Bei geringen Ionenstärken kann das Zetapotential von MO bei der Berechnung durch Smoluchowski stark unterschätzt werden, da das elektrische Leitvermögen der Zellen nicht mit in Betracht gezogen wird [226].

4.5.1.5 Zusammenfassung und Schlussfolgerung

In verschiedenen Versuchen konnte gezeigt werden, dass die Desinfektionsleistung bei niedrigen pH-Werten größer ist als im basischen Bereich. Der Stress durch die nicht-physiologischen pH-Werte und durch den osmotischen Druck spielte dabei eine untergeordnete Rolle. Die Bildung von hypochloriger Säure durch Reaktionen der Chlorid-Ionen mit den OH-Radikalen hatte nur einen geringen Anteil an der Desinfektionsleistung. Bei einem pH-Wert von 4 bedeckten mehr TiO_2 -Partikel die Zellen als bei pH 10. Die schnellere Abtötung kann qualitativ durch die XDLVO-Theorie erklärt werden unter der Annahme, dass die schädigende Spezies die erzeugten OH-Radikale sind, die auf Grund ihrer kurzen Lebenszeit nur eine geringe Reichweite besitzen.

Die Ansäuerung von Wasser zur Desinfektion ist jedoch technisch nicht durchführbar. Zur praktischen Anwendung sollte TiO_2 mit einem IEP oberhalb des pH-Werts der zu desinfizierenden Suspension eingesetzt werden. Dies würde zu einer höheren Interaktion zwischen Photokatalysator und MO führen. Eine Verschiebung des IEP und ein damit einhergehender besserer Abbau von anionischen Tensiden konnte bereits durch eine Beschichtung mit MgO auf TiO_2 nachgewiesen werden [227-229].

4.5.2 Einfluss der NOM

Hypothese: Die Anwesenheit von NOM verlangsamt die Desinfektionskinetik bei der Photokatalyse, da sich Partikel und MO in Anwesenheit von NOM elektrostatisch abstoßen. Mit Erhöhung des Zetapotentials bei fortlaufender Bestrahlung durch Abbau der NOM wird die Desinfektionsgeschwindigkeit wieder größer.

In Kapitel 4.2 konnte gezeigt werden, dass NOM in Abhängigkeit vom pH-Wert am TiO_2 adsorbiert und dabei das Zetapotential ins Negative verschiebt. Bei einem pH-Wert von 4 war die Beladung und die Änderung des Zetapotentials größer als bei pH 7. Die Ergebnisse in Kapitel 4.5.1 weisen darauf hin, dass bei einer elektrostatischen Anziehung zwischen *E. coli* und TiO_2 die Abtötung schneller verläuft als bei einer elektrostatischen Abstoßung, wie sie zwischen einem mit Fulvinsäure beladenden TiO_2 Partikel und einer *E. coli* Zelle zu erwarten wäre. Daher wurde die photokatalytische Desinfektion mit verschiedenen DOC Konzentrationen bei pH 4 durchgeführt. Bei diesem pH-Wert wird eine größere Änderung der Desinfektionskinetik erwartet als bei einem pH-Wert von 7.

4.5.2.1 Desinfektionskinetiken mit und ohne NOM

In Abbildung 4.53 sind *E. coli* Zellen mit TiO_2 in einer NOM Lösung mit $\rho_0(\text{DOC}) = 4 \text{ mg L}^{-1}$ bei einem pH-Wert von 4 dargestellt. An der Zelloberfläche sind weniger TiO_2 -Agglomerate zu finden verglichen mit einer DOC freien Suspension wie in Abbildung 4.49 dargestellt. Es wird davon ausgegangen, dass die geringere Adhäsion an TiO_2 auf der elektrostatischen Abstoßung zwischen Zelle und beladenem TiO_2 basiert.

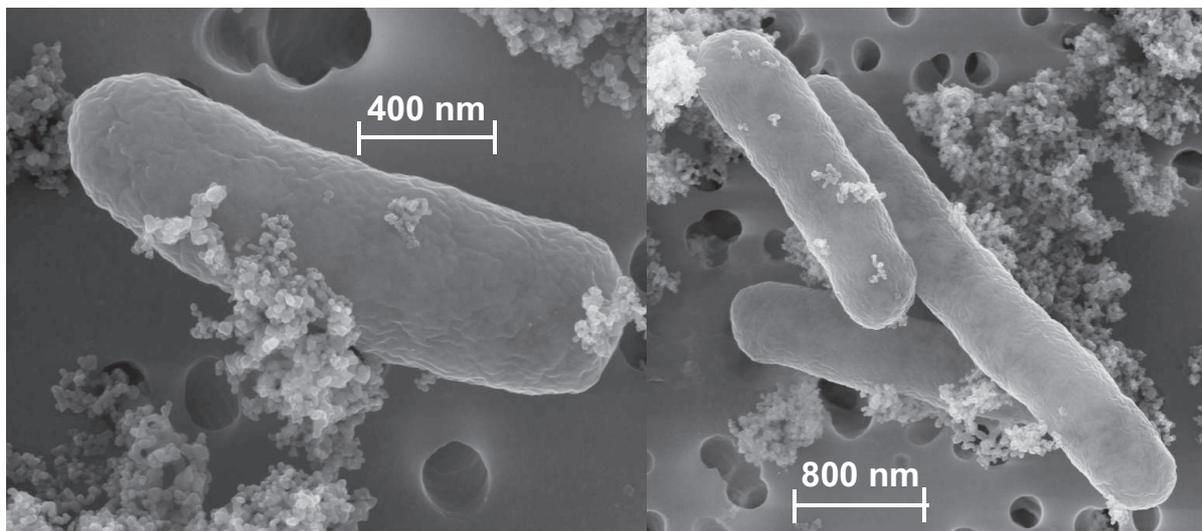


Abbildung 4.53: REM Aufnahme von *E. coli* Zellen mit NOM ummanteltem TiO_2

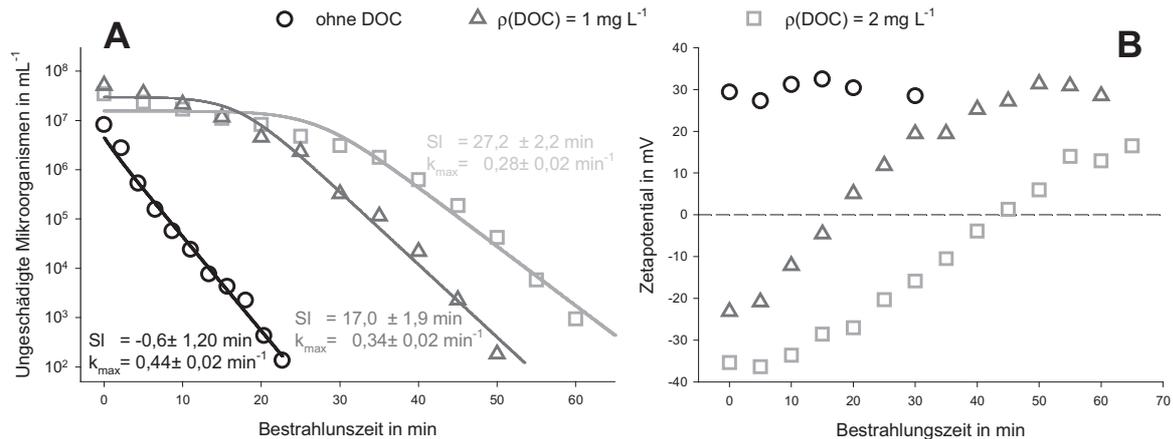


Abbildung 4.54: A) Photokatalytische Desinfektionskinetik für unterschiedliche DOC Konzentrationen bei pH 4 und $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$. B) Zeitliche Veränderung des Zetapotentials von TiO_2 für unterschiedliche DOC-Konzentration bei pH 4 in Abwesenheit von *E. coli*.

In Abbildung 4.54 (A) ist die Desinfektionskinetik und der Verlauf des Zetapotentials bei verschiedenen DOC Konzentrationen dargestellt. Mit der Zugabe von DOC steigt die Zeit, bis 3 log-Stufen der MO geschädigt sind, signifikant an. Die längere Bestrahlungszeit begründet sich zum einen in einem sinkenden k_{max} mit steigender DOC Konzentration. Zusätzlich verlängert sich die Phase, in der die MO nur eine geringe Schädigung erfahren.

Die Verlängerung der Bestrahlungszeit durch Zugabe von NOM zur Abtötung eines bestimmten Prozentsatzes an MO haben auch andere Gruppen schon gezeigt [86, 217, 218]. Beim photokatalytischen Abbau von Phamarka in Anwesenheit von NOM wurde die Inhibierung auf eine Konkurrenz um die Adsorptionsstellen auf der TiO_2 Oberfläche zurückgeführt. NOM kann demnach die Desinfektionskinetik durch verschiedene Faktoren negativ beeinflussen, wie z. B. durch Absorption von UV-Licht, als Konkurrent um die gebildeten Radikale gegenüber den MO und durch Adsorption und Belegung der NOM an der aktiven Oberfläche der TiO_2 Partikel [217, 218, 230].

In dieser Arbeit wurde zusätzlich die Änderung des Zetapotentials im Laufe der Bestrahlung als möglicher Faktor zur Beeinflussung der photokatalytischen Desinfektion betrachtet. Abbildung 4.54 (B) zeigt den Verlauf des Zetapotentials von TiO_2 in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit bei einem pH-Wert von 4. Ohne DOC blieb das Zetapotential während der Bestrahlung konstant. In Gegenwart von NOM lag das Zetapotential der TiO_2 Partikel zum Zeitpunkt $t = 0 \text{ min}$ im Negativen, hervorgerufen durch die Adsorption von NOM. Im Laufe der Bestrahlung wurde das Zetapotential positiver bis es bei $\rho_0(\text{DOC}) = 1 \text{ mg L}^{-1}$ nach 45 min den ursprünglichen Wert des unbeladenen TiO_2 erreichte. Liu et al. [231] konnten für HS die gleiche Verschiebung ins Positive bei pH 4 und 7 messen. Dies deutet darauf hin, dass entweder die gesamte NOM auf der Oberfläche des TiO_2 mineralisiert und entfernt wurde oder die NOM soweit oxidiert wurde, dass sich die physico-chemischen Eigenschaften verändert haben und eine Desorption von der Partikeloberfläche auf Grund geringerer Wechselwirkungen erfolgte.

Im Vergleich der Abbildung 4.54 (A) und (B) zeigt sich eine Korrelation des Zetapotentials mit der Desinfektionskinetik. Ohne DOC Zugabe blieb das

Zetapotential konstant und die Desinfektionskinetik zeigte keine Schulter, sondern die Desinfektion folgte einer Reaktion 1. Ordnung. Durch Addition von FS verschob sich das Zetapotential ins Negative und es bildete sich eine Schulter in der Desinfektionskinetik mit unterschiedlicher Länge aus. Innerhalb dieser Schulter war die Schädigung der MO minimal. Die Länge schien abhängig vom Zetapotential zu sein. Zur Verdeutlichung dieser Korrelation wurden weitere Desinfektions- und Zetapotentialmessungen mit unterschiedlichen DOC Quellen und Konzentrationen durchgeführt. Als zusätzliche DOC Quelle wurde ein Sickerwasser aus einer Sickergrube in Pforzheim genutzt. Die vollständige Charakterisierung des Sickerwassers befindet sich in Tabelle A.4. Für die Versuche wurde es mit einer NaCl Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) auf die jeweilige DOC Konzentration verdünnt. Für jede DOC-Quelle und Konzentration wurde für die Desinfektion zwischen jedem Messwertpaar die Geschwindigkeitskonstante k nach einer Reaktion 1. Ordnung (Gleichung (4.8)) berechnet und gegen den Mittelwert des gemessenen Wertepaars des Zetapotentials aufgetragen.

$$k = \frac{\ln(N_i) - \ln(N_{i+1})}{t_{i+1} - t_i} \quad (4.8)$$

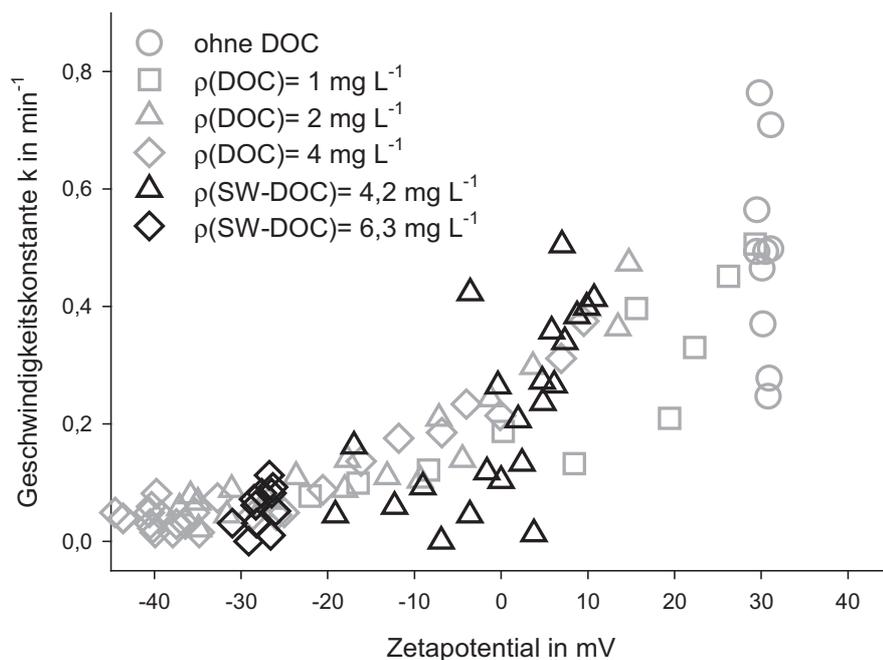


Abbildung 4.55: Geschwindigkeitskonstante k für die Schädigung von *E. coli* bei unterschiedlichen DOC Konzentrationen in Abhängigkeit vom Zetapotential bei pH 4

Da sich sowohl mit der Bestrahlungszeit als auch mit der DOC Konzentration das Zetapotential der TiO_2 Partikel änderte, normiert die Auftragung in Abbildung 4.55 die gewonnenen Wertepaare. Bei hohen DOC Konzentrationen lagen die meisten Werte im unteren linken Sektor, während die Werte ohne DOC auf Grund ihres konstanten Zetapotentials annähernd parallel zur Ordinate lagen.

Die Auswertung zeigte bei der FS als DOC-Quelle mit $r = 0,888$ eine starke Korrelation zwischen der Geschwindigkeitskonstanten k und dem Zetapotential. Für das Sickerwasser zeigte k bei Zetapotentialen kleiner Null einen annähernd konstanten Wert. Bei höheren Zetapotentialen steigt die Geschwindigkeitskonstante

steiler an. Das leicht unterschiedliche Verhalten der DOC-Quellen kann in der unterschiedlichen Zusammensetzung und damit verbunden der veränderten Hydrophobizität begründet liegen [232].

Zur Verifizierung der erhaltenen Korrelation wurde ein weiteres Test Design erstellt. Die Proben mit TiO_2 und DOC wurden für eine bestimmte Zeit vorbestrahlt, bevor die MO hinzugegeben und die Desinfektion durchgeführt wurde. Durch die Vorbestrahlung verschiebt sich das Zetapotential von TiO_2 wieder stetig ins Positive. Bei Zugabe der MO zu späteren Zeitpunkten wurden gemäß den Ergebnissen aus Abbildung 4.54 und 4.55 ein höheres k_{\max} und eine kürzere SI erwartet.

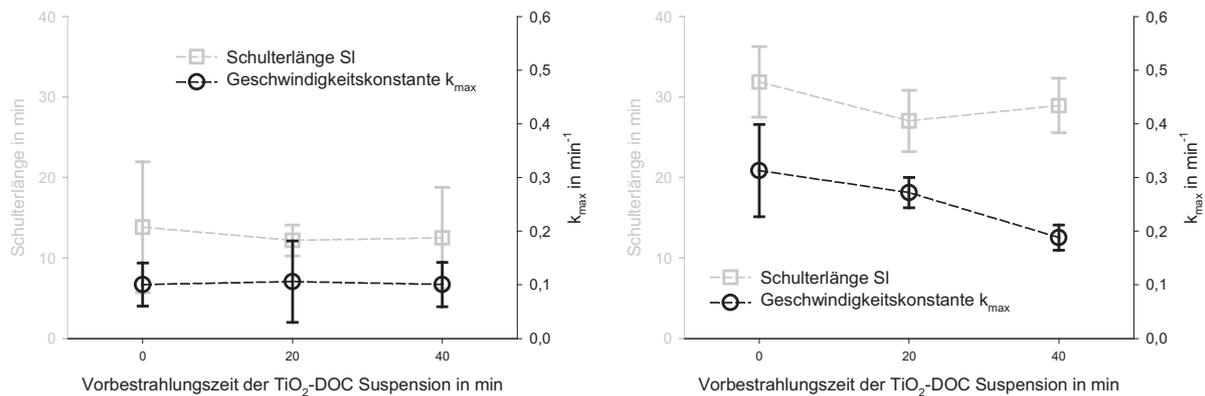


Abbildung 4.56: Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstante k_{\max} und der Schulterlänge SI der Desinfektionskinetik von *E. coli* von der Vorbestrahlungszeit der TiO_2/NOM Suspension bei Fulvinsäure $\rho(\text{DOC}) = 2 \text{ mg L}^{-1}$ (links) und Sickerwasser $\rho(\text{DOC}) = 4,2 \text{ mg L}^{-1}$ (rechts)

In Abbildung 4.56 sind die Ergebnisse aus den Bestrahlungsexperimenten bei unterschiedlichen Zugabezeiten der MO dargestellt. Trotz einer 40 minütigen Vorbestrahlung und Abbau der NOM konnte kein signifikanter Unterschied bei der Schädigung von *E. coli* festgestellt werden. Weder k_{\max} noch SI entwickelten sich wie erwartet, dabei wiesen die TiO_2 Partikel nach Bestrahlung ohne MO bereits ein positives Zetapotential auf. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der gefundenen Korrelation aus Abbildung 4.55 zwischen dem Zetapotential und der Geschwindigkeitskonstante kein direkter kausaler Zusammenhang zu Grunde liegt, sondern weitere Faktoren eine Rolle spielen. Aus diesem Grund wurde der Einfluss der NOMs auf die UV-Absorption und die Bildung von OH-Radikalen untersucht.

4.5.2.2 Extinktionsmessung und OH-Radikal Generierung

Die Auswertung der Extinktionsmessung erfolgte durch Berechnung der Fläche innerhalb des Wellenlängenbereich (290 – 380 nm), in dem TiO_2 im Sonnenlichtsimulator aktiviert wird. Abbildung 4.57 zeigt den Vergleich zu der TiO_2 -Referenzprobe ohne zusätzliche NOM. Aus den Ergebnissen ist ersichtlich, dass der Photonenfluss durch die Zugabe von NOM nur geringfügig abnimmt. Dabei ist es nicht entscheidend, ob der DOC räumlich getrennt ist oder mit dem TiO_2 interagieren kann. Die signifikante Reduzierung der Transmission erfolgte durch die Streuung des Lichts am TiO_2 . Die Absorption von kurzwelligem Licht durch NOM sollte daher keinen Einfluss auf die Desinfektion haben.

Die in Abbildung 4.57 gezeigte Bildung von Radikalen wurde mit Methanol als Radikalfänger nachgewiesen, welches sowohl durch freie wie Oberflächengebundene OH-Radikale als auch mit Defektelektronen auf der TiO_2 Oberfläche zu

Formaldehyd oxidiert werden kann. Als Vergleichsprobe diente die TiO_2 Suspension ohne DOC. Bei einer räumlichen Trennung von TiO_2 und DOC durch ein Deckglas konnte keine signifikante Reduzierung der Radikalbildung gemessen werden. Ohne die räumliche Trennung mit $\rho_0(\text{DOC}) = 2 \text{ mg L}^{-1}$ und $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ im selben Probengefäß, wobei die NOM an das TiO_2 adsorbierten, lag die Radikalbildung jedoch nur noch bei etwa 33%. Daher konnte der Adsorption ein bedeutenderer Effekt bei der Reduzierung der Radikalgenerierung und daraus folgernd eine Reduzierung der Desinfektionsleistung als der UV-Absorption zugeschrieben werden. Eine mögliche Erklärung ist die Reaktion des adsorbierten NOM mit den gebundenen OH-Radikalen oder den Defektelektronen h^+ , wodurch weniger Moleküle der *E. coli* Zelle oxidiert werden.

