

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrbereich Anorganische Chemie, Fachgruppe Analytische Chemie

## **Monitoring, Mobilität und Bioverfügbarkeit von Palladiumemissionen aus Kraftfahrzeugen**

**Marina Maier**

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Chemie der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

**Doktors der Naturwissenschaften**

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. K. Köhler

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. M. Schuster
2. Univ.-Prof. Dr. H. Horn

Die Dissertation wurde am 19.11.2009 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Chemie am 11.01.2010 angenommen.

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von November 2006 bis November 2009 unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. M. Schuster in der Fachgruppe Analytische Chemie des Lehrbereichs Anorganische Chemie der Technischen Universität München.

## Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich ganz herzlich bei allen, die mich während meiner Promotionszeit fachlich wie auch privat unterstützt haben.

Besonders möchte ich mich beim **Herrn Prof. Dr. M. Schuster** für die interessante Aufgabenstellung, die fachliche Unterstützung und wertvollen Ratschläge bedanken.

Bei Frau Dr. Leopold bedanke ich mich für die Hilfsbereitschaft und fruchtbaren Diskussionen, die entscheidend die Lösung der gestellten Aufgabe beeinflusst haben.

Meinen Kollegen aus dem Arbeitskreis Analytische Chemie Frau Dr. Harwardt, Frau Zierhut, Frau Avadieva und Frau Henner-Vasquez danke ich für die effektive Zusammenarbeit in vielen Bereichen und die angenehme Arbeitsatmosphäre.

Nicht minder danken möchte ich Frau Dr. Hanzlik (TU-München, Transmissionselektronenmikroskopie), Frau Ammari (TU-München, Mikroanalytik) und den Mitarbeiter des Arbeitskreises von Herrn Prof. Plank (TU-München, Lasergranulometrie) für die Bereitstellung von Geräten und Hilfestellung bei deren Benutzung.

Für die interessante Zusammenarbeit an gemeinsamen Projekten bedanke ich mich bei Herrn Dr. Battke (Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung TU-München und Frau Dr. Helmreich (Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft, TU-München), Frau Dr. Speranza (Lehrstuhl für Biologie, Universität Bologna, Italien) und Herrn Prof. Boskolo (Lehrstuhl für Arbeitsmedizin, Universität „G. D' Annunzio“, Chieti-Pescara, Italien).

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern Galina und Willi Maier, meinem Bruder Eugen, seiner Frau Natalia und Nichte Julia für ihre uneingeschränkte Unterstützung. Sie haben mich in schwierigen Phasen der Doktorarbeit bestärkt und mir Mut und Kraft gegeben. Ich bedanke mich für all das, was man nicht mit Worten beschreiben kann. Außerdem bedanke ich mich sehr bei allen meinen Freuden, die mir hilfreich zur Seite standen.

"Unsere größte Schwäche  
ist das Aufgeben. Der sicherste  
Weg zum Erfolg ist immer, es  
doch noch einmal zu versuchen"

THOMAS ALVA EDISON

...meinen Eltern

in Liebe und Dankbarkeit

## Veröffentlichungen, Vorträge, Posterbeiträge

### Publikationen

Long-term study of palladium in road tunnel dust and sewage sludge ash, K. Leopold, M. Maier, S. Weber, M. Schuster, *Environmental Pollution*, 156 (2008) 341.

Preparation and characterization of Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Pd nano particles as standardized test material for chemical and biochemical studies of traffic related emissions, K. Leopold, M. Maier, M. Schuster, *Science of the total Environment*, 394 (2008) 177.

Palladium exposure of barley: Uptake and effects, F. Battke, K. Leopold, M. Maier, U. Schmidhalter, M. Schuster, *Plant Biology*, 10 (2008) 272-276.

Pd-nanoparticles cause increased toxicity to kiwifruit pollen compared to soluble Pd, A. Speranza, K. Leopold, M. Maier, A. Rita Taddei, V. Scoccianti, *Environmental Pollution*, im Druck, DOI:10.1016/j.envpol.2009.09.022.

Effect of palladium model nanoparticles on the cytokine release from peripheral blood mononuclear cells of non atopic women, P. Boscolo, M. Reale, V. Bellante, K. Leopold, M. Maier, L. Di Giampolo, A. Antonucci, I. Iavicoli, C. Petrarca, N. Qiao, E. Sabbioni, M. Di Gioacchino, *Occupational and Environmental Medicine* (2009) eingereicht.

### Vorträge

Synthese und Anwendung von Pd- Elementpartikeln als Modellsubstanz für biologische Expositionsstudien, M. Maier, K. Leopold, M. Schuster, Vortrag, „Edelmetallforum“ 23.06.08, Emden.

Long-term study of palladium in road tunnel dust and sewage sludge ash, K. Leopold, M. Maier, M. Schuster, Vortrag, „*Edelmetallforum*“ 24.06.08, Emden.

### **Posterbeiträge**

Bestimmung von Palladium in Boden- und Pflanzenmatrices im Spurenbereich, M. Maier, K. Leopold, M. Schuster, Poster, Analytiker-Konferenz „*ANAKON*“ 17.03.09, Berlin.

Palladium exposure of barley: uptake and effects, F. Battke, K. Leopold, M. Maier, U. Schmidhalter, D. Ernst, M. Schuster, GfÖ-Tagung "Dimensions of ecology: from global change to molecular ecology", 14.09.09, Bayreuth.

Toxikologische Wirkung von Palladium-Elementpartikeln auf die Vitalität und Keimung von Kiwi-Pollen, M. Maier, K. Leopold, M. Schuster, A. Speranza, A.R. Taddei, V. Scocciati, GDCh-Tagung „Stoffverhalten und -wirkungen in Umweltkompartimenten“, 24.09.09, Trier.

## Verwendete Abkürzungen

a	Achsenabschnitt der Kalibrierfunktion
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
A-s	<i>Absorbance-seconds</i>
b	Steigung der Kalibrierfunktion
BCR	Community Bureau of Reference
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
°C	Grad Celsius
CSF	Koloniestimulierender Faktor
cm	Zentimeter
DEBT	<i>N,N-Diethyl-N'-benzoylthioharnstoff</i>
DNA	<i>Desoxyribonucleinacid</i>
DIN	Deutsches Institut für Normierung
DTV	Durchschnittliche tägliche Verkehrsbelastung
EDX	<i>Energy Dispersive X-ray spectroscopy</i>
fcc	<i>Face centered cubic</i>
ELISA	Enzyme linked immunosorbent Assay
EN	Europäische Norm
FIAS	Fließinjektionsanalysesystem
FS 6	Kreisstraße Freising 6
Gew.-%	Gewichtsprozent
GF-AAS	<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
HKL	Hohlkathodenlampe
hkl	Miller-Index
HD-PE	<i>High Density- Polyethylen</i>
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
IFN	Interferon
IL	Interleukin
INAA	Instrumentelle Neutronenaktivierungsanalyse
IR	Infrarot
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
K <sub>f</sub>	Bodendurchlässigkeitwert

k.A.	Keine Angabe
Kfz	Kraftfahrzeug
kg	Kilogramm
l	Liter
LD <sub>50</sub>	mittlere letale Dosis
LPS	Lipopolysaccharid
m	Meter
mg	Milligramm
min	Minute
µg	Mikrogramm
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Messwerte
N <sub>c</sub>	Anzahl der Mehrfachmessungen eines Kalibrierpunktes
N <sub>K</sub>	Anzahl der Kalibrierstandards
N <sub>L</sub>	Loschmidt'sche Zahl
nm	Nanometer
N <sub>p</sub>	Anzahl der Mehrfachmessungen einer Probe
NWG	Nachweisgrenze
P	Statistische Sicherheit, Konfidenzniveau
p	Signifikanz
p.a	<i>Pro analysis</i>
PBMC	<i>Peripheral Blood Mononuclear Cell</i>
pg	Pikogramm
PGM	Platingruppenmetalle
PI	Prognoseintervall
Pkw	Personenkraftwagen
PTFE	Polytetrafluoroethylen
PTFM	Polytetrafluorometoxil
REM	Rasterelektronenmikroskopie
r	Pearson Korrelationskoeffizient

RT	Raumtemperatur
RP	<i>Reversed phase</i>
SAD	<i>Selected Area Electron Diffraction</i>
SIMIT	<i>Size Induced Metal Insulator Transition</i>
s	Sekunde
$s_{x0}$	Verfahrensstandardabweichung
$s_y$	Reststandardabweichung
t	Tonnen / Zeit
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TNF	Tumornekrosefaktor
TUM	Technische Universität München
TRFA	Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse
UPW	<i>Ultra Pure Water</i>
usw.	und so weiter
ÜS	Überstand
VB	Vertrauensbereich
Vol.-%	Volumenprozent
WF	Wiederfindung
x	abhängige Variable
$\bar{x}$	Mittelwert der $x_i$
$x_c$	eingestellte Konzentration beim Erstellen einer Wiederfindungsfunktion
$x_f$	gefundene Konzentration beim Erstellen einer Wiederfindungsfunktion
$x_i$	Konzentrationswert der i-ten Messung des Kalibrierexperiments
Y	unabhängige Variable
$\hat{y}$	$a + bx$
$y_i$	Einzelmesswert der i-ten Messung des Kalibrierexperiments
$\hat{y}_i$	$a + bx_i$
$\bar{y}_i$	Mittelwerte der Messungen eines Standards im Kalibrierexperiment
$\bar{y}_{N_p}$	Mittelwert aus den Einzelmessungen der Probe
z.B.	zum Beispiel

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung und Zielsetzung</b> .....	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Allgemeine Angaben zu Palladium</b> .....	<b>9</b>
2.1	Vorkommen und Gewinnung.....	9
2.2	Chemische Reaktivität .....	13
2.3	Industrielle Anwendung.....	14
2.3.1	Automobilindustrie .....	15
2.3.2	Weitere Anwendungen.....	17
2.4	Palladiumemissionen .....	19
2.5	Mobilität in der Umwelt.....	22
2.6	Bioverfügbarkeit von Palladium.....	25
2.7	Toxikologisches und allergologisches Gefährdungspotenzial .....	27
2.8	Analytische Verfahren zur Palladiumbestimmung .....	29
<b>3</b>	<b>Eingesetzte analytische Methoden und Techniken</b> .....	<b>33</b>
3.1	Probenvorbereitungstechniken .....	33
3.1.1	Mikrowellenunterstützter Druckaufschluss.....	35
3.1.2	Schmelzaufschluss .....	36
3.1.3	Säulenbasierte Analytanreicherung im Fließinjektionssystem .....	37
3.2	Charakterisierungs- und Messmethoden .....	41
3.2.1	Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie .....	41
3.2.2	Totalreflexionsröntgensfluoreszenzanalyse .....	42
3.2.3	Elektronenmikroskopische Methoden .....	43

---

3.2.4	Lasergranulometrie .....	44
<b>4</b>	<b>Monitoring von Palladium in Umweltproben .....</b>	<b>46</b>
4.1	Hintergrund und Aufgabenstellung .....	46
4.2	Palladium in Münchner Straßenstaub .....	47
4.2.1	Probenahme .....	48
4.2.2	Matrixcharakterisierung .....	48
4.2.3	Aufschlussmethode .....	50
4.2.4	Palladiumkonzentrationen .....	52
4.3	Palladium in Oberböden von Versickerungsmulden .....	55
4.3.1	Probenahme .....	57
4.3.2	Matrixcharakterisierung .....	58
4.3.3	Aufschlussmethode .....	60
4.3.4	Palladiumkonzentrationen .....	60
4.4	Palladium in Klärschlammaschen .....	62
4.4.1	Probenahme .....	62
4.4.2	Matrixcharakterisierung .....	63
4.4.3	Aufschlussmethode .....	64
4.4.4	Palladiumkonzentrationen .....	64
4.5	Zusammenfassung .....	67
<b>5</b>	<b>Synthese und Charakterisierung von Pd-Elementpartikeln .....</b>	<b>68</b>
5.1	Hintergrund und Aufgabenstellung .....	68
5.2	Synthesemethoden zur Nano-Metallabscheidung auf Trägermaterialien .....	70
5.3	Synthesemethoden zur Herstellung von Metall-Nanopartikeln .....	72

---

5.4	Synthese und Charakterisierung von Pd/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Modellpartikeln .....	74
5.5	Synthese und Charakterisierung von Pd/SiO <sub>2</sub> -Modellpartikeln .....	79
5.6	Synthese und Charakterisierung trägerfreier Palladium-Partikel.....	82
5.7	Zusammenfassung.....	85
<b>6</b>	<b>Expositionsversuche mit Pd-Elementpartikeln .....</b>	<b>86</b>
6.1	Hintergrund und Aufgabenstellung.....	86
6.2	Expositionsversuche an Gerste.....	87
6.2.1	Pflanzenanzucht und Probenahme .....	87
6.2.2	Matrixcharakterisierung.....	89
6.2.3	Aufschluss des Pflanzenmaterials .....	90
6.2.4	Palladiumkonzentrationen in Gerstepflanzen und im Kulturmedium.....	90
6.2.5	Partikelaufnahme durch die Pflanze .....	94
6.2.6	Untersuchung weiterer Elemente in exponierten Gerstepflanzen ..	95
6.3	Expositionsversuche an Kiwipollen .....	98
6.3.1	Pollen als Bioindikatoren.....	98
6.3.2	Probenvorbereitung und Exposition .....	100
6.3.3	Toxikologische und morphologische Effekte.....	100
6.3.4	Pd-und Ca-Konzentrationen in Kiwipollen.....	103
6.4	Einfluss von Palladium auf die Zytokinproduktion von peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) .....	105
6.4.1	Zytokine .....	105
6.4.2	Probenahme und Präparation .....	107
6.4.3	Zytokinkonzentration.....	108
6.5	Zusammenfassung.....	110

---

<b>7</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>112</b>
<b>8</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>116</b>
8.1	Pd-Anreicherung im FI-System.....	116
8.2	Atomabsorptionsspektrometrie.....	118
8.3	Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse .....	119
8.4	Mikrowellenunterstützter Aufschluss .....	120
8.5	Lasergranulometrie .....	120
8.6	Elektronenmikroskopie.....	121
8.7	Sonstige Geräte .....	121
8.8	Verwendete Chemikalien .....	123
8.9	Probennahme und Probenvorbereitung .....	124
8.9.1	Reinigung der Gefäße.....	124
8.9.2	Tunnelstaub .....	124
8.9.3	Boden .....	125
8.9.4	Klärschlammasche.....	127
8.9.5	Gerstepflanzen.....	129
8.9.6	Kiwipollen.....	131
8.9.7	Blutzellen .....	131
8.10	Durchführung der Partikelsynthesen .....	132
8.10.1	Herstellung von 0,03 M Na <sub>2</sub> [PdCl <sub>4</sub> ]-Lösung.....	132
8.10.2	Herstellung von Pd/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Partikeln.....	133
8.10.3	Herstellung von Pd/SiO <sub>2</sub> -Partikeln .....	133
8.10.4	Herstellung von reinen Pd-Nanopartikeln .....	134
8.10.5	Schmelzaufschluss von Pd/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Partikeln .....	135

---

8.10.6	Mikrowellenunterstützter Aufschluss von Pd/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Partikeln .....	135
8.11	Statistische Grundlagen .....	136
8.11.1	Mittelwert und Standardabweichung .....	136
8.11.2	Ermittlung der Verfahrenskenndaten aus der Kalibrierfunktion ....	137
8.11.3	Standardadditionsmethode .....	142
8.11.4	Korrelationsanalyse .....	142
<b>9</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>144</b>

## 1 Einleitung und Zielsetzung

Seit Mitte der achtziger Jahre des letzten Jahrhunderts werden in Deutschland Katalysatoren zur Entgiftung von Autoabgasen eingesetzt. Dreiwegekatalysatoren verringern die Emission von Kohlenmonoxid, Stickoxiden und unverbrannten Kohlenwasserstoffen, allerdings werden aufgrund der hohen Temperaturen und durch mechanischen Abrieb Metallpartikel - darunter vor allem Platin, Rhodium und Palladium - aus dem Auspuff entsprechend ausgerüsteter Fahrzeuge emittiert. Die ersten Autoabgaskatalysatoren enthielten als katalytisch aktives Material ein Gemisch von Platin und Rhodium im Verhältnis von etwa 5:1 [1]. Seit Beginn der 1990er Jahre werden u.a. bedingt durch Fortschritte in der Beschichtungstechnologie und dem günstigeren Preis von Palladium im Vergleich zu Platin auch Pd-Rh-Gemische (im Verhältnis von Pd:Rh = 5:1 bis 9:1) sowie Trimetallkatalysatoren (Pt:Pd:Rh = 1:14:1 bis 1:28:1) bzw. Pd-only-Katalysatoren (mit bis zu 5 g Pd) eingesetzt [2]. Während 1992 lediglich ca. 10% des verwendeten Palladiums in Autoabgaskatalysatoren eingesetzt wurde, betrug dieser Anteil 1997 bereits 60%, heute liegt er bei 80 bis 100% [2,3]. Durch den Wechsel der Katalysatorindustrie auf Palladium als katalytisch aktives Element geriet dieses Edelmetall verstärkt ins toxikologische und ökologische Blickfeld [4].

Die verkehrsbedingten Pd-Emissionen treten zu rund 90% in partikulärer Form auf. Die emittierten Pd-Partikel (1-20 nm) sind größtenteils auf  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Trägermaterial fixiert [5,6]. 83% der freigesetzten Pd/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ - Teilchen liegen im Größenbereich von 10 bis 30  $\mu\text{m}$ , 4% sind zwischen 2,5 und 10  $\mu\text{m}$  und 13 % sind 5 nm bis 2,5  $\mu\text{m}$  groß [7,8]. Ultrafeine Partikel, deren Durchmesser kleiner als 5 nm sind, sind hauptsächlich reine Edelmetallteilchen [9,10]. Je nach Größe der Partikel werden diese in unmittelbarer Nähe zur Straße auf und im Boden deponiert, bzw. mit dem Wind in der Umwelt verbreitet. Verbleib und Verhalten des Palladiums in der Umwelt sind entscheidend für die Aufnahme durch Pflanzen und damit für den Transfer in die Nahrungskette von Tier und Mensch, was negative gesundheitliche Effekte auslösen kann [11,12]. Palladium löst Allergien aus und kann sich in Nieren, Leber und Milz anreichern und letztlich eine toxische Wirkung entfalten, sofern eine hinreichend große Dosis erreicht ist [13]. Über die Rolle des Palladiums in der Biogeosphäre

besteht derzeit noch ein Informationsdefizit. Deshalb soll die vorliegende Arbeit einen Beitrag zur Klärung der Umweltrelevanz von Palladium in der Natur leisten.

Im ersten Teil der Arbeit werden Daten zur zeitlichen Änderungen der Pd-Konzentrationen in Straßenstäuben Münchner Tunnel und Klärschlammaschen aus den Jahren 2002-2006 der Kläranlage Stuttgart Mühlhausen ermittelt. Vorangegangene Untersuchungen dieser beiden Matrices zeigten bereits steigende Pd-Gehalte [14]. Für den Münchner Straßenstaub konnten somit Daten von 1994 bis heute verglichen werden; für die Klärschlammaschen wurde ein Zeitraum von 1972 bis 2006 untersucht. Diese Langzeitstudien der Pd-Emissionen sollen dazu beitragen, das zukünftige Emissionspotenzial von Palladium abzuschätzen.

Des Weiteren wurden in Kooperation mit dem *Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft der Technischen Universität München* Untersuchungen zur Verteilung und Mobilität des Palladiums in Oberböden von Versickerungsmulden entlang einer Autobahn- bzw. Kreisstraße durchgeführt. Mit dem Versickern des Niederschlagwassers kann Palladium aus dem Boden ins Grundwasser gelangen. Deswegen sind Tiefenprofile der Palladiumkonzentration in Versickerungsmulden für die Beurteilung einer potentiellen Grundwassergefährdung von großer Bedeutung.

Im Gegensatz zu anderen emittierten Schwermetallen wie Zink oder Kupfer zählt Palladium nicht zu den essentiellen Elementen und wegen seiner sehr niedrigen geogenen Allgegenwartskonzentration im unteren  $\text{ng g}^{-1}$ -Bereich hatte es bisher keine Umweltrelevanz. Seine vergleichsweise hohe chemische und komplexchemische Reaktivität verleiht ihm eine Sonderstellung in der Gruppe der Edelmetalle. Die Untersuchung der daraus resultierenden Mobilität und Bioverfügbarkeit ist ein wichtiger aktueller Forschungsbereich. Expositionsversuche mit gemahlenem Katalysatormaterial oder realem Straßenstaub können Pd induzierte toxikologische Effekte nicht klar aufzeigen, da diese Materialien auch andere Schwermetalle wie z.B. Zn, Cd oder Cu enthalten. Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit wurden daher Pd-Modellpartikel synthetisiert, die den aus Katalysatoren ausgetragenen Partikeln ähnlich sind. Es wurden sowohl reine Pd-Nanopartikel als auch Pd-Nanopartikel auf Trägermaterialien ( $\text{Pd/Al}_2\text{O}_3$  und  $\text{Pd/SiO}_2$ ) synthetisiert und charakterisiert. Die Partikelgrößenverteilung wurde mittels Lasergranulometrie bzw. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) bestimmt. Die Struktur und der chemische Zustand der

gebildeten Pd-Nanopartikel wurde durch hochauflösende transmissionselektronenmikroskopische (*engl. High-resolution transmission electron microscopy*, HR-TEM) und Elektronenbeugungsaufnahmen (*engl. Selected area diffraction*, SAD) untersucht. Der Palladiumgehalt der geträgerten Modellpartikel wurde nach Aufschluss mittels Graphitofen-Atomabsorptionsspektrometrie (*engl. Graphite furnace atomic absorption spectrometry*, GF-AAS) ermittelt. Die synthetisierten Pd-Partikel enthalten keine zusätzlichen Störstoffe und sind daher sehr gut als Pd-haltige Modellsubstanzen in Expositionsstudien einsetzbar.