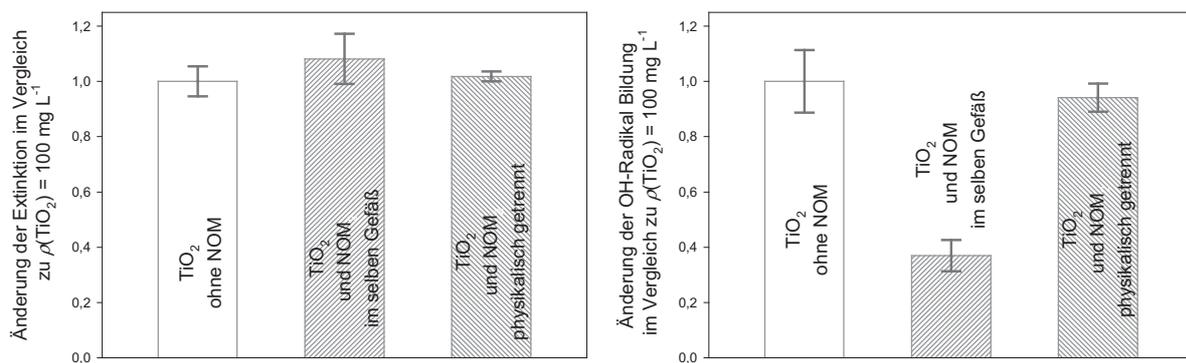


Abbildung 4.57: Änderung der Extinktion bzw. der OH-Radikal Generierung in Abhängigkeit von der Anwesenheit der NOM

In weiteren Versuchen wurde ermittelt wie sich die Transmission und die Radikalbildung mit der Bestrahlungszeit veränderten. Abbildung 4.58 (A) zeigt die zeitliche Veränderung der Extinktion ($\lambda = 600 \text{ nm}$) während der Bestrahlung mit einer UV-LED. Die Bestrahlungszeiten am UV/VIS-Photometer mit der UV-LED waren kürzer als am Sonnenlichtsimulator, da die LED einen höheren Energieeintrag im relevanten Wellenlängenbereich hatte. Bei λ_{600} absorbiert TiO_2 keine Photonen und die gemessene Extinktion basiert auf der Streuung der Suspension. Mit fortwährender Bestrahlung erhöhte sich die Streuung um einen konstanten Faktor. Durch Zetapotentialmessungen wurde festgestellt, dass die Streuung ab einem Wert von $\zeta \approx -30 \text{ mV}$ anstieg. Mit steigender DOC-Konzentration verschob sich der Anstieg zu längeren Bestrahlungszeiten. Ein Anstieg der Streuung deutete auf einen Anstieg der Agglomeratgröße hin (siehe 2.11.2). Die Agglomeration der Suspension war konsistent mit den Zetapotentialmessungen, da Suspensionen bei absoluten Werten von $\zeta < 30 \text{ mV}$ instabil werden können. Auf Grund der hohen Polydispersität der TiO_2 Agglomerate konnten keine reproduzierbaren Daten bei einer Größenmessung mittels DLS bestimmt werden

Im nächsten Schritt wurde überprüft wie sich die Radikalbildung am Sonnenlichtsimulator im Laufe der Bestrahlung bei $\rho_0(\text{DOC}) = 2 \text{ mg L}^{-1}$ und $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ veränderten. Der notwendige Bestrahlungszeitraum für die Messung der Radikalbildung lag bei 6 min. Auf Grund dieses kurzen Zeitraums verglichen mit dem gesamten Bestrahlungszeitraum zur Desinfektion war es möglich, verschiedene Momentaufnahmen des Systems zu erhalten. Die angegebenen Zeiten in Abbildung 4.58 stellten den Beginn der Messung für die Radikalbildung dar.

Nach einer Startphase stieg mit fortwährender Bestrahlungsdauer die OH-Radikalbildung an. Die anfängliche Verzögerung des Anstiegs kann durch zwei Phänomene erklärt werden. Zum Einen kann die nicht oxidierte NOM aus der freien Lösung an die Stellen der TiO_2 -Oberfläche adsorbieren, die durch eine Oxidation der vorher adsorbierten NOM frei geworden sind. Zum Anderen setzte in dieser Phase die Agglomeration und damit eine Reduzierung der Oberfläche ein. Zetapotentialmessungen zeigten, dass bei $t = 10$ min das Zetapotential bei $\zeta = -24$ mV lag. Eine Erklärung für die gleichbleibende Lag-Phase bei der Desinfektion konnte dadurch jedoch nicht gefunden werden.

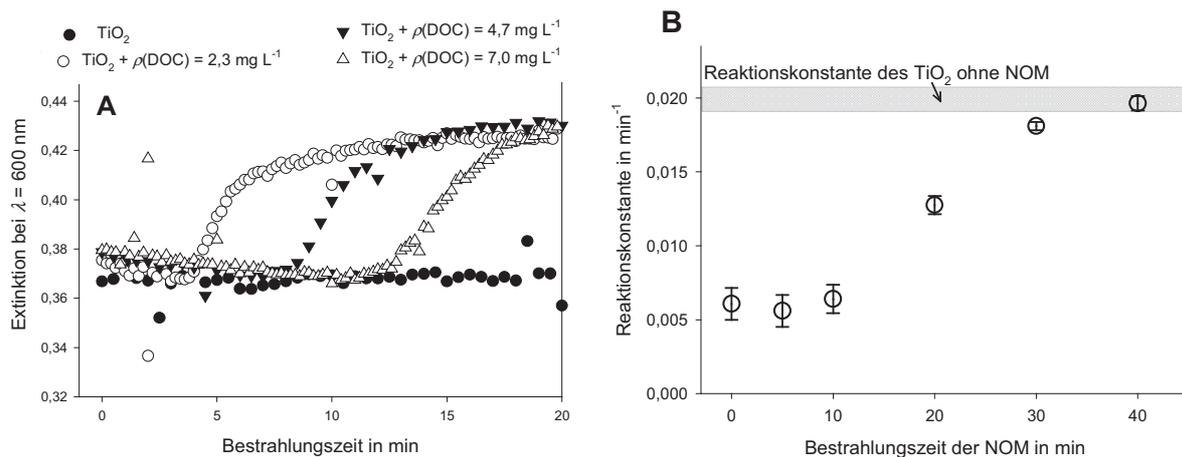


Abbildung 4.58: A) Zeitliche Änderung der Extinktion von TiO_2 während einer Bestrahlung von unterschiedlichen DOC-Konzentrationen. B) Zeitlicher Verlauf der Reaktionskonstante für die OH-Radikalbildung bei $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$, $\rho_0(\text{DOC}) = 2 \text{ mg L}^{-1}$ und pH 4

4.5.2.3 Unterscheidung zwischen adsorbierter und freier NOM

Zur weiteren Aufklärung wurde untersucht, welchen Anteil die adsorbierte NOM im Vergleich zur gelösten NOM hat (Abbildung 4.59). Dafür wurde der freie NOM Anteil nach der Sorption mittels Zentrifugation abgetrennt und die beladenen TiO_2 -Partikel in einer NaCl-Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) mit einem pH-Wert von 4 resuspendiert. Der Anteil an NOM, der sich in der freien Lösung auf Grund des neuen Gleichgewichts einstellte, war unterhalb der Bestimmungsgrenze der DOC-Messungen. Nach dreimaliger Resuspension waren die gemessenen Zetapotentialwerte für das TiO_2 übereinstimmend mit den Werten des TiO_2 bei Vorlage von freier und adsorbierter NOM. Daher wurde davon ausgegangen, dass keine Desorption nach der Abtrennung der freien NOM erfolgte. Ein möglicher Verlust an TiO_2 durch den Zentrifugationsschritt wurde über eine Trübungsmessung ausgeschlossen.

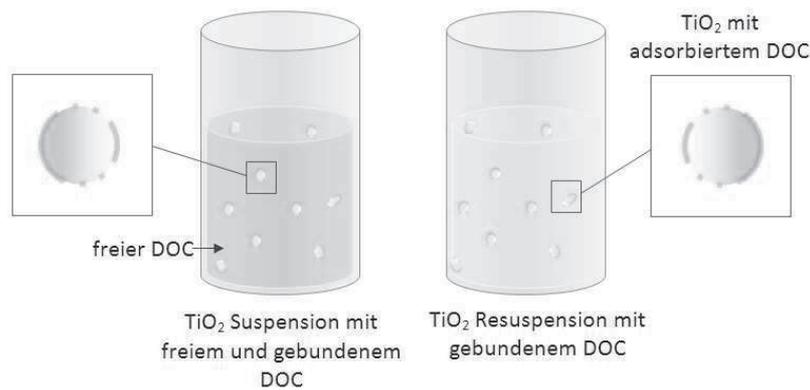


Abbildung 4.59: Schematische Darstellung der Proben mit freiem und gebundenem NOM und einer Resuspension mit gebundenem NOM an TiO_2

Der entscheidende Faktor bei der Verzögerung der Desinfektionskinetiken war die adsorbierte FS (Abbildung 4.60). Die Schulterlänge S_l und damit die anfängliche Lag-Phase wurde maßgeblich durch die adsorbierte FS verlängert, während der Einfluss, der in der Suspension vorliegenden FS nur gering war.

Im Laufe der Bestrahlung wird die adsorbierter NOM oxidiert. Dabei können sich die physico-chemischen Eigenschaften der NOM ändern. Kim et al. [233] konnten bei adsorbierten NOM auf TiO_2 zeigen, dass sich der polare Anteil ΔW^{AB} und die gesamte Interaktionsenergie ΔW^{tot} zwischen der NOM auf Grund einer Oxidation bei der Ozonung verändert hat. Auf Grund dieser veränderten Eigenschaften könnte die *E. coli* Zelle wieder in näheren Kontakt mit den TiO_2 -Partikeln kommen, was die Desinfektionsleistung erhöhen würde. Die NOM in der freien Suspension müsste dadurch nicht komplett oxidiert und mineralisiert werden.

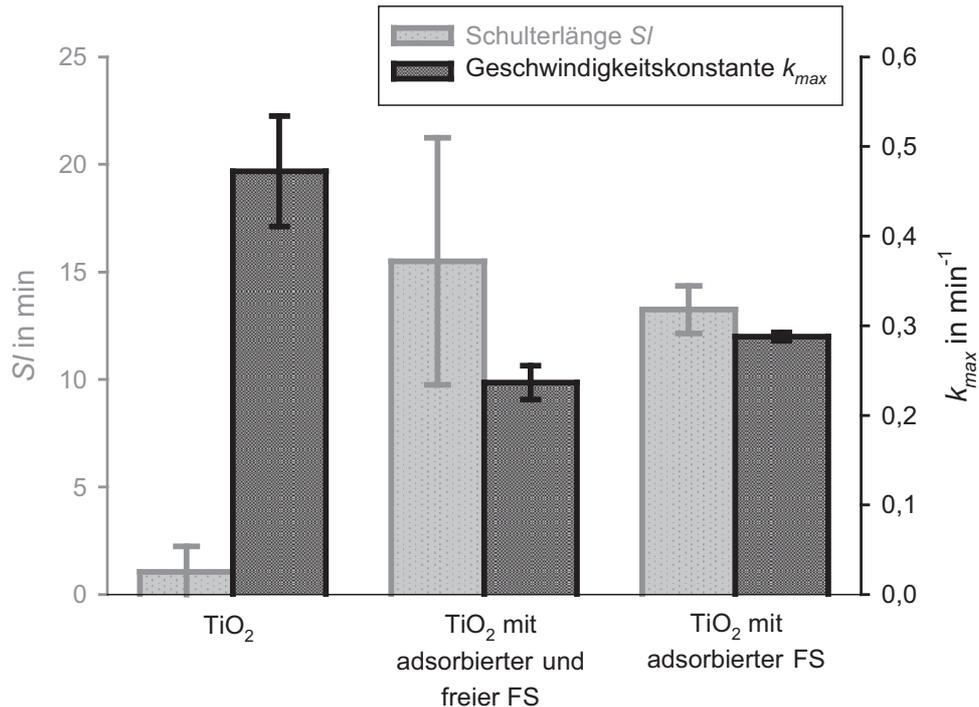


Abbildung 4.60: Vergleich der Schulterlängen $S/$ und der Geschwindigkeitskonstanten k_{max} zwischen freier und gebundener NOM bei pH 4 mit $\rho(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ und $\rho(\text{DOC}) = 2 \text{ mg L}^{-1}$

4.5.2.4 Zusammenfassung

Bei Anwesenheit von NOM in einer TiO₂-MO-Suspension wurde die photokatalytische Desinfektion inhibiert. Durch REM-Aufnahmen konnte belegt werden, dass weniger TiO₂ an die *E. coli* Zelle sorbierte. Eine Erklärung war die Veränderung des Zetapotential des TiO₂ hin zu einer elektrostatischen Abstoßung zwischen Zelle und Photokatalysator.

Weitere Experimente bewiesen, dass die UV-Absorption der NOM in der freien Suspension keinen inhibierenden Effekt hatte. Die sorbierte Fraktion jedoch verringerte die Generierung von OH-Radikalen. Ein Faktor, der selten untersucht wurde, war die Agglomeration des TiO₂ während der Bestrahlung, wie Streuungsmessungen zeigten. Die einsetzende Agglomeration konnte der Erhöhung der Radikalbildung entgegenwirken. Eine Trennung zwischen freier und adsorbierter NOM belegte, dass der größte Einflussfaktor auf die Desinfektionskinetik die anfänglich adsorbierte NOM war.

Für den technischen Einsatz zur Desinfektion sollten daher Kenntnisse über die Konzentration der NOM und das Adsorptionsverhalten gegenüber TiO₂ bekannt sein.

5 Zusammenfassung

Nanotechnologie wird als eine Schlüsseltechnologie des 21. Jahrhunderts diskutiert. Sie beschäftigt sich mit Herstellung, Charakterisierung und Anwendung von Nanopartikeln (NP). NP sind definiert als Partikel mit einer Größe < 100 nm in mindestens einer Dimension.

Der Einsatz von NP in der Wasserbehandlung kann zur nachhaltigen Ressourcenschonung beitragen. Die Anwendung von TiO_2 zur umweltfreundlichen Reinigung und Desinfektion von Abwässern ist in diesem Blickfeld eine vielversprechende Einsatzmöglichkeit. Bei Bestrahlung von TiO_2 mit Sonnenlicht entstehen in der wässrigen Phase Radikale, die oxidierend und desinfizierend wirken. In dieser Arbeit wurden verschiedene Faktoren wie pH-Wert und der Gehalt an natürlicher organischer Materie (NOM) bezüglich ihres Einflusses auf die photokatalytische Desinfektion untersucht.

Neben den nützlichen Aspekten von NP steht aber auch eine mögliche Gefährdung von Mensch und Umwelt, die aus dem steigenden Eintrag anthropogener NP in Wasser, Böden und Luft resultiert. Ein umfassender Gewässerschutz als wichtigste Lebensgrundlage und sein Verständnis sind daher unverzichtbar. Zum jetzigen Zeitpunkt ist das Verhalten und die Wechselwirkungen der NP gegenüber der untersten Stufe des Ökosystems, den Mikroorganismen (MO), noch unzureichend geklärt. Die möglichen Interaktionen zwischen NP und MO wurden beispielhaft an vier verschiedenen MO (*Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida* und *Lactobacillus plantarum*) und NP (SiO_2 , FeOx , Ag und TiO_2) eruiert. Beim SiO_2 wurden zwei verschiedene Oberflächenmodifikationen verwendet. Die $\text{SiO}_2\text{-CL}^{\text{TM}}$ -NP hatten zusätzlich eine Aluminatbeschichtung im Gegensatz zu den herkömmlichen $\text{SiO}_2\text{-SM}^{\text{TM}}$ -NP. Aus den erhaltenen Ergebnissen der verschiedenen NP-MO Kombinationen wurde auf die Gültigkeit einiger Hypothesen zum Wirkmechanismus geschlossen, die in den einzelnen Abschnitten untersucht wurden (Abbildung 5.1).

(A) Physico-chemische Eigenschaften

Im ersten Abschnitt der Arbeit wurden als Grundlage die physico-chemischen Eigenschaften der NP und MO untersucht, um die auftretenden Wechselwirkungen (DLVO- und XDLVO-Theorie) zwischen NP und MO analysieren zu können. Dafür wurden die hydrodynamische Größe, das Zetapotential und die Kontaktwinkel bestimmt.

Die MO hatten in der NaCl -Lösung ein negatives Zetapotential im neutralen pH-Bereich. Der isoelektrische Punkt (IEP) wurde in Bereichen $\text{pH} < 4$ erreicht. In der CaCl_2 -Lösung reduzierte sich der Betrag des Zetapotentials, blieb jedoch negativ.

Der IEP der untersuchten NP war je nach Art und Hintergrundsalzlösung unterschiedlich. Ag und $\text{SiO}_2\text{-SM}$ -NP zeigten ein negatives Zetapotential bei $\text{pH} 7$ in NaCl -Lösung, wohingegen die $\text{SiO}_2\text{-CL}$ -NP positiv geladen waren. TiO_2 und FeOx hatten ihren IEP ungefähr bei $\text{pH} 7$ und waren deswegen im Neutralen ungeladen. In der CaCl_2 -Lösung verschob sich der IEP bei FeOx , TiO_2 und $\text{SiO}_2\text{-CL}$ in höhere Bereiche, wodurch das Zetapotential bei $\text{pH} 7$ für FeOx und TiO_2 positiv war.

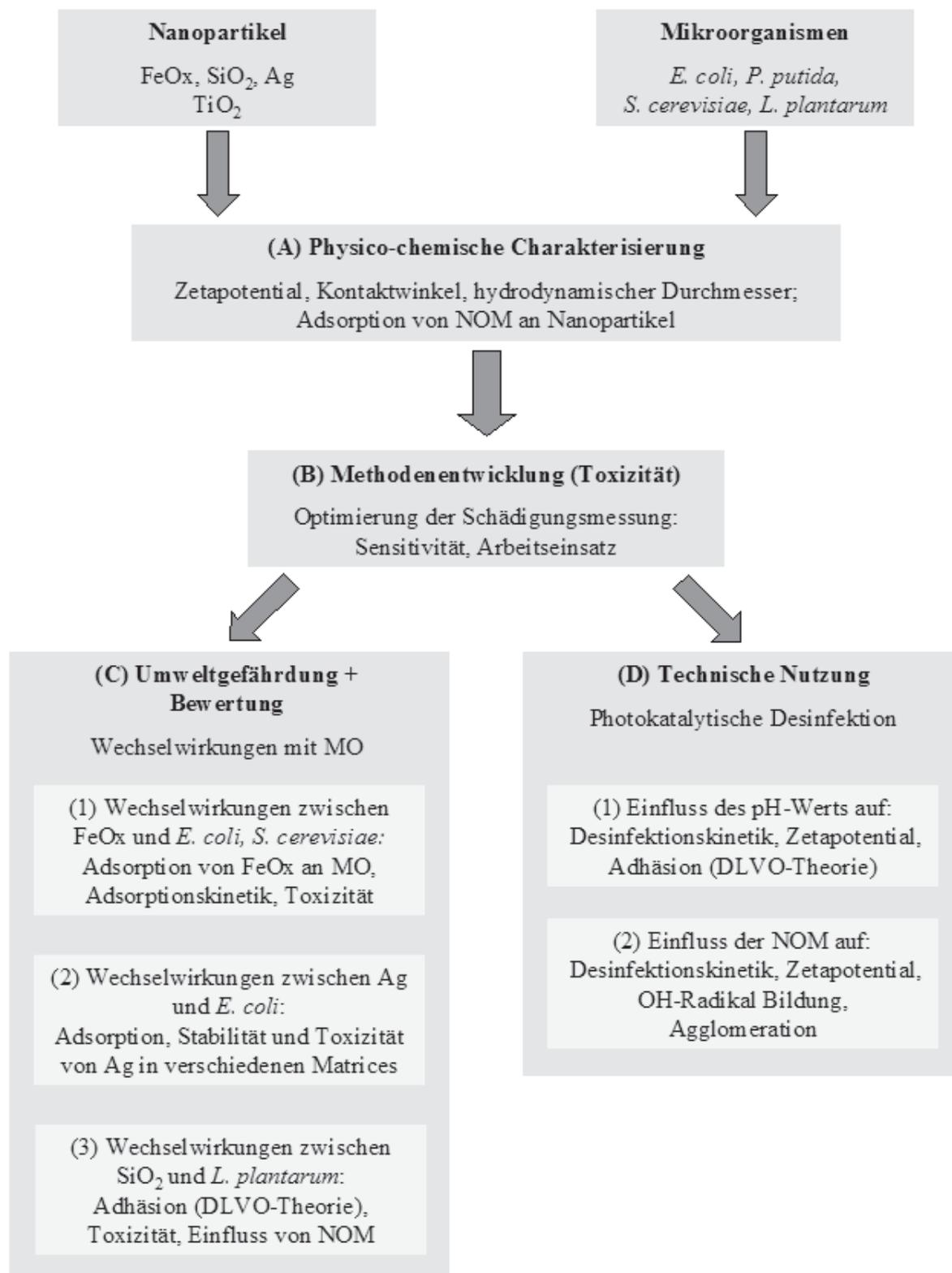


Abbildung 5.1: Schematische Darstellung der einzelnen Kapitel der Arbeit

Die hydrodynamische Größenmessung wurde bei pH-Werten durchgeführt, die nicht am IEP lagen, sondern bei pH-Werten die einen absoluten hohen Wert beim Zetapotential aufwiesen. Dies führte zu einer kleinstmöglichen Agglomeratgröße. Ag wies die kleinste Größenverteilung auf mit einem mittleren hydrodynamischen

Durchmesser von 3 nm. Die Größenmessungen von FeOx, SiO₂-SM und SiO₂-CL zeigten einen ähnlichen Verlauf mit Verteilungen von 10 bis 100 nm. TiO₂ bildete größere Aggregate im µm-Bereich aus, deren Verteilung nicht reproduzierbar messbar war.

Die Adsorption von Fulvinsäure (FS) als Modellsubstanz der in Gewässern ubiquitären NOM an die NP zeigte eine Abhängigkeit vom pH-Wert. Die Adsorptionsisothermen konnten nach Langmuir angepasst werden. Bei pH-Werten an denen die NP ein positives Zetapotential aufwiesen, war die maximale Beladung q_{max} signifikant größer als bei pH-Werten oberhalb des IEP an denen die NP ein negatives Zetapotential aufwiesen. Mit steigender Beladung an FS sank das Zetapotential der NP und näherte sich einem negativen Grenzwert an.

(B) Methodenentwicklung (Toxizität)

Im weiteren Verlauf wurde eine Methode zur Bestimmung der Toxizität der NP gegenüber den MO entwickelt. MO wurden mit NP in einer definierten Matrix in Kontakt gebracht und nach Ende einer Inkubationszeit wurde ein Aliquot in eine Mikrotiterplatte mit Nährmedium gegeben. Das anschließende Wachstum wurde kontinuierlich durch Messung der optischen Dichte (OD) verfolgt.

Die Anpassung des sigmoidalen Wachstums mit der Gompertzfunktion zeigte, dass die NP keinen Einfluss auf die maximale Wachstumsgeschwindigkeit μ_{max} der MO hatten. Zusätzlich war die notwendige Konzentration an NP, um einen schädigenden Effekt hervorzurufen, im Medium um mindestens den Faktor 100 größer als in einer definierten Lösung ($c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$). Auf Grund dieser beiden Einflussfaktoren konnte eine Bestimmung der Schädigung vereinfacht auf Basis von Detektionszeiten, bei der die Kultur eine bestimmte OD erreicht hatte, durchgeführt werden.

Dieses Messprinzip arbeitet analog zu dem Auswertungsverfahren der quantitativen PCR und bewertet die MO, die ungeschädigt nach einer Adaptionsphase mit der Proliferation beginnen. Mit dem neuen Verfahren wurde ein höherer Durchsatz an Messungen als bei dem traditionellen Verfahren der Kolonie bildenden Einheiten erzielt. Eine Validierung gegenüber dem ‚Most Probable Number‘ Verfahren zeigte eine höhere Sensitivität.

Die Toxizität der NP gegenüber den einzelnen MO wurde mit dem entwickelten Verfahren in einer Lösung ($c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) gemessen. Die Ag-NP waren die Spezies mit der höchsten Toxizität. Bei allen vier MO trat eine Schädigung ab $\rho_0(\text{Ag}) = 0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ein. Bei SiO₂ waren die positiv geladenen SiO₂-CL-NP signifikant toxischer als die negativ geladenen SiO₂-SM-NP. Die Toxizität der SiO₂-CL-NP war gegenüber *L. plantarum* am stärksten. Bei FeOx war die Schädigung gegenüber *E. coli* am ausgeprägtesten. Die verschiedenen Wechselwirkungen der unterschiedlichen NP-MO Kombinationen wurden in den weiteren Abschnitten vertieft.

(C1) Interaktion von FeOx mit *E. coli* und *S. cerevisiae*

Hypothese: *Die Adsorption von NP an MO wird durch das Zetapotential beeinflusst, da die elektrostatischen Kräfte maßgeblichen Einfluss auf die Adsorption haben. Für*

einige toxische Effekte ist die Adhäsion der NP an der Zelloberfläche erforderlich. Die Toxizität sollte daher mit steigender Sorption korrelieren.

Die Interaktion zwischen FeOx und *E. coli* und *S. cerevisiae* wurde bei pH 4 und 10 mit ($c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) untersucht. Bei den pH-Werten lagen die NP mit einem mittleren hydrodynamischen Durchmesser von 60 nm vor und agglomerierten über 48 h nicht weiter. Die MO hatten bei beiden pH-Werten ein negatives Zetapotential und wurden wegen der nicht-physiologischen pH-Werte nur minimal geschädigt. Die FeOx-NP waren bei pH 4 positiv und bei pH 10 negativ geladen.

Die Adsorption der FeOx-NP an MO wurde bestimmt und die Isothermen nach Langmuir angepasst. Die maximale Beladung q_{max} betrug für *E. coli* $0,41 \text{ pg Zelle}^{-1}$ und für *S. cerevisiae* $4,27 \text{ pg Zelle}^{-1}$ bei pH 4. Sie war signifikant höher als bei pH 10. Die Werte für den Affinitätsparameter k_L waren konsistent mit den Ergebnissen der Zetapotentialmessung (höhere Werte für k_L bei größerer elektrostatischen Anziehung).

Für *E. coli* zeigte die Toxizität in Abhängigkeit von $\rho(\text{FeOx})$ den gleichen Kurvenverlauf wie bei der Adsorptionsisotherme. Die Toxizität änderte sich bei pH 4 ab der Konzentration, bei der die maximale Beladung erreicht wurde, nicht weiter. Bei pH 10 konnte weder eine Beladung noch ein schädigender Effekt gemessen werden. Toxizitätsmessungen bei verschiedenen pH-Werten zeigten den Zusammenhang mit dem Zetapotential. Die FeOx-NP waren nur im pH-Bereich von 3,5 bis 5,5 gegenüber *E. coli* toxisch. In diesem Bereich existierten elektrostatische Anziehungskräfte zwischen MO und NP. Bei *S. cerevisiae* war der toxische Effekt geringer.

Messungen der Größenverteilung der NP des nicht sorbierten Anteils zeigten eine größenabhängige Sorption. An die *E. coli* Oberfläche adsorbierten vornehmlich die kleineren FeOx Agglomerate. Bei *S. cerevisiae* war diese Eigenschaft weniger ausgeprägt. Eine Sorptionskinetik und TEM-Messungen unterstützten den Verdacht, dass *S. cerevisiae* die NP über einen Zeitraum von 48 h aufnehmen konnte.

(C2) Interaktion von Ag mit MO

Hypothese: Die Toxizität der Ag-NP ist abhängig von der Konzentration an gelösten Ag^+ -Ionen oder dem direkten Kontakt zwischen NP und MO. Bei Erniedrigung der Ag^+ -Konzentration durch Cystein und Chlorid sollte die Toxizität sinken und nur von der Menge an adsorbierten Ag-NP am MO abhängig sein.

Eine Untersuchung der synthetisierten Ag-NP ergab, dass sich die NP im Gleichgewicht mit gelösten Ag^+ -Ionen im Verhältnis 8:1 befanden. Toxizitätsmessungen an *E. coli* zeigten, dass die gelösten Ionen vornehmlich für die Schädigung verantwortlich waren.

Die Toxizität der NP wurde daher in verschiedenen Matrices untersucht und mit der Toxizität von AgNO_3 verglichen. Die Matrices enthielten in gleicher Konzentration entweder Nitrat-Ionen (keine spezifische Interaktion mit Ag^+), Chlorid-Ionen (Ausfällung von AgCl) oder Cystein (Bildung von Thiolkomplexen). Die Stabilität der NP in den jeweiligen Matrices wurde mit Hilfe der UV/VIS Spektroskopie verifiziert. In Langzeitmessungen über 10 h waren die NP in der Nitrat-Lösung am stabilsten. In der Chlorid- und Cystein-Lösung nahm der Absorptionswert um 50% ab, was auf eine Präzipitation oder Auflösung der NP hindeutete.

Die Toxizität der NP war in der Nitrat-Lösung am größten ($EC_{50} = 0,28 \text{ mg L}^{-1}$), während die NP in der Cystein-Lösung keinen Effekt hatten. In der Chlorid-Lösung war der $EC_{50} = 1,3 \text{ mg L}^{-1}$. Die gleiche Konzentration an AgNO_3 anstatt der Ag-NP schädigte die MO stärker. In der Nitrat-Lösung war der EC_{50} -Wert für AgNO_3 um den Faktor neun geringer ($EC_{50} = 0,033 \text{ mg L}^{-1}$). Dies entsprach etwa dem Anteil der Ag^+ -Ionen in Ag-NP Suspensionen. In der Chlorid-Lösung waren die gebildeten AgCl Kolloide gleichfalls toxisch ($EC_{50} = 0,40 \text{ mg L}^{-1}$).

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Oxidation des Ag^0 der NP und das Lösen der entstehenden Ag^+ notwendig ist, um eine Schädigung der MO hervorzurufen. Im Fall von organisch gebundenen Schwefel (Cystein) wurde das Ag^+ unverzüglich komplexiert. In Anwesenheit von Cl^- bildete sich AgCl. In Kontakt mit der Zelle oxidiert und denaturiert das Ag^+ aus dem AgCl schwefelhaltige Proteine in der Zellwand. Die Wirkungsweise und Toxizität von AgCl und Ag^+ basiert offensichtlich auf demselben Effekt. Die höhere Toxizität der Ag^+ Ionen erklärt sich durch die stärkere Sorption an die Zelloberfläche.

(C3) Interaktion von SiO_2 mit MO

Hypothese: Unter der Prämisse, dass die Toxizität mit der Adhäsion der NP an der Zelloberfläche korreliert, ist nicht nur die Konzentration der NP, sondern auch die Anfangskonzentration der MO entscheidend, da sie die Adsorbensoberfläche stellen. Die Toxizität von SiO_2 -CL sollte durch Adsorption von NOM und den damit einhergehenden Änderungen der Oberflächeneigenschaften abnehmen.

Die positiv geladenen SiO_2 -CL-NP zeigten eine deutlich höhere toxische Wirkung gegenüber *L. plantarum* als die negativ geladenen SiO_2 -SM-NP. REM Aufnahmen zeigten die komplette Ummantelung der Zelle mit SiO_2 -CL-NP im Gegensatz zu SiO_2 -SM-NP, bei denen wenige NP auf der Zelloberfläche adsorbierten.

Auf Basis der DLVO- und XDLVO-Theorie wurde überprüft, ob die unterschiedliche Adhäsion durch die physico-chemischen Eigenschaften der *L. plantarum* Zellen und der SiO_2 NP vorhersagbar ist. Nach der DLVO-Theorie sollte es bei beiden NP zur Adhäsion kommen, da die anziehenden Lifshitz/van der Waals (LW) Kräfte die elektrostatischen (EL) Wechselwirkungen dominieren. Bei Einbeziehung der polaren Wechselwirkungen mit dem Medium, die auf Grund der Säure-Base-Eigenschaften (AB) von Lewis-Säuren existieren, wird dem Kräftegleichgewicht ein weiterer Term hinzugefügt (XDLVO-Theorie). Die anziehenden (SiO_2 -CL) und abstoßenden (SiO_2 -SM) Kräfte konnten damit berechnet werden.

Die Toxizität der SiO_2 -CL-NP war nicht abhängig von der Massenkonzentration $\rho(\text{SiO}_2\text{-CL})$, sondern vom Verhältnis der Anzahl der NP zur Anzahl der MO. Berechnungen zeigten, dass die NP schädigend wirken, wenn ca. ein Drittel der Zelloberfläche durch NP bedeckt war.

Bei Zugabe von NOM zur MO-NP Suspension wurde die Toxizität der NP herabgesetzt. Die Einbeziehung der erstellten Adsorptionsisotherme von NOM an SiO_2 -CL-NP zeigte, dass die NP bis zu einer Beladung von $q = 35 \text{ } \mu\text{g mg}^{-1}$ toxisch wirkten. Dies entsprach ca. 25% der maximalen Beladung. Bei höheren Beladungen agglomerierten entweder die NP oder die elektrostatischen Kräfte zwischen MO und NP waren abstoßend. Der toxizitätsmindernde Effekt existierte unterschiedlich stark gegenüber allen MO.

(D1) Einfluss des pH-Werts auf die photokatalytische Desinfektion

Hypothese: *Die Abtötungskinetik ist abhängig vom Abstand zwischen Mikroorganismus und Halbleiter, da die gebildeten radikalen Sauerstoffspezies nur eine begrenzte Lebensdauer haben und nicht weit in die Lösung diffundieren. Der Abstand wird zum großen Teil durch die elektrostatisch anziehenden und abstoßenden Kräfte determiniert.*

Die photokatalytische Desinfektion von *E. coli* und *P. putida* wurde bei verschiedenen TiO_2 -Konzentrationen und pH-Werten in einer NaCl-Lösung nach einem empirischen Modell mit den Parametern k_{\max} für die Geschwindigkeitskonstante und Sl für die Schulterlänge angepasst. In Abhängigkeit vom pH-Wert galt für verschiedene TiO_2 -Konzentrationen: $k_{\max}(\text{pH } 4) > k_{\max}(\text{pH } 7) > k_{\max}(\text{pH } 10)$.

Mit steigender TiO_2 -Konzentration stieg k_{\max} an. Der Einfluss des pH-Werts als alleiniger Stressfaktor und eine Bildung von hypochloriger Säure durch Anwesenheit von Chlorid-Ionen konnte ausgeschlossen werden.

REM-Aufnahmen zeigten bei pH 4 eine größere Sorption der TiO_2 Partikel an die Zelle als bei pH 10. Die Ergebnisse korrelierten mit den Zetapotentialmessungen, da bei pH 4 die elektrostatischen Kräfte anziehend und bei pH 10 abstoßend waren. Die Ergebnisse wurden bei pH 10 verifiziert. Bei Erhöhung von $c(\text{NaCl})$ stieg k_{\max} wegen der geringeren elektrostatischen Abstoßung wieder an. Mit CaCl_2 als Hintergrundmatrix waren die elektrostatischen Kräfte nicht mehr abstoßend sondern anziehend und k_{\max} war signifikant größer als in der NaCl-Lösung.

Die Reihenfolge der Geschwindigkeitskonstanten bei den verschiedenen pH-Werten wurde durch die XDLVO-Theorie besser als bei der DLVO-Theorie erklärt. Nach der DLVO-Theorie existierte zwischen pH 4 und 7 kein Unterschied, da beide Fälle keine Energiebarriere aufwiesen und es somit zum Kontakt zwischen TiO_2 und MO kommen sollte. Dieses Ergebnis widerspricht den experimentellen Befunden.

(D2) Einfluss der NOM auf die photokatalytische Desinfektion

Hypothese: *Die Anwesenheit von NOM verlangsamt die Desinfektionskinetik bei der Photokatalyse, da sich Partikel und MO in Anwesenheit von NOM elektrostatisch abstoßen. Mit Erhöhung des Zetapotentials bei fortlaufender Bestrahlung wird durch Abbau der NOM die Desinfektionsgeschwindigkeit wieder größer.*

Die Anwesenheit von NOM in der Suspension verschiebt das Zetapotential der TiO_2 Partikel bei pH 4 ins Negative. Daher sorbierten weniger TiO_2 Aggregate an der Zelloberfläche wie REM Aufnahmen zeigten. Die geringere Sorption resultierte in einer verlängerten Lag-Phase (größeres Sl) während der Desinfektionskinetik. Mit fortlaufender Bestrahlung stieg das Zetapotential der TiO_2 Partikel auf den Ursprungswert an. Der Anstieg des Zetapotential zwischen zwei Messpunkten korrelierte mit der gleichzeitigen Erhöhung der Geschwindigkeitskonstanten k für die Desinfektion.

Die Korrelation zwischen Zetapotential und der Geschwindigkeitskonstanten in Anwesenheit von NOM wurde durch eine zeitlich versetzte Zugabe von MO verifiziert. Gemäß der Hypothese hätte bei späterer Zugabe der MO der Parameter

für die Schulterlänge S kleiner werden müssen. Dies konnte jedoch nicht bestätigt werden sollen.

Die Überprüfung weiterer Faktoren zeigte, dass die UV-Absorption durch NOM (innere Filtereffekt) keinen Einfluss hatte. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass in Systemen mit NOM bei fortwährender Bestrahlung eine Agglomeration auftrat, die der Desinfektionsleistung entgegen wirken könnte.

Schlussfolgerung

Basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit wird eine mögliche Umweltgefährdung durch NP als minimal eingeschätzt. Diese Einschätzung erfolgt aus den folgenden Gründen:

- In den Fällen, in denen die gelösten Ionen keine Toxizität aufweisen, ist eine Anlagerung der NP an die MO notwendig, um schädigend zu wirken. Die Ergebnisse aus den Wechselwirkungen zwischen $\text{SiO}_2\text{-CL-NP}$ und *L. plantarum* sprechen zwar für eine Gefährdung, da sie eine Abhängigkeit vom Verhältnis Partikelanzahl zu Bakterienanzahl zeigten. In natürlichen Gewässern ist die Bakterienkonzentration geringer als in den Modellversuchen dieser Arbeit. Daher wären schon geringere Konzentrationen an NP schädlich. Jedoch wird die Anlagerung der NP zum einen durch die allgegenwärtige NOM reduziert. Zum anderen sind im Gegensatz zu den Modellexperimenten in natürlichen Systemen die Konzentration an Zellen geringer und zusätzlich gibt es noch weitere abiotische Schwebstoffe, die Konkurrenzfläche für die Adsorption der NP zur Verfügung stellen. Durch diesen geringeren Anteil an effektiver Grenzfläche ist eine Interaktion zwischen NP und lebenden MO ein unwahrscheinlicheres Ereignis als im Modellsystem.
- Bei toxischen Effekten, resultierend aus gelösten Ionen wurde am Beispiel von Silber gezeigt, dass auch schwerlösliche Salz-Spezies toxisch sind. Diese schwerlöslichen Salze stellen aber keine neue Bedrohung dar, da die Abwässer der Fotoindustrie in den letzten Jahrzehnten ohnehin mit diesen belastet waren.

Die technische Nutzung der TiO_2 NP zur Desinfektion von Abwässern ist möglich. Um eine gezielte und kontinuierliche Desinfektion zu gewährleisten, muss die Konzentration an NOM und ihr Adsorptionsverhalten gegenüber dem eingesetzten TiO_2 bekannt sein, da sie eine konzentrationsabhängige Minderung der Desinfektionsleistung bewirkt.

5.1 Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit konnten nicht alle Fragen geklärt werden und neue Fragestellungen ergaben sich während der Auswertungen. Einige interessante Aspekte, die in Zukunft näher untersucht werden können, sind:

- Hat die Zellwandstruktur einen Einfluss auf die Adhäsion von NP und folglich auf die Toxizität? Verschiedene Mutationen eines MO, die sich nur in der

Zellwandstruktur unterscheiden, könnten genutzt werden, um den physico-chemischen Einfluss der Zellwand näher zu untersuchen, ohne mögliche Unterschiede im Stoffwechsel beachten zu müssen.

- Ist es möglich die Zellwand mit den adhäsierten NP vom Protoplasten abzutrennen? Dies würde eine genaue Bestimmung der adsorbierten NP gegenüber den aufgenommenen NP ins Zellinnere ermöglichen.
- Kann durch eine Beschichtung des TiO_2 mit MgO der IEP des TiO_2 in höhere Bereiche verschoben werden und wird dadurch die photokatalytische Desinfektion verbessert? Oder bedingt die Änderung des IEPs nur eine verstärkte Adsorption der NOM und beeinträchtigt dadurch die Desinfektionsleistung?
- Mit Hilfe des Rasterkraftmikroskops (AFM) können die Wechselwirkungskräfte zwischen MO und NP gemessen werden. Dies ermöglicht eine Validierung der berechneten Interaktionsenergien nach der DLVO- und XDLVO-Theorie?
- Mittels neuer UV-LEDs und Lichtleiter kann bei Photokatalysatoren die Veränderung des Zetapotentials und der Kontaktwinkel *in situ* gemessen werden. Dies führt zu einer genaueren Bestimmung der Oberflächenenergien und zu einem besseren Verständnis über die Abbau- und Desinfektionsprozesse.