Für die Abschätzung des ökotoxikologischen Potentials von partikulären Palladiumeinträgen wurde im dritten Teil der Arbeit die toxische Wirkung von Palladium auf Pflanzen und die Zytokinausschüttung in menschlichem Blut in Kooperation mit biologischen und medizinischen Forschergruppen untersucht. In Zusammenarbeit mit dem *Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung der Technischen Universität München* wurden Expositionsversuche mit den synthetisierten Modellpartikeln an Gerste durchgeführt. Für diese Experimente wurden Gerstepflanzen in Nährlösungen, die mit unterschiedlichen Partikelarten im Konzentrationsbereich von 0 bis 100  $\mu\text{mol Pd l}^{-1}$  versetzt wurden, gezüchtet. Ziel der Untersuchungen war es, die Bioverfügbarkeit von Palladium aus solchen Partikeln zu untersuchen. Hierzu wurde die Akkumulation des Palladiums in Abhängigkeit von der Expositionsdauer in den Pflanzen bestimmt und die phytotoxische Wirkung der Pd-Partikel durch die Wachstumshemmung charakterisiert. Außerdem wurde untersucht, ob Pflanzen in der Lage sind, durch ihre Wurzeln Pd-Nanopartikel aus einer Nährlösung aufzunehmen. In Kooperation mit dem *Lehrstuhl für Biologie der Universität Bologna (Italien)* wurden Untersuchungen zur toxischen Wirkung von partikulärem bzw. löslichem Palladium auf die Keim- und Lebensfähigkeit von Kiwipollen durchgeführt. Anschließend wurde in Kooperation mit dem *Lehrstuhl für Arbeitsmedizin der Universität „G. D' Annunzio“ Chieti-Pescara (Italien)* der Einfluss von partikulärem bzw. löslichem Palladium auf die Freisetzung von Zytokinen aus menschlichen peripheren mononukleären Blutzellen (*engl. Peripheral blood mononuclear cells*, PBMC) untersucht. Dabei sollte die immunotoxikologische Wirkung von Palladium auf Menschen überprüft werden. Die genaue Quantifizierung des Palladiums in den pflanzlichen Materialien wurde nach Anreicherung des Palladiums in einem Fließinjektionsanalysesystem (FIAS) mittels GF-AAS durchgeführt. Die Aufnahme der Pd-Nanopartikel durch die Gerste bzw. durch die Pollen wurde mittels TEM und *Energy dispersive X-ray spectroscopy* (EDX) untersucht.

## 2 Allgemeine Angaben zu Palladium

### 2.1 Vorkommen und Gewinnung

Die Geschichte des Palladiums ist eng mit derjenigen des Platins verbunden. Bis Anfang des 19. Jahrhunderts wurde Palladium nur zusammen mit Platin als eher unbekannter Bestandteil von Platinartefakten oder zusammen mit Flussgold als Verunreinigung gefunden [15]. Im Jahre 1803 entdeckte der britische Physiker, Arzt und Chemiker *William Hyde Wollaston* Palladium bei der Raffination von Platin und in Anlehnung an den zur damaligen Zeit entdeckten Planetoiden Pallas erhielt Palladium dann seinen Namen [16].

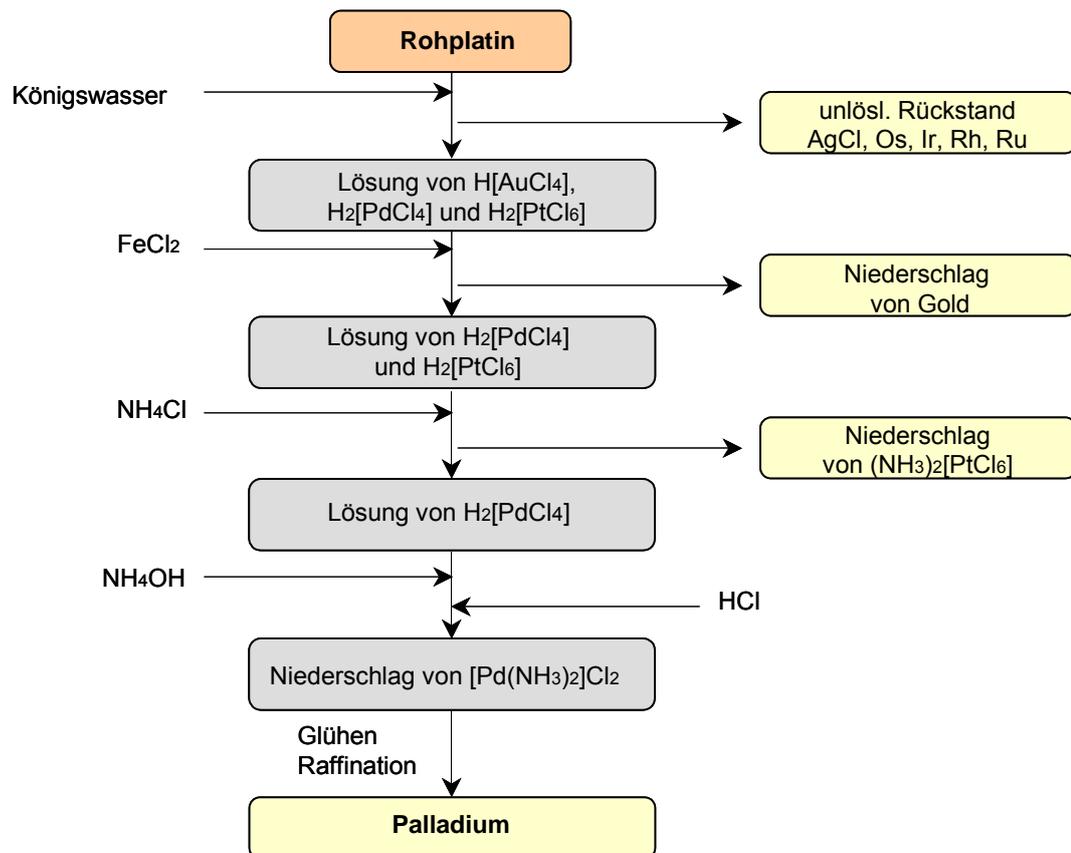
Die durchschnittliche Palladiumkonzentration in der Erdkruste beträgt nur  $0,001 \text{ g t}^{-1}$  [17], es ist damit etwas häufiger als Gold und Platin und steht in der Elementhäufigkeit an 72. Stelle [18]. Palladium wird als Haupt- oder Nebenprodukt bei der Nickel-, Kupfer-, Blei-, Silber-, Gold- und Platin-Produktion gewonnen.

Die bekanntesten Vorkommen für Palladium sind die Minen bei Norilsk-Talnakh in Russland, der Bushveld-Komplex in Südafrika, das kanadische Sudbury-Gebiet und die Stillwater-Mine in den USA [19]. Palladium ist in Form von Chalkogeniden, Arseniden und Antimoniden, wie z.B. Sperreylith ( $\text{PdAs}_2$ ), Stibiopalladinit ( $\text{Pd}_3\text{Sb}$ , ca. 70% Pd-Gehalt), Cooperit ( $\text{Pt,PdS}$ ) oder Moncheit ( $(\text{Pt,Pd})(\text{Te,Bi})_2$ ) eingelagert [20,21]. Die Platingruppenmetalle (PGM) werden meist im Tiefbau unter schweren Bedingungen abgebaut. Für 1 g PGM werden ca. 300 kg Erz gebrochen, zermahlen und chemisch behandelt. Die Lagerstätten zeigen dabei deutlich unterschiedliche Edelmetallgehalte. In Südafrika werden Platingruppenmetalle als Hauptprodukt aus den Erzen gewonnen, während, sie in Russland, den USA und Kanada als Nebenprodukt der Nickelgewinnung anfallen [22]. Tabelle 1 zeigt die PGM-Gehalte, sowie die Gold-, Nickel- und Kupferanteile der Erze verschiedener Lagerstätten [23].

**Tabelle 1** PGM-Gehalte der wichtigsten Lagerstätten [23].

Land	Russland	Südafrika		Kanada	USA
Lagerstätte/ Element [g t <sup>-1</sup> ]	Norilsk- Talnakh	Buschveld/ Merensky	Buschveld/ UG2	Sudbury	Stillwater/J-M
Platin	2,5	4,82	3,22	0,38	6
Palladium	7,3	2,04	3,24	0,39	20
Rhodium	0,2	0,24	0,54	0,03	0,21
Summe Pt, Pd, Rh	10	7,1	7	0,8	26,21
Gold	-	0,26	0,07	-	0,21
Nickel	< 30000	2800	1600	< 15000	< 1000
Kupfer	< 40000	1700	300	< 13000	< 1000

Abbildung 1 zeigt die Gewinnung von Palladium aus Rohplatin

**Abbildung 1** Schema zur Gewinnung von Palladium aus Rohplatin [24]

Nach der Behandlung des Rohplatin mit Königswasser gehen Gold, Platin und Palladium in Lösung während die anderen Platingruppenmetalle im Rückstand verbleiben. Durch Zugabe von Ammoniumchlorid fällt Platin als Ammonium-Hexachloroplatinat(IV) aus. Die übrig bleibende Tetrachloropalladium(II)-säure ( $H_2[PdCl_4]$ ) wird mit Ammoniumhydroxid versetzt und durch Zugabe von Salzsäure wird schließlich Dichlorodiaminpalladium(II) ausgefällt. Dieses wird zunächst durch Glühen zu einem PdO-haltigem Pd-Schwamm kalziniert, der anschließend in einer Wasserstoff-Atmosphäre zu elementarem Palladium reduziert wird.

Die weltweite Produktion von Palladium stieg Mitte der neunziger Jahre stark an, als die Abgasnormen in vielen Industrieländern verschärft wurden und dadurch die Einführung und Verbreitung von Autoabgaskatalysatoren begann. Die Weltjahresproduktion von Palladium zeigt ein Wachstum von ca. 120% vom Jahr 1991 bis 2008 (vgl. Abbildung 2).

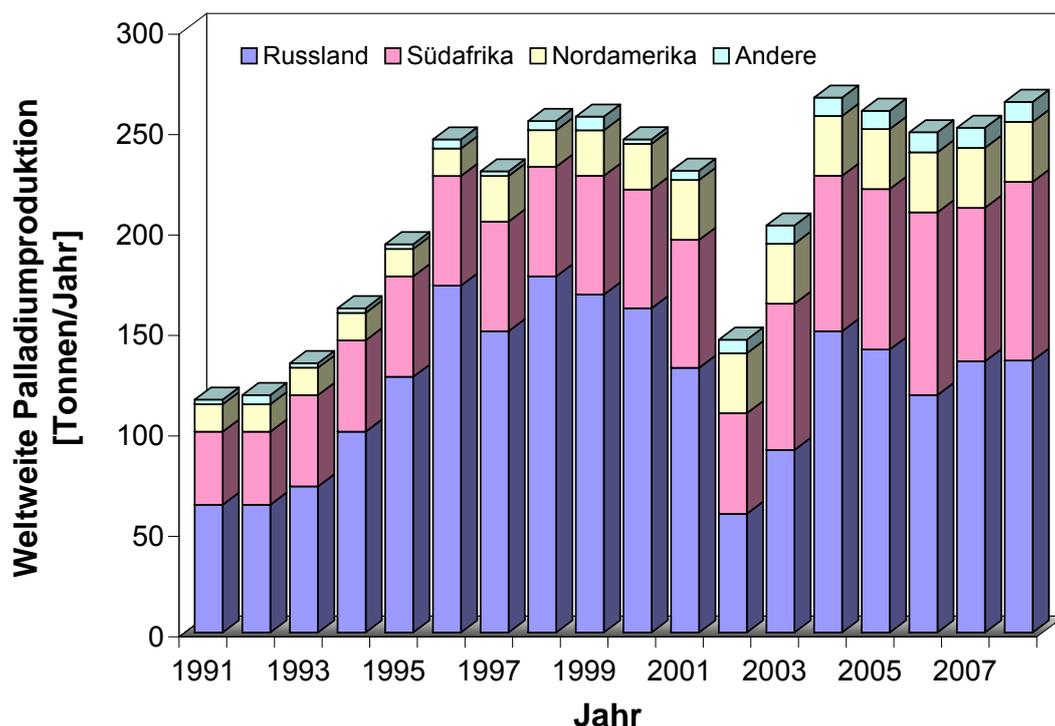


Abbildung 2 Weltjahresproduktion von Palladium [25]

Mit einem Anteil von 49% ist Russland der größte Lieferant für Palladiummetall. Im Jahr 2008 betrug der russische Palladiumexport 135 Tonnen [25], der südafrikanische etwa 89 Tonnen und Nordamerika trug ungefähr 30 Tonnen zum welt-

weiten Angebot bei. Andere Länder lieferten knapp 10 Tonnen Palladium, was weniger als 5% des weltweiten Pd-Angebots ausmacht. Insgesamt standen dem Markt 2008 etwa 264 Tonnen Palladium aus der Primärgewinnung zur Verfügung [26].

Zu einem erheblichen Anteil wird Palladium auch aus Altmaterial, d.h. hauptsächlich aus ausgedienten Krafffahrzeugkatalysatoren zurück gewonnen. 2008 betrug das Pd-Angebot aus Recycling etwa 36 Tonnen [25]. Da die durchschnittliche Nutzungsdauer eines Pkws bei 8 bis 10 Jahre liegt und Palladium in Katalysatoren seit Anfang der 1990-er Jahre in nennenswertem Umfang eingesetzt wurde, wird der Anteil des wieder gewonnenen Palladiums aus dieser Quelle weiter steigen.

Für die Rückgewinnung von Palladium aus Krafffahrzeugkatalysatoren können grundsätzlich zwei Verfahren angewendet werden. Beim hydrometallurgischen Verfahren wird der PGM-haltige Washcoat mit starken Säuren oder Laugen vom keramischen Träger gelöst. Anschließend werden die Platingruppenmetalle, z.B. durch Fällungsreaktion, aus der Lösung abgetrennt. Nachteilig bei diesem Verfahren sind die relativ hohen Edelmetallverluste, sowie die Entsorgung großer Mengen an Abwasser und Laugungsrückständen. Wegen dieser Nachteile haben die hydrometallurgischen Verfahren heute in der Praxis keine Bedeutung mehr [27].

Beim pyrometallurgischen Verfahren erfolgt die Abtrennung der Edelmetalle durch Einschmelzen von Katalysatorkeramik und Washcoat in einem Hüttenprozess. Der keramische Anteil wird in eine Schlackenphase überführt und abgestochen, die Edelmetalle werden in ein Sammlermetall legiert (aufkonzentriert), welches ebenfalls abgezogen und weiterverarbeitet wird. Nach verschiedenen Trennungs- und Raffinationsschritten werden am Ende die Edelmetalle mit hoher Reinheit erhalten [28].

## 2.2 Chemische Reaktivität

Als Element der zweiten Übergangsmetallreihe besitzt Palladium chemische Eigenschaften, die zwischen denen von Nickel und Platin liegen, d.h. Palladium ist chemisch wesentlich beständiger als Nickel, aber deutlich reaktiver als Platin. Die Reaktivität des Palladiums ist stark auf seine ausgeprägte Tendenz zur Komplexbildung zurückzuführen, was vor allem in der Katalysechemie [29], aber auch in der Analytischen Chemie zur selektiven Pd-Anreicherung [30] genutzt wird. Palladium bevorzugt die Oxidationsstufen 0 und +II. Es ist wie kein anderes Übergangsmetall in der Lage, zwischen diesen zwei Stufen zu wechseln und besitzt demnach eine ausgezeichnete Fähigkeit zum Vollzug oxidativer Additionen bzw. reduktiver Eliminationen.

Die Löslichkeit von Palladium ist sehr von seiner physikalischen und chemischen Form (feinmetallisches, grobmetallisches Palladium oder Palladiumsalz) bzw. von Bedingungen wie pH-Wert und Temperatur abhängig. Diese Faktoren spielen auch bei der Mobilität von emittiertem Palladium in der Umwelt eine wichtige Rolle.

Die Wasserlöslichkeit des elementaren Palladiums ist gegenüber Platin und Rhodium viel höher und korreliert in erster Linie mit der Partikelgröße [31,32]. *Skerstupp und Urban* [33] untersuchten die Löslichkeit von PGM-Partikeln auf Trägermaterial in huminsäurehaltigen wässrigen Lösungen und fanden heraus, dass Palladium sofort in Lösung geht während Platin auf dem Trägermaterial verbleibt. *Jahrvis et al.* [34] haben eine erstaunlich hohe Löslichkeit (35,4%) von Palladiumpartikeln in simuliertem Regenwasser festgestellt. Auch *Claus et al.* [35] stellten bei ihren Untersuchungen zu Verteilung und Konzentration von Platin, Palladium und Rhodium in Umweltmedien fest, dass sich das Verhalten von emittierten Pd-Partikeln aufgrund der stärkeren chemischen Mobilität deutlich von dem der Pt- und Rh-Partikel unterscheidet. Mit zunehmendem aquatischen Einfluss und Transportweg wurden höhere Konzentrationen an gelöstem Palladium und damit eine höhere Löslichkeit gegenüber Pt und Rh nachgewiesen. Demzufolge sind insgesamt höhere Konzentrationen an gelöstem Palladium in den Umweltmedien sowie eine höhere Bioverfügbarkeit zu erwarten.

Für die Analytik ist auch die Palladiumlöslichkeit in verschiedenen chemischen Reagenzien von sehr großem Interesse. Beim Auflösen von feinverteiltem Palladium in Königswasser bildet sich primär Hexachloropalladiumsäure  $\text{H}_2[\text{PdCl}_6]$ , die sehr instabil ist und unter spontaner Chlorabspaltung in  $\text{H}_2[\text{PdCl}_4]$  übergeht [36]. Fügt man Kalium- oder Ammoniumchlorid zu Hexachloropalladiumsäure, so fallen die schwerlöslichen Komplexsalze  $\text{K}_2[\text{PdCl}_6]$ , bzw.  $(\text{NH}_4)_2[\text{PdCl}_6]$  aus. In heißer konzentrierter Salzsäure bildet sich aus  $\text{Pd}^0$  in Gegenwart von Luftsauerstoff Tetrachloropalladiumsäure  $\text{H}_2[\text{PdCl}_4]$  [37,38]. In Salpetersäure bilden sich je nach Säurekonzentration schwache Komplexe der Form  $[\text{Pd}(\text{H}_2\text{O})_x]^{2+}$ ,  $[\text{Pd}(\text{NO}_3)]^+$ ,  $[\text{Pd}(\text{OH})\text{NO}_3]$  und  $[\text{Pd}(\text{NO}_3)_2]$  [39]. In niedrig konzentrierten Palladiumlösungen (im Bereich von  $\mu\text{g Pd l}^{-1}$ ) setzt in Abwesenheit starker Komplexbildner ab pH 1 die Bildung von  $[\text{Pd}(\text{OH})]^+$  und  $[\text{Pd}(\text{OH})_2]$  ein und ab pH 2 werden hochadsorptive, polynukleare Spezies beobachtet [40]. In reinem Wasser sinkt die Palladiumkonzentrationen einer  $75 \mu\text{g Pd l}^{-1}$  haltigen Probe bereits nach vier Tagen um etwa 50% [41]. Zur Vermeidung von Palladiumverlusten durch Adsorption und Präzipitation ist die Einhaltung saurer Bedingungen bei der Spurenanalyse daher zwingend erforderlich.

### 2.3 Industrielle Anwendung

Wegen seiner außergewöhnlichen chemischen Eigenschaften und seines Edelmetallcharakters ist Palladium in modernen Industriegesellschaften für viele Anwendungsbereiche unverzichtbar. Das Spektrum der industriellen Verwendung erstreckt sich dabei von der Automobiltechnologie über die Schmuckindustrie bis in den medizinischen Bereich. Zwei Drittel der Nachfrage entfallen auf die Hauptabnehmerregionen Europa (20,8%), Nordamerika (28,0%) und Japan (24,8%) [42]. Die zeitliche Entwicklung des Palladiumbedarfs in unterschiedlichen Industriesektoren zeigt Abbildung 3.