6 Literatur

1. Schmidt, H. and Kippenberger, C., *Untersuchungen über Angebot und Nachfrage mineralischer Rohstoffe: XV Asbest*. Untersuchungen über Angebot und Nachfrage mineralischer Rohstoffe. 1981: Deutsches Institut für Wirtschaftsforschung.
2. Steinfeldt, M., von Gleich, A., Haum, R., Chudoba, T. and Haubold, S., *Nachhaltigkeitseffekte durch Herstellung und Anwendung nanotechnologischer Produkte*. Institut für ökologische Wirtschaftsförderung. 2004.
3. Gee, D. and Greenberg, M., *Asbestos: from magic to malevolent mineral*, in *Late lessons from early warnings: the precautionary principle 1896-2000*, E.E.A. (EEA), Editor. 2001, European Environmental Agency (EEA): Kopenhagen.
4. Savage, N. and Diallo, M.S., *Nanomaterials and water purification: Opportunities and challenges*. Journal of Nanoparticle Research, 2005. 7(4-5): p. 331-342.
5. Chong, M.N., Jin, B., Chow, C.W.K. and Saint, C., *Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review*. Water Research, 2010. 44(10): p. 2997-3027.
6. Negreanu, Y., Pasternak, Z., Jurkevitch, E. and Cytryn, E., *Impact of Treated Wastewater Irrigation on Antibiotic Resistance in Agricultural Soils*. Environmental Science & Technology, 2012. 46(9): p. 4800-4808.
7. Card, J.W. and Magnuson, B.A., *A Method to Assess the Quality of Studies That Examine the Toxicity of Engineered Nanomaterials*. International Journal of Toxicology, 2010. 29(4): p. 402-410.
8. Commission, E., *The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies*, H.C.P. Directorate-General, Editor. 2006, European Commission.
9. EPA, U., *Nanotechnology White Paper*, in *EPA 100/B-07/001*. 2007.
10. Nowack, B. and Bucheli, T.D., *Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment*. Environ. Pollut. (Amsterdam, Neth.), 2007. 150: p. 5-22.
11. Woyke, A., *„Nanotechnologie“ als neue „Schlüsseltechnologie“?—Versuch eines historischen und systematischen Vergleichs mit anderen Technologien*. Journal for General Philosophy of Science, 2007. 38(2): p. 329-345.
12. Feynman, R., *There's Plenty of Room at the Bottom*, in *Annual meeting of the American Physical Society*. 1959: Caltech.

13. Binning, G., Rohrer, H., Gerber, C. and Weibel, E., *Surface Studies by Scanning Tunneling Microscopy*. Physical Review Letters, 1982. 49(1): p. 57-61.
14. Kroto, H.W., Heath, J.R., O'Brien, S.C., Curl, R.F. and Smalley, R.E., C-60 - *Buckminsterfullerene*. Nature, 1985. 318(6042): p. 162-163.
15. Drexler, K.E., *Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology*. 1986, New York: Anchor Books.
16. Nel, A., Xia, T., Maedler, L. and Li, N., *Toxic Potential of Materials at the Nanolevel*. Science (Washington, DC, U. S.), 2006. 311: p. 622-627.
17. Krug, H.F. and Klug, P., *Impact of nanotechnological developments on the environment*, in *Nanotechnology*. 2010, Wiley-VCH. p. 291-306.
18. Mueller, N.C. and Nowack, B., *Exposure Modeling of Engineered Nanoparticles in the Environment*. Environ. Sci. Technol., 2008. 42: p. 4447-4453.
19. Pitkethly, M.J., *Nanomaterials – the driving force*. Materials Today, 2004. 7(12, Supplement): p. 20-29.
20. Helland, A., Scheringer, M., Siegrist, M., Kastenholz, H.G., Wiek, A. and Scholz, R.W., *Risk Assessment of Engineered Nanomaterials: A Survey of Industrial Approaches*. Environ. Sci. Technol., 2008. 42: p. 640-646.
21. Klaine, S.J., Alvarez, P.J.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy, R.D., Lyon, D.Y., Mahendra, S., McLaughlin, M.J. and Lead, J.R., *Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects*. Environ. Toxicol. Chem., 2008. 27: p. 1825-1851.
22. Cornell, R.M. and Schwertmann, U., *The Iron Oxides*. 1997, Weinheim: VCH Publishers.
23. Thierry, B., Majewski, P., Ngothai, Y. and Shi, Y., *Preparation of monodisperse functionalised superparamagnetic nanoparticles*. Int. J. Nanotechnol., 2007. 4: p. 523-530.
24. Schmid, K. and Riediker, M., *Use of Nanoparticles in Swiss Industry: A Targeted Survey*. Environ. Sci. Technol., 2008. 42: p. 2253-2260.
25. Lyon, D., Thill, A., Rose, J. and Alvarez, P.J.J., *Ecotoxicological impacts of nanomaterials*, in *Environmental Nanotechnology: Applications and Impacts of Nanomaterials*, M.R. Wiesner and J.-Y. Bottero, Editors. 2007, Mc Graw Hill: New York.
26. ter Haseborg, E. and Frimmel, F.H., *Impact of selected pollutants in synthetic industrial wastewater on nitrifying biofilms in fixed bed biofilm reactors-visualized with fluorescence in-situ hybridization*. Analytical Letters, 2007. 40(7): p. 1473-1486.

27. Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sigg, L. and Behra, R., *Toxicity of Silver Nanoparticles to Chlamydomonas reinhardtii*. Environ. Sci. Technol., 2008. 42: p. 8959-8964.
28. Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H.-C. and Kahru, A., *Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus*. Chemosphere, 2008. 71(7): p. 1308-1316.
29. Zook, J., Long, S., Cleveland, D., Geronimo, C. and MacCuspie, R., *Measuring silver nanoparticle dissolution in complex biological and environmental matrices using UV-visible absorbance*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011. 401(6): p. 1993-2002.
30. Lee, C., Kim, J.Y., Lee, W.I., Nelson, K.L., Yoon, J. and Sedlak, D.L., *Bactericidal Effect of Zero-Valent Iron Nanoparticles on Escherichia coli*. Environ. Sci. Technol., 2008. 42: p. 4927-4933.
31. Chang, J.-S., Law, R. and Chang, C.-C., *Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of Pseudomonas aeruginosa PU21*. Water Research, 1997. 31(7): p. 1651-1658.
32. Dart, C., Leyland, M.L., Barrett-Jolley, R., Shelton, P.A., Spencer, P.J., Conley, E.C., Sutcliffe, M.J. and Stanfield, P.R., *The dependence of Ag⁺ block of a potassium channel, murine Kir2.1, on a cysteine residue in the selectivity filter*. The Journal of Physiology, 1998. 511(1): p. 15-24.
33. Stohs, S.J. and Bagchi, D., *Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions*. Free Radical Biology and Medicine, 1995. 18(2): p. 321-336.
34. Ivask, A., Bondarenko, O., Jepihhina, N. and Kahru, A., *Profiling of the reactive oxygen species-related ecotoxicity of CuO, ZnO, TiO₂, silver and fullerene nanoparticles using a set of recombinant luminescent Escherichia coli strains: differentiating the impact of particles and solubilised metals*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010. 398(2): p. 701-716.
35. Foster, H.A., Ditta, I.B., Varghese, S. and Steele, A., *Photocatalytic disinfection using titanium dioxide: Spectrum and mechanism of antimicrobial activity*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011. 90(6): p. 1847-1868.
36. Choi, O. and Hu, Z., *Size Dependent and Reactive Oxygen Species Related Nanosilver Toxicity to Nitrifying Bacteria*. Environ. Sci. Technol., 2008. 42: p. 4583-4588.
37. Auffan, M., Achouak, W., Rose, J., Roncato, M.-A., Chaneac, C., Waite, D.T., Masion, A., Woicik, J.C., Wiesner, M.R. and Bottero, J.-Y., *Relation between the Redox State of Iron-Based Nanoparticles and Their Cytotoxicity toward Escherichia coli*. Environ. Sci. Technol., 2008. 42: p. 6730-6735.
38. Zhang, L.L., Jiang, Y.H., Ding, Y.L., Povey, M. and York, D., *Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids)*. Journal of Nanoparticle Research, 2007. 9(3): p. 479-489.

39. Schwegmann, H., Feitz, A.J. and Frimmel, F.H., *Influence of the zeta potential on the sorption and toxicity of iron oxide nanoparticles on S. cerevisiae and E. coli*. Journal of Colloid and Interface Science, 2010. 347(1): p. 43-48.
40. Kang, S., Herzberg, M., Rodrigues, D.F. and Elimelech, M., *Antibacterial Effects of Carbon Nanotubes: Size Does Matter!* Langmuir, 2008. 24: p. 6409-6413.
41. Baalousha, M., *Aggregation and disaggregation of iron oxide nanoparticles: Influence of particle concentration, pH and natural organic matter*. Science of The Total Environment, 2009. 407(6): p. 2093-2101.
42. Kahru, A. and Dubourguier, H.-C., *From ecotoxicology to nanoecotoxicology*. Toxicology, 2010. 269(2–3): p. 105-119.
43. Vikesland, P.J., Heathcock, A.M., Rebodos, R.L. and Makus, K.E., *Particle Size and Aggregation Effects on Magnetite Reactivity toward Carbon Tetrachloride*. Environmental Science & Technology, 2007. 41(15): p. 5277-5283.
44. Bae, E., Park, H.J., Lee, J., Kim, Y., Yoon, J., Park, K., Choi, K. and Yi, J., *Bacterial Cytotoxicity of the Silver Nanoparticle Related to Physicochemical Metrics and Agglomeration Properties*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2010. 29(10): p. 2154-2160.
45. Neal, A., *What can be inferred from bacterium–nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles?* Ecotoxicology, 2008. 17(5): p. 362-371.
46. Wang, C.Y., Fu, W.E., Lin, H.L. and Peng, G.S., *Preliminary study on nanoparticle sizes under the APEC technology cooperative framework*. Measurement Science and Technology, 2007. 18(2): p. 487.
47. Ito, T., Sun, L., Bevan, M.A. and Crooks, R.M., *Comparison of Nanoparticle Size and Electrophoretic Mobility Measurements Using a Carbon-Nanotube-Based Coulter Counter, Dynamic Light Scattering, Transmission Electron Microscopy, and Phase Analysis Light Scattering*. Langmuir, 2004. 20(16): p. 6940-6945.
48. Williams, D.N., Ehrman, S.H. and Holoman, T.R.P., *Evaluation of the microbial growth response to inorganic nanoparticles*. J. Nanobiotechnol., 2006. 4: p. No pp. given.
49. Zhang, H., Smith, J.A. and Oyanedel-Craver, V., *The effect of natural water conditions on the anti-bacterial performance and stability of silver nanoparticles capped with different polymers*. Water Research, 2012. 46(3): p. 691-699.
50. van Hoecke, K., De Schamphelaere, K.A.C., Van der Meeren, P., Lucas, S. and Janssen, C.R., *Ecotoxicity of silica nanoparticles to the green alga Pseudokirchneriella subcapitata: importance of surface area*. Environ. Toxicol. Chem., 2008. 27: p. 1948-1957.

51. Aruoja, V., Dubourguier, H.-C., Kasemets, K. and Kahru, A., *Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae Pseudokirchneriella subcapitata*. Science of The Total Environment, 2009. 407(4): p. 1461-1468.
52. Van Hoecke, K., De Schampelaere, K.A., Van der Meeren, P., Smagghe, G. and Janssen, C.R., *Aggregation and ecotoxicity of CeO nanoparticles in synthetic and natural waters with variable pH, organic matter concentration and ionic strength*. Environ Pollut, 2011. 159(4): p. 970-976.
53. Kasemets, K., Ivask, A., Dubourguier, H.-C. and Kahru, A., *Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast Saccharomyces cerevisiae*. Toxicology in Vitro, 2009. 23(6): p. 1116-1122.
54. Choi, O., Deng, K.K., Kim, N.-J., Ross, L., Surampalli, R.Y. and Hu, Z., *The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth*. Water Res., 2008. 42: p. 3066-3074.
55. Hund-Rinke, K. and Simon, M., *Ecotoxic Effect of Photocatalytic Active Nanoparticles (TiO₂) on Algae and Daphnids (8 pp)*. Environmental Science and Pollution Research, 2006. 13(4): p. 225-232.
56. Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P.K.-H., Chiu, J.-F. and Che, C.-M., *Proteomic Analysis of the Mode of Antibacterial Action of Silver Nanoparticles*. J. Proteome Res., 2006. 5: p. 916-924.
57. Kai, Y., Komazawa, Y., Miyajima, A., Miyata, N. and Yamakoshi, Y., *[60]Fullerene as a novel photoinduced antibiotic*. Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures, 2003. 11(1): p. 79-87.
58. Lyon, D.Y., Adams, L.K., Falkner, J.C. and Alvarez, P.J.J., *Antibacterial activity of fullerene water suspensions: Effects of preparation method and particle size*. Environ. Sci. Technol., 2006. 40: p. 4360-4366.
59. Fujiwara, K., Suematsu, H., Kiyomiya, E., Aoki, M., Sato, M. and Moritoki, N., *Size-dependent toxicity of silica nano-particles to Chlorella kessleri*. Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 2008. 43(10): p. 1167 - 1173.
60. Sondi, I. and Salopek-Sondi, B., *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria*. J. Colloid Interface Sci., 2004. 275: p. 177-182.
61. Pal, S., Tak, Y.K. and Song, J.M., *Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol., 2007. 73: p. 1712-1720.
62. Raffi, M., Hussain, F., Bhatti, T.M., Akhter, J.I., Hameed, A. and Hasan, M.M., *Antibacterial characterization of silver nanoparticles against E. coli ATCC-15224*. Journal of Materials Science & Technology, 2008. 24(2): p. 192-196.
63. Thill, A., Zeyons, O., Spalla, O., Chauvat, F., Rose, J., Auffan, M. and Flank, A.M., *Cytotoxicity of CeO₂ Nanoparticles for Escherichia coli*. Physico-

- Chemical Insight of the Cytotoxicity Mechanism*. Environ. Sci. Technol., 2006. 40: p. 6151-6156.
64. Huang, L., Li, D.-Q., Lin, Y.-J., Wei, M., Evans, D.G. and Duan, X., *Controllable preparation of Nano-MgO and investigation of its bactericidal properties*. J. Inorg. Biochem., 2005. 99: p. 986-993.
 65. Makhluaf, S., Dror, R., Nitzan, Y., Abramovich, Y., Jelinek, R. and Gedanken, A., *Microwave-assisted synthesis of nanocrystalline MgO and its use as a bactericide*. Adv. Funct. Mater., 2005. 15: p. 1708-1715.
 66. Adams, L.K., Lyon, D.Y. and Alvarez, P.J.J., *Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions*. Water Res., 2006. 40: p. 3527-3532.
 67. Brayner, R., Ferrari-Iliou, R., Brivois, N., Djediat, S., Benedetti, M.F. and Fievet, F., *Toxicological Impact Studies Based on Escherichia coli Bacteria in Ultrafine ZnO Nanoparticles Colloidal Medium*. Nano Lett., 2006. 6: p. 866-870.
 68. Bae, E., Jin Park, H., Park, J., Yoon, J., Kim, Y., Choi, K. and Yi, J., *Effect of Chemical Stabilizers in Silver Nanoparticle Suspensions on Nanotoxicity*. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2011. 32(2): p. 613-619.
 69. Li, M., Zhu, L. and Lin, D., *Toxicity of ZnO Nanoparticles to Escherichia coli: Mechanism and the Influence of Medium Components*. Environmental Science & Technology, 2011. 45(5): p. 1977-1983.
 70. Khan, S.S., Mukherjee, A. and Chandrasekaran, N., *Studies on interaction of colloidal silver nanoparticles (SNPs) with five different bacterial species*. Colloids Surf B Biointerfaces, 2011. 87(1): p. 129-138.
 71. Domingos, R.F., Tufenkji, N. and Wilkinson, K.J., *Aggregation of titanium dioxide nanoparticles: role of a fulvic acid*. Environ. Sci. Technol., 2009. 43: p. 1282-1286.
 72. Aiken, G. and Costaris, E., *Soil and hydrology : their effect on NOM*. 1995. 87(1): p. 36-45.
 73. Thurman, E.M., *Organic Geochemistry of Natural Waters*. 1985, Dordrecht: M. Nijhoff.
 74. Frimmel, F.H., Abbt-Braun, G., Heumann, K.G., Hock, B., Lüdemann, H.D. and Spiteller, M., *Refractory Organic Substances in the Environment*. 2008, Weinheim: John Wiley & Sons.
 75. Mills, A. and Le Hunte, S., *An overview of semiconductor photocatalysis*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 1997. 108(1): p. 1-35.
 76. Jewett, J.W. and Serway, R.A., *Physics for Scientists and Engineers with Modern Physics*. 2007: Brooks/Cole.

77. Linsebigler, A.L., Lu, G. and Yates, J.T., *Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanisms, and Selected Results*. Chemical Reviews, 1995. 95(3): p. 735-758.
78. Xu, S., Ng, J., Zhang, X., Bai, H. and Sun, D.D., *Adsorption and photocatalytic degradation of Acid Orange 7 over hydrothermally synthesized mesoporous TiO₂ nanotube*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2011. 379(1-3): p. 169-175.
79. Srinivasan, C. and Somasundaram, N., *Bactericidal and detoxification effects of irradiated semiconductor catalyst, TiO₂*. Current Science, 2003. 85(10): p. 1431-1438.
80. Legrini, O., Oliveros, E. and Braun, A.M., *Photochemical Processes for Water-Treatment*. Chemical Reviews, 1993. 93(2): p. 671-698.
81. Sahu, M., Suttiponpanit, K., Suvachittanont, S., Charinpanitkul, T. and Biswas, P., *Characterization of doped TiO₂ nanoparticle dispersions*. Chemical Engineering Science, 2011. 66(15): p. 3482-3490.
82. Matsunaga, T., Tomoda, R., Nakajima, T. and Wake, H., *Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders*. FEMS Microbiology Letters, 1985. 29(1-2): p. 211-214.
83. Maness, P.-C., Smolinski, S., Blake, D.M., Huang, Z., Wolfrum, E.J. and Jacoby, W.A., *Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism*. Appl. Environ. Microbiol., 1999. 65: p. 4094-4098.
84. Cho, M., Chung, H., Choi, W. and Yoon, J., *Different Inactivation Behaviors of MS-2 Phage and Escherichia coli in TiO₂ Photocatalytic Disinfection*. Appl. Environ. Microbiol., 2005. 71(1): p. 270-275.
85. Cho, M., Chung, H., Choi, W. and Yoon, J., *Linear correlation between inactivation of E. coli and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection*. Water Res., 2004. 38: p. 1069-1077.
86. Marugán, J., van Grieken, R., Sordo, C. and Cruz, C., *Kinetics of the photocatalytic disinfection of Escherichia coli suspensions*. Applied Catalysis B: Environmental, 2008. 82(1-2): p. 27-36.
87. Chick, H., *An Investigation of the Laws of Disinfection*. J Hyg (Lond), 1908. 8(1): p. 92-158.
88. Watson, H.E., *A Note on the Variation of the Rate of Disinfection with Change in the Concentration of the Disinfectant*. Journal of Hygiene, 1908. 8: p. 536-542.
89. Geeraerd, A.H., Herremans, C.H. and Van Impe, J.F., *Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment*. Int J Food Microbiol, 2000. 59(3): p. 185-209.

90. Buchanan, R.L., Golden, M.H. and Whiting, R.C., *Differentiation of the effects of pH and lactic or acetic acid concentration on the kinetics of Listeria monocytogenes inactivation*. J Food Prot., 1993. 56: p. 474-478.
91. Buchanan, R.L., Whiting, R.C. and Damert, W.C., *When is simple good enough: A comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves*. Food Microbiology, 1997. 14(4): p. 313-326.
92. Gyurek, L.L. and Finch, G.R., *Modeling Water Treatment Chemical Disinfection Kinetics*. Journal of Environmental Engineering, 1998. 124(9): p. 783-793.
93. Lambert, R.J.W. and Johnston, M.D., *Disinfection kinetics: a new hypothesis and model for the tailing of log-survivor/time curves*. Journal of Applied Microbiology, 2000. 88(5): p. 907-913.
94. Walker, G.M., *Yeast Physiology and Biotechnology*. 1998: J. Wiley & Sons.
95. Rose, A.H. and Harrison, J.S., *The Yeasts: Yeast organelles*. 1991: Academic Press.
96. Nguyen, T.H., Fleet, G.H. and Rogers, P.L., *Composition of the cell walls of several yeast species*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1998. 50: p. 206-212.
97. Madigan, M.T. and Brock, T.D., *Brock biology of microorganisms*. 2009: Pearson/Benjamin Cummings.
98. Walker, S.L., Redman, J.A. and Elimelech, M., *Role of cell surface lipopolysaccharides in Escherichia coli K12 adhesion and transport*. Langmuir, 2004. 20: p. 7736-7746.
99. Shaw, J.D., Cummings, K.B., Huyer, G., Michaelis, S. and Wendland, B., *Yeast as a model system for studying endocytosis*. Exp. Cell Res., 2001. 271: p. 1-9.
100. Prescianotto-Baschong, C. and Riezman, H., *Morphology of the yeast endocytic pathway*. Mol. Biol. Cell, 1998. 9: p. 173-189.
101. Höll, K. and Grohmann, A., *Wasser: Nutzung Im Kreislauf, Hygiene, Analyse Und Bewertung*. 2002: De Gruyter.
102. Sundararaj, S., Guo, A., Habibi Nazhad, B., Rouani, M., Stothard, P., Ellison, M. and Wishart, D.S., *The CyberCell Database (CCDB): a comprehensive, self-updating, relational database to coordinate and facilitate in silico modeling of Escherichia coli*. Nucleic Acids Research, 2004. 32(suppl 1): p. D293-D295.
103. Burks, G.A., Velegol, S.B., Paramonova, E., Lindenmuth, B.E., Feick, J.D. and Logan, B.E., *Macroscopic and nanoscale measurements of the adhesion of bacteria with varying outer layer surface composition*. Langmuir, 2003. 19(6): p. 2366-2371.
104. Krämer, J., *Lebensmittel-Mikrobiologie*. 1997: Ulmer.

105. Neumann, G., Cornelissen, S., van Breukelen, F., Hunger, S., Lippold, H., Loffhagen, N., Wick, L.Y. and Heipieper, H.J., *Energetics and surface properties of Pseudomonas putida DOT-T1E in a two-phase fermentation system with 1-decanol as second phase*. Appl. Environ. Microbiol., 2006. 72: p. 4232-4238.
106. Arain, S., *Microrespirometry with sensor-equipped microtiterplates*, in *Fakultät für Chemie und Pharmazie*. 2006, Universität Regensburg: Regensburg.
107. EN ISO 10712, *Pseudomonas putida Wachstumshemmtest*, DEV, Editor. 1995.
108. Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M. and van 't Riet, K., *Modeling of the bacterial growth curve*. Appl Environ Microbiol, 1990. 56(6): p. 1875-1881.
109. Zwietering, M.H., Rombouts, F.M. and van 't Riet, K., *Comparison of definitions of the lag phase and the exponential phase in bacterial growth*. J Appl Bacteriol, 1997. 72: p. 139-145.
110. Uskoković, V., *Dynamic Light Scattering Based Microelectrophoresis: Main Prospects and Limitations*. Journal of Dispersion Science and Technology, 2012: p. in press.
111. Elimelech, M., Gregory, J., Jia, X. and Williams, R.A., *Particle Deposition and Aggregation: Measurement, Modelling and Simulation*. 1995, Woburn: Butterworth-Heinemann.
112. Müller, R.H., *Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis*. 1996, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
113. Stojek, Z., *The Electrical Double Layer and Its Structure*, in *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications*, F. Scholz, Editor. 2005, Springer: Berlin Heidelberg. p. 1-8.
114. Hogg, R., Healy, T.W. and Fuerstenau, D.W., *Mutual coagulation of colloidal dispersions*. Trans. Faraday Soc., 1966. 62: p. 1638-1651.
115. Van Oss, C.J., Chaudhury, M.K. and Good, R.J., *Interfacial Lifshitz-van der Waals and polar interactions in macroscopic systems*. Chemical Reviews, 1988. 88(6): p. 927-941.
116. Lyklema, J., *Elektrische Doppelschichten: Elektrostatik und Elektrodynamik*. Chemie Ingenieur Technik, 1999. 71(12): p. 1364-1369.
117. Derjaguin, B., *Untersuchungen über die Reibung und Adhäsion, IV*. Colloid & Polymer Science, 1934. 69(2): p. 155-164.
118. Israelachvili, J., *Intermolecular And Surface Forces*. 2010, Amsterdam: Elsevier Academic Press.
119. Lyklema, J., *Fundamentals of Interface and Colloid Science*. Fundamentals of Interface and Colloid Science. Vol. I. 1991, London: Academic Press.

120. van Loosdrecht, M.C.M., Norde, W., Lyklema, J. and Zehnder, A.J.B., *Hydrophobic and Electrostatic Parameters in Bacterial Adhesion*. Aquatic Sciences, 1990. 52(1): p. 103-114.
121. Bostrom, M., Williams, D.R.M. and Ninham, B.W., *Specific Ion Effects: Why DLVO Theory Fails for Biology and Colloid Systems*. Phys. Rev. Lett., 2001. 87: p. 168103/1-168103/4.
122. van Oss, C.J., *Interfacial forces in aqueous media*. 2 ed. 2006, Boca Raton: Taylor & Francis.
123. Dorobantu, L.S., Bhattacharjee, S., Foght, J.M. and Gray, M.R., *Analysis of Force Interactions between AFM Tips and Hydrophobic Bacteria Using DLVO Theory*. Langmuir, 2009. 25: p. 6968-6976.
124. Mendez-Vilas, A., Gallardo-Moreno, A.M., Calzado-Montero, R. and Gonzalez-Martin, M.L., *AFM probing in aqueous environment of Staphylococcus epidermidis cells naturally immobilized on glass: Physico-chemistry behind the successful immobilization*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008. 63: p. 101-109.
125. Bayouhd, S., Othmane, A., Mora, L. and Ben Ouada, H., *Assessing bacterial adhesion using DLVO and XDLVO theories and the jet impingement technique*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009. 73(1): p. 1-9.
126. Li, B. and Logan, B.E., *Bacterial adhesion to glass and metal-oxide surfaces*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2004. 36: p. 81-90.
127. Li, B. and Logan, B.E., *The impact of ultraviolet light on bacterial adhesion to glass and metal oxide-coated surface*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2005. 41: p. 153-161.
128. van Oss, C.J., Chaudhury, M.K. and Good, R.J., *Monopolar surfaces*. Adv. Colloid Interface Sci., 1987. 28: p. 35-64.
129. van Oss, C.J., *Development and applications of the interfacial tension between water and organic or biological surfaces*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007. 54: p. 2-9.
130. van Oss, C.J. and Giese, R.F., *Role of the Properties and Structure of Liquid Water in Colloidal and Interfacial Systems*. J. Dispersion Sci. Technol., 2004. 25: p. 631-655.
131. van Oss, C.J., Giese, R.F. and Wu, W., *On the predominant electron-donicity of polar solid surfaces*. J. Adhes., 1997. 63: p. 71-88.
132. Young, T., *An Essay on the Cohesion of Fluids*. Philosophical transactions of the Royal Society of London, 1805(95): p. 65-87.
133. Weigl, B., *Trennkraften zwischen Mikroorganismen, Partikeln und Oberflächen, in Lehrstuhl für Maschinen- und Apparatekunde*. 2003, Dissertation, Technische Universität: München.

134. van Oss, C.J., *Hydrophobicity of biosurfaces - origin, quantitative determination and interaction energies*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1995. 5: p. 91-110.
135. Bergström, L., *Hamaker constants of inorganic materials*. Advances in Colloid and Interface Science, 1997. 70(0): p. 125-169.
136. Sontheimer, H., Frick, B.R., Fettig, J., Hörner, G., Hubele, C. and Zimmer, G., *Adsorptionsverfahren zur Wasserreinigung*. 1985, Karlsruhe: DVGW-Forschungsstelle, Universität Karlsruhe.
137. Dill, K.A. and Bromberg, S., *Molecular Driving Forces - Statistical Thermodynamics in Chemistry and Biology*. 2003, New York: Garland Science.
138. Kang, Y.S., Risbud, S., Rabolt, J.F. and Stroeve, P., *Synthesis and Characterization of Nanometer-Size Fe₃O₄ and gamma -Fe₂O₃ Particles*. Chem. Mater., 1996. 8: p. 2209-2211.
139. Delay, M., Dolt, T., Woellhaf, A., Sembritzki, R. and Frimmel, F.H., *Interactions and stability of silver nanoparticles in the aqueous phase: Influence of natural organic matter (NOM) and ionic strength*. J Chromatogr A, 2011. 1218(27): p. 4206-4212.
140. van der Mei, H.C., Bos, R. and Busscher, H.J., *A reference guide to microbial cell surface hydrophobicity based on contact angles*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1998. 11(4): p. 213-221.
141. Abbt-Braun, G., Frimmel, F.H. and Lipp, P., *Isolation of organic substances from aquatic and terrestrial systems - comparison of some methods*. Zeitschrift für Wasser-Abwasser Forschung, 1991. 24: p. 285-292.
142. Tercero Espinoza, L.A., *Heterogeneous photocatalysis with titanium dioxide suspensions containing bromide and dissolved organic carbon*, in *Engler-Bunte Institut*. 2010, Dissertation, Karlsruher Institut für Technologie (KIT): Karlsruhe.
143. Nash, T., *The Colorimetric Estimation of Formaldehyde by Means of the Hantzsch Reaction*. Biochemical Journal, 1953. 55(3): p. 416-421.
144. Goldstein, S., Aschengrau, D., Diamant, Y. and Rabani, J., *Photolysis of aqueous H₂O₂: Quantum yield and applications for polychromatic UV actinometry in photoreactors*. Environmental Science & Technology, 2007. 41(21): p. 7486-7490.
145. Atesok, G., Somasundaran, P. and Morgan, L.J., *Adsorption properties of Ca²⁺ on Na-kaolinite and its effect on flocculation using polyacrylamides*. Colloids and Surfaces, 1988. 32(0): p. 127-138.
146. Leroy, P., Tournassat, C. and Bizi, M., *Influence of surface conductivity on the apparent zeta potential of TiO₂ nanoparticles*. Journal of Colloid and Interface Science, 2011. 356(2): p. 442-453.

147. Gummy, D., Morais, C., Bowen, P., Pulgarin, C., Giraldo, S., Hajdu, R. and Kiwi, J., *Catalytic activity of commercial of TiO₂ powders for the abatement of the bacteria (E. coli) under solar simulated light: Influence of the isoelectric point*. Applied Catalysis B: Environmental, 2006. 63(1-2): p. 76-84.
148. Jiang, W., Mashayekhi, H. and Xing, B.S., *Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles*. Environmental Pollution, 2009. 157(5): p. 1619-1625.
149. Abe, T., Kobayashi, S. and Kobayashi, M., *Aggregation of colloidal silica particles in the presence of fulvic acid, humic acid, or alginate: Effects of ionic composition*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2011. 379(1-3): p. 21-26.
150. Lam, S.W., Chiang, K., Lim, T.M., Amal, R. and Low, G.K.C., *Electrophoresis—A new approach for the determination of organic matters adsorption on irradiated TiO₂*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2007. 187(1): p. 127-132.
151. Li, X.A., Lenhart, J.J. and Walker, H.W., *Dissolution-Accompanied Aggregation Kinetics of Silver Nanoparticles*. Langmuir, 2010. 26(22): p. 16690-16698.
152. Ghosh, S., Mashayekhi, H., Pan, B., Bhowmik, P. and Xing, B., *Colloidal Behavior of Aluminum Oxide Nanoparticles As Affected by pH and Natural Organic Matter*. Langmuir, 2008. 24: p. 12385-12391.
153. Yang, K., Lin, D. and Xing, B., *Interactions of Humic Acid with Nanosized Inorganic Oxides*. Langmuir, 2009. 25(6): p. 3571-3576.
154. Zhang, Y., Chen, Y.S., Westerhoff, P. and Crittenden, J., *Impact of natural organic matter and divalent cations on the stability of aqueous nanoparticles*. Water Research, 2009. 43(17): p. 4249-4257.
155. Liang, L., Luo, L. and Zhang, S., *Adsorption and desorption of humic and fulvic acids on SiO₂ particles at nano- and micro-scales*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2011. 384(1-3): p. 126-130.
156. Petteys, M.P. and Schimpf, M.E., *Characterization of hematite and its interaction with humic material using flow field-flow fractionation*. Journal of Chromatography A, 1998. 816(2): p. 145-158.
157. Kleijn, J.M. and van Leeuwen, H.P., *Electrostatic and Electrodynamic Properties of Biological Interfaces*, in *Physical Chemistry of Biological Interfaces*, A. Bazkin and W. Norde, Editors. 2000, Marcel Dekker: New York.
158. Poortinga, A.T., Bos, R., Norde, W. and Busscher, H.J., *Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces*. Surf. Sci. Rep., 2002. 47: p. 1-32.

159. Harkes, G., Van der Mei, H.C., Rouxhet, P.G., Dankert, J., Busscher, H.J. and Feijen, J., *Physicochemical characterization of Escherichia coli. A comparison with gram-positive bacteria*. Cell Biophys., 1992. 20: p. 17-32.
160. Martienssen, M., Reichel, O. and Kohlweyer, U., *Surface properties of bacteria from different wastewater treatment plants*. Acta Biotechnol., 2001. 21: p. 207-225.
161. Begot, C., Desnier, I., Daudin, J.D., Labadie, J.C. and Lebert, A., *Recommendations for calculating growth parameters by optical density measurements*. Journal of Microbiological Methods, 1996. 25(3): p. 225-232.
162. Horakova, K., Greifova, M., Seemannova, Z., Gondova, B. and Wyatt, M.G., *A comparison of the traditional method of counting viable cells and a quick microplate method for monitoring the growth characteristics of Listeria monocytogenes*. Letters in Applied Microbiology, 2004. 38: p. 181-184.
163. Dalgaard, P. and Koutsoumanis, K., *Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models*. Journal of Microbiological Methods, 2001. 43(3): p. 183-196.
164. Biesta-Peters, E.G., Reij, M.W., Joosten, H., Gorris, L.G.M. and Zwietering, M.H., *Comparison of Two Optical-Density-Based Methods and a Plate Count Method for Estimation of Growth Parameters of Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology, 2010. 76(5): p. 1399-1405.
165. Pin, C. and Baranyi, J., *Kinetics of single cells: observation and modeling of a stochastic process*. Appl Environ Microbiol, 2006. 72(3): p. 2163-2169.
166. Stephens, J., Joynson, A., Davies, W., Holbrook, R., Lappin-Scott, M. and Humphrey, J., *The use of an automated growth analyser to measure recovery times of single heat-injured Salmonella cells*. J Appl Microbiol, 1998. 83: p. 445-55.
167. Guillier, L. and Augustin, J.-C., *Modelling the individual cell lag time distributions of Listeria monocytogenes as a function of the physiological state and the growth conditions*. International Journal of Food Microbiology, 2006. 111(3): p. 241-251.
168. Dupont, C. and Augustin, J.-C., *Influence of Stress on Single-Cell Lag Time and Growth Probability for Listeria monocytogenes in Half Fraser Broth*. Appl. Environ. Microbiol., 2009. 75(10): p. 3069-3076.
169. Nel, A.E., Madler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E.M.V., Somasundaran, P., Klaessig, F., Castranova, V. and Thompson, M., *Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface*. Nat Mater, 2009. 8(7): p. 543-557.
170. Lynch, I., Cedervall, T., Lundqvist, M., Cabaleiro-Lago, C., Linse, S. and Dawson, K.A., *The nanoparticle-protein complex as a biological entity; a complex fluids and surface science challenge for the 21st century*. Advances in Colloid and Interface Science, 2007. 134-135: p. 167-174.

171. Toussaint, M. and Conconi, A., *High-throughput and sensitive assay to measure yeast cell growth: a bench protocol for testing genotoxic agents*. Nat Protoc, 2006. 1(4): p. 1922-1928.
172. Toussaint, M., Levasseur, G., Gervais-Bird, J., Wellinger, R.J., Elela, S.A. and Conconi, A., *A high-throughput method to measure the sensitivity of yeast cells to genotoxic agents in liquid cultures*. Mutat. Res., 2006. 606: p. 92-105.
173. Dumas, E.M., Ozenne, V., Mielke, R.E. and Nadeau, J.L., *Toxicity of CdTe Quantum Dots in Bacterial Strains*. IEEE Transactions on Nanobioscience, 2009. 8(1): p. 58-64.
174. VanGuilder, H.D., Vrana, K.E. and Freeman, W.M., *Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis*. Biotechniques, 2008. 44(5): p. 619-626.
175. Baranyi, J. and Pin, C., *Estimating bacterial growth parameters by means of detection times*. Appl Environ Microbiol, 1999. 65(2): p. 732-736.
176. Baranyi, J., *Comparison of Stochastic and Deterministic Concepts of Bacterial Lag*. Journal of Theoretical Biology, 1998. 192(3): p. 403-408.
177. Malakar, P.K. and Barker, G.C., *Estimating Risk from Small Inocula by Using Population Growth Parameters*. Applied and Environmental Microbiology, 2009. 75(19): p. 6399-6401.
178. Guillier, L., Pardon, P. and Augustin, J.C., *Influence of stress on individual lag time distributions of Listeria monocytogenes*. Applied and Environmental Microbiology, 2005. 71(6): p. 2940-2948.
179. Garthright, W.E. and Blodgett, R.J., *FDA's preferred MPN methods for standard, large or unusual tests, with a spreadsheet*. Food Microbiology, 2003. 20(4): p. 439-445.
180. Duncan, T.V., *Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors*. Journal of Colloid and Interface Science, 2011. 363(1): p. 1-24.
181. Solsona, F. and Méndez, J.P., *Water Disinfection*, WHO Pan America Health Organization, Editor. 2003, Pan American Center for Sanitary Engineering and Environmental Sciences: Lima.
182. Fabrega, J., Renshaw, J.C. and Lead, J.R., *Interactions of Silver Nanoparticles with Pseudomonas putida Biofilms*. Environ. Sci. Technol., 2009. 43: p. 9004-9009.
183. Rong, X., Huang, Q., He, X., Chen, H., Cai, P. and Liang, W., *Interaction of Pseudomonas putida with kaolinite and montmorillonite: A combination study by equilibrium adsorption, ITC, SEM and FTIR*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008. 64: p. 49-55.

184. Kim, S.-B., Park, S.-J., Lee, C.-G., Choi, N.-C. and Kim, D.-J., *Bacteria transport through goethite-coated sand: Effects of solution pH and coated sand content*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008. 63: p. 236-242.
185. Osaka, T., Nakanishi, T., Shanmugam, S., Takahama, S. and Zhang, H., *Effect of surface charge of magnetite nanoparticles on their internalization into breast cancer and umbilical vein endothelial cells*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009. 71: p. 325-330.
186. Bertorelle, F., Wilhelm, C., Roger, J., Gazeau, F., Ménager, C. and Cabuil, V., *Fluorescence-Modified Superparamagnetic Nanoparticles: Intracellular Uptake and Use in Cellular Imaging*. Langmuir, 2006. 22(12): p. 5385-5391.
187. Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramirez, J.T. and Yacaman, M.J., *The bactericidal effect of silver nanoparticles*. Nanotechnology, 2005. 16: p. 2346-2353.
188. Conner, S.D. and Schmid, S.L., *Regulated portals of entry into the cell*. Nature (London, U. K.), 2003. 422: p. 37-44.
189. Geli, M.I. and Riezman, H., *Endocytic internalization in yeast and animal cells: similar and different*. J. Cell Sci., 1998. 111: p. 1031-1037.
190. Dong, X., Gu, H. and Liu, F., *Effect of halide ions on the surface-enhanced Raman spectroscopy of methylene blue for borohydride-reduced silver colloid*. Journal of Physics: Conference Series, 2011. 277(1): p. 1-6.
191. Radziuk, D., Skirtach, A., Sukhorukov, G., Shchukin, D. and Mohwald, H., *Stabilization of silver nanoparticles by polyelectrolytes and poly(ethylene glycol)*. Macromolecular Rapid Communications, 2007. 28(7): p. 848-855.
192. Baset, S., Akbari, H., Zeynali, H. and Shafie, M., *Size Measurement of Metal and Semiconductor Nanoparticles Via Uv-Vis Absorption Spectra*. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 2011. 6(1): p. 1-8.
193. Kallay, N., Preočanin, T., Šupljika, F., Lützenkirchen, J. and Lovković, M., *Influence of interfacial water layer on surface properties of silver halides: Effect of pH on the isoelectric point*. Journal of Colloid and Interface Science, 2012. 375(1): p. 167-171.
194. Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P., Chiu, J.-F. and Che, C.-M., *Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities*. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2007. 12(4): p. 527-534.
195. El Badawy, A.M., Silva, R.G., Morris, B., Scheckel, K.G., Suidan, M.T. and Tolaymat, T.M., *Surface Charge-Dependent Toxicity of Silver Nanoparticles*. Environmental Science & Technology, 2011. 45(1): p. 283-287.
196. Sarkar, S., Jana, A.D., Samanta, S.K. and Mostafa, G., *Facile synthesis of silver nano particles with highly efficient anti-microbial property*. Polyhedron, 2007. 26(15): p. 4419-4426.