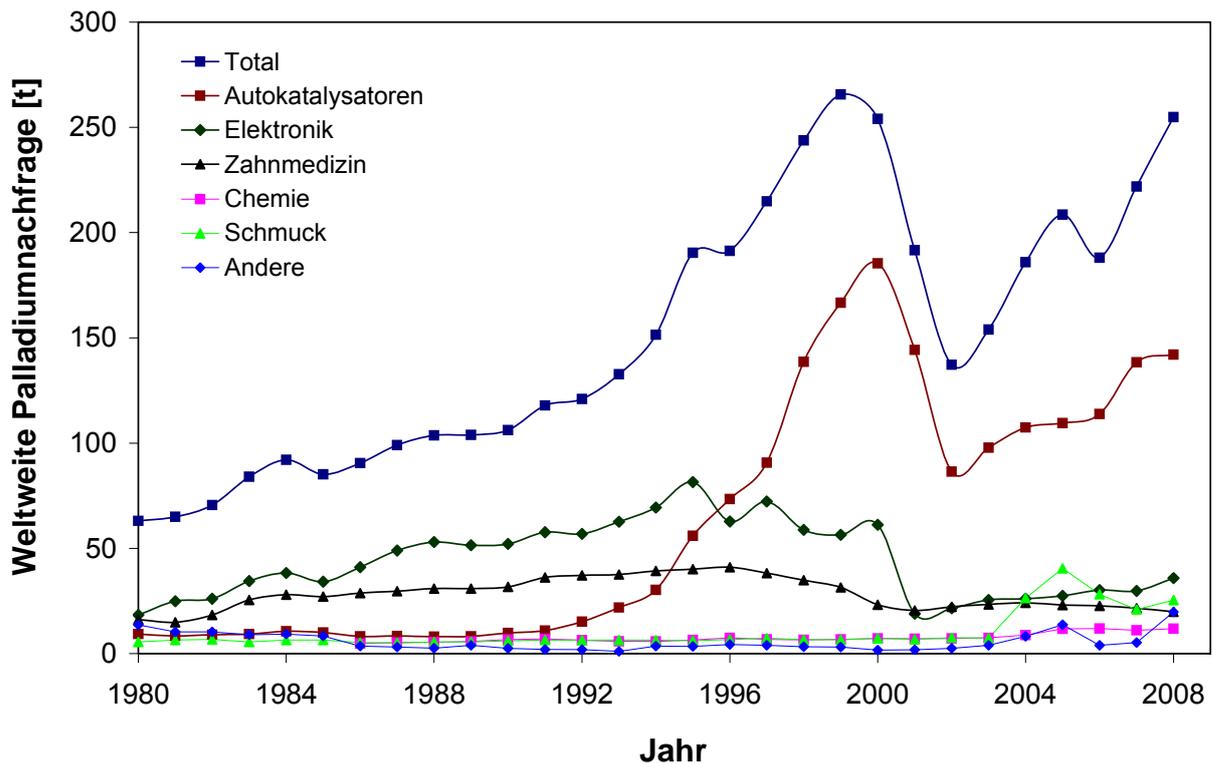


Abbildung 3 Weltweite Palladiumnachfrage getrennt nach Anwendungsbereichen [42]

### 2.3.1 Automobilindustrie

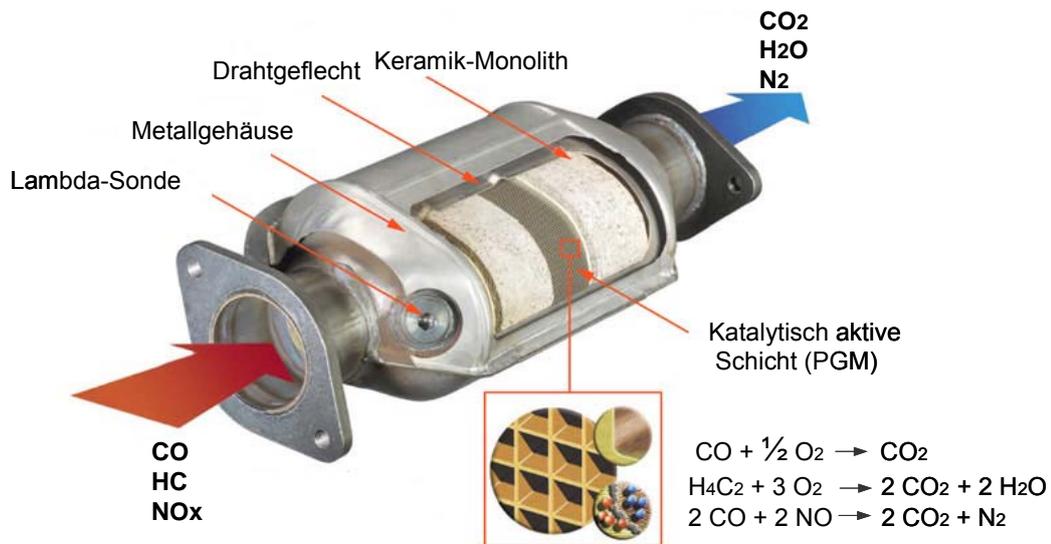
Mehr als die Hälfte (55,7%) der weltweiten Palladiumproduktion werden in der Automobilindustrie zur Herstellung von Abgaskatalysatoren verwendet. Zwar werden pro Katalysator nur wenige Gramm des Edelmetalls eingesetzt, in Summe macht dieser Verbrauch die Kraftfahrzeugindustrie jedoch zum Hauptkäufer auf dem Palladiummarkt. Der Einsatz von Katalysatoren im Bereich der Kraftfahrzeuge leistet einen ganz wesentlichen Beitrag zur Schadstoffentlastung der Umwelt. Die Hauptschadstoffkomponenten in den Abgasen von Ottomotoren - Kohlenmonoxid (CO), Stickoxide (NO<sub>x</sub>) und Kohlenwasserstoffe (KWS) - werden in Drei-Wege-Abgaskatalysatoren in nicht toxische Verbindungen wie Stickstoff, Kohlendioxid und Wasser überführt [43].

Die ersten Maßnahmen zur Begrenzung der Abgasemission wurden in den USA getroffen, wo vor allem in Los Angeles immer wieder gefährliche Smogsituationen eintraten. Aufgrund klimatischer Gegebenheiten kam es dort oft zu photochemischen Reaktionen der Abgaskomponenten, z.B. von Stickoxiden mit Kohlenwasserstoffen, und damit zur Smogbildung in der Atmosphäre [44].

Die Festlegung von einheitlichen Grenzwerten für jeden einzelnen Schadstoff im Abgas durch den *Clean-Air-Act* der USA (1970) führte zu verstärkter Forschung und schließlich der Entwicklung von Kfz-Abgasreinigungssystemen. Der Drei-Wege-Katalysator vermindert den Schadstoffausstoß um mehr als 90% und wird seit 1984 auch in Deutschland eingesetzt.

Die ersten Automobilabgaskatalysatoren der 80er Jahre enthielten als katalytisch aktives Material ein Gemisch von Platin und Rhodium im Verhältnis von etwa 5:1 [1]. Mitte der neunziger Jahre gewann dann Palladium, aufgrund des günstigen Preises im Vergleich zu Platin und technischer Neuerungen, die den Pd-Einsatz erst ermöglichten, eine verstärkte Bedeutung bei der Katalysatorfertigung [45].

Drei-Wege-Katalysatoren bestehen aus einem metallischen oder keramischen wabenförmig aufgebauten Monolithen, der als Trägermaterial dient. Die Verwendung von monolithischen Keramiken - wie dem Magnesium-Aluminium-Silikat *Cordierit* ( $2 \text{MgO} : 2 \text{Al}_2\text{O}_3 : 5 \text{SiO}_2$ ) - hat sich als besonders geeignet erwiesen. Aufgrund des geringen Wärmeausdehnungskoeffizienten ist diese Keramik trotz der dünnwandigen wabenförmigen Struktur bei hohen Temperaturen (300 - 850°C) thermisch stabil. Die Monolithen werden mit einem so genannten *Washcoat* aus porösem Aluminiumoxid überzogen um die wirksame Oberfläche des Katalysators um den Faktor 7000 zu vergrößern. Auf die Aluminiumschicht werden die katalytisch aktiven Metalle Platin, Palladium und Rhodium aufgebracht [2]. Das Verhältnis von Luft und Kraftstoff wird durch eine  $\lambda$ -Sonde geregelt, um eine vollständige Umsetzung der toxischen Abgas-komponenten zu erreichen. Der Aufbau eines derartigen Katalysators ist in Abbildung 4 schematisch dargestellt.



**Abbildung 4** Aufbau eines Drei-Wege-Katalysators [46]

Die PGM-Masse pro Katalysator beträgt zwischen 2 und 6 g und das Verhältnis der eingesetzten Metalle variiert von reinem Pd-Metall zu Pt-Rh- (5:1), Pt-Pd-Rh- (1:14:1 bis 1:28:1) bzw. Pd-Rh-Mischungen (5:1 bis 9:1) [2,47].

Die neue Euro-5-Abgasnorm erfordert deutlich höhere Katalysatortemperaturen um die Schadstoffgehalte im Abgas weiter zu reduzieren. Nur Katalysatoren mit hohem Palladiumgehalt können bisher solchen Temperaturen von bis zu 950°C standhalten, was voraussichtlich eine weiter steigende Palladiumnachfrage in der Automobilindustrie nach sich ziehen wird [48].

### 2.3.2 Weitere Anwendungen

In der *Zahnmedizin* wurden Palladiumlegierungen in der Mitte der 80er Jahre als Ersatz für die teuren Goldlegierungen eingesetzt [49]. In Verzeichnissen der Dentallegierungshersteller Degussa und Heraeus waren insgesamt 87 palladiumhaltigen Legierungen aufgeführt [50]. Medizinische Studien wiesen jedoch bald auf ein starkes allergenes Potential dieser Legierungen hin. Der Einsatz des Palladiums im Dentalbereich war danach rückläufig und bereits 1992 wurde vom Bundesgesundheitsamt von der Weiterverwendung dieser Legierungen in Deutschland ab-

geraten [51]. Derzeit werden daher nur 7,8% des Weltjahresbedarfs an Palladium in der Zahnmedizin eingesetzt. In Deutschland werden diese Legierungen gar nicht mehr angewendet.

In der *therapeutischen Medizin* spielt Palladium im Gegensatz zu Platin (Zytoplastika, wie z.B. Cisplatin) keine große Rolle. Lediglich die Radioaktivität des Isotops Palladium-103 wird für die Behandlung von Prostatakrebs genutzt (Brachytherapie). Dabei werden winzige Körnchen (*seeds*) von Pd-103 direkt in den Tumor eingesetzt, so dass die radioaktive Strahlung beim Zerfall des kurzlebigen Nuklids ( $t_{1/2} = 17$  d) nur auf das karzinogene Gewebe wirkt und dieses zerstört [52].

In der *chemischen Industrie* ist Palladium vor allem aufgrund seiner katalytischen Eigenschaften von Bedeutung. Ein Beispiel ist die Verwendung von PdCl<sub>2</sub> zusammen mit CuCl<sub>2</sub> im *Wacker-Prozess* zur Umsetzung von Ethen zu Acetaldehyd. Außerdem ist Palladium ein hervorragender Katalysator für C-C-Verknüpfungsreaktionen in der organischen Chemie (*Suzuki-Kupplung*, *Heck-Kupplung*) und für Hydrierungs- und Dehydrierungsreaktionen (z.B. *Lindlar-Palladium*). Wegen der Fähigkeit Wasserstoff atomar zu absorbieren eignet sich Palladium zur Herstellung von Wasserstoffspeichern (Brennstoffzelle) und als Membran (Pd-Ag-Legierung) zur Reinigung von Wasserstoff [53,54].

In der *Schmuckindustrie* in Europa und Nordamerika spielt Palladium eine untergeordnete Rolle, in Japan und Asien wird es dagegen häufig als Gold-Palladium-Legierung (33,3 - 80,0% Gold) zu Ringen, Halsketten und Schmuckstücken verarbeitet. Legierungen aus Silber, Kupfer und Palladium werden für die Herstellung von Schreibfedern verwendet [55].

In der *Textilindustrie* wird Pd zur Herstellung von Spinddüsen eingesetzt [56].

In der *Elektronik* wird Palladium z.B. in Elektrodenwerkzeugen, integrierten Schaltkreisen, als Kontaktwerkstoff und in Mehrschicht-Keramikkondensatoren (*engl. Multiple layer ceramic capacitors, MLCC*) eingesetzt.

## 2.4 Palladiumemissionen

Aufgrund seiner Seltenheit und Inertheit, gelangt Palladium aus natürlichen Vorkommen nur in sehr geringen Mengen in die Umwelt. Aufgrund der vielfältigen technischen und industriellen Anwendungen ist der anthropogen verursachte Pd-Eintrag in die Umwelt besonders in den letzten Jahrzehnten stark gestiegen und entsprechend wurden auch steigende Palladiumgehalte in verschiedenen Umweltkompartimenten nachgewiesen [35,57]. Die Bestimmung von Palladium im Spuren- und Ultraspurenbereich in komplexen umweltrelevanten Matrices stellt hohe Anforderungen an die Selektivität und an das Nachweisvermögen eines Analyseverfahrens. Vielfältigen Interferenzen treten insbesondere bei der ICP-MS auf, (siehe Kapitel 2.8), daher sollte die Zuverlässigkeit in der Literatur angegebener Messdaten stets kritisch hinterfragt werden.

Prinzipiell tragen alle Palladium verarbeitenden Industriebereiche durch ihre Abwässer oder Abgase zur Erhöhung des Pd-Gehalts in der Biosphäre bei. Die mengenmäßig stärkste Kontamination der Biosphäre mit Palladium ist jedoch den Emissionen von Autoabgaskatalysatoren zuzuschreiben. Bereits kurz nach der Einführung dieser Katalysatoren stellte man fest, dass durch die thermische und strömungsmechanische Belastung, sowie durch fahrbedingte Vibrationen feine Aluminiumoxidpartikel (0,1-30  $\mu\text{m}$ ) von der porösen Washcoat-Schicht abgelöst und mit dem Abgasstrom freigesetzt werden [7,58]. Auf ihrer Oberfläche tragen die Aluminiumoxidpartikel PGM-Nanopartikel (1-20 nm) [5,6]. Die emittierten Partikel im Größenbereich bis zu 15  $\mu\text{m}$  werden durch die Luft transportiert, die größeren Partikel werden am Straßenrand abgelagert [58].

Eine Abschätzung der Menge an emittiertem Platingruppenmetall kann entweder durch direkte Untersuchung der Abgase an Motorprüfständen oder durch Untersuchung von Straßenstaub erfolgen. Beides hat Vor- und Nachteile. An Motorprüfständen kann die Belastung des Katalysators durch mechanische Erschütterungen nicht gut imitiert werden, und daher können die gemessenen Emissionsraten geringer als beim tatsächlichen Gebrauch sein. Der Nachteil bei der Untersuchung von Straßenstaub ist der nicht bzw. kaum kalkulierbare Einfluss des Wetters (Wind, Regen) und der Art und Anzahl der Kraftfahrzeuge.

Die bei der direkten Abgasuntersuchung gemessenen Emissionsrate für partikuläres Palladium aus neuen Katalysatoren wird von *Moldovan et. al* [59] mit durchschnittlich  $54,2 \text{ ng Pd km}^{-1}$  (Variationsbereich  $22\text{-}108 \text{ ng km}^{-1}$ ) angegeben. Die Emission von wasserlöslichen Palladiumkomponenten beträgt bei dem gleichen Katalysator  $8,7 \text{ ng Pd km}^{-1}$ , wobei durch Verschleiß eine Erhöhung dieses Anteils auf  $10,7 \text{ ng Pd km}^{-1}$  zu beobachten ist.

Derzeit stehen nur wenige analytische Daten zur Palladiumkonzentration in Luftstaub zur Verfügung (siehe Tabelle 3), da diese Messungen aufgrund der geringen Probenmenge und des niedrigen Analytgehalts sehr anspruchsvoll sind.

**Tabelle 2** *Palladiumkonzentrationen in unterschiedlichen Luftstäuben*

Ort und Zeitpunkt der Probenahme bzw. Veröffentlichung	Pd-Gehalt [ $\text{pg m}^{-3}$ ]	Zitat
Berlin, 1999	0,2-14,6	[64]
Rom, Italien, 2000	21-85,7	[60]
Göteborg, Schweden, 2001	0,1-10	[61]
Frankfurt am Main, 2002	0,6-44,3	[62]
Madrid, Spanien, 2003	5,1-23	[63]
Wien, Österreich, 2003	2,6-14,4	[7]

In Deutschland wurden bisher nur in Berlin und im Raum Frankfurt Luftstaubproben untersucht. In Berlin treten die höchsten Pd-Gehalte in der Umgebung von stark befahrenen Straßen in trockener Luft auf [64]. Der Hauptanteil der palladiumhaltigen Partikel in der Luft liegt im Größenbereich von  $0,1\text{-}15 \mu\text{m}$ .

Palladiumkonzentrationen in der Luft sind generell an Hauptstraßen deutlich höher als an Nebenstraßen. Die Anwesenheit von Pd an verkehrsfreien Messstationen in ländlichen Gegenden deutet auf einen Transport der emittierten Teilchen durch den Wind hin [62].

Straßenstaub ist das primäre Sedimentationsprodukt der verkehrsbürtigen Emissionen und stellt daher ebenfalls eine geeignete Matrix für Studien der Palladiumemissionen dar. Die Straßenstäube werden direkt am Straßenrand gesammelt

oder in Straßentunneln. In Tunneln tritt die Beeinflussung durch die Witterung weniger auf. Ein Überblick von Palladiumkonzentrationen in unterschiedlichen Straßenstaubproben ist in Tabelle 3 zusammengestellt.

**Tabelle 3** *Palladiumkonzentrationen in Straßenstäuben (SS) und Tunnelstäuben (TS)*

Ort und Zeitpunkt der Probenahme bzw. Veröffentlichung	Pd-Gehalt [ $\mu\text{g kg}^{-1}$ ]	Zitat
San Diego Innenstadt, 1986, (SS)	15-24	[65]
Wien Innenstadt, 1994, (SS)	17,4	[66]
Frankfurt Innenstadt, 1994, (SS)	6-117	[67]
Pforzheim Autobahn, 1994, (SS)	10	[68]
Frankfurt Tunnel, 1994, (TS)	40,3-113,7	[69]
München Tunnel 1994, (TS)	13,5-17,7	[14]
München Tunnel 1997, (TS)	41,6-100,5	[14]
Deutschland Landstraßen, 1997, (SS)	1-146	[70]
Japan Stadtstraßen, 1997, (TS)	297	[71]
Karlsruhe Innenstadt/Landstraße, 1999, (SS)	16,8/21,3	[72]
Nottingham, England, 2000, (SS)	92,9	[73]
München Tunnel, 2001, (TS)	138,2-265,4	[14]
Madrid Stadtzentrum, 2001, (SS)	39-191	[74]
Australien Landstraßen/Autobahnen, 2003, (SS)	15-440	[75]

Die Palladiumgehalte in Straßenstäuben variieren je nach Standort und Probenahmejahr erheblich. Die höchsten Palladiumkonzentrationen wurden erwartungsgemäß am Rand stark befahrener Straßen in Proben jüngeren Datums gefunden. Eine Ausnahme dazu stellt Straßenstaub aus Japan dar, der bereits 1997 eine Pd-Konzentration von  $297 \mu\text{g kg}^{-1}$  aufwies [71], was auf den frühen Einsatz von palladiumreichen Katalysatoren in Japan ab Anfang der 1990er Jahre zurückzuführen ist.

## 2.5 Mobilität in der Umwelt

Der Großteil der von Pkw emittierten Schadstoffe wird in der Regel im Boden zurückgehalten und gelangt nicht oder nur sehr langsam in tiefere Schichten oder bis ins Grundwasser. Metallisches Palladium unterliegt im Boden verschiedenen mobilisierenden und immobilisierenden Prozessen, die auf die chemischen Eigenschaften des Palladiums, wie Löslichkeit, Redox- und Komplexbildungsverhalten zurück zu führen sind. Insbesondere Adsorptions- und Desorptionsprozesse spielen dabei eine wesentliche Rolle. Sie bestimmen den mobilen Anteil, der sehr stark mit den Bodeneigenschaften variieren kann. Partikulär gebundene Schadstoffe werden im Boden rein physikalisch durch Filtration zurückgehalten. Gelöste Schadstoffe sind viel mobiler und können mit Bodenwasser in die tieferen Schichten des Bodens transportiert werden. Je feinkörniger ein Boden ist, umso besser ist auch seine Filterwirkung. Das Maß für die Bodendurchlässigkeit ist der so genannte Durchlässigkeitswert ( $k_f$ -Wert). Dieser gibt an, mit welcher Geschwindigkeit in m/s sich das Wasser durch den Boden bewegt. Tabelle 4 listet verschiedene Bodenarten und deren  $k_f$ -Wert auf.