197. Smetana, A.B., Klabunde, K.J., Marchin, G.R. and Sorensen, C.M., *Biocidal Activity of Nanocrystalline Silver Powders and Particles*. Langmuir, 2008. 24: p. 7457-7464.
198. Hwang, E.T., Lee, J.H., Chae, Y.J., Kim, Y.S., Kim, B.C., Sang, B.-I. and Gu, M.B., *Analysis of the toxic mode of action of silver nanoparticles using stress-specific bioluminescent bacteria*. Small, 2008. 4: p. 746-750.
199. van Oss, C.J., *Kinetics and energetics of specific intermolecular interactions*. Journal of Molecular Recognition, 1997. 10(5): p. 203-216.
200. Chen, J.W., Xiu, Z.M., Lowry, G.V. and Alvarez, P.J.J., *Effect of natural organic matter on toxicity and reactivity of nano-scale zero-valent iron*. Water Research, 2011. 45(5): p. 1995-2001.
201. Zhang, Y., Chen, Y., Westerhoff, P., Hristovski, K. and Crittenden, J.C., *Stability of commercial metal oxide nanoparticles in water*. Water Res., 2008. 42: p. 2204-2212.
202. Li, Z., Greden, K., Alvarez, P.J.J., Gregory, K.B. and Lowry, G.V., *Adsorbed Polymer and NOM Limits Adhesion and Toxicity of Nano Scale Zerovalent Iron to E. coli*. Environmental Science & Technology, 2010. 44(9): p. 3462-3467.
203. Lee, S., Kim, K., Shon, H.K., Kim, S.D. and Cho, J., *Biotoxicity of nanoparticles: effect of natural organic matter*. Journal of Nanoparticle Research, 2011. 13(7): p. 3051-3061.
204. Vasseur, C., Baverel, L., Hebraud, M. and Labadie, J., *Effect of osmotic, alkaline, acid or thermal stresses on the growth and inhibition of Listeria monocytogenes*. J Appl Microbiol, 1999. 86(3): p. 469-476.
205. Fernandez-Ibanez, P., Malato, S. and de las Nieves, F.J., *Relationship between TiO₂ particle size and reactor diameter in solar photoreactors efficiency*. Catalysis Today, 1999. 54(2-3): p. 195-204.
206. Geeraerd, A.H., Valdramidis, V. and Van Impe, J.F., *GlnaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves*. International Journal of Food Microbiology, 2005. 102(1): p. 95-105.
207. Berney, M., Weilenmann, H.U., Simonetti, A. and Egli, T., *Efficacy of solar disinfection of Escherichia coli, Shigella flexneri, Salmonella Typhimurium and Vibrio cholerae*. Journal of Applied Microbiology, 2006. 101(4): p. 828-836.
208. Sichel, C., Blanco, J., Malato, S. and Fernandez-Ibanez, P., *Effects of experimental conditions on E. coli survival during solar photocatalytic water disinfection*. Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry, 2007. 189(2-3): p. 239-246.
209. Pagnout, C., Jomini, S., Dadhwal, M., Caillet, C., Thomas, F. and Bauda, P., *Role of electrostatic interactions in the toxicity of titanium dioxide nanoparticles toward Escherichia coli*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012. 92(0): p. 315-321.

210. Zhukova, L.V., Kiwi, J. and Nikandrov, V.V., *TiO₂ nanoparticles suppress Escherichia coli cell division in the absence of UV irradiation in acidic conditions*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2012. 97(0): p. 240-247.
211. Berney, M., Weilenmann, H.-U., Ihssen, J., Bassin, C. and Egli, T., *Specific growth rate determines the sensitivity of Escherichia coli to thermal, UVA, and solar disinfection*. Appl. Environ. Microbiol., 2006. 72: p. 2586-2593.
212. Hayashi, H., Seiki, H., Tsuneda, S., Hirata, A. and Sasaki, H., *Influence of growth phase on bacterial cell electrokinetic characteristics examined by soft particle electrophoresis theory*. J. Colloid Interface Sci., 2003. 264: p. 565-568.
213. Metzger, U., Lankes, U., Fischpera, K. and Frimmel, F.H., *The concentration of polysaccharides and proteins in EPS of Pseudomonas putida and Aureobasidium pullulans as revealed by ¹³C CPMAS NMR spectroscopy*. Appl Microbiol Biotechnol, 2009. 85(1): p. 197-206.
214. Chong, M.N., Jin, B., Zhu, H. and Saint, C., *Bacterial inactivation kinetics, regrowth and synergistic competition in a photocatalytic disinfection system using anatase titanate nanofiber catalyst*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2010. 214(1): p. 1-9.
215. Sontakke, S., Modak, J. and Madras, G., *Effect of inorganic ions, H₂O₂ and pH on the photocatalytic inactivation of Escherichia coli with silver impregnated combustion synthesized TiO₂ catalyst*. Applied Catalysis B: Environmental, 2011. 106(3-4): p. 453-459.
216. Watts, R.J., Kong, S., Orr, M.P., Miller, G.C. and Henry, B.E., *Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent*. Water Research, 1995. 29(1): p. 95-100.
217. Rincon, A.-G. and Pulgarin, C., *Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on E. coli K12 photocatalytic inactivation by TiO₂. Implications in solar water disinfection*. Appl. Catal., B, 2004. 51: p. 283-302.
218. Alrousan, D.M.A., Dunlop, P.S.M., McMurray, T.A. and Byrne, J.A., *Photocatalytic inactivation of E. coli in surface water using immobilised nanoparticle TiO₂ films*. Water Research, 2009. 43(1): p. 47-54.
219. El-Morsi, T.M., Budakowski, W.R., Abd-El-Aziz, A.S. and Friesen, K.J., *Photocatalytic Degradation of 1,10-Dichlorodecane in Aqueous Suspensions of TiO₂: A Reaction of Adsorbed Chlorinated Alkane with Surface Hydroxyl Radicals*. Environmental Science & Technology, 2000. 34(6): p. 1018-1022.
220. Kesselman, J.M., Lewis, N.S. and Hoffmann, M.R., *Photoelectrochemical Degradation of 4-Chlorocatechol at TiO₂ Electrodes: Comparison between Sorption and Photoreactivity*. Environmental Science & Technology, 1997. 31(8): p. 2298-2302.
221. Gogniat, G., Thyssen, M., Denis, M., Pulgarin, C. and Dukan, S., *The bactericidal effect of TiO₂ photocatalysis involves adsorption onto catalyst and the loss of membrane integrity*. FEMS Microbiol. Lett., 2006. 258: p. 18-24.

222. Liao, C.-H., Kang, S.-F. and Wu, F.-A., *Hydroxyl radical scavenging role of chloride and bicarbonate ions in the H₂O₂/UV process*. *Chemosphere*, 2001. 44(5): p. 1193-1200.
223. Jayson, G.G., Parsons, B.J. and Swallow, A.J., *Some simple, highly reactive, inorganic chlorine derivatives in aqueous solution. Their formation using pulses of radiation and their role in the mechanism of the Fricke dosimeter*. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 1973. 69: p. 1597-1607.
224. Petosa, A.R., Jaisi, D.P., Quevedo, I.R., Elimelech, M. and Tufenkji, N., *Aggregation and Deposition of Engineered Nanomaterials in Aquatic Environments: Role of Physicochemical Interactions*. *Environmental Science & Technology*, 2010. 44(17): p. 6532-6549.
225. Ohshima, H. and Kondo, T., *On the electrophoretic mobility of biological cells*. *Biophys. Chem.*, 1991. 39: p. 191-198.
226. van der Wal, A., Minor, M., Norde, W., Zehnder, A.J.B. and Lyklema, J., *Electrokinetic potential of bacterial cells*. *Langmuir*, 1997. 13(2): p. 165-171.
227. Tada, H., Yamamoto, M. and Ito, S., *Promoting Effect of MgOx Submonolayer Coverage of TiO₂ on the Photoinduced Oxidation of Anionic Surfactants*. *Langmuir*, 1999. 15: p. 3699-3702.
228. Tada, H., Yamamoto, M. and Ito, S., *MgOx submonolayer formation on TiO₂ and its effect on the photocatalytic oxidation of sodium dodecylbenzenesulfonate*. *J. Electrochem. Soc.*, 2000. 147: p. 613-616.
229. Shao, Z., Tian, B. and Zhang, J., *Enhanced photocatalytic activity of mesoporous TiO₂ with MgO coating*. *Mater. Lett.*, 2009. 63: p. 1705-1708.
230. Lin, C. and Lin, K.-S., *Photocatalytic oxidation of toxic organohalides with TiO₂/UV: The effects of humic substances and organic mixtures*. *Chemosphere*, 2007. 66(10): p. 1872-1877.
231. Liu, S., Lim, M., Fabris, R., Chow, C., Chiang, K., Drikas, M. and Amal, R., *Removal of humic acid using TiO₂ photocatalytic process – Fractionation and molecular weight characterisation studies*. *Chemosphere*, 2008. 72(2): p. 263-271.
232. Neale, P.A., Antony, A., Gernjak, W., Leslie, G. and Escher, B.I., *Natural versus wastewater derived dissolved organic carbon: Implications for the environmental fate of organic micropollutants*. *Water Research*, 2011. 45(14): p. 4227-4237.
233. Kim, J., Shan, W., Davies, S.H.R., Baumann, M.J., Masten, S.J. and Tarabara, V.V., *Interactions of Aqueous NOM with Nanoscale TiO₂: Implications for Ceramic Membrane Filtration-Ozonation Hybrid Process*. *Environmental Science & Technology*, 2009. 43(14): p. 5488-5494.

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der Zielsetzung und des Verfahrens dieser Arbeit .	3
Abbildung 2.1: Schema der möglichen Intraaktionen der NP untereinander und Interaktion mit der Zelle.	8
Abbildung 2.2: Schema typischer Desinfektionskinetiken: A) Chick-Watson B) Chick-Watson verzögert C) Hom D) sigmoidaler Desinfektionsverlauf.....	16
Abbildung 2.3: Zellwandstruktur von gram-negativen Bakterien.....	17
Abbildung 2.4: Zellwandstruktur von gram-positiven Bakterien	17
Abbildung 2.5: Modelldarstellung der Wachstumskurve nach Gleichung (2.13).....	19
Abbildung 2.6: Schematische Darstellung der elektrischen Doppelschicht und des Zetapotentials an einem negativ geladenen Teilchen in wässriger Lösung	20
Abbildung 2.7: Schema des Zetapotentialverlaufs in Abhängigkeit vom pH-Wert	22
Abbildung 2.8: Modell des DLVO Interaktionsprofils	23
Abbildung 2.9: Kontaktwinkel eines Flüssigkeitstropfens auf einer Oberfläche.....	25
Abbildung 2.10: Grundbegriffe der Adsorption.....	26
Abbildung 2.11: Schematische Darstellung der Partikelbewegung im elektrischen Feld	27
Abbildung 2.12: Aufbau des Zetasizers	28
Abbildung 2.13: Prinzip der DLS Messung	29
Abbildung 2.14: Zeitlicher Verlauf des Korrelationskoeffizienten bei der DLS Messung für große und kleine Partikel	29
Abbildung 2.15: Verteilungen einer 1:1 Mischung von 10 nm und 100 nm Partikeln	30
Abbildung 3.1: Oberflächenmodifikation der eingesetzten SiO ₂ NP. SiO ₂ -CL (links) und SiO ₂ -SM (rechts) unterscheiden sich durch die Aluminat-Beschichtung beim SiO ₂ -CL. Quelle: Grace Davison LUDOX [®] Produktbroschüre.....	32
Abbildung 3.2: Aufbau der Filtrationseinrichtungen zur Messung der Kontaktwinkel. a) 0,45 µm Filtration für MO; b) Nanofiltration für NP	34
Abbildung 3.3: Aufbau des Kontaktwinkelmessgeräts	35
Abbildung 3.4: Zusammensetzung der Messproben zur Erstellung von Adsorptionsisothermen; a) NOM an NP; b) NP an MO	36
Abbildung 3.5: Schematischer Aufbau des Sonnenlichtsimulators [142].....	38
Abbildung 3.6: Schematischer Aufbau der Aktinometrie	39
Abbildung 3.7: Vergleich der OH-Bildungskinetiken auf Grund unterschiedlicher Reaktionsbedingungen.....	40
Abbildung 4.1: Zetapotential der NP in Na ⁺ und Ca ²⁺ Lösungen bei verschiedenen pH-Werten.....	42
Abbildung 4.2: Größenverteilung von SiO ₂ , Ag und FeOx-NP in Salzlösung (c = 10 mmol L ⁻¹)	44
Abbildung 4.3: Größe der FeOx-NP in Abhängigkeit von der Ionenstärke und dem pH-Wert	45
Abbildung 4.4: Adsorptionsisothermen mit Langmuir Fits von FS an SiO ₂ NP (oben) und korrespondierende Zetapotentialmessungen (unten) bei verschiedenen pH-Werten in einer 10 mmol L ⁻¹ NaCl-Lösung (links) und in einer 10 mmol L ⁻¹ CaCl ₂ -Lösung (rechts).....	47
Abbildung 4.5: Adsorptionsisothermen mit Langmuir Fits von FS an FeOx-NP (oben) und korrespondierende Zetapotentialmessungen (unten) bei verschiedenen pH-	

Werten in einer 10 mmol L ⁻¹ NaCl-Lösung (links) und in einer 10 mmol L ⁻¹ CaCl ₂ -Lösung (rechts).....	48
Abbildung 4.6: Adsorptionsisothermen mit Langmuir Fits von FS an TiO ₂ NP und korrespondierenden Zetapotentialmessungen bei verschiedenen pH-Werten in einer 10 mmol L ⁻¹ NaCl Lösung.....	49
Abbildung 4.7: Zetapotential der MO in Na ⁺ und Ca ²⁺ Lösungen bei verschiedenen pH-Werten	51
Abbildung 4.8: Wachstumskurven von verschiedenen Verdünnungen von <i>P. putida</i> durch Absorptionmessungen. Die Zellkonzentration des Inokulums betrug bei 1) 1,4·10 ⁸ Zellen mL ⁻¹ und wurde für die weiteren Wachstumskurven jeweils 1:10 verdünnt bis zu einer Konzentration bei 7) von 1,4·10 ² Zellen mL ⁻¹	52
Abbildung 4.9: Anpassung von verschiedenen Verdünnungen von <i>P. putida</i> mit der mod. Gompertzfunktion	53
Abbildung 4.10: Vergleich der gefitteten Parameter aus der mod. Gompertzfunktion für I) Verdünnungsreihe von <i>P. putida</i> II) Zugabe von Dichlorphenol ins Medium III) Kontakt von Ag-NP und <i>P. putida</i> im Medium und IV) Kontakt von Ag-NP und <i>P. putida</i> in 10 mmol L ⁻¹ NaCl Lösung	56
Abbildung 4.11: Exponentieller Fit der Detektionszeiten der verschiedenen Verdünnungen von <i>P. putida</i>	57
Abbildung 4.12: Schema der Verdopplung von geschädigten und ungeschädigten MO.....	59
Abbildung 4.13: Vergleich der Ergebnisse vom MPN- mit dem Detektionszeit-Verfahren bei der Schädigung von <i>E. coli</i> durch Ag-NP in NaCl-Lösung (<i>c</i> = 10 mmol L ⁻¹) ..	59
Abbildung 4.14: Auswirkungen der Hintergrundlösung auf die Toxizität von NP; A) <i>P. putida</i> + Ag-NP; B) <i>L. plantarum</i> + SiO ₂ -CL-NP	60
Abbildung 4.15: Schädigung von <i>E. coli</i> bei einer Zellkonzentration von 7·10 ⁷ mL ⁻¹ in Abhängigkeit von der Partikelart und -konzentration	62
Abbildung 4.16: Schädigung von <i>L. plantarum</i> bei einer Zellkonzentration von 4·10 ⁷ mL ⁻¹ in Abhängigkeit von der Partikelart und -konzentration	62
Abbildung 4.17: Schädigung von <i>P. putida</i> bei einer Zellkonzentration vom 1,4·10 ⁸ mL ⁻¹ in Abhängigkeit von der Partikelart und -konzentration	63
Abbildung 4.18: Schädigung von <i>S. cerevisiae</i> bei einer Zellkonzentration von 3·10 ⁶ mL ⁻¹ in Abhängigkeit von der Partikelart und -konzentration	63
Abbildung 4.19: Volumenverteilung des hydrodynamischen Durchmessers von FeOx bei pH 4 und 10 in <i>c</i> (NaCl)=10 mmol L ⁻¹ (links). Stabilität der FeOx-Suspension über die Zeit (rechts)	64
Abbildung 4.20: Vitale Zellen von <i>E. coli</i> und <i>S. cerevisiae</i> in Abhängigkeit vom pH-Wert. 65	
Abbildung 4.21: Sorptionsisothermen und REM Aufnahmen der Beladung von FeOx an <i>E. coli</i> (links) und <i>S. cerevisiae</i> (rechts)	66
Abbildung 4.22: Toxizität von FeOx an <i>S. cerevisiae</i> und <i>E. coli</i> bei verschiedenen pH-Werten	68
Abbildung 4.23: Schädigung von <i>E. coli</i> in Abhängigkeit vom pH-Wert mit und ohne Zugabe von FeOx-NP	69
Abbildung 4.24: Mittlerer hydrodynamischer Durchmesser von FeOx im Überstand nach der Sorption in Abhängigkeit von der Gleichgewichtskonzentration	70
Abbildung 4.25: Volumengewichtete Größenverteilung von FeOx vor und nach der Sorption an <i>E. coli</i> in Abhängigkeit von der Anfangskonzentration (links) und Modellschaubild zur Kurvenanpassung in Relation zur Sorption (rechts)	70

Abbildung 4.26: Variation der hydrodynamischen Größenverteilung in Abhängigkeit von $\rho_0(\text{FeOx})$ nach der Sorption bei pH 4 an <i>E. coli</i> (links) und <i>S. cerevisiae</i> (rechts) ..	71
Abbildung 4.27: Beeinträchtigung der Größenmessung von NP in Anwesenheit von MO bei der DLS	72
Abbildung 4.28: Sorptionskinetiken bei einer Startkonzentration $\rho_0(\text{FeOx}) = 60 \text{ mg L}^{-1}$ an <i>E. coli</i> und <i>S. cerevisiae</i> bei pH 4.	73
Abbildung 4.29: TEM Aufnahmen von <i>S. cerevisiae</i> mit sorbierten FeOx-NP und deren mögliche Aufnahme bei pH 4	73
Abbildung 4.30: Sorptionsisotherme der Beladung von Ag an <i>E. coli</i>	75
Abbildung 4.31: A) UV/VIS Absorptionsspektrum der Ag-NP $\rho_0(\text{Ag}) = 21 \text{ mg L}^{-1}$ und B) Absorptionsspektren nach Zugabe verschiedener Matrices mit der jeweiligen Konzentration $c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$ zum Zeitpunkt $t = 60 \text{ min}$. Die innere Grafik zeigt die Verschiebung der Absorptionsmaxima.	77
Abbildung 4.32: Abnahme der Absorption ($\lambda = 392 \text{ nm}$) der Ag-NP $\rho_0(\text{Ag}) = 19,8 \text{ mg L}^{-1}$ in Abhängigkeit von der Zeit und Hintergrundmatrix ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$).....	77
Abbildung 4.33: Schädigung von <i>E. coli</i> durch Ag-NP und Ag^+ Ionen in unterschiedlicher Hintergrund-matrix. Die Konzentration der Hintergrundmatrix war $c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$. Die Linien sind die jeweiligen Anpassungen der Dosis-Wirkungs-Kurve.....	79
Abbildung 4.34: Schädigung von <i>E. coli</i> durch Ag-NP in Abhängigkeit von der Kontaktzeit in der Salzlösung	80
Abbildung 4.35: Energieanteile und deren Summe bei der Interaktion von <i>L. plantarum</i> mit A) $\text{SiO}_2\text{-CL}$ und B) $\text{SiO}_2\text{-SM}$ in Abhängigkeit vom Abstand in $c(\text{NaCl}) = 10 \text{ mmol L}^{-1}$	84
Abbildung 4.36: <i>L. plantarum</i> mit anhaftenden NP A) $\text{SiO}_2\text{-CL}$ und B) $\text{SiO}_2\text{-SM}$. Die MO wurden für 30 min mit SiO_2 ($\rho_0 = 10 \text{ mg L}^{-1}$) in einer NaCl Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$) in Kontakt gebracht und anschließend über einen $0,2 \mu\text{m}$ Filter abfiltriert	85
Abbildung 4.37: Toxizität von $\text{SiO}_2\text{-CL}$ an <i>L. plantarum</i> in Abhängigkeit von der Anfangszellzahl und der NP Konzentration (A). Toxizität in Abhängigkeit von der Anzahl der SiO_2 Agglomerate je Bakterium bezogen auf die Anfangszellzahl (B). 86	
Abbildung 4.38: Schematische Darstellung der Adsorptionsisotherme und der Kopplung der Konzentration an FS an die Konzentration von SiO_2 NP	86
Abbildung 4.39: Vergleich der Toxizität von $\text{SiO}_2\text{-CL}$ an <i>L. plantarum</i> mit ohne vorheriger Beladung der NP mit FS. Die Konzentration an DOC der Fulvinsäure betrug 24% der Konzentration von SiO_2	87
Abbildung 4.40: A) Abnahme der Toxizität an <i>L. plantarum</i> bei Erhöhung der Konzentration an DOC. B) Darstellung der Toxizität von $\text{SiO}_2\text{-CL-NP}$ gegen <i>L. plantarum</i> als Adsorptionsisotherme in Abhängigkeit von der Beladung der NP mit Fulvinsäure. 88	
Abbildung 4.41: Größenveränderung der $\text{SiO}_2\text{-CL}$ Agglomerate in Abhängigkeit von der DOC Konzentration	88
Abbildung 4.42: Vergleich der Toxizität von $\text{SiO}_2\text{-CL}$ an <i>P. putida</i> (links) und <i>E. coli</i> (rechts) mit und ohne vorheriger Beladung der NP mit FS	89
Abbildung 4.43: Einfluss des pH-Werts auf die Überlebensrate der Mikroorganismen	90
Abbildung 4.44: Schädigung von <i>E. coli</i> bei unterschiedlichen pH-Werten durch Bestrahlung mit simuliertem Sonnenlicht	91