**Tabelle 4** Wasserdurchlässigkeit unterschiedlicher Bodenarten [76]

Bodenart	$k_f$ -Wert [ $\text{m s}^{-1}$ ]	Wasserdurchlässigkeit
Grobkies	$10^{-1}$ bis $5 \times 10^{-3}$	sehr stark
Fein-/Mittelkies	$3 \times 10^{-2}$ bis $5 \times 10^{-4}$	stark
sandiger Kies	$10^{-2}$ bis $10^{-4}$	stark
Grobsand	$4 \times 10^{-3}$ bis $10^{-4}$	stark
Mittelsand	$10^{-3}$ bis $6 \times 10^{-5}$	stark
Feinsand	$4 \times 10^{-4}$ bis $6 \times 10^{-6}$	durchlässig
schluffiger Sand	$7,5 \times 10^{-5}$ bis $5 \times 10^{-8}$	schwach
Schluff	$5 \times 10^{-6}$ bis $10^{-10}$	schwach
toniger Schluff	$4 \times 10^{-6}$ bis $10^{-10}$	sehr schwach
schluffiger Ton, Ton	$3 \times 10^{-8}$ bis $10^{-10}$	sehr schwach

Ein Boden ist umso durchlässiger, je mehr Kies und groben Sand er enthält. Mit zunehmendem Anteil an Feinsand, Schluff und Ton - bei diesem Gemisch spricht man von Lehm – nimmt die Durchlässigkeit und damit die Sickergeschwindigkeit ab. Gelöste Stoffe können in der Oberbodenzone durch Adsorption oder Fällung

zurückgehalten werden, wobei der pH-Wert des Bodens eine entscheidende Rolle spielt [77,78].

Von Kraftfahrzeugen emittiertes Palladium verbleibt nicht nur am unmittelbaren Straßenrand, sondern gelangt über den Wind und die Straßenentwässerung in Oberböden (oberste 30 cm unter der Erdoberfläche) entlang der Straßen. In einem Bereich von bis zu 50 m [79] vom Straßenrand entfernt und einer Tiefe von bis zu 16 cm [79] können noch deutlich erhöhte Pd-Konzentration in Oberböden gefunden werden (siehe Tabelle 5).

**Tabelle 5** *Palladiumkonzentrationen in unterschiedlichen Bodenproben*

Ort und Zeitpunkt der Probenahme bzw. Veröffentlichung	Pd-Gehalt [ $\mu\text{g kg}^{-1}$ ]	Zitat
Forst, Autobahnnähe (A5), 1994	20-191	[79]
Darmstadt-Frankfurt, Autobahnnähe, 1994	2,0-12,4	[86]
Frankfurt, Autobahnnähe (A3), 1996	6,6-0,19	[80]
Deutschland, Straßennahe Böden, 1997	19,1	[81]
Stuttgart, Autobahnnähe, 1998	0,4-22	[87]
Mainz, Schnellstraßenähe, 2000	1,1-7,2	[82]
Mexiko City, Stadtstraßen, 2001	4,7-101,2	[83]
Australien Schnellstraßenähe, 2003	13,79-108,45	[75]
Darmstadt-Frankfurt, Autobahnnähe, 2004	20,3-191	[86]
Sheffield, England, Farbahnnähe, 2007	8-1,050	[84]
Fahrbahnnähe, Gras, 2007	84,2-121	[85]

Die Analyseergebnisse von Bodenproben aus dem Umfeld der Autobahn A5 (0,3 m von der Distanzschutzplanke entfernt) zeigen 16-fache höhere Pd-Werte im Jahr 2004 im Vergleich zum Jahr 1994, während im gleichen Zeitraum für Pt nur ein Anstieg um das 1,5-fache und für Rh um das 1,6-fache festgestellt wurde [86]. 90% der palladiumhaltigen Partikel werden auf den ersten 4 m neben der Fahrbahn abgelagert und die höchste Konzentration tritt in Böden direkt unter der Distanzschutzplanke auf [86]. Bei Analysen von Tiefenprofilen wurde hier Palladium als einziges PGE in 16 cm Tiefe in nachweisbarer Konzentration ( $0,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) gefunden [86].

Auch andere Arbeiten belegen eine Abnahme der Pd-Konzentration mit zunehmender Entfernung von der Straße [71]. In Böden neben hochfrequentierten Straßen im süddeutschen Raum (um Stuttgart und Heidelberg) wurden Palladiumkonzentration von 0,4 bis 22  $\mu\text{g Pd kg}^{-1}$  in Abhängigkeit von der Entfernung zur Straße (20-0 m) in den obersten 2 cm gemessen [87]. In einer Tiefe von 10 cm konnte noch ein Palladiumgehalt von 1 bis 3  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (5-0 m Entfernung zur Straße) ermittelt werden. Bodenuntersuchungen an einer Dauerbeobachtungsfläche nahe der Ortschaft Forst an der A5 in Baden-Württemberg ergaben eine mittlere Konzentration von 4  $\mu\text{g kg}^{-1}$  Pd in den ersten 10 cm des Bodens unmittelbar am Fahrbahnrand. In 50 m Entfernung zur Straße konnten Palladiumgehalte von ca. 1,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  nachgewiesen werden [79]. In England (Sheffield) konnten in straßennahen Böden Palladiumgehalte von 8 bis 1.050  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (mittlerer Pd-Gehalt 164  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) festgestellt werden. Dabei wurden im Abstand von 1 m und im Abstand von 10 m zur Fahrbahn die obersten 5 cm der Böden beprobt [84].

Alle Ergebnisse belegen den zunehmenden Eintrag von Palladium in die Umwelt durch den Kfz-Verkehr. Querprofile zeigen zwar eine deutliche Abnahme der Pd-Konzentrationen mit zunehmendem Abstand zum Fahrbahnrand, jedoch verbleibt das emittierte Pd nicht in den oberen Bodenschichten, sondern wird in tiefere Bodenschichten transportiert. Untersuchungen zu den genauen Transportprozessen und der Mobilität des Pd im Boden liegen derzeit noch nicht vor. Daher kann langfristig eine Gefährdung des Grundwassers nicht ausgeschlossen werden.

Nur wenige Daten zur Palladiumkonzentration in Oberflächengewässern liegen derzeit vor; Tabelle 6 listet einige dieser Daten auf.

**Tabelle 6** *Palladiumkonzentrationen in Oberflächengewässern*

Ort und Zeitpunkt der Probenahme bzw. Veröffentlichung	Pd-Gehalt [ $\mu\text{g l}^{-1}$ ]	Zitat
Pazifischer Ozean, 1983	40	[88]
Boston Harbor, 1993/1996 (Oberflächensediment)	3,24/4,22	[89]
Göteborg, Mölndal, 1998/1999 (Flusssediment)	13,9/38,7	[90,91]
Göteborg, Mölndal, 2001 (Flusswasser)	155	[91]
Grönland, 1999-2001 (Schnee)	0,01-16,9	[92,93]

Neben dem Eintrag in Böden und Oberflächengewässer wird insbesondere in Städten durch die Entwässerung der Straßen das emittierte Pd in Kläranlagen eingebracht. Dort können auch Belastungen aus anderen Anwendungsbereichen, wie z.B. dem Dentalbereich, der Schmuckindustrie und der chemischen Industrie eingehen. Im Klärschlamm von 31 deutschen Städten wurde ein durchschnittlicher Palladium-Gehalt von  $260 \mu\text{g Pd kg}^{-1}$  Trockensubstanz nachgewiesen [94].

## 2.6 Bioverfügbarkeit von Palladium

Die Bioverfügbarkeit des in den unterschiedlichen Umweltkompartimenten, verbreiteten Palladiums ist von dessen chemischen und physikalischen Umwandlungsprozessen sowie den Aufnahmemechanismen der verschiedenen Organismen abhängig.

Eine relativ hohe Löslichkeit (35,4%) des emittierten Palladiums konnte z.B. von *Jarvis et al.* [34] durch Versetzen von Straßenstaub ( $3,39 \text{ ng Pd g}^{-1}$ ) mit künstlichem Regenwasser gezeigt werden. Wesentliche Einflussfaktoren auf die Palladiumlöslichkeit im Boden und somit auf die Bioverfügbarkeit sind die Menge und Qualität der Sorptionsträger (z.B. Tonminerale, hydratisierte pedogene Oxide, organische Substanz) sowie auch bodenchemische Parameter wie pH-Wert und Redoxpotential. Die Sorptionsbindung an organische oder anorganische Bestandteile des Bodens kann sowohl reversibel als auch irreversibel sein [95]. Beobachtet wurde eine Anreicherung von Palladium in der Tonerdeschicht von Böden [96]. Zahlreiche Carbonsäuren, wie z.B. Oxal- oder Phthalsäure, sowie die Fulvin- und Huminsäuren, bei denen es sich um hochmolekulare Huminstoffe handelt, sorgen wiederum für die Mobilisierung des Palladiums [97].

Expositionsversuche zur Aufnahme von Palladium in Nutzpflanzen (z.B. Spinat) sowie weit verbreiteten Pflanzenarten (z.B. Brennnessel) ergaben eine mit Cu und Zn vergleichbare Transferrate für Palladium. Die Versuche wurden durch Züchten der Pflanzen in mit Straßenstaub versetzten Böden gemacht [98].

Anhand von Freilanduntersuchungen an terrestrischen Pflanzen, insbesondere Gräsern, lassen sich erhöhte Pd-Gehalte in der Nähe stark befahrener Straßen nachweisen [99]. 1999 wurde ein mittlerer Pd-Gehalt von 0,1 - 3,1  $\mu\text{g kg}^{-1}$  in Löwenzahn (*Taraxacum officiale*) nachgewiesen, der nach Ansicht der Autoren die Belastung am besten abbildet [100].

In Oberflächengewässer eingetragenes Palladium reichert sich zunächst im Sediment an. So konnte z.B. im Fluss Mölndal in Göteborg eine durchschnittliche Menge von 38,7 ng Palladium pro Gramm Sediment festgestellt werden [91]. Ähnlich wie bei terrestrischen Pflanzen konnte auch bei Wasserpflanzen und aquatischen Organismen eine hohe Transferrate für Palladium nachgewiesen werden. Aufgrund der Pd-Anreicherung in Gewässersedimenten ist die Bioakkumulation in Organismen, die direkt am Grund oder in unmittelbarer Nähe davon (z.B. an Wasserpflanzen) leben besonders stark. Wasserasseln nehmen Platingruppenmetalle mit der Nahrung auf und zeigen um einen Faktor 7 höhere PGM-Konzentrationen im Vergleich zum Umgebungswasser [91].

Ein ähnliches Bioakkumulationsverhalten kann bei Zebramuscheln (*Dreissena polymorpha*) beobachtet werden, die von Sures *et al.* [101] mehrere Wochen in mit Straßenstaub versetztem Wasser gehalten wurden. Bei der Akkumulation verändert sich das Pd/Pt-Verhältnis von 0,12 im Straßenstaub auf 1,9 in den Muscheln, wobei ein Pd-Gehalt von 3,19  $\text{ng g}^{-1}$  Trockengewicht im Weichgewebe der Muscheln erreicht wird. Ein analoges Experiment mit europäischen Aalen (*Anguilla anguilla*) zeigt, dass sich das aufgenommene Palladium in der Leber anreichert [102].

Untersuchungen zur Aufnahme von Palladium durch beruflich exponierte Menschen von Schuster *et al.* [103] ergaben für Beschäftigte der Katalysatorproduktion einen kreatininbezogenen Palladiumgehalt von 170 bis 250  $\text{ng g}^{-1}$  in Urinproben. Der Pd-Gehalt im Urin von Arbeitern einer Edelmetallschneiderei übertrifft diese Werte teilweise noch um das über 10-fache. In Nordrhein-Westfalen wurden im Morgenurin von Kindern die Konzentrationen von Palladium bestimmt. Bei insgesamt 261 Proben ergab sich ein geometrischer Mittelwert von 33  $\text{ng l}^{-1}$  Pd im Urin, wobei 4 Messwerte über 100  $\text{ng l}^{-1}$  lagen [104]. Bei einer Studie aus dem Jahr 2001 mit 310 Schulkindern aus Rom und Umgebung wurden kreatininbezogene Pd-Gehalte zwischen 7,5  $\text{ng Pd g}^{-1}$  und 36,6  $\text{ng Pd g}^{-1}$  festgestellt.

## 2.7 Toxikologisches und allergologisches Gefährdungspotenzial

Die erhöhte Mobilität und Bioakkumulation von Palladium hat in den letzten Jahren die Aufmerksamkeit der Mediziner und Toxikologen erregt. Aufgrund der ausgeprägten Fähigkeit von Palladiumionen Komplexe zu bilden, können sie an Aminosäuren, Proteine, DNA und andere Makromoleküle binden und so verschiedenste Wirkungen in biologischen Systemen hervorrufen [105]. Die Toxizität und das allergene Potential sind von der Art der Palladiumverbindung sowie der Aufnahmeart abhängig. Dabei findet nicht nur eine direkte Belastung der Organismen mit emittierten Partikeln statt, auch eine Belastung über die Nahrungskette ist möglich.

Die meisten toxikologischen Untersuchungen an Tieren wurden mit Mäusen, Ratten und Kaninchen unter Verwendung von  $\text{PdCl}_2$  durchgeführt. Bei der Ermittlung von  $\text{LD}_{50}$ -Werten (letale Dosis für 50% der Tiere) ermittelte man einen Dosisunterschied je nach Applikationsmodus. So zeigt sich die größte Toleranz in Versuchen mit Ratten bei oraler Applikation mit einem  $\text{LD}_{50}$ -Wert von  $200 \text{ mg Pd kg}^{-1}$  (als  $\text{PdCl}_2$ ). Bei intraperitonealer Applikation liegt der  $\text{LD}_{50}$ -Wert bei  $70 \text{ mg kg}^{-1}$ , bei intratrachealer Applikation bei  $6 \text{ mg kg}^{-1}$  und am niedrigsten bei intravenöser Applikation mit  $3 - 5 \text{ mg kg}^{-1}$  [106]. Eine mögliche Erklärung für die größere Toleranz bei oral verabreichten Palladiumverbindungen ist die 99%-ige Ausscheidung schon nach drei Tagen. Dagegen wurde intravenös bzw. intratracheal verabreichtes Palladium selbst nach 40 Tagen und nur bis zu 80% bzw. 95% über den Urin ausgeschieden. Palladium passierte in diesen Versuchen sogar die Plazenta und war auch in der Muttermilch nachweisbar [107]. Neben Palladiumchlorid wurden auch andere Palladiumverbindungen getestet und festgestellt, dass die einfachen Salze zweiwertiger Palladiumionen dreimal toxischer als Palladiumkomplexsalze sind [108,109].

Die intraperitoneale Verabreichung von  $3,2 \text{ mg Pd(NO}_3)_2$  pro kg Körpergewicht führt zu einer Reduktion der DNA-Synthese in verschiedenen Organen der Versuchstiere (Mäuse). Schon nach zwei Stunden war die DNA-Synthese in der Milz auf 35%, in der Leber auf 40% und in den Nieren auf 26% reduziert [110].

Bei chronischer Exposition sind die toxikologischen Veränderungen weitgehend unabhängig vom Aufnahmepfad und in erster Linie in Leber und Nieren nachweisbar. So erkrankten zum Beispiel Mäuse, die lebenslang Palladiumchlorid

mit dem Trinkwasser ( $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ ) erhielten, etwa doppelt so häufig an benignen und malignen Tumoren, Amyloidose von Leber, Nieren, Nebennieren, Milz und Herz, als nicht exponierte Kontrolltiere [11].

Untersuchungen zur Mutagenität von Palladiumsalzen an pro- und eukaryotischen in *vitro*-Testsystemen erbrachten negative Resultate [114].

Über mögliche toxikologische Schäden durch Palladium bei Menschen gibt es nur wenige Informationen, wohingegen das allergene Potential von Palladium unumstritten ist. Eine Sensibilisierung auf Pd geht nach heutiger Datenlage oft mit einer Sensibilisierung auf Nickel einher. Häufig tritt eine Kreuzreaktion mit den nach einer Nickel-Sensibilisierung aktivierten T-Lymphozyten auf [111]. Es traten aber auch reine Palladiumallergien auf, die mit keinem anderen Metall in Verbindung gebracht werden konnten [112]. Nach derzeitigem Kenntnisstand wird angenommen, dass bei der sensibilisierenden Wirkung von Palladium eine Allergie vom Typ IV (Kontaktallergie) vorliegt [113].

Palladiumstaub löst sich in biologischen Proben durch das Vorhandensein von Aminosäuren oder Peptiden bis zu einem Faktor 100 besser als in Wasser. Die tägliche, orale Aufnahme von 50 mg „Pd-Puder“ je kg Körpergewicht über 6 Monate verzögerte die Gewichtszunahme von Ratten und führte zu Veränderungen von Blut- und Urinparametern. Es liegen auch einige Hinweise auf eine mögliche immunotoxische Wirkung von elementarem Palladiumstaub vor. Beispielsweise wurden bei Patienten mit Silber-Palladium-Dentalimplantaten Veränderungen der Immunglobulinkonzentration festgestellt. In Reaktion auf implantierte Palladiumplättchen traten immunologische Veränderungen der Mundschleimhaut auf und durch Palladiumchlorid wurden Lymphozyten stimuliert [114]. Epidemiologische Studien verbinden heute Luftverschmutzung durch Feinstäube mit einem erhöhten Risiko für Erkrankungen der Atmungsorgane und des Herz-Kreislauf-Systems [115]. Speziell Schwebstäube mit einem Partikeldurchmesser unter  $2,5 \mu\text{m}$  tragen zur Steigerung der Häufigkeit solcher Erkrankungen bei [116]. Palladium wurde auch als möglicher Einflussfaktor auf Autoimmunkrankheiten beschrieben [114].

## 2.8 Analytische Verfahren zur Palladiumbestimmung

Die quantitative Bestimmung von Palladium ist prinzipiell mit vielen verschiedenen Analysenmethoden möglich [117]. Die bekanntesten instrumentellen Detektionstechniken für die Palladiumbestimmung im Spurenbereich sind:

- INAA (*Instrumentelle Neutronenaktivierungsanalyse*)
- Inverse Voltammetrie (*engl. Stripping Voltammetry*)
- TRFA (*Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse*)
- ICP-MS (*Inductively coupled plasma-mass spectrometry*)
- GF-AAS (*Graphite furnace atomic absorption spectrometry*)

Bei der instrumentellen Neutronenaktivierungsanalyse (INAA) wird eine Probe und gegebenenfalls ein Standard mit thermischen Neutronen bestrahlt. Der Einfang von Neutronen führt zur Bildung z.T. instabiler Nuklide, deren Zerfall sich über emittierte  $\gamma$ -Quanten mit charakteristischer Energie nachweisen lässt. Die Nachweisgrenze für Palladium beträgt dabei  $6 \mu\text{g kg}^{-1}$  [118]. In Realproben treten aber, hauptsächlich durch das ubiquitäre Isotop  $^{82}\text{Br}$ , erhebliche Interferenzen auf. Die Palladiumbestimmung im umweltrelevanten Konzentrationsbereich ist deswegen nur nach einer selektiven Abtrennung des Palladiums möglich. So erreichten *Schwarzer et al.* nach dem Abtrennung des Palladiums von der Matrix in einem Fließinjektionssystem (Kapitel 3.1.3) eine Nachweisgrenze von  $3,4 \text{ ng Pd l}^{-1}$  [119]. Die NAA-Methode ist aber wegen der Abhängigkeit von einer Neutronenquelle, dem hohen apparativen und technischen Aufwand nicht als Routinemethode einsetzbar und ist nur als Referenzmethode von Bedeutung.

Inverse Voltammetrie (*engl. Stripping Voltametry*) ist eine gängige elektrochemische Bestimmungsmethode. Dabei wird ein Metallkomplex meist der Dimethylglyoximkomplex des Palladiums an einer hängenden, statischen Quecksilbertropfenelektrode adsorbiert. Durch Umkehr der Richtung des Stromflusses wird der adsorbierte Komplex von der Elektrode abgelöst. Während dieses Vorgangs wird eine Stromspitze gemessen, deren Intensität direkt proportional der zuvor adsorbierten Metallmenge ist. Mit dieser Methode konnten *Wang und Varughese* [120] eine Nach-

weissgrenze für Palladium von 0,02 µg/l ( $3\sigma$ ) erreichen. Die Bestimmung gelingt jedoch nur bis zu einem maximal fünffachen Überschuss von Störelementen wie Ca(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Fe(III), Mn(II), Ni(II), Pb(II) und Ti(IV), größere Überschüsse sowie Mischungen aus mehreren Interferenten machen eine korrekte Messung unmöglich. In Gegenwart von Pt(IV), Ag(I), Bi(II) und Zn(II) kann Palladium generell nicht bestimmt werden.

Ein ganz anderes System zur Pd-Bestimmung im Ultraspurenbereich wurde von *Messerschmidt et al.* [121] entwickelt. Dabei wird Palladium in der Aufschlusslösung nach reduktiver Fällung selektiv in Quecksilber angereichert. Der dabei gebildete Hg-Tropfen wird auf einen Quarzträger überführt. Nach Abdampfen des Hg kann das auf dem Träger verbliebene Palladium mittels TRFA (siehe Kapitel 3.2.2) quantitativ analysiert werden. Dieses Verfahren ist sehr zuverlässig und gut für Umweltproben geeignet, es lässt sich jedoch nicht automatisieren und erfordert einen sehr hohen Zeitaufwand.