Abbildung 4.45: Abnahme der Transmission in Abhängigkeit von der TiO ₂ -Konzentration. Das Neben-bild zeigt die Abnahme der Photonen durch Wasser und eine MO-Suspension im Vergleich zum Versuch ohne Proben über dem Aktinometer.	92
Abbildung 4.46: Schädigung von <i>E. coli</i> bei verschiedenen pH-Werten mit fortschreitender Bestrahlungszeit und $\rho_0(\text{TiO}_2) = 30 \text{ mg L}^{-1}$	93
Abbildung 4.47: Geschwindigkeitskonstante k_{max} in Abhängigkeit von der TiO ₂ -Konzentration bei der photokatalytischen Desinfektion von <i>E. coli</i>	94
Abbildung 4.48: Geschwindigkeitskonstante k_{max} in Abhängigkeit von der TiO ₂ -Konzentration bei der photokatalytischen Desinfektion von <i>P. putida</i>	95
Abbildung 4.49: REM-Aufnahmen von adsorbiertem TiO ₂ an <i>E. coli</i> bei links) pH 4 und rechts) pH 10. Die <i>E. coli</i> - TiO ₂ Suspensionen wurden auf einem 0,2 μm (links) und 0,4 μm (rechts) Polycarbonat-filter abgetrennt	96
Abbildung 4.50: Schädigung von <i>E. coli</i> mit $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ bei pH 10 in NaCl-Lösungen	97
Abbildung 4.51: k_{max} bei $\rho_0(\text{TiO}_2)=100 \text{ mg L}^{-1}$ in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Wertigkeit des Kations im Vergleich zu RW	98
Abbildung 4.52: Interaktionsprofil von <i>E. coli</i> mit TiO ₂ in NaCl-Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$)	100
Abbildung 4.53: REM Aufnahme von <i>E. coli</i> Zellen mit NOM ummanteltem TiO ₂	101
Abbildung 4.54: A) Photokatalytische Desinfektionskinetik für unterschiedliche DOC Konzentrationen bei pH 4 und $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$. B) Zeitliche Veränderung des Zetapotentials von TiO ₂ für unterschiedliche DOC-Konzentration bei pH 4 in Abwesenheit von <i>E. coli</i>	102
Abbildung 4.55: Geschwindigkeitskonstante k für die Schädigung von <i>E. coli</i> bei unterschiedlichen DOC Konzentrationen in Abhängigkeit vom Zetapotential bei pH 4	103
Abbildung 4.56: Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstante k_{max} und der Schulterlänge S_l der Desinfektionskinetik von <i>E. coli</i> von der Vorbestrahlungszeit der TiO ₂ /NOM Suspension bei Fulvinsäure $\rho(\text{DOC})= 2 \text{ mg L}^{-1}$ (links) und Sickerwasser $\rho(\text{DOC})=4,2 \text{ mg L}^{-1}$ (rechts)	104
Abbildung 4.57: Änderung der Extinktion bzw. der OH-Radikal Generierung in Abhängigkeit von der Anwesenheit der NOM.....	105
Abbildung 4.58: A) Zeitliche Änderung der Extinktion von TiO ₂ während einer Bestrahlung von unterschiedlichen DOC-Konzentrationen. B) Zeitlicher Verlauf der Reaktionskonstante für die OH-Radikalbildung bei $\rho_0(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$, $\rho_0(\text{DOC}) = 2 \text{ mg L}^{-1}$ und pH 4	106
Abbildung 4.59: Schematische Darstellung der Proben mit freiem und gebundenem NOM und einer Resuspension mit gebundenem NOM an TiO ₂	107
Abbildung 4.60: Vergleich der Schulterlängen S_l und der Geschwindigkeitskonstanten k_{max} zwischen freier und gebundener NOM bei pH 4 mit $\rho(\text{TiO}_2) = 100 \text{ mg L}^{-1}$ und $\rho(\text{DOC}) = 2 \text{ mg L}^{-1}$	108
Abbildung 5.1: Schematische Darstellung der einzelnen Kapitel der Arbeit	110
Abbildung A.1: TEM Aufnahmen einer getrockneten FeOx-Suspension und Überprüfung der Partikeldurchmesser.	144
Abbildung A.2: Kalibrierung der gemessenen Absorptionswerte der Fulvinsäure am UV/VIS Spektrometer bei $\lambda=254 \text{ nm}$ in Quarzküvette mit 5 cm Schichtdicke über verschiedene DOC-Konzentrationen	145

Abbildung A.3: Adsorptionskinetik von FS an SiO ₂ -CL-NP (pH 7; 10 mmol L ⁻¹ NaCl). Die Adsorption zeigt keine Zeitabhängigkeit innerhalb des experimentellen Designs und war nach wenigen Minuten abgeschlossen.	145
Abbildung A.4: Toxizität der NP Suspension vor und nach der Ultrazentrifugation. Nach der UZ befinden sich gelöste Ag ⁺ Ionen im Überstand.....	146
Abbildung A.5: Gemessene Absorption von AgNO ₃ in einer NaCl Matrix bei λ ₃₉₂ und λ ₆₀₀ (linke Seite) und Berechnung der einzelnen Streuungs- und Absorptionsanteile von Ag-NP in NaCl Matrix (rechte Seite).....	146
Abbildung A.6: Schädigung von <i>E. coli</i> durch Ag-NP NanoPure und Ag ⁺ Ionen in unterschiedlicher Hintergrundmatrix	147
Abbildung A.7: Änderung der Absorption von Ag-NP in NaCl. NaCl wurde nach 15 s hinzugegeben. Die Zugabe von Cystein erfolgte nach 30 min.	147
Abbildung A.8: Bildung von ROS in <i>E. coli</i> durch H ₂ O ₂ und Ag-NP. H ₂ O ₂ diente als Standard zur Generierung von ROS. Die ROS wurden durch Reaktion mit dem Fluoreszenzfarbstoff H ₂ DFCDA gemessen.	148
Abbildung A.9: Beeinflussung der Toxizität von SiO ₂ -CL gegenüber <i>L. plantarum</i> bei Erhöhung der Konzentration an DOC bei hohen SiO ₂ Konzentrationen	148
Abbildung A.10: Zetapotential von TiO ₂ (ρ = 100 mg L ⁻¹) in einer Phosphat Lösung (c = 10 mmol L ⁻¹)	149

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: NP und ihre Anwendungen	6
Tabelle 2.2: Übersicht über EC_{50} Werte von verschiedenen NP an MO in Abhängigkeit von der Größe aus der Literatur.	9
Tabelle 2.3: Übersicht über die gemessene Toxizität von NP an MO in Abhängigkeit von der Partikelgröße, der MO-Konzentration und der dispersen Phase.	11
Tabelle 3.1: pH-Werte zur Messung des hydrodynamischen Durchmessers der NP per DLS	34
Tabelle 3.2: Oberflächenenergien in $mJ\ m^{-2}$ der eingesetzten Flüssigkeiten. Die Gesamtenergie (tot) berechnet sich aus der Addition des unpolaren Anteils (LW) mit dem polaren Anteil der Energie (AB). Der polare Anteil setzt sich aus dem Elektronenakzeptor und dem Elektronendonator Parameter nach folgender Gleichung $\gamma^{AB} = 2\sqrt{\gamma^+ \gamma^-}$ zusammen.	35
Tabelle 3.3: Endkonzentrationen der NP im PS-Röhrchen	36
Tabelle 4.1: Gemessene Kontaktwinkel in $^\circ$ mit Wasser, Formamid und Diiodomethan an den NP	43
Tabelle 4.2: Vergleich der Primärdurchmesser der NP mit dem Z-Average aus der DLS	43
Tabelle 4.3: Parameter und Bestimmtheitsmaß für die Anpassungen nach Langmuir bei der Adsorption von FS an NP	46
Tabelle 4.4: Gemessene Kontaktwinkel in $^\circ$ mit Wasser, Formamid und Diiodomethan an den MO	51
Tabelle 4.5: Wahrscheinlichkeitsverteilung für die Zellzahl im Inokulum bei der größten Verdünnungsstufe $1,4 \cdot 10^2$ Zellen mL^{-1}	53
Tabelle 4.6: Zetapotential der NP und MO bei den ausgewählten pH-Werten	65
Tabelle 4.7: Parameter der Langmuir Anpassung für die Sorption von FeOx an <i>S. cerevisiae</i> und <i>E. coli</i>	67
Tabelle 4.8: Ermittelte EC_{50} Werte für unterschiedliche Ag Spezies	79
Tabelle 4.9: Gemessene Kontaktwinkel und die daraus berechneten Anteile der Oberflächenenergien für SiO_2 und <i>L. plantarum</i>	84
Tabelle 4.10: Berechnete Oberflächen- und Adhäsionsenergien von <i>E. coli</i> und TiO_2 . Die Hamaker Konstante A_{132} steht für das System <i>E. coli</i> /Wasser/ TiO_2	99
Tabelle A.1: LB-Medium	143
Tabelle A.2: YPG-Medium	143
Tabelle A.3: MRS-Medium	143
Tabelle A.4: Metalloide, Anionen und DOC Gehalt des Sickerwassers	149

9 Abkürzungsverzeichnis

9.1 Lateinische Symbole

A	Hamaker-Konstante
AB	Lewis-Säure-Base Anteil (acid-base) an den Wechselwirkungen zwischen zwei Körpern
B	Oberer Grenzwert der Wachstumsfunktion nach Gompertz
DCP	3,5-Dichlorphenol
DDL	Diacetyldihydrolutidin
EC_{50}	Konzentration einer Substanz, bei der 50 % der Population einen definierten Effekt zeigt, der jedoch nicht mit einer Letalität der Zellen einhergeht
DLS	dynamische Lichtstreuung
DOC	gelöster organischer Kohlenstoff
FeOx	Eisenoxid
FTIR	Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie
FS	Fulvinsäure
HS	Huminsäure
I	Ionenstärke
ICP-OES	optische Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppeltem Plasma
IEP	isoelektrischer Punkt
KBE	Kolonie bildende Einheiten
k	Geschwindigkeitskonstante
k_{max}	Geschwindigkeitskonstante bei der photokatalytischen Desinfektion nach dem Modell von Geerard
k_B	Boltzmann-Konstante
K_L	Affinitätsparameter der Langmuir-Adsorption
Lb	Leitungsband
LB	Luria-Bertani
LD	Letale Dosis
LPS	Lipopolysaccharidschicht
LW	Lifshitz/ van der Waals Anteil an den Wechselwirkungen zwischen zwei Körpern
Me^{n+}	Metall-Ionenn
MPN	Most probable number
MTP	Mikrotiterplatte
MO	Mikroorganismen
N_0	Anfangszellkonzentration

NOM	natürliche organische Materie
NP	Nanopartikel
OD ₆₀₀	Optische Dichte (gemessene Absorption am Photometer bei $\lambda = 600 \text{ nm}$)
QD	Quantum Dots
PS-Röhrchen	Polystyrol-Röhrchen
q _{max}	maximale Beladung bei der Langmuir-Adsorption
REM	Rasterelektronenmikroskopie
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RW	MilliQ / Reinstwasser (spezifischer Widerstand = 18,2 M Ω cm)
Sl	Schulterlänge bei der photokatalytischen Desinfektion
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
t _{lag}	Dauer der Lag-Phase von MO
u	elektrophoretische Mobilität
Vb	Valenzband

9.2 Griechische Symbole

κ	Debye-Hückel Parameter
λ	Wellenlänge
λ_0	Korrelationslänge der Moleküle in der kontinuierlichen Phase
μ	spezifische Wachstumsrate von MO
ρ	Massenkonzentration
τ	Lag-Zeit einer einzelnen Zelle
Ψ	Oberflächenpotential

A Anhang

9.2.1.1 Zusammensetzung der Medien für die MO

Alle Stämme von *E. coli* und *P. putida* wurden in Luria Bertani (LB) Medium kultiviert, das in folgenden Konzentrationen angesetzt wird .

Tabelle A.1: LB-Medium

Bestandteil	Menge	
Pepton aus Casein	10	g
NaCl	5	g
Hefeextrakt	5	g
Destilliertes Wasser	1000	mL

S. cerevisiae wurde in Yeast Peptone Glucose (YPG) Medium kultiviert. Die Glucose wurde separat von den anderen Bestandteilen autoklaviert und danach zusammengeführt.

Tabelle A.2: YPG-Medium

Bestandteil	Menge	
Pepton aus Casein	20	g
Hefeextrakt	10	g
Destilliertes Wasser	1000	mL
Glucose	20	g

L. plantarum wurde in MRS Medium kultiviert, das aus folgenden Komponenten zusammengesetzt ist. Die Glucose wurde separat von den anderen Bestandteilen autoklaviert und danach zugeführt.

Tabelle A.3: MRS-Medium

Bestandteil	Menge	
Pepton aus Casein	10	g
Hefeextrakt	5	g
Fleischextrakt	10	g
Glucose	20	g
Tween 80	1	g
K ₂ HPO ₄	2	g
Na-acetat	5	g
(NH ₄) ₂ -Citrat	2	g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,2	g
MnSO ₄ x H ₂ O	0,05	g
Destilliertes Wasser	1000	mL

Die Nährmedien wurden zu je 50 mL in 250 mL Erlenmeyerkolben verteilt, mit Sterilstopfen verschlossen und 20 min bei 121 °C autoklaviert.

9.2.1.2 Charakterisierung der NP

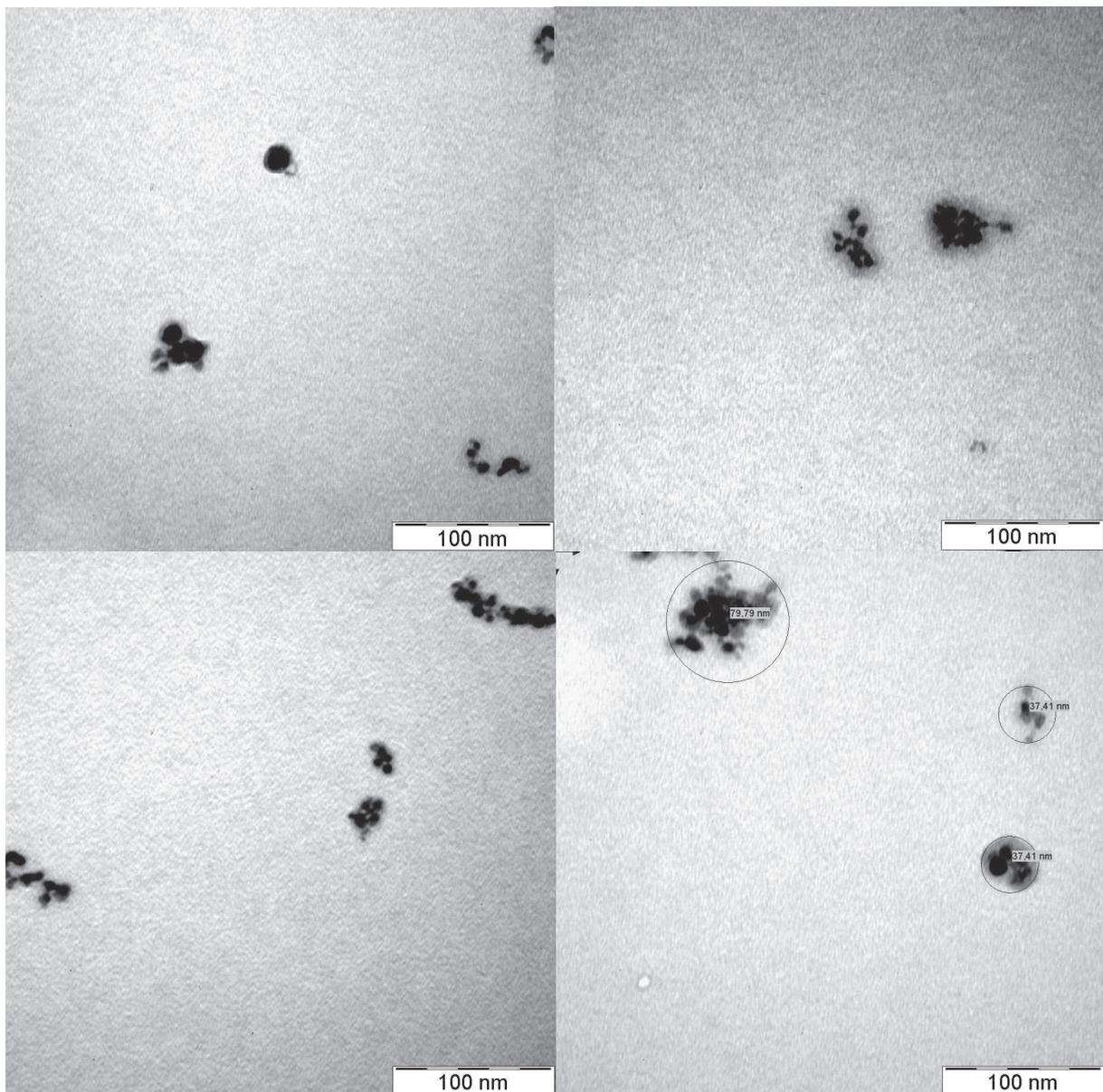


Abbildung A.1: TEM Aufnahmen einer getrockneten FeO_x-Suspension und Überprüfung der Partikeldurchmesser.

9.2.1.3 Adsorption von NOM an NP

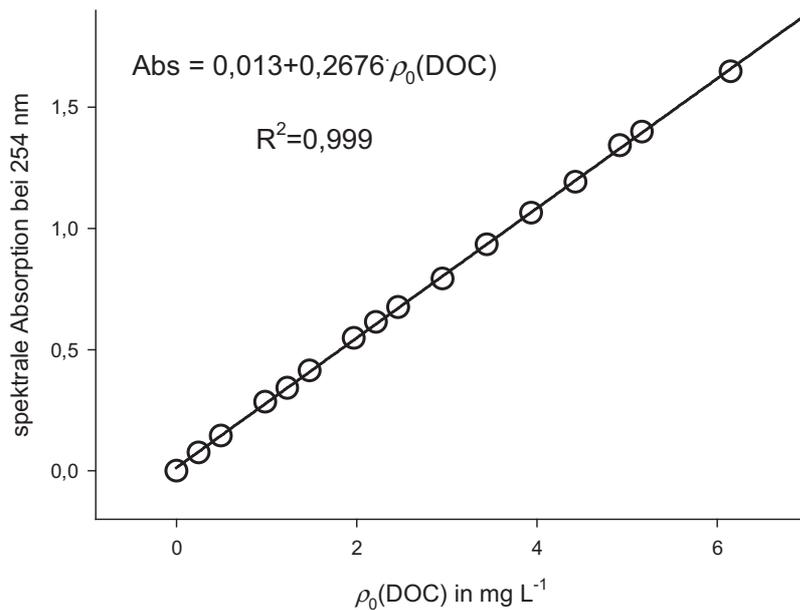


Abbildung A.2: Kalibrierung der gemessenen Absorptionswerte der Fulvinsäure am UV/VIS Spektrometer bei $\lambda=254$ nm in Quarzküvette mit 5 cm Schichtdicke über verschiedene DOC-Konzentrationen

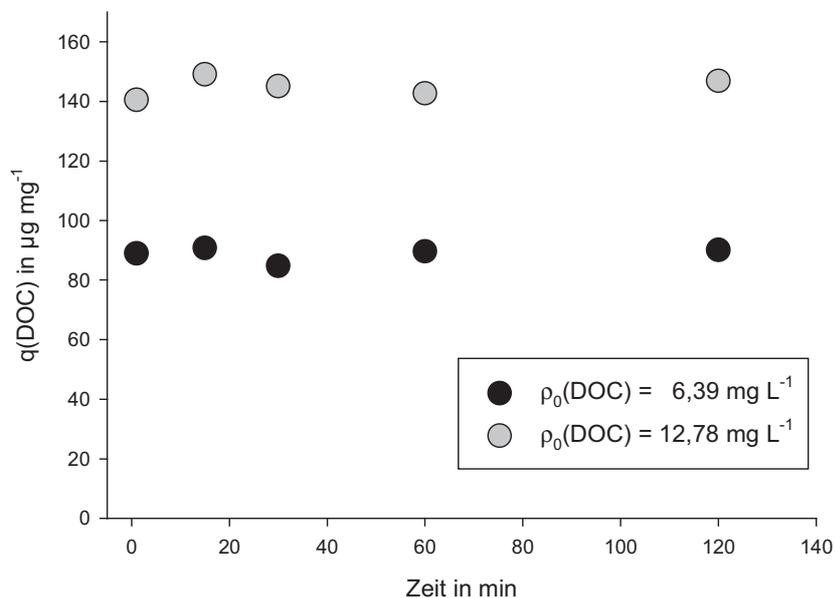


Abbildung A.3: Adsorptionskinetik von FS an $\text{SiO}_2\text{-CL-NP}$ ($\text{pH } 7$; $10 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaCl}$). Die Adsorption zeigt keine Zeitabhängigkeit innerhalb des experimentellen Designs und war nach wenigen Minuten abgeschlossen.