Bei der ICP-MS werden die in einem induktiv gekoppelten Plasma erzeugten Ionen über ein Skimmersystem einem Massenspektrometer zugeführt. Die quantitative Auswertung erfolgt über die Intensitäten bei den entsprechenden Massen eines Elements. Interferenzen in der ICP-MS treten theoretisch nur dann auf, wenn zwei Ionen bei gleicher Ladung dieselbe Masse aufweisen. Neben den einfachen Ionen bilden sich jedoch auch Spezies wie z.B. doppelt geladene Ionen  $M^{2+}$  und Clusterionen aus Bestandteilen von Probe, Plasmagas und Umgebungsluft. Gerade der Massenbereich der leichten Platingruppenmetalle Palladium, Rhodium und Ruthenium unterliegt vielfachen spektralen Störungen [122]. Die Isotopenzusammensetzung des Palladiums weist fünf fast gleichhäufige Isotope auf, wobei sich die Nettointensität dementsprechend auf alle Isotope verteilt. Die Nachweisstärke wird deshalb im Vergleich zu Reinelementen etwa um einen Faktor 5 reduziert. Das Signal von  $^{105}\text{Pd}^+$  ist überlagert von  $\text{ArCu}^+$ ,  $\text{RbO}^+$ ,  $\text{YO}^+$  und  $\text{SrO}^+$ . Bei  $^{106}\text{Pd}^+$  führen auch die beiden letztgenannten Molekülionen und zusätzlich die Ionen  $\text{Cd}^+$ ,  $\text{ZrO}^+$ ,  $\text{RbOH}^+$ ,  $\text{ArZn}^+$  und  $\text{ArCuH}^+$  zu Störungen. Auch eine Detektion des Isotops  $^{108}\text{Pd}$  oder der selteneren Isotope  $^{110}\text{Pd}$ ,  $^{104}\text{Pd}$  und  $^{102}\text{Pd}$  bringt in dieser Hinsicht keine Verbesserung, da diese Signale ebenfalls durch zahlreiche spektrale Interferenzen gestört sind [123]. Diese Problematik ist bis heute noch nicht beseitigt, da die Störelemente weder effektiv abgetrennt noch die erzeugten Interferenzen, wie bei Platin

und Rhodium, durch eine höhere Auflösung (*High resolution-inductively coupled plasma-mass spectrometry* HR-ICP-MS) behoben werden können. Demzufolge bleibt nur die Möglichkeit der mathematischen Korrektur, die aber nur sinnvoll ist, wenn Proben mit relativ hohem Palladiumgehalt (z.B. Abgaspartikel) untersucht werden. Die umweltrelevanten Palladiumkonzentrationen biologischer Proben liegen dagegen im  $\text{pg g}^{-1}$ - bzw. im niedrigen  $\text{ng g}^{-1}$ -Bereich, weshalb die Interferenzen der ubiquitär vorhandenen Störelemente ( $\mu\text{g g}^{-1}$ -Bereich) nicht zu beheben sind. Dies wirkt sich auf das Messergebnis meist durch Überbefunde aus, die unter Umständen mehrere Größenordnungen ausmachen können. Wenn es allerdings gelingt, die interferierenden Elemente abzutrennen oder wenn Proben mit sehr einfacher Matrixzusammensetzung (wässrige Lösungen) gemessen werden, erweisen sich die verschiedenen ICP-MS-Methoden mit einer Nachweisgrenze von bis zu  $0,17 \text{ ng Pd l}^{-1}$  als sehr empfindlich [124], [125].

Die GF-AAS ist eine leistungsstarke Bestimmungsmethoden für Elementspuren (vgl. Kapitel 3.2.1). Bei der GF-AAS können die meistens Matrixbestandteile der untersuchten Proben zuverlässig durch das Ofenprogramm zerstört werden. Zusätzlich können Matrixstörungen durch die Zeeman-Korrektur, mit Matrixmodifiern oder durch eine matrixangepasste Kalibrierung umgangen werden. Die erreichbaren Nachweisgrenzen für Palladium liegen im einstelligen  $\mu\text{g l}^{-1}$ -Bereich [126]. In Kombination mit einem vorgeschalteten Fließinjektions-Anreicherungs-system (vgl. Kapitel 3.1.3) beträgt die Nachweisgrenze etwa  $9 \text{ ng l}^{-1}$  [119].

Für die Ultrapurenanalytik von Palladium in biologischen Proben sind alle bisher genannten Analysetechniken nur durch Kopplung mit Anreicherungs- oder Separationsschritten geeignet. Wegen der niedrigen Pd-Konzentrationen ist bei der Entwicklung oder Verwendung derartiger Techniken auf eine möglichst geringe Analytmenge und auf eine kleinstmögliche Anzahl der Arbeitsschritte zu achten, um Analytverluste zu vermeiden.

Die Abtrennung von störenden Elementen, was im Speziellen bei den ICP-Methoden wichtig ist, kann z.B. mit Anionenaustauschern erfolgen [127]. Die meisten veröffentlichten Techniken zur Matrixabtrennung und zur Anreicherung beruhen jedoch auf der starken Komplexbildungstendenz von Palladium. Ein Beispiel ist die Verbindung 5-(2-Hydroxy-5-nitrophenylazo)thiorhodanin (HNATR), wobei sowohl Pd

---

als auch Pt, Rh und Au komplexiert werden. Daher müssen die farbigen Komplexe vor der Detektion zunächst mittels HPLC getrennt werden [128]. Als besonders selektiv haben sich verschiedene Thioharnstoffderivate herausgestellt. Dazu zählt auch die Verbindung N,N-Diethyl-N'-benzoylthioharnstoff (DEBT), die in dem von *Schuster und Schwarzer* [119] entwickelten FI-GF-AAS-Verfahren verwendet wird, welches eine sehr empfindliche und störungsfreie Bestimmung von Palladium ermöglicht (vgl. Kapitel 3.1.3). Nur durch die Kopplung derartiger Anreicherungs- und Matrixabtrennungsverfahren mit sensitiven Detektionsmethoden ist es möglich, Nachweisgrenzen im einstelligen ng l<sup>-1</sup>-Bereich zu erreichen.

### 3 Eingesetzte analytische Methoden und Techniken

#### 3.1 Probenvorbereitungstechniken

Die Entwicklung leistungsfähiger instrumenteller Analysemethoden in der Elementanalytik führte auch zu einer Weiterentwicklung der Probenvorbereitung, da die meisten hochempfindlichen Methoden ihre volle Nachweisstärke nur in einfach zusammengesetzten, klaren Probenlösungen oder erst nach Abtrennung und Anreicherung des Analyten zeigen. Daher wird heute den Aufschluss-, Abtrenn- und Anreicherungstechniken eine wichtige Rolle in der Analytik beigemessen, was letztlich eine weitgehende Automatisierung von Probenvorbereitungsverfahren zur Folge hatte.

Das Überführen schwerlöslicher Substanzen in säure- oder wasserlösliche Verbindungen und / oder die Mineralisierung organischer Bestandteile wird als Aufschließen der Probe bezeichnet. Dies bewirkt, im Gegensatz zum Lösen, eine chemische Veränderung der Ausgangssubstanzen bzw. der Matrix insgesamt. Das Aufschlussverfahren als Teil der Probenvorbereitung ist daher in der modernen Elementanalytik von maßgebender Bedeutung. Die Anforderungen an den Aufschluss hängen stark von der gewählten Analysemethode, dem Analyt selbst, der Probenmatrix und der Konzentration des Analyten ab. In vielen Fällen ist ein in Lösung bringen der Probe ausreichend. Wird jedoch im Spuren- oder Ultraspurenbereich gearbeitet, treten häufig Störungen der Analysemethoden auf. Diese können entweder durch nicht vollständig zersetzte Matrixbestandteile, wie z.B. durch organische Verbindungen bei elektroanalytischen Bestimmungen, aber auch durch ein Adsorbieren des Analyten an z.B. am silikatischen Oberflächen, ausgelöst werden. In solchen Fällen ist ein Totalaufschluss der Probe nötig, um richtige und präzise Ergebnisse zu erhalten.

Die Qualität eines Aufschlussverfahrens für den Ultraspurenbereich wird somit vor allem durch die Vollständigkeit des Aufschlusses erreicht. Ebenso wichtig ist die Minimierung von Kontaminationen und Analytverlusten während des Verfahrens. Außerdem spielen Zeit- und Reagenzienbedarf, insbesondere bei Routineanalyseverfahren eine große Rolle, da hier neben einer kurzen Probenvorbereitungszeit auch die einfache und sichere Handhabung der Reagenzien gegeben sein muss.

Ein zusätzliches Absenken der Bestimmungsgrenze vieler Analyten kann durch eine Abtrennung der Probenmatrix oder die selektive Anreicherung des Analyten erreicht werden. Besonders geeignet dafür ist die vollautomatisierbare Technik der Fließinjektionsanalyse (FIA). Die Fließinjektionstechnik findet in Kombination mit verschiedenen instrumentellen Nachweismethoden, wie z.B. der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS), der optischen Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) wie auch der Massenspektrometrie (ICP-MS) breite Anwendung.

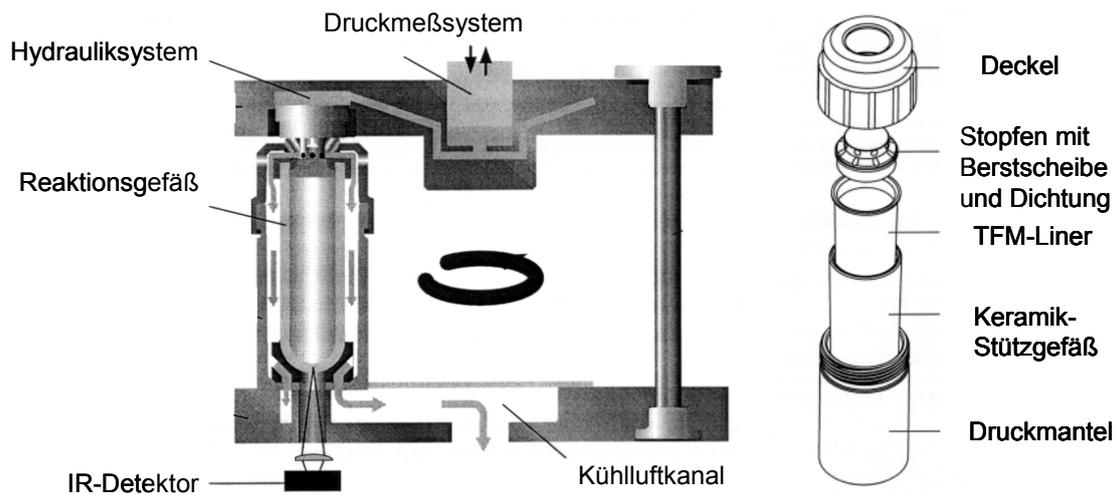
In den folgenden Kapiteln werden die in dieser Arbeit verwendeten Aufschlussmethoden und die FIA-Technik näher beschrieben.

### 3.1.1 Mikrowellenunterstützter Druckaufschluss

Mikrowellenunterstützte Aufschlüsse zählen heute zu den Standard-Probenvorbereitungsverfahren der Elementbestimmung in der Analytischen Chemie [129,130]. Als Aufschlussmittel werden sowohl nicht oxidierende als auch oxidierende Mineralsäuren verwendet [131]. Die gebräuchlichsten Säuren sind Salpetersäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Perchlorsäure und Flusssäure. Die Aufschlusswirkung der Säuren beruht entweder auf ihrem oxidierenden Charakter ( $\text{HClO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), oder auf ihrer Fähigkeit, stabile lösliche Komplexe zu bilden ( $\text{HCl}$ ,  $\text{HF}$ ) [132]. Entsprechende Mischungen von konzentrierten Säuren ermöglichen auch den Totalaufschluss schwieriger Matrices wie Boden-, Straßenstaub und Klärschlammproben, die in der vorliegenden Arbeit eine wichtige Rolle spielen.

Mikrowellenstrahlung ist eine Hochfrequenzstrahlung im Bereich von 1 bis 100 GHz und durchdringt Nichtleiter wie Glas, Quarz, Sinterkeramik und spezielle Kunststoffe, während sie von Metallen reflektiert wird. In einem Wellenlängenbereich von 5 bis 1 cm regt Mikrowellenstrahlung Rotationen von Dipolen und Molekularbewegungen an, kann aber Bindungen nicht aufspalten. Bei der Relaxation der angeregten Moleküle wird schließlich Wärme frei [133,134]. Beim Mikrowellenaufschluss durchdringen die Mikrowellen die Gefäßwände, ohne diese zu erwärmen. In geschlossenen, mikrowellentransparenten Druckgefäßen wird das Probengut mit der Säuremischung auf typischerweise 200 bis 300 °C erhitzt, zersetzt und in Lösung gebracht. Diese direkte Energieübertragung auf die Probe und somit die wesentlich schnellere und gleichmäßige Erwärmung der Aufschlussmischung führt zu erheblich kürzeren Aufschlusszeiten im Vergleich zu konventionellen Methoden, die auf konvektiver Heizung beruhen [135,136].

Das in dieser Arbeit verwendete mikrowellenunterstützte Probenvorbereitungssystem „MULTIWAVE“ der Firma Anton Paar ist mit einem Rotor ausgestattet, der mit maximal sechs Druckgefäßen beladen werden kann. Das Gerät ermöglicht die gleichmäßige Bestrahlung aller Aufschlusslösungen (Abbildung 5).



**Abbildung 5** Schematischer Aufbau des MULTIWAVE-Rotors und der Druckgefäße

Als Sicherheitsvorkehrung und zu Dokumentationszwecken werden während des Aufschlusses der Druck (Hydrauliksystem) und die Temperatur (IR-Detektor) in jedem Gefäß gemessen. Die Druckmessung erfolgt über sternförmige Hydraulikkanäle im Deckel des Rotors, so dass bei einer Überschreitung des Maximaldrucks die Mikrowellenleistung automatisch zurückgeregelt oder abgeschaltet wird. Bei dem MULTIWAVE Aufschlussgerät kann wahlweise ein Maximaldruck von 30 bzw. 75 bar eingestellt werden, wobei jeweils entsprechend geeignete Gefäße verwendet werden müssen. Zweckmäßig sind Gefäße aus Polytetrafluoroethylen (PTFE), Polytetrafluorometoxil (PTFM) oder Quarz, die in einen verschraubbaren, druckfesten Mantel eingesetzt werden.

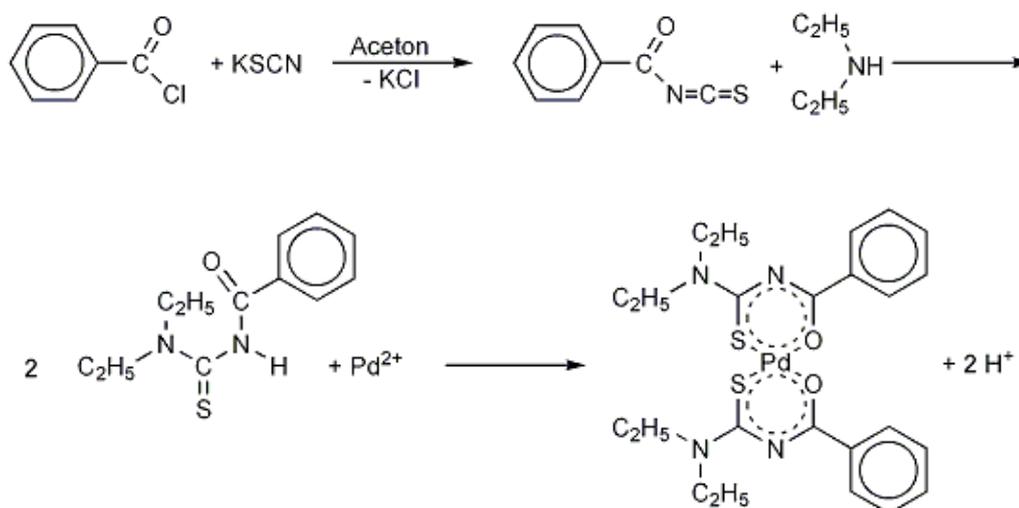
### 3.1.2 Schmelzaufschluss

Der Schmelzaufschluss ist ein klassisches Verfahren der Probenvorbereitung und wird auch heute noch vielfach genutzt. Nahezu alle Materialien können mit verschiedenen Schmelzen aufgeschlossen werden, da im Vergleich zu Nassaufschlüssen höhere Temperaturen und höhere aktive Konzentrationen der Reagenzien erreicht werden. Mit Hilfe von Schmelzen können schwerlösliche Oxide, Aluminate, Silikate und technische Proben aufgeschlossen werden [137,138], die sich einer

Zerstörung durch andere Methoden widersetzen. In dieser Arbeit wurde  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  mit Orthoborsäure in einer Schmelze aufgeschlossen.

### 3.1.3 Säulenbasierte Analytanreicherung im Fließinjektionssystem

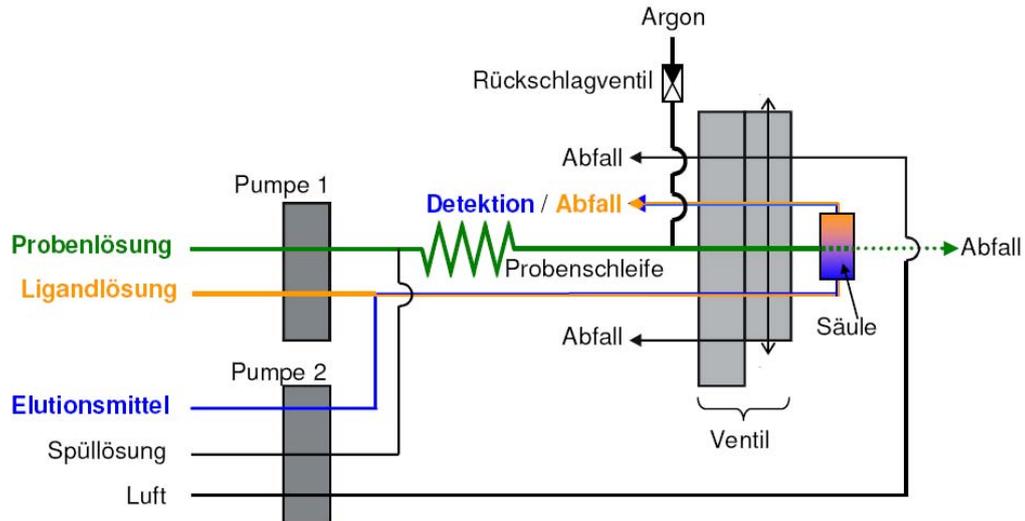
Fließinjektionsanalytensysteme (FIAS) werden seit ihrer Entwicklung in den 1970er Jahren [139] bis heute sehr häufig zur Analytanreicherung oder Matrixabtrennung eingesetzt. Die Säulanreicherung im Fließinjektionsanalytensystem wurde erstmals 1983 von *Olsen et al.* [140] beschrieben. Durch geeignete Auswahl von Sorbens, Komplexbildner und Elutionsmittel lassen sich viele verschiedene Systeme mit unterschiedlichen Selektivitäten erzeugen. Nach Ergebnissen von *Schuster* [141] sind N,N-Dialkyl-N'-benzoylthioharnstoffe hervorragende analytisch einsetzbare Extraktions- und Fällungsreagenzien für Schwer- und Edelmetalle. Für die Anreicherung von Palladium hat sich N,N-Diethyl-N'-benzoylthioharnstoff (DEBT) als besonders geeignet erwiesen, da diese Verbindung eine hochselektive Pd-Komplexierung ermöglicht [141,142]. DEBT wird mit hohen Ausbeuten aus der Reaktion von Diethylamin mit Benzoylisothiocyanat, welches aus Benzoylchlorid und Kaliumthiocyanat gewonnen wird, dargestellt. Mit Palladium bildet sich hauptsächlich  $[\text{Pd}(\text{DEBT})_2]$  ein neutraler, planar koordinierter Chelatkomplex dessen Ligandatome in cis-Stellung angeordnet sind [143] (Abbildung 6).



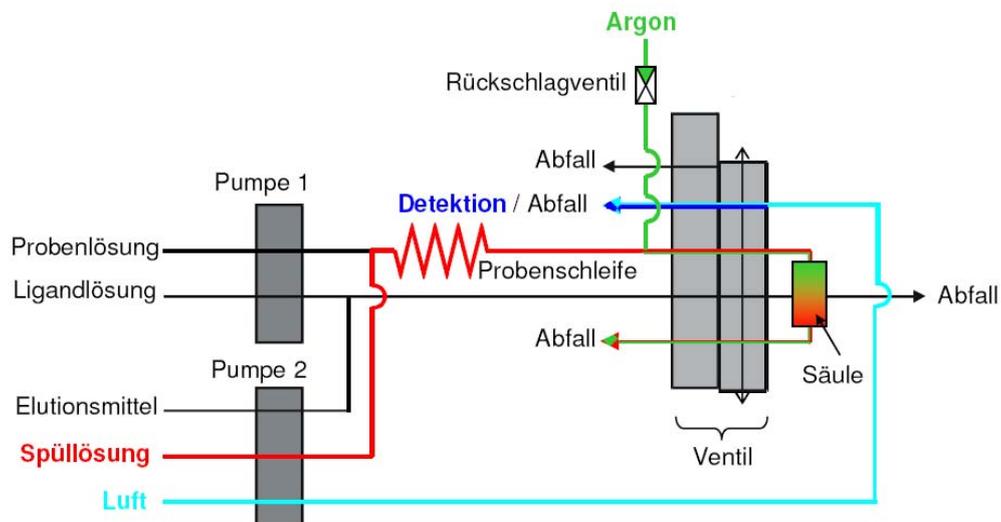
**Abbildung 6** Synthese von DEBT und Komplexierung von Palladium (II)-Ionen

DEBT zeichnet sich durch eine hohe Oxidations- und Hydrolysestabilität aus und bildet äußerst stabile Pd-Komplexe [144]. Darüber hinaus ist DEBT sowohl selbst als auch in Form von Komplexverbindung auf unpolaren Phasen wie RP<sub>18</sub> (*engl. Reversed phase*) adsorbierbar. Für die Desorption eignen sich unpolare Lösungsmittel wie Toluol oder Chloroform ebenso wie die polaren Verbindungen Aceton und Ethanol [145]. Diese Eigenschaften von DEBT bieten optimale Voraussetzung für ein Festphasenanreicherung von Palladium.

In dieser Arbeit wurde für die Palladianalyse ein vollautomatisiertes Anreicherungssystem verwendet [30], das im Arbeitskreis entwickelt wurde. Die Anreicherungsapparatur besteht aus einem Perkin-Elmer-Fließinjektionsanalytensystem FIAS-400 mit zwei peristaltischen Schlauchpumpen und einem 5:4-Wege-Ventil mit den zwei einstellbaren Positionen „*Fill*“ und „*Inject*“. Das FIAS ist mit einem Autosampler ausgerüstet. Der Transport der Lösungen und Flüssigkeiten erfolgt mit Hilfe von Tygon<sup>®</sup>-Pumpschläuchen und PTFE bzw. PFA-Kapillaren. Das Anreicherungssystem ist in den Abbildung 7 und 8 schematisch dargestellt. Das FIA-Programm zur Pd-Anreicherung und Matrixabtrennung ist in Tabelle 7 zusammen mit einer Erläuterung der einzelnen Schritte wiedergegeben.



**Abbildung 7** Schematischer Aufbau des FIAS in der Ventilstellung „Fill“ und eine farbliche Darstellung der Anreicherungsschritte 1,6 und 8 (siehe Tabelle 7)



**Abbildung 8** Schematischer Aufbau des FIAS in der Ventilstellung „Fill“ und eine farbliche Darstellung der Anreicherungsschritte 2-5 und 7 (siehe Tabelle 7)

**Tabelle 7** Überblick der Einstellungen des vollautomatischen FIA-Programms und Erklärung der Einzelschritte mit Bezug auf Abbildung 7 und 8

Fließinjektionsanalysensystem-Schritte		Pumpen		Ventil- Position
Nr.	Erläuterung	P1	P2	
Prefill	Füllen des Schlauchvolumens von der Probenkapillare bis zur Probenschleife mit <b>Probelösung</b> .	X	-	Fill
1	Die Säule wird mit <b>Ligandlösung (DEBT)</b> beladen und gleichzeitig die Probenschleife mit <b>Probelösung</b> befüllt.	X	-	Fill
2	Die <b>Spüllösung (Salpetersäure 1,4 mol/l)</b> drückt die Probelösung über die Säule.	-	X	Inject
3	Probelösung, die durch den Rückdruck während der Schritte 1 und 2 in den Argonschlauch gedrückt wurde, wird durch das <b>Argon</b> in Richtung Säule befördert.	-	-	Inject
4	Die <b>Spüllösung</b> drückt den restlichen Teil der Probelösung über die Säule.	-	X	Inject
5	Die Säule wird gespült, indem das <b>Argon</b> die restliche <b>Spüllösung</b> über die Säule drückt. Anschließend wird die Säule mit <b>Argon</b> getrocknet.	-	-	Inject
6	Der Palladiumkomplex und überschüssiger Ligand werden mit dem <b>Elutionsmittel (Ethanol)</b> von der Säule gespült und das Eluat in die zur Detektion führende Kapillare geleitet.	-	X	Fill
7	Das <b>Eluat</b> wird mit <b>Luft</b> zur Detektionseinheit transportiert.	-	X	Inject
8	Säule und Detektionskapillare werden mit Elutionsmittel, die Probenschleife mit Spüllösung gespült.	-	X	Fill

Ein besonders für die Ultrapurenanalytik wichtiger Vorteil dieses Anreicherungsverfahrens ist der geringe Proben- und Reagenzienbedarf und die Verwendung eines geschlossenen Systems, da somit das Kontaminationsrisiko und vor allem Analytverluste auf ein Minimum eingeschränkt werden. Außerdem wird durch die immer gleichen Analysenabläufe die Reproduzierbarkeit des Messverfahrens erhöht.

## 3.2 Charakterisierungs- und Messmethoden

### 3.2.1 Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie

Die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) ist eine hochselektive Methode zur Elementanalytik bis in den Spurenbereich. Bei der AAS wird die Resonanz-Absorption von elektromagnetischer Strahlung bestimmter Wellenlänge durch Atome benutzt, um die einzelnen Elemente quantitativ zu bestimmen. Dafür wird eine Probe durch thermische Behandlung bei Temperaturen von 1200-2500 °C in Atome überführt. Zur Erzeugung der Atome existieren zwei unterschiedliche Verfahren: FAAS (*engl. Flame atomic absorption spectrometric*) mit Atomisierung in einer Flamme aus Oxidans und einem brennbaren Gas. GF-AAS (*engl. Graphite furnace atomic absorption*) mit elektrothermischer Atomisierung in einem elektrisch beheizten Graphitofen. Als Strahlungsquellen dienen in der Regel Hohlkathodenlampen (HKL), deren Kathoden das zu analysierende Element enthalten. Die Empfindlichkeit der AAS wird häufig durch die charakteristische Masse  $m_0$  angegeben. Sie entspricht derjenigen Masse an Analyt, welche die Intensität des einfallenden Lichtstrahls um 1% oder 0,0044 Extinktionseinheit schwächt. Für Palladium liegt die charakteristische Masse bei 53 pg/0,0044.

Bei der Elementbestimmung durch FAAS erfolgt ein kontinuierlicher Proben-eintrag (ca. 1-3 ml min<sup>-1</sup>) durch Zerstäubung der Probe in eine Flamme bei Temperaturen von 1700-3500 °C [146]. Die Nachweisgrenze für Palladium liegt hier bei 20 µg l<sup>-1</sup> [126]. Unspezifische Störungen, verursacht durch Molekülbanden oder Lichtstreuung, werden mittels einer Kontinuumslichtquelle bestimmt und nachträglich abgezogen (Deuteriumuntergrundkorrektur). In höher konzentrierten Proben kann Palladium mit der FAAS weitgehend problemlos bestimmt werden, lediglich die Anwesenheit großer Mengen an anderen Edelmetallen übt einen negativen Einfluss aus [146]. Für umweltrelevante Fragestellungen scheidet die FAAS aufgrund ihrer mäßigen Nachweisempfindlichkeit im zweistelligen µg l<sup>-1</sup>-Bereich aus.

Bei der GF-AAS wird ein geringes Probenvolumen (20-50 µl) einer flüssigen, in seltenen Fällen auch einer festen Probe, in einem elektrisch beheizten Graphitrohr atomisiert. Ein typisches Graphitrohr ist zwischen 2 und 5 cm lang und wird zwischen

zwei zylindrischen elektrischen Kontakten aus Graphit im Gerät eingesetzt [147,148]. Über eine Widerstandsheizung kann die Temperatur sehr genau im Bereich von 20°C bis 3000°C geregelt werden. Die thermische Behandlung der pipettierten Probenlösung im Graphitrohr erfolgt durch eine schrittweise Temperaturerhöhung. Im Rahmen eines Temperaturprogramms wird die Probe vor der Atomisierung getrocknet und eventuell vorhandene organische Matrixbestandteile verascht. Danach wird die Stromstärke schnell erhöht und somit Temperaturen zwischen 2000°C und 3000°C erreicht, was zu einer Atomisierung der Probe innerhalb weniger Millisekunden bis Sekunden führt. Der abschließende Ausheizprozess (2500-3000°C) dient zur Reinigung des Graphitrohres, bei dem evt. vorhandene schwer verdampfbare Oxide oder in die Graphitoberfläche diffundierte Atome entfernt werden [149]. Matrixstörungen können relativ zuverlässig durch die Zeeman-Untergrundkorrektur [150], mit Matrixmodifiern oder durch eine matrixangepasste Kalibrierung umgangen werden. Die Nachweisgrenzen der GF-AAS für Palladium liegen in der Größenordnung von  $1 \mu\text{g l}^{-1}$  [126]. In Kombination mit dem in Kapitel 3.1.3 beschriebenen Fließinjektionssystem erreichen die Nachweisgrenzen bei der Palladiumbestimmung den unteren  $\text{ng l}^{-1}$  Bereich [119].

### 3.2.2 Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse

Die Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse (TRFA) ist eine weitgehend matrixunabhängige, energiedispersive Multielementmethode zur qualitativen und quantitativen Analyse von Mikroproben. Merkmale der TRFA sind die schnelle simultane Multielementbestimmung von Mikroproben ( $< 100 \mu\text{g}$ ) im Spurenbereich für die Elemente Al bis U. Prinzipiell können alle Flüssigkeiten und Feststoffe analysiert werden, die sich als dünner Film auf den Probenträger aufbringen lassen. Die TXRF lässt sich somit in vielen Bereichen der Analytik verwenden. Einen Eindruck der umfangreichen Einsatzmöglichkeiten geben die DIN 51003 [151], *Prange* und *Schwenke* [152], *Michaelis et al.* [153]. In dieser Arbeit wurde die TRFA zur Matrixcharakterisierung eingesetzt.

Die detaillierten theoretischen Grundlagen der Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse sind in Lehrbücher z.B. von *Klockenkämper* [154] bzw. von *Beckhoff et al.* [155] ausführlich dargestellt. Hier werden nur allgemeine Prinzipien dieser Messmethode erläutert.

Bei einer TRFA-Messung trifft Röntgenstrahlung unter einem sehr kleinen Winkel ( $0,1^\circ$ ) auf einen polierten und optisch ebenen Probenträger und wird dabei totalreflektiert. Die auf dem Probenträger vorhandenen Atome werden durch diese Röntgenstrahlung angeregt. Erreicht oder übersteigt die Anregungsenergie die Bindungsenergie eines Elektrons der inneren Schale, so wird dieses aus dem Atom "herausgeschlagen" und die entstandene Lücke wird mit einem Elektron aus einer höheren Schale wieder besetzt. Bei diesem Vorgang wird ein Röntgenphoton frei, es entsteht die für die einzelnen Elemente jeweils charakteristische Röntgenfluoreszenz. Die Detektion der Röntgenfluoreszenz erfolgt mit einem Si(Li)-Detektor, der senkrecht zur Probenträgeroberfläche angebracht ist. Da die Probe als extrem dünne Schicht vorliegt, werden Matrixeffekte wie Absorption oder Sekundäranregung vermieden. Die Anregung in Totalreflektion reduziert die Streuung des Röntgenstrahls und gewährleistet einen extrem niedrigen Untergrund. Die Absolutnachweisgrenzen liegen für fast alle Elemente des Periodensystems schwerer als Chlor im Bereich von 1 bis 10 pg. Für eine ganze Reihe dieser Elemente sind sie sogar kleiner als 5 pg. Die Zugabe eines Standardelements bekannter Konzentration zur Probe erlaubt eine einfache Quantifizierung der Probenelemente.

### 3.2.3 Elektronenmikroskopische Methoden

Die Elektronenmikroskopie wird grundsätzlich zur Charakterisierung kleiner Objekte im unteren Mikrometer- bis Nanometerbereich eingesetzt. Im Vergleich zur Lichtmikroskopie werden hier zur Abbildung Elektronen statt Photonen verwendet. Die freien Elektronen werden von einer Glühkathode erzeugt und mit Hilfe einer Hochspannung beschleunigt. Durch elektromagnetische Linsen fokussiert, treffen sie auf die Probe. Durch die Wechselwirkung mit dem untersuchten Material werden die Elektronen absorbiert, gestreut oder gebeugt. Diese Wechselwirkungen sind

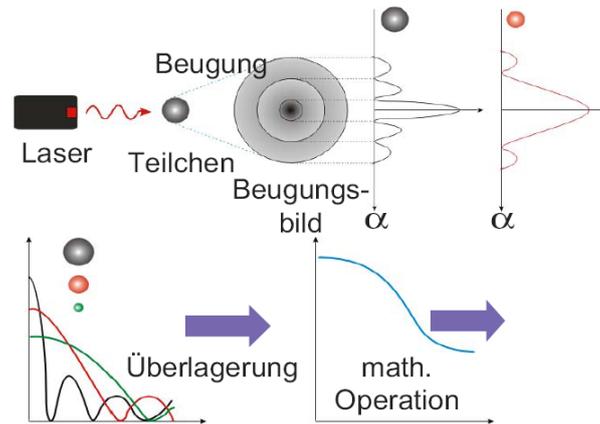
messbar und werden in ein Bild umgewandelt. Damit der Elektronenstrahl das zu untersuchende Objekt durchstrahlen kann, darf die Probendicke etwa 100 nm nicht übersteigen. Für die Untersuchung wird typischerweise bis zu 1  $\mu\text{l}$  der verdünnten Probe auf ein mit Kohlenstoff beschichtetes Kupfer-Netz gegeben und nach dem Verdampfen des Lösungsmittels ins Hochvakuum des Mikroskops eingeschleust. Mit einem Elektronenmikroskop kann eine Auflösung bis etwa 0,1 nm erreicht werden.

Für die Bestimmung der Größenverteilung der synthetisierten Palladiumnanopartikel kam in dieser Arbeit TEM (*Transmissionselektronenmikroskop*) zum Einsatz. Die Informationen über die kristallografische Struktur der Teilchen wurden mit Hilfe der hochauflösenden Elektronenmikroskopie HR-TEM (*engl. High resolution transmission electron microscopy*) gewonnen. Die genaue Bestimmung von Gitterparametern wurde durch Feinbereichsbeugung SAD (*engl. Selected area diffraction*) durchgeführt. Die Zusammensetzung von einigen Proben wurde durch EDX (*engl. Energy dispersive X-ray analysis*) untersucht.

Zu den theoretischen Grundlagen der angewandten elektronenmikroskopischen Methoden sei auf die Literatur verwiesen (*Reimer* [156], *Williams* [157]).

### 3.2.4 Lasergranulometrie

Die Größenverteilung von Partikeln im Bereich zwischen 0,5 und 500  $\mu\text{m}$  wurde mittels Lasergranulometrie bestimmt. Sie beruht auf dem Prinzip der Beugung eines Laserstrahls an den in einer Suspension befindlichen Teilchen und wird mittels der Theorie von *Mie* [158] bzw. der *Fraunhofer* Näherung [159] berechnet. Alle Partikel einer Probe beugen das Licht eines monochromatischen Laserstrahls. Ein Partikel mit einem großen Durchmesser beugt den Laserstrahl nur wenig, d.h. in einem kleinen Winkel. Die Lichtspektren der kleinen Partikel dagegen müssen in größeren Winkeln gegenüber dem Laserstrahl aufgenommen werden. Abbildung 9 zeigt schematisch Beugungsspektren an unterschiedlich großen Einzelpartikeln und das summarische Spektrum eines Partikelgrößengemisches.



**Abbildung 9** Prinzip der Korngrößenbestimmung mittels Laserbeugung [160]

In der Winkelabhängigkeit des gestreuten Lichts liegt die Information, die nach *Mie* oder *Fraunhofer* in eine Partikelgrößenverteilung umgerechnet wird. Für Partikel größer als  $3\ \mu\text{m}$  lässt sich dieser Effekt nun in Form der so genannten *Fraunhofer*-Näherung zur Bestimmung der Partikelgröße heranziehen. Sie geht von der Annahme aus, dass die gemessenen Partikel undurchsichtig sind und Licht in engen Winkeln streuen. Bei deutlich kleineren Teilchen ( $0,01\ \mu\text{m}$  bis etwa  $3\ \mu\text{m}$ ) jedoch versagt die einfache Auswertung nach *Fraunhofer* und die komplexere Theorie der Lichtstreuung nach *Mie* findet Anwendung. Die *Mie*-Theorie sagt die Streuintensitäten für alle Partikel, klein oder groß, durchsichtig oder undurchsichtig voraus. Die *Mie*-Theorie erlaubt auch primäre Streuung von der Oberfläche des Partikels und berücksichtigt den Brechungsindexunterschied zwischen dem Partikel und dem Dispersionsmittel bei der Intensitätsberechnung. Des Weiteren definiert sie die sekundäre Streuung, die durch Lichtbrechung innerhalb des Partikels verursacht wird – dies ist insbesondere für Partikel mit kleinem Durchmesser wichtig.

## 4 Monitoring von Palladium in Umweltproben

### 4.1 Hintergrund und Aufgabenstellung

Die Emission von Palladium - insbesondere aus Autoabgaskatalysatoren - hat nachgewiesenermaßen zu einer signifikanten Erhöhung der Konzentration dieses Elements in der Umwelt geführt (vgl. Kapitel 2.4 und 2.5). Solange die ökotoxikologischen Auswirkungen der Palladiumemissionen nicht vollständig geklärt sind, ist der schnelle Anstieg der Palladiumkonzentration in der Umwelt grundsätzlich als problematisch zu betrachten. Die Konsequenzen der steigenden Palladiumeinträge können derzeit nur spekulativ diskutiert werden, da nur unzureichende Daten zur Verbreitung und Bioverfügbarkeit des Palladiums vorliegen. Das Monitoring in unterschiedlichen Umweltkompartimenten und somit die Dokumentation der Immission ist der erste Schritt für die Abschätzung der ökotoxikologischen Rolle des aus Kfz emittierten Palladiums.

In der Arbeitsgruppe wurden daher Palladiumkonzentrationen in Straßenstäuben bzw. Klärschlammaschen seit 1994 bzw. seit 1972 bestimmt [14]. In dieser Arbeit wurden Proben aus den Jahren 2007 bzw. 2001-2006 untersucht und somit die Langzeitstudie fortgeführt. Ziel der durchgeführten Untersuchungen ist es, den zeitlichen Verlauf der Palladiumgehalte zu erfassen, um so die zukünftige Entwicklung abschätzen zu können.

Neben der Untersuchung von Straßenstaub und Klärschlammasche wurden in dieser Arbeit erstmals Palladiumkonzentrationen in Oberböden von Versickerungsmulden entlang stark befahrener Straßen analysiert. Diese Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft der TU München durchgeführt. Sie sollen dazu beitragen, die Anreicherung, Verteilung und Mobilität von verkehrsbürtigem Palladium in straßennahen Böden zu erfassen.

## 4.2 Palladium in Münchner Straßenstaub

Die untersuchten Straßenstäube stammen aus drei Münchner Stadttunneln: Candidtunnel, Trappentreutunnel und Landshuter Allee Tunnel, die alle Teil des Mittleren Rings sind. Der Mittlere Ring ist eine stark befahrene, mehrspurige Ringstrasse mit einer zulässigen Höchstgeschwindigkeit von 60 km h<sup>-1</sup>. Das durchschnittliche tägliche Verkehrsaufkommen in den drei beprobten Tunneln ist in Tabelle 8 angegeben.

**Tabelle 8** *Verkehrsaufkommen in den beprobten Münchner Stadttunneln [161]*

Tunnelname	Durchschnittliches Verkehrsaufkommen (Kfz/24h)
Candidtunnel	139.000
Trappentreutunnel	136.000
Landshuter Allee Tunnel	128.000

Die Proben wurden immer nur in den Tunneln genommen, da hier die Beeinflussung durch die Witterung weniger stark auftritt. Die vorangegangenen Untersuchungen der Straßenstäube aus diesen drei Tunneln aus den Jahren 1994, 1998 und 2001 zeigten bereits steigende Pd-Gehalte [14]. Die in dieser Arbeit untersuchten Proben wurden im Juli 2007 gesammelt. Die Probenahme und die weitere Analysenvorgehensweise wurden immer nach der gleichen Vorschrift durchgeführt.

Zur Kontrolle der Richtigkeit der Analysenergebnisse wurde parallel ein zertifiziertes Referenzmaterial (BCR-723) in gleicher Weise analysiert. Es handelt sich dabei um einen Straßenstaub, der 1998 in einem Tunnel in Tanzenberg (Österreich) gesammelt wurde [162]. Die zertifizierte Palladiumkonzentration in BCR-723 beträgt  $6,0 \pm 1,8 \mu\text{g Pd kg}^{-1}$ . Der vergleichsweise große Unsicherheitswert des Standardmaterials zeigt, dass die Bestimmung von Palladium in realen Matrices immer noch ein Problem darstellt.