9.2.1.4 Berechnung der MO-Oberfläche

Die geometrische Form der Mikroorganismen wurden als ellipsoid angenommen. Die Oberfläche eines Ellipsoids berechnet sich aus der Größe der Halbachsen mit $a > b = c$ nach folgender Gleichung:

$$S = 2\pi c^2 \left(1 + \frac{1}{k} \frac{\arcsin \varepsilon}{\varepsilon} \right) \quad (\text{A.1})$$

mit $\varepsilon = \sqrt{1 - k^2}$ und $k = \frac{c}{a}$

Die Größen für die beiden Halbachsen wurden aus Mikroskopieaufnahmen erhalten. Für *S. cerevisiae* war $a = 4,1 \pm 0,44 \mu\text{m}$ und $b = c = 3,1 \pm 0,30 \mu\text{m}$ bei $n = 23$. Bei *E. coli* waren $a = 1,3 \pm 0,30 \mu\text{m}$ und $b = c = 0,5 \pm 0,07 \mu\text{m}$ bei $n = 31$.

9.2.1.5 Wechselwirkungen der Ag-NP mit der Matrix und mit MO

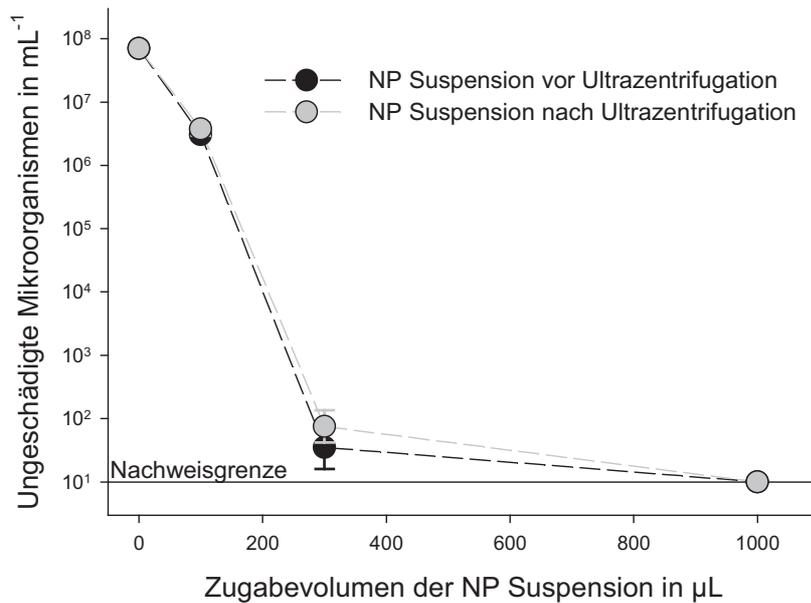


Abbildung A.4: Toxizität der NP Suspension vor und nach der Ultrazentrifugation. Nach der UZ befinden sich gelöste Ag^+ Ionen im Überstand

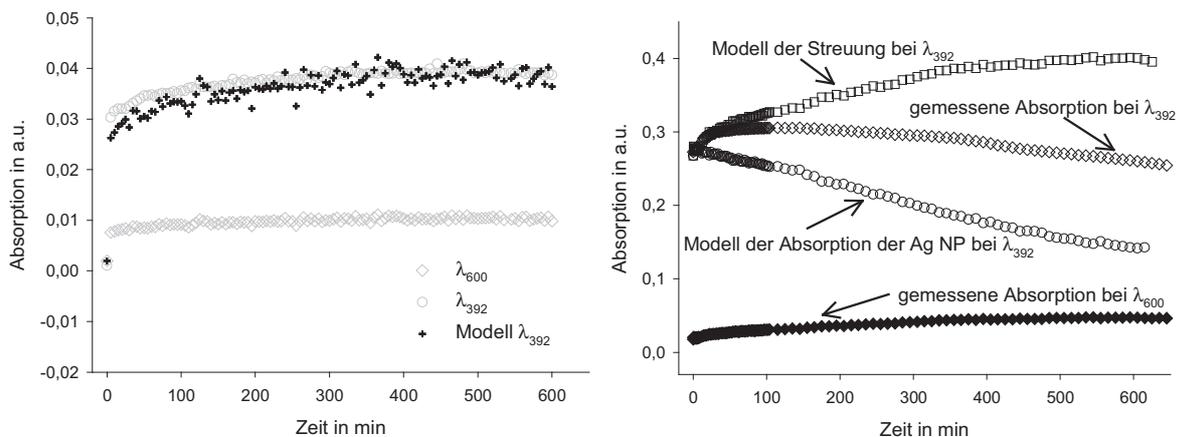


Abbildung A.5: Gemessene Absorption von AgNO_3 in einer NaCl Matrix bei λ_{392} und λ_{600} (linke Seite) und Berechnung der einzelnen Streuungs- und Absorptionsanteile von Ag-NP in NaCl Matrix (rechte Seite)

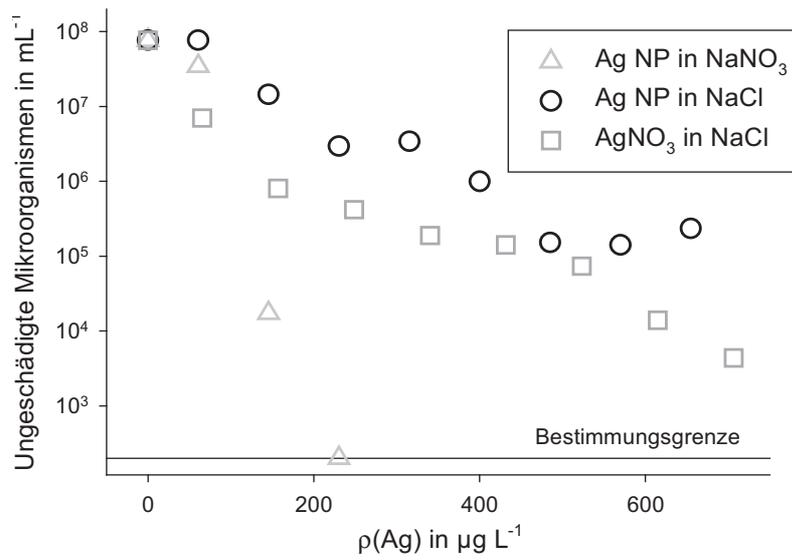


Abbildung A.6: Schädigung von *E. coli* durch Ag-NP NanoPure und Ag^+ Ionen in unterschiedlicher Hintergrundmatrix

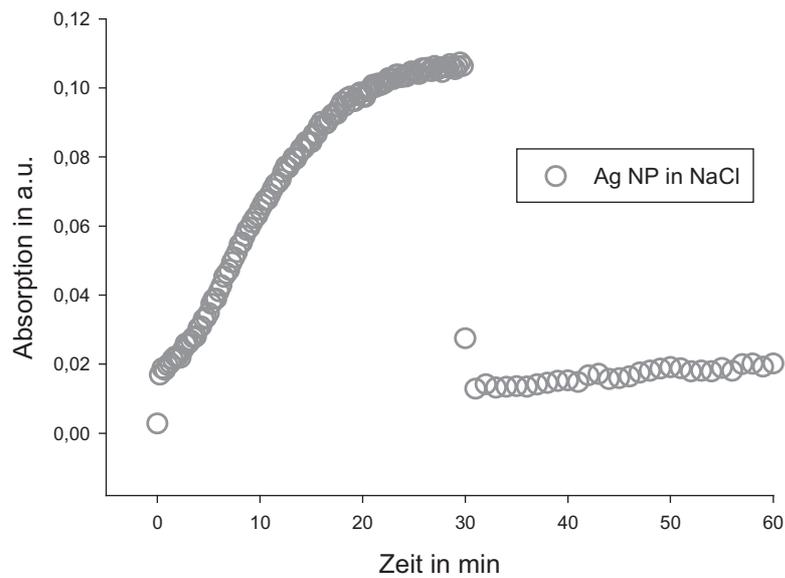


Abbildung A.7: Änderung der Absorption von Ag-NP in NaCl . NaCl wurde nach 15 s hinzugegeben. Die Zugabe von Cystein erfolgte nach 30 min.

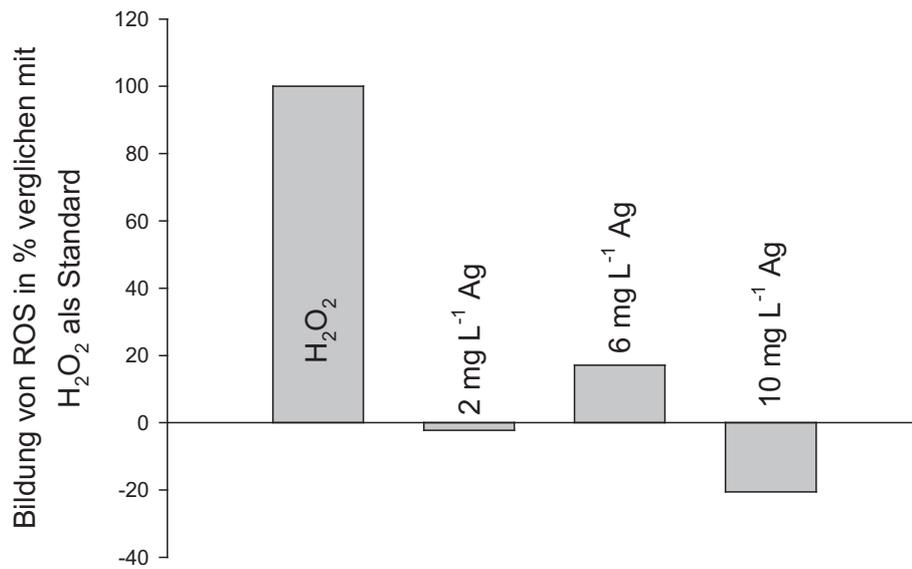


Abbildung A.8: Bildung von ROS in *E. coli* durch H_2O_2 und Ag-NP. H_2O_2 diente als Standard zur Generierung von ROS. Die ROS wurden durch Reaktion mit dem Fluoreszenzfarbstoff H_2DFCDA gemessen.

9.2.1.6 Wechselwirkungen der SiO_2 NP mit MO

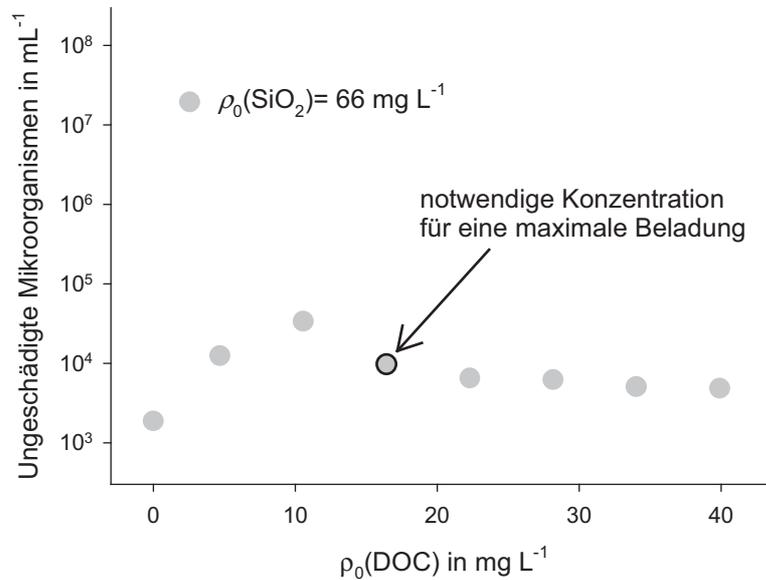


Abbildung A.9: Beeinflussung der Toxizität von SiO_2 -CL gegenüber *L. plantarum* bei Erhöhung der Konzentration an DOC bei hohen SiO_2 Konzentrationen

9.2.1.7 Photokatalytische Desinfektion (Zetapotential von TiO_2)

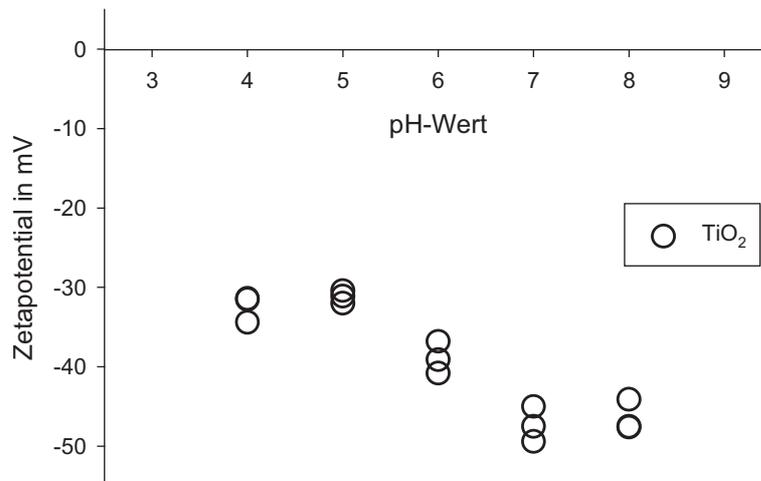


Abbildung A.10: Zetapotential von TiO_2 ($\rho = 100 \text{ mg L}^{-1}$) in einer Phosphat Lösung ($c = 10 \text{ mmol L}^{-1}$)

9.2.1.8 Charakterisierung einer weiteren NOM Quelle

Tabelle A.4: Metalloide, Anionen und DOC Gehalt des Sickerwassers

Elemente	Ca	K	Mg	Na	S	Si	Cr
ρ in mg L^{-1}	40,1	363,3	36,7	490,5	96,5	14,4	0,02

Elemente	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	P	Sr
ρ in mg L^{-1}	0,01	0,07	0	0,01	0,06	0,1	0,5

Anionen	Cl^-	NO_3^-	SO_4^{2-}	DOC	
ρ in mg L^{-1}	528,2	124,8	256,3	ρ in mg L^{-1}	84,4

Publikationen

Schwegmann H, Feitz AJ, Frimmel FH. (2010). *Influence of the zeta potential on the sorption and toxicity of iron oxide nanoparticles on S. cerevisiae and E. coli*. Journal of Colloid and Interface Science, 347, 43-48.

Schwegmann H, Frimmel FH. (2010). *Nanoparticles: Interaction with Microorganisms*. In: Frimmel FH & Niessner R (eds.) *Nanoparticles in the Water Cycle: Properties, Analysis and Environmental Relevance*. Berlin Heidelberg: Springer.

Schwegmann H, Ruppert J, Frimmel FH. (2013). *Influence of the pH value on the photocatalytic disinfection of bacteria with TiO₂ – Explanation by DLVO and XDLVO theory*. Water Research, 47, 1503-1511.

Schwegmann H, Frimmel FH. *Toxicity of non-reactive SiO₂-nanoparticles towards microorganisms by adhesion – Impact of refractory organic matter*. Zur Veröffentlichung eingereicht

Schwegmann H, Frimmel FH. *Determining the toxicity of nanoparticles towards microorganisms by analyzing growth curves – A new work saving method*. Zur Veröffentlichung eingereicht

Schriftenreihe des Lehrstuhls für Wasserchemie und Wassertechnologie und
der DVGW-Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut
des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

Band 35: Symposium on Refractory Organic Substances in the Environment – ROSE, 1997, 248 S., 12,80 €.

Band 36: Symposium on Refractory Organic Substances in the Environment – ROSE II, 2000, 265 S., 12,80 €.

Band 37: Thomas Brinkmann: Alkalischer und solarinduzierter Abbau von natürlicher organischer Materie, 2003, 212 S., 15,00 €.

Band 38: Andreas Gorenflo: Rückhalt und Fouling von natürlichen organischen Substanzen bei der Nano- und Ultrafiltration, 2003, 219 S., 18,00 €.

Band 39: Philip Hörsch: Einfluss der chemischen Oxidation auf das toxische Potenzial und das biologische Abbauverhalten von Industrieabwässern, 2004, 210 S., 20,00 €.

Band 40: Margit B. Müller: Bewertung von Anreicherungs- und Fraktionierungsverfahren für die strukturelle Charakterisierung der gelösten organischen Substanz in Gewässern, 2004, 185 S., 18,00 €.

Band 41: Fritz H. Frimmel, Gudrun Abbt-Braun: Praktikum Allgemeine Chemie und Chemie in wässrigen Lösungen – Qualitative und quantitative Bestimmungen, 2004, 158 S., 18,00 €.

Band 42: Tusnelda E. Doll: Photochemischer und photokatalytischer Abbau von Carbamazepin, Clofibrinsäure, lomeprol und Iopromid, 2004, 158 S., 18,00 €.

Band 43: Ayşe B. Değer: Entfernung von organischen Schadstoffen aus Wasser mit Hilfe von Poly(ϵ -caprolacton), 2005, 205 S., 18,00 €.

Band 44: Fritz H. Frimmel, Gudrun Abbt-Braun: Wassertechnologisches und wasserchemisches Praktikum, 2005, 201 S., 20,00 €.

Band 45-I, 45-II: Fritz H. Frimmel, Gudrun Abbt-Braun (Eds.): Humic Substances – Linking Structure to Functions. Proceedings of the 13th Meeting of the International Humic Substances Society, July 30 to August 4, 2006, Universität Karlsruhe, 2006, 492 S. (45-I), 623 S. (45-II), 50,00 €.

Band 46: Fritz H. Frimmel, Gudrun Abbt-Braun: Praktikum Allgemeine Chemie und Chemie in wässrigen Lösungen – Qualitative und quantitative Bestimmungen II, 2. verbesserte und ergänzte Neuauflage 2007, 139 S., 20,00 €.

Band 47: Thomas Glauner: Aufbereitung von Schwimmbeckenwasser – Bildung und Nachweis von Desinfektionsnebenprodukten und ihre Minimierung mit Membran- und Oxidationsverfahren, 2007, 233 S., 20,00 €.

Band 48: George Metreveli: Kolloidale Wechselwirkungen und kolloidgetragener Transport von Metall(oid)en in porösen Medien, 2008, 215 S., 20,00 €.

Band 49: Florencia Saravia: Entfernung von organischen Spurenstoffen und Untersuchung von Foulingprozessen in getauchten Membranen und Hybridverfahren, 2009, 213 S., 20,00 €.

Band 50: Markus Delay: Dynamische versus statische Elutionsversuche – Ein Beitrag zur Beurteilung der Wiederverwertbarkeit von Abfallmaterialien, 2010, 206 S., 20,00 €.

Band 51: Luis A. Tercero Espinoza: Heterogeneous photocatalysis with titanium dioxide suspensions containing bromide and dissolved organic matter, 2010, 172 S., 20,00 €.

Band 52: Ulrich-M. Metzger: Extrazelluläre polymere Substanzen aus Biofilmen – Aufklärung von Strukturen und ihr Einfluss auf die Foulingbildung in Membranbioreaktoren, 2011, 211 S., 20,00 €.

Band 53: Fritz H. Frimmel, Gudrun Abbt-Braun: Praktikum Allgemeine Chemie und Chemie in wässrigen Lösungen – Qualitative und quantitative Bestimmungen, 3. überarbeitete Neuauflage 2011, 139 S., 20,00 €.

Band 54: Markus Ziegmann: Beurteilung von Cyanobakterienblüten und Untersuchung geeigneter Verfahrenskombinationen zur Elimination cyanobakterieller Zellen und Toxine, 2011, 191 S., 20,00 €.

Band 55: Fritz H. Frimmel, Gudrun Abbt-Braun: Praktikum Allgemeine Chemie und Chemie in wässrigen Lösungen – Qualitative und quantitative Bestimmungen, 4. ergänzte Neuauflage 2012, 137 S., 20,00 €.

Band 56: Angela Klüpfel: Nanofiltration bei der Aufbereitung von Trink- und Schwimmbeckenwasser – Foulingmechanismen und Rückhalt anthropogener Kontaminanten, 2012, 259 S., 20,00 €.

Band 57: Christina Schmalz: Bildung, Phasentransfer und Toxizität halogener Desinfektionsnebenprodukte im Aufbereitungszyklus von Schwimmbeckenwasser – Schwerpunkt stickstoffhaltige Verbindungen, 2012, 195 S., 20,00 €.

Band 58: Fritz H. Frimmel, Gudrun Abbt-Braun, Harald Horn: Praktikum Allgemeine Chemie und Chemie in wässrigen Lösungen – Qualitative und quantitative Bestimmungen, 5. ergänzte Neuauflage 2013, 120 S., 20,00 €.

Band 59: Heiko Schwegmann: Wechselwirkungen zwischen anorganischen Nanopartikeln und Mikroorganismen – Nutzungs- und Gefährdungspotentiale, 2013, 149 S., 20,00 €.

Preise verstehen sich zzgl. der gesetzlichen Mehrwertsteuer und Versandkosten.

Bestellungen über:

Lehrstuhl für Wasserchemie und Wassertechnologie und DVGW-Forschungsstelle
am Engler-Bunte-Institut des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

Engler-Bunte-Ring 1

D-76131 Karlsruhe

Tel.: +49-(0)721-608-42581

Fax: +49-(0)721-699154

E-mail: ursula.schaefer@kit.edu