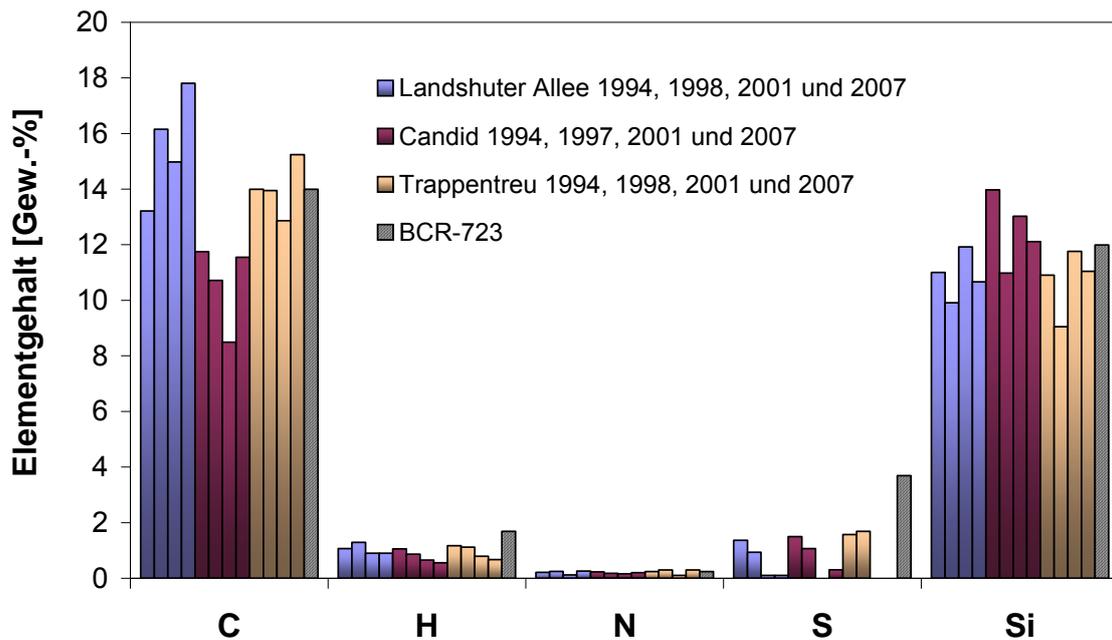
#### 4.2.1 Probenahme

Die Proben wurden von den Dächern der Notruftelefonzellen mit einer Bürste und einem Kunststoffspatel gesammelt und in handelsüblichen PE-Beuteln aufbewahrt. Zwischen 3 und 10 g Staub konnten pro Tunnel genommen werden. Vor dem Aufschluss wurde der Staub bei 120 °C getrocknet und in einer Kugelmühle homogenisiert. Ein vorhergehendes Sieben war nicht nötig, da sich nur kleine Partikel auf den Telefonzellendächern absetzen.

#### 4.2.2 Matrixcharakterisierung

Die untersuchten Straßenstäube wurden durch Bestimmung der Haupt- und Spurenelemente mittels Elementaranalyse und TRFA charakterisiert. Die Ermittlung der Zusammensetzung der einzelnen Staubproben ermöglichte den Vergleich der Matrices aller analysierten Staubproben. Die Prüfung auf Matrixkonstant ist sehr wichtig, da auf diese Weise Schwankungen oder Veränderungen der Emissionsquellen erkannt werden können. Eine Langzeit-Trendanalyse macht aber nur Sinn, wenn genau das ausgeschlossen werden kann. Die experimentelle Durchführung ist im Anhang in Kapitel 8.9.2 beschrieben.

Die bei der Elementaranalyse erhaltenen Daten für C-, H-, N-, S-, und Si-Gehalte sind in Abbildung 10 dargestellt. Zum Vergleich der Matrixzusammensetzung der Straßenstäube sind die Daten früherer Untersuchungen der gleichen Probenahmestellen angegeben. Die Werte für die zertifizierte Referenzprobe BCR-723 wurden dem Zertifikat entnommen.



**Abbildung 10** C-,H-,N-,S- und Si-Gehalte Münchner Tunnelstaubproben von 1994 bis 2007

Die Analyse ergab nur kleine Unterschiede (0-3%) von H-, N-, und Si-Gehalten von Jahr zu Jahr sowohl innerhalb der gleichen als auch zwischen unterschiedlichen Probenahmestellen. Der Schwefelanteil in den Straßenstäuben vom Jahr 1994 bzw. 1998 betrug ca. 2%, der vom Jahr 2001 bzw. 2007 dagegen nur ca. 0 bis 0,5%, was möglicherweise eine Folge der Reduzierung des Schwefelanteils in Dieselkraftstoffen ist. Der Unterschied in den Kohlenstoffgehalten beträgt nur ca. 5% wenn man die einzelnen Tunnel für sich betrachtet, bzw. 11% wenn man alle Tunnel über die Zeit betrachtet. Die Elementkonzentrationen des BCR-723 Tunnelstaubs zeigen vergleichbare Zahlenwerte.

Die mittels TRFA bestimmten Elemente der Straßenstäube und ihre Konzentrationen sind in Tabelle 9 dargestellt.

**Tabelle 9** *Elementgehalte Münchner Tunnelstäube*

Jahr	Landshuter Allee Tunnel		Candidtunnel		Trappentreu Tunnel		BCR-723
	2001	2007	2001	2007	2001	2007	1998
K [%]	0,00	0,2	0,30	0,60	0,28	0,38	1,30
Ca [%]	12,40	11,9	5,75	7,1	11,87	12,6	10,00
Fe [%]	2,79	3,6	1,06	1,8	2,50	2,9	3,09
Zn [%]	0,29	0,30	0,13	0,2	0,11	0,15	0,16
Ba [%]	0,48	0,59	0,19	0,23	0,39	0,31	0,40
Ni [mg kg <sup>-1</sup> ]	58	62	10	10	59	45	171
Pb [mg kg <sup>-1</sup> ]	53	48	9	19	41	32	827
Cu [mg kg <sup>-1</sup> ]	735	658	273	222	575	532	225
Cr [mg kg <sup>-1</sup> ]	155	163	151	163	237	216	306
Mn [mg kg <sup>-1</sup> ]	562	569	282	277	533	561	760
As [mg kg <sup>-1</sup> ]	21	26	7	14	28	23	15,4

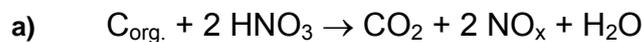
Die TRFA-Messergebnisse zeigen ebenfalls nur geringe Unterschiede in der Elementverteilung der Münchner Straßenstäube. Alle untersuchten Proben enthalten K (ca. 0 bis 0,6%), Ca (ca. 7 bis 12,6%), Fe (ca. 1 bis 3,6%), Zn (ca. 0,1 bis 0,4%) und die Elemente Ni, Pb, Cu, Cr, Mn und Arsen im Spurenbereich. Die Elementgehalte des BCR-723 Staubs sind auch hier vergleichbar. Aufgrund der sehr ähnlichen Matrix ist das Referenzmaterial BCR-723 als Kontrollprobe für die Palladiumbestimmung in Münchner Tunnelstaubproben hervorragend geeignet.

#### 4.2.3 Aufschlussmethode

Die Qualität eines Aufschlussverfahrens für die Bestimmung von Palladiumspuren in silikathaltigen Umweltproben wie Straßenstaub ist vor allem von der Vollständigkeit des Aufschlusses abhängig, da Palladium im Gegensatz zu anderen Platingruppenmetallen sogar in saurer Lösung stark an Silikate bindet. Für die vollständige Mineralisierung der sehr komplexen Straßenstaubmatrix wurde hier ein dreistufiger mikrowellenunterstützter Druckaufschluss eingesetzt, wobei der sehr

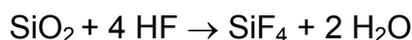
hohe Silikatanteil der Straßenstaubproben durch Flusssäure in Lösung gebracht wird [163].

In der ersten Aufschlussstufe wird eine Mischung aus Salpetersäure und Wasserstoffperoxid eingesetzt. Die starke Oxidationswirkung der  $\text{HNO}_3$  zersetzt organische Substanzen vollständig (Gleichung 1a). Der Druckanstieg, der hauptsächlich durch die Bildung von Stickoxiden verursacht wird, kann durch deren teilweise Rückoxidation zu Salpetersäure verringert werden (Gleichung 1b). Deshalb werden bei der Zugabe von Wasserstoffperoxid höhere Temperaturen in der Aufschlusslösung erreicht, was insgesamt zu einem besseren Aufschlussergebnis führt [164].



**Gleichung 1** a) Oxidation organischer Matrixkomponenten mit  $\text{HNO}_3$ , b) Rückoxidation von  $\text{NO}_x$ -Gasen mit  $\text{H}_2\text{O}_2$

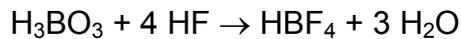
Die zweite Stufe dient dem Aufschluss des Silikatrückstands durch Zugabe eines Überschusses an konzentrierter Flusssäure (Gleichung 2) [165].



**Gleichung 2** Silikataufschluss mit Flusssäure

Im Vergleich zur ersten Stufe entstehen hier weniger gasförmige Reaktionsprodukte, weshalb der Druckanstieg in den Aufschlussgefäßen direkt mit dem Anstieg der Temperatur einhergeht. Somit kann die Energiezufuhr hier schneller erfolgen und ein höherer Maximalwert für die Mikrowellenleistung vorgegeben werden.

Im letzten Schritt wird gesättigte Borsäurelösung zugegeben. Der wichtigste Effekt der  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ist die Maskierung der Flusssäure als Tetrafluoroborsäure [166] (Gleichung 3).



**Gleichung 3** Maskierung der Flusssäure mit Borsäure

Dadurch wird einer Zersetzung des RP-18 Materials der Anreicherungssäule durch Flusssäure vorgebeugt und die Aufschluslösungen können ohne Bedenken in Glasgefäßen aufbewahrt werden. Die genaue experimentelle Durchführung des Aufschlusses ist in Kapitel 8.9.2 zu finden.

#### 4.2.4 Palladiumkonzentrationen

Der Palladiumgehalt der Aufschluslösungen wurde nach Anreicherung und Abtrennung des Palladiums im FIA-System (vgl. Kapitel 3.1.3) mittels GF-AAS bestimmt. Die Kalibrierung kann mithilfe wässriger Pd(II)-Standardlösungen durchgeführt werden, da Matrixeffekte in den untersuchten Proben durch die Palladiumabtrennung minimiert wurden. Die aus der Kalibrierfunktion im Konzentrationsbereich von 20 bis 1000 ng Pd l<sup>-1</sup> berechneten analytischen Daten sind in Tabelle 10 zusammengestellt.

**Tabelle 10** Analytische Daten des Analysenverfahrens für die Bestimmung von Palladium in Straßenstaub mittels FI-GF-AAS

Analytische Parameter	Wert
Steigung der Kalibriergeraden	0,1313 ± 0,0121 A-s l µg <sup>-1</sup>
Achsenabschnitt der Kalibriergeraden	0,0022 ± 0,0069 A-s
Nachweisgrenze	18 ng l <sup>-1</sup>
Rel. Verfahrenstandardabweichung	5,4 %

Durch die Anreicherung wurde eine niedrige Nachweisgrenze von 18 ng Pd l<sup>-1</sup> erzielt. Die Richtigkeit des Meßverfahrens wurde durch die Bestimmung der Pd-Wiederfindung (WF) im Referenzmaterial BCR-723 überprüft (Tabelle 11). Die angegebenen Unsicherheiten entsprechen den Standardabweichungen dreier unabhängig aufgeschlossener Proben.

**Tabelle 11** Pd-Wiederfindung im zertifizierten Referenzmaterial (BCR-723)

Referenzmaterial BCR-723	
zertifizierte Pd-Konzentration	gefundene Pd-Konzentration
6,0 ± 1,8 µg Pd kg <sup>-1</sup> .	6,01 ± 0,75 µg Pd kg <sup>-1</sup> WF = 100 ± 12 %

Der ermittelte Pd-Gehalt des BCR-723-Straßenstaubs zeigt eine sehr gute Übereinstimmung mit dem zertifizierten Palladiumwert (Wiederfindung: 100 ± 12 %) und bestätigt somit die Richtigkeit des verwendeten Messverfahrens.

Die in Straßenstaubproben bestimmten Pd-Konzentrationen sind in Tabelle 12 zusammengestellt.

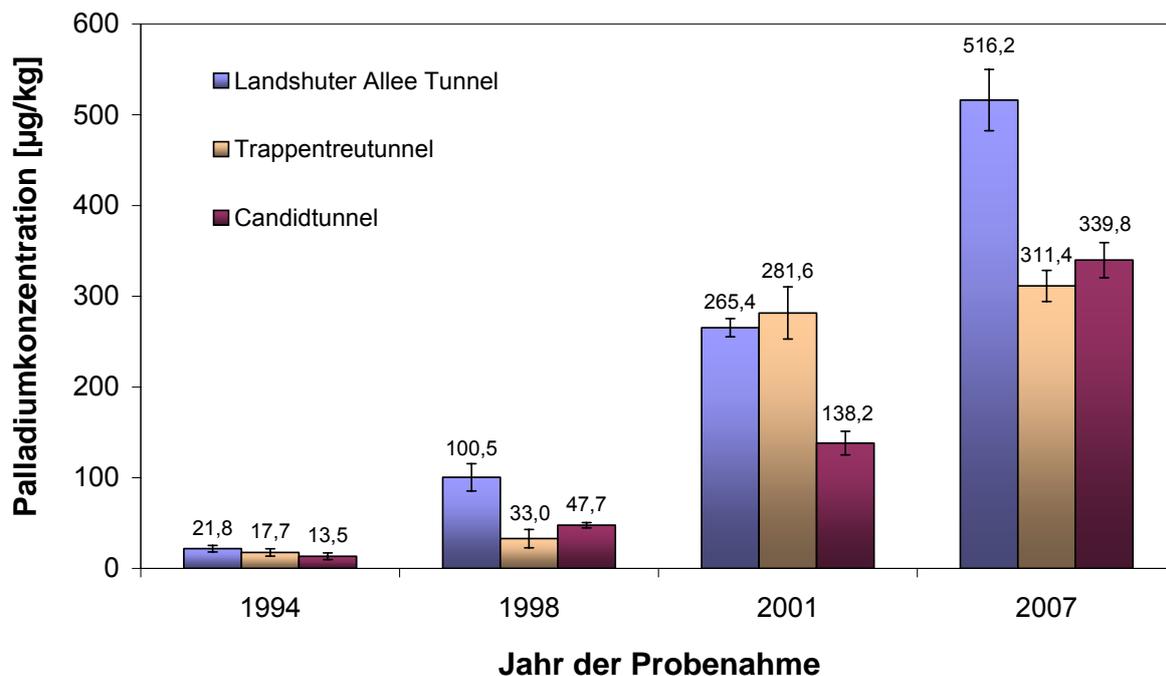
**Tabelle 12** Palladiumkonzentrationen in Münchner Tunnelstaubproben im Jahr 2007

Ort der Probenahme	Pd-Konzentration [µg kg <sup>-1</sup> ]
Candidtunnel	339,8 ± 19,4
Trappentreutunnel	311,4 ± 17,2
Landshuter Allee Tunnel	516,2 ± 33,8

Die erhaltenen Ergebnisse zeigen hohe Pd-Gehalte in allen drei Tunneln. Im Straßenstaub des Landshuter Allee Tunnels liegt die Pd-Konzentration mit 516,2 µg kg<sup>-1</sup> deutlich höher, als im Trappentreutunnel bzw. Candidtunnel, obwohl die Verkehrsdichte hier am niedrigsten ist (vgl. Tabelle 8). Dies bedeutet, dass der Pd-Gehalt im Straßenstaub nicht nur von der Anzahl der durchfahrenden Kraftfahrzeuge im

Tunnel, sondern auch von anderen Faktoren wie z.B. Fahrverhalten (Stop and Go) und Geschwindigkeit der Kfz an dieser Fahrstrecke abhängig ist.

In Abbildung 11 sind die erhaltenen Palladiumkonzentrationen der Straßenstäube aus dem Jahr 2007 im Vergleich zu den Werten aus frühen Messungen dargestellt.



**Abbildung 11** Palladiumkonzentrationen in Münchner Straßenstaub von 1994 bis 2007

Die ermittelten Pd-Werte für das Jahr 2007 sind deutlich höher als die der Jahre 1994, 1998 und 2001. Innerhalb der letzten 13 Jahre hat sich der Palladiumgehalt in den Tunnelstäuben um den Faktor 24 erhöht. Die Proben vom Jahr 1994 zeigen einen Palladiumgehalt zwischen 14 und 22  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , während die Proben von 2007 einen Palladiumgehalt zwischen 311 und 516  $\mu\text{g kg}^{-1}$  aufweisen. Hauptursache hierfür ist offenbar die Zunahme der Anzahl der Autos, die mit Pd-Katalysatoren ausgestattet sind.

### 4.3 Palladium in Oberböden von Versickerungsmulden

Straßenstaub wird durch seitliche Verfrachtung mittels Wind und Niederschlagswasser in Oberböden nahe den Verkehrsflächen eingetragen (vgl. Kapitel 2.4). Je nach Art der Entwässerung - Ablauf in die Kanalisation oder Versickerung – werden die durch den Verkehr emittierten Stoffe unterschiedlich stark in Oberböden verfrachtet. Die Versickerung des Regenwassers ist die ökonomischste Variante der Straßenentwässerung [167]. Dabei dient der Boden gleichzeitig als Medium für die Aufnahme, Zwischenspeicherung und Weiterleitung des Regenwassers, sowie als Filter bzw. Adsorbens für Schadstoffe. Dieser natürliche Vorgang wird durch Versickerungsanlagen so optimiert, dass das Niederschlagswasser der Verkehrsflächen möglichst langsam versickert. Daher findet die Versickerung über bewachsenen Oberböden, den so genannten belebten Bodenzonen statt. In dieser Bodenzone werden viele Schadstoffe abgebaut bzw. festgehalten, außerdem sorgen Wurzeln und Kleinlebewesen für eine gleich bleibende Korn- und Porenstruktur und erhalten damit dauerhaft die Sickerfähigkeit des Bodens [168]. Einige Versickerungstechniken sind in Abbildung 12 dargestellt.

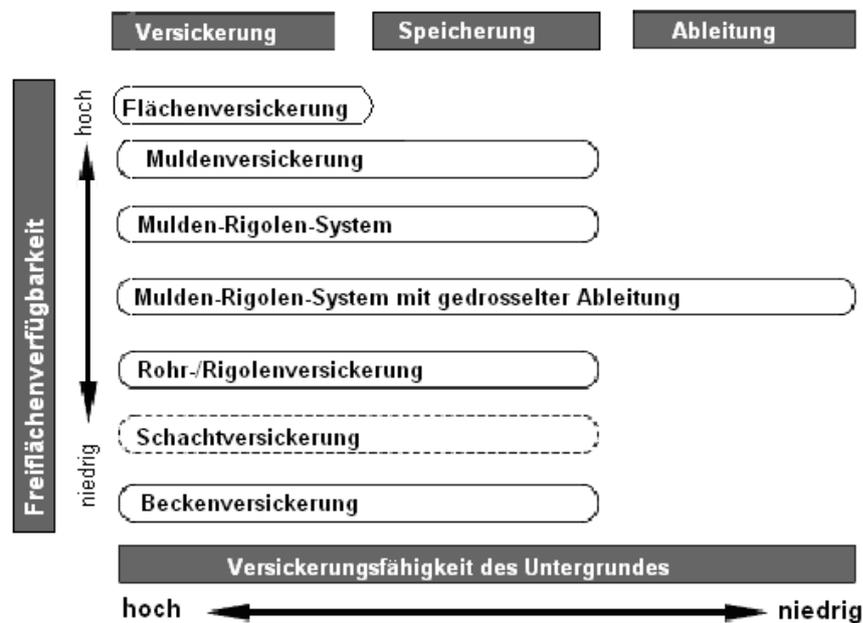
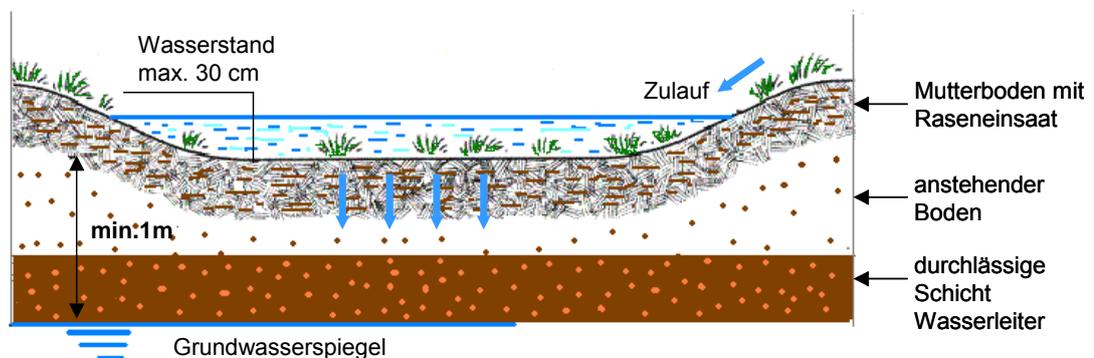


Abbildung 12 Techniken für die Wasserversickerung [169]

Nach Vorschrift der Deutschen Vereinigung für Wasserwirtschaft kommt für die stofflich belasteten Abflüsse von Verkehrsflächen hauptsächlich die Flächen-, oder Muldenversickerung in Frage [170].

Die Flächenversickerung ist das einfachste Prinzip der naturnahen Regenwasserbewirtschaftung. Sie ist einsetzbar, wenn ausreichend große Freiflächen zur Verfügung stehen. Hierbei werden die Regenabflüsse auf eine gut durchlässige Fläche geleitet, auf der sie ohne Zwischenspeicherung versickern.

Bei der Muldenversickerung wird das Niederschlagswasser zunächst in der Mulde gespeichert, bevor es allmählich in den Untergrund versickert. Die Straßenmuldenböden haben eine mittlere Wasserdurchlässigkeit von  $5 \cdot 10^{-5} \text{ m s}^{-1}$  und besitzen einen Humusgehalt von etwa 1% [168]. Die einstaubare Tiefe darf nicht mehr als 0,3 m betragen und die Böschungsneigung darf ein Verhältnis von 1:2 nicht überschreiten [171,172] (Abbildung 13).



**Abbildung 13** Schematische Darstellung einer Versickerungsmulde [172]

Die kontinuierliche Zufuhr von Schadstoffen in die Oberböden der Versickerungsmulden birgt das Risiko einer Durchsickerung von Schadstoffen ins Grundwasser. Deswegen wird ein Austausch des Oberbodens von Versickerungsanlagen an Verkehrsflächen nach max. 20 Jahren oder früher empfohlen [170]. Inwieweit diese Zeitspanne für alle verkehrsbürtigen Schadstoffe angemessen ist, ist fraglich. In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob und wenn ja in welcher Tiefe sich Palladium in den Oberböden von Versickerungsmulden anreichert.

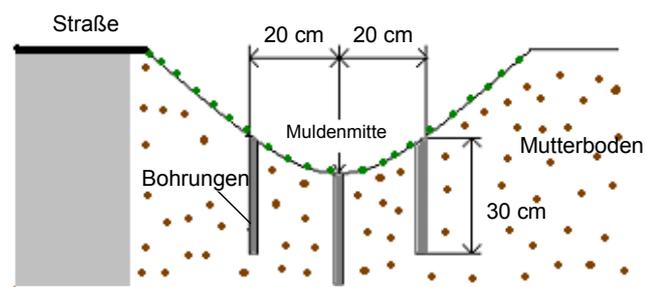
### 4.3.1 Probenahme

Die untersuchten Proben stammen aus den Versickerungsmulden entlang der Autobahn A 92 und der Kreisstraße Freising (FS 6). Das Alter der Mulden sowie das durchschnittliche Verkehrsaufkommen sind in Tabelle 13 angegeben.

**Tabelle 13** Durchschnittliches Verkehrsaufkommen und Alter der beprobten Versickerungsmulden

Straßenname (Kilometerzahl)	Durchschnittliches Verkehrsaufkommen (Kfz/24h)	Alter der Mulde
Autobahn A 92 (28,5 km)	15 000	15 Jahre
Kreisstraße FS 6 (17,4 km)	3 000-5 000	14 Jahre

Jeweils drei Stellen innerhalb einer Mulde – Muldenmitte, 20 cm in Richtung der Fahrbahn und 20 cm in die entgegen gesetzte Richtung - wurden bis zu einer Tiefe von 30 cm beprobt. Abbildung 14 zeigt eine schematische Darstellung der Probenahmestellen innerhalb einer Versickerungsmulde.



**Abbildung 14** Schematische Darstellung der Probenahmestellen innerhalb einer Mulde

Die Probenahme erfolgte gemäß DIN EN ISO Norm 22475-1 mit einem 60 cm langen Stechzylinder (Bohrstock) mit einem Durchmesser von 1 cm. Der Zylinder wurde ohne Drehungen in den Boden gedrückt und dann die Probe durch eine 180°-Drehung abgeschert und langsam nach oben gezogen [173]. So konnten für die

Mulde an der Kreisstrasse in folgenden Tiefenbereichen Proben gewonnen werden: A) 0-7,5 cm; B) 7,5-15 cm; C) 15-22,5 cm und D) 22,5-30 cm. An der Autobahn grenzt bereits nach 15 cm Tiefe eine Kiesschicht an den Oberboden, weshalb nur die Tiefen A) und B) beprobt werden konnten. Die Bodenproben wurden dann bei 105 °C in einem Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und anschließend unter Verwendung einer Kugelmühle zerkleinert und homogenisiert.

#### 4.3.2 Matrixcharakterisierung

Zur Matrixcharakterisierung der Bodenproben kamen die Elementaranalyse und die TRFA zum Einsatz. Mittels Elementaranalyse wurden die Hauptelemente C, H, N, und Si der Bodenproben quantifiziert, die Gehalte sind in Abbildung 15 dargestellt.

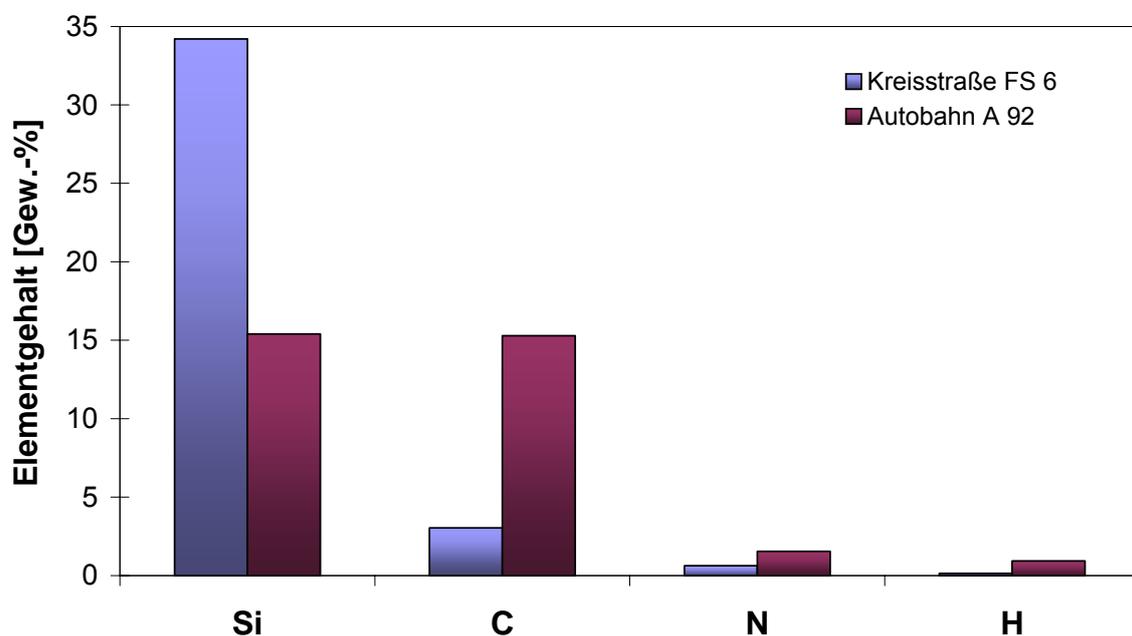
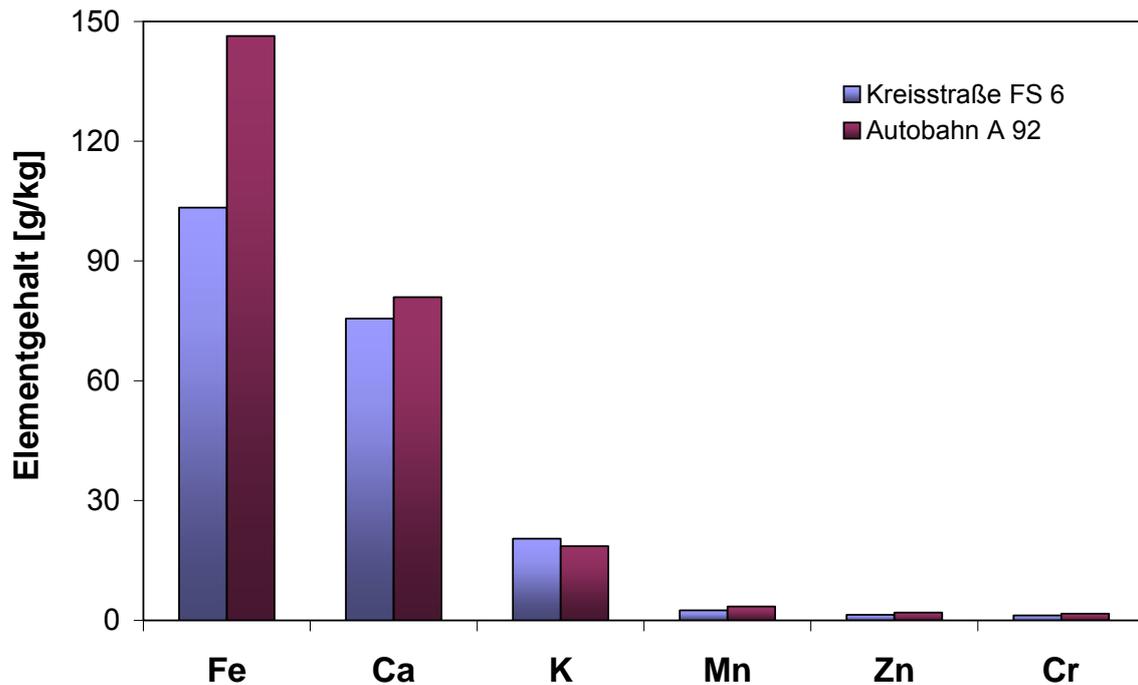


Abbildung 15 C-, H-, N-, Si-Gehalt in Bodenproben (Elementaranalyse)

Die Bodenproben an der Kreisstraße enthalten im Vergleich zu den Proben an der Autobahn weniger Silizium, aber einen vielfach höheren Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt. D.h. der Humus- bzw. Kalkgehalt ( $\text{CaCO}_3$ ) des Bodens an der Kreis-

strasse ist deutlich höher, während an der Autobahn der silikatische Anteil überwiegt. Es ist daher zu erwarten, dass diese beiden Bodentypen ein unterschiedliches Anreicherungs- bzw. Rückhaltevermögen für Palladium zeigen.

Abbildung 16 zeigt eine Übersicht der mittels TRFA bestimmten Elementkonzentrationen der Bodenproben.



**Abbildung 16** Matrixbestandteile der Bodenproben (gemessen mit TRFA)

Die mit TRFA ermittelten Hauptbestandteile der untersuchten Proben sind Fe und Ca, wobei der Fe-Gehalt im Boden an der Autobahn um den Faktor 1,4 höher, als im Boden an der Kreisstraße ist. Dies könnte durch das größere Verkehrsaufkommen auf der Autobahn (vgl. Tabelle 13) und damit entstehende höhere Fe-Emission erklärt werden. Außerdem konnten in den untersuchten Böden K, Mn, Zn und Cr gefunden werden, deren Konzentrationen nur geringe Unterschiede an beiden Standorten zeigen.

### 4.3.3 Aufschlussmethode

Eine vollständige Lösung aller Bestandteile einer Bodenmatrix kann z.B. nach DIN EN-Norm 13 656 erreicht werden. Für die Spurenbestimmung von Palladium in der vorliegenden Probenmatrix (mit z.T. sehr hohen Silikat- und Eisenkonzentrationen) ist jedoch eine Optimierung dieser Aufschlussmethode erforderlich. Die einzelnen Schritte des neu entwickelten, mikrowellenunterstützten Totalaufschlusses werden im Folgenden kurz beschrieben.

In der ersten Stufe wird die Bodenprobe mit einer Mischung aus konzentrierter Salpetersäure, Wasserstoffperoxid und Salzsäure zur Zersetzung der organischen Bestandteile des Bodens versetzt. Durch leichtes Schwenken der Aufschlussgefäße wird das Probenmaterial gleichmäßig benetzt. Bei Raumtemperatur und Normaldruck beginnt innerhalb einer Stunde die oxidative Zersetzung, die im Anschluß 45 Minuten unter Hochdruck (75bar) im Mikrowellengerät fortgesetzt wird.

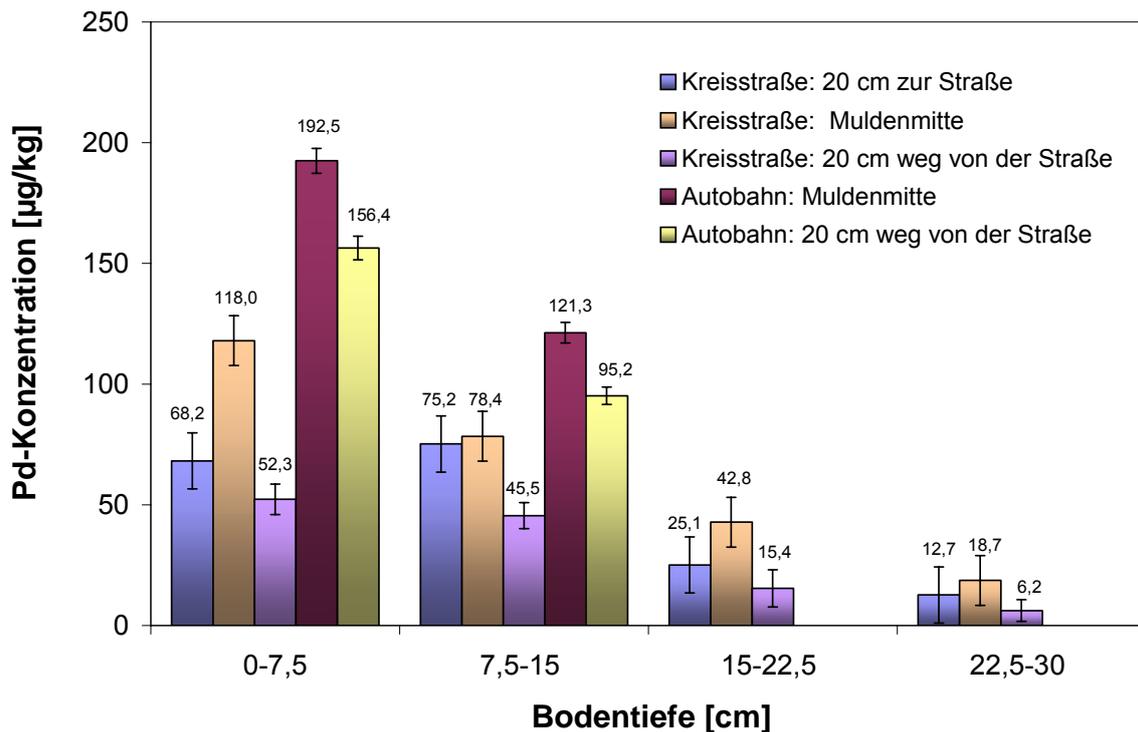
In der zweiten Stufe wird der Silikatrückstand unter Zugabe eines Überschusses an konzentrierter Flusssäure bei 75 bar und 260 °C in Lösung gebracht. Im dritten und letzten Schritt werden durch den Einsatz von Borsäure schwerlösliche Fluoride in Lösung gebracht bzw. freie Fluoridionen maskiert. Die genaue experimentelle Durchführung des Aufschlusses sowie das verwendete Mikrowellenprogramm sind in Kapitel 8.9.3 zu finden.

### 4.3.4 Palladiumkonzentrationen

Die Bestimmung des Palladiumgehalts in der komplexen Matrix der Bodenproben erfolgte durch die Anwendung der Standardadditionsmethode. Bei dieser Methode wird die Kalibrierung in der Probenmatrix durchgeführt. Aliquoten der aufgeschlossenen Probe werden dabei definierte Pd-Mengen zugesetzt. Die gemessenen Extinktionswerte werden dann gegenüber den zudosierten Pd-Konzentrationen als x-y Wertepaare in einem Diagramm aufgetragen. Die Konzentration der Probe kann

dann am x-Achsenabschnitt der Regressionsgeraden abgelesen werden (vgl. hierzu Kapitel 8.11.3). Hierzu wurden je drei Aliquote einer Aufschlussprobe mit unterschiedlichen Mengen an Palladiumstandardlösung versetzt und diese jeweils einer Dreifachmessung unterzogen. Die Nachweisgrenze lag bei  $5 \text{ ng Pd g}^{-1}$  Boden.

Die in den Bodenproben bestimmten Pd-Konzentrationen sind in Abbildung 17 aufgeführt.



**Abbildung 17** Palladiumkonzentrationen in Bodenproben aus Versickerungsmulden

Die gefundenen Palladiumkonzentrationen in den untersuchten Bodenproben belegen eindeutig die Anreicherung von Palladium durch die Versickerung von Niederschlagsabflüssen neben den Strassen. Die Messungen neben der Kreisstraße bestätigen außerdem die Vermutung, dass Palladium nicht nur oberflächlich abgelagert, sondern auch in tiefere Schichten verfrachtet wird.

Die höchsten Palladiumkonzentrationen wurden erwartungsgemäß jeweils in der Mitte der Versickerungsmulde gefunden, wo der größte Teil des Straßenstaubs durch den Regen angeschwemmt und abgelagert wird. Im Vergleich zu den Bodenproben an der Kreisstrasse ist der Oberboden an der Autobahn deutlich höher mit Pd

belastet, was durch die fast 3-fach höhere tägliche Verkehrsbelastung erklärbar ist. In der obersten Bodenschicht bis 7,5 cm Tiefe wurden neben der Kreisstraße ca. 10-fach höhere Pd-Konzentrationen als in der untersten Schicht (22,5-30 cm) gemessen. Auch an der Autobahn liegen die Pd-Konzentrationen in der obersten Schicht im Mittel höher als in der darunter liegenden Schicht. Damit ist ein Eindringen des Palladiums in tiefere Bodenschichten belegt. Nach der Vorschrift der Deutschen Vereinigung für Wasserwirtschaft werden die Oberböden aus Versickerungsmulden erst nach einer Betriebszeit von ca. 20 Jahren erneuert. Die untersuchten Mulden werden demnach noch voraussichtlich 5 bzw. 6 Jahre ohne Erneuerung des Oberbodens weiterbetrieben. Ein Eintrag von Pd-Spuren ins Grundwasser durch diese Art der Strassenentwässerung kann daher nicht ausgeschlossen werden.

#### **4.4 Palladium in Klärschlammmaschen**

Palladium gelangt durch den Abfluss von kanalisierten Straßenläufen und anderen Abwässern (z.B. aus Dentalpraxen) in kommunale Kläranlagen. Bei der Reinigung von Abwasser entsteht Klärschlamm, der über mehrere Verfahrensschritte zu Klärschlammmasche verarbeitet wird.

##### **4.4.1 Probenahme**

Die untersuchten Klärschlammmaschen stammen aus dem Hauptklärwerk Stuttgart-Mühlhausen. Der durchschnittliche Abwasserzulauf in diesem Klärwerk beträgt bei Trockenwetter ca. 220.000 m<sup>3</sup> pro Tag. Nach mechanischer Vorklärung resultieren aus der Schlammfäulung und der biologischen Stufe täglich ca. 69 t Schlamm (Trockenmasse) mit einem mittleren Schlammalter von 8-15 Tagen. Die Gesamtmenge ist seit 1972 etwa konstant. Der Schlamm wird mit Hilfe eines Schwerkrafteindickers und einer Zentrifuge unter Einsatz kationischer, organischer Reagenzien entwässert. Nach einer weiteren thermischen Trocknung auf einen Wassergehalt von ca. 50% wird der Schlamm in einem Wirbelschichtofen bei 950°C

verbrannt. Dabei entstehen täglich etwa 35 t Asche, die durch einen Elektrofilter abgeschieden werden. Eine Stichprobe der Asche entspricht einer Mischprobe über einen Zeitraum von 10 Tagen. Die Proben sind als Rückstellmuster im Hauptklärwerk Stuttgart-Mühlhausen archiviert. In dieser Arbeit wurden Jahresmischproben aus den Jahren 2002 bis 2006 untersucht.

#### 4.4.2 Matrixcharakterisierung

Die wichtigsten Hauptbestandteile der Klärschlammasche wurden vom zentralen Analyselabor der Kläranlage zur Verfügung gestellt und sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

**Tabelle 14** *Hauptkomponenten der Klärschlammasche*

Bestandteil	Gehalt
Silikate	35 Gew.-%
Sulfate	3 Gew.-%
Phosphate	7 Gew.-%
Calcium	13 Gew.-%
Eisen	10 Gew.-%

Nach dem Verbrennen der Klärschlämme fallen Phosphat-haltige Aschen an, in denen die organischen Bestandteile durch den Verbrennungsprozess weitgehend zerstört wurden. Die wichtigsten chemischen Bestandteile der Klärschlammaschen sind  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  und  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Andere Elemente, z.B. die umweltrelevanten Schwermetalle Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Zn, und Hg, treten nur als Neben- oder Spurenbestandteile auf.

#### 4.4.3 Aufschlussmethode

Der Löseprozess beim Aufschluss der Klärschlammmasche konzentriert sich primär auf die verbliebene anorganische Matrix, bei der Silikat im Vordergrund steht. Die vollständige Freisetzung des Palladiums wurde hier mittels eines mikrowellenunterstützten Totalaufschluss nach der von *Weber* [174] entwickelten Aufschlussmethode erreicht.

In der ersten Stufe wird hier eine Mischung aus Salpetersäure, Salzsäure und Schwefelsäure zu den Proben gegeben. Alle in der Probe vorhandenen Metalle werden durch diese Säuremischung in eine lösliche Form überführt. In der zweiten Stufe wird der Silikatrückstand durch Zugabe von Flusssäure vollständig in Lösung gebracht. Anschließend wird in der dritten Stufe durch Zugabe von Borsäure die überschüssige Flusssäure als Tetrafluoroborsäure maskiert (Gleichung 3). Die genaue experimentelle Durchführung des Aufschlusses ist in Kapitel 8.9.4 zu finden.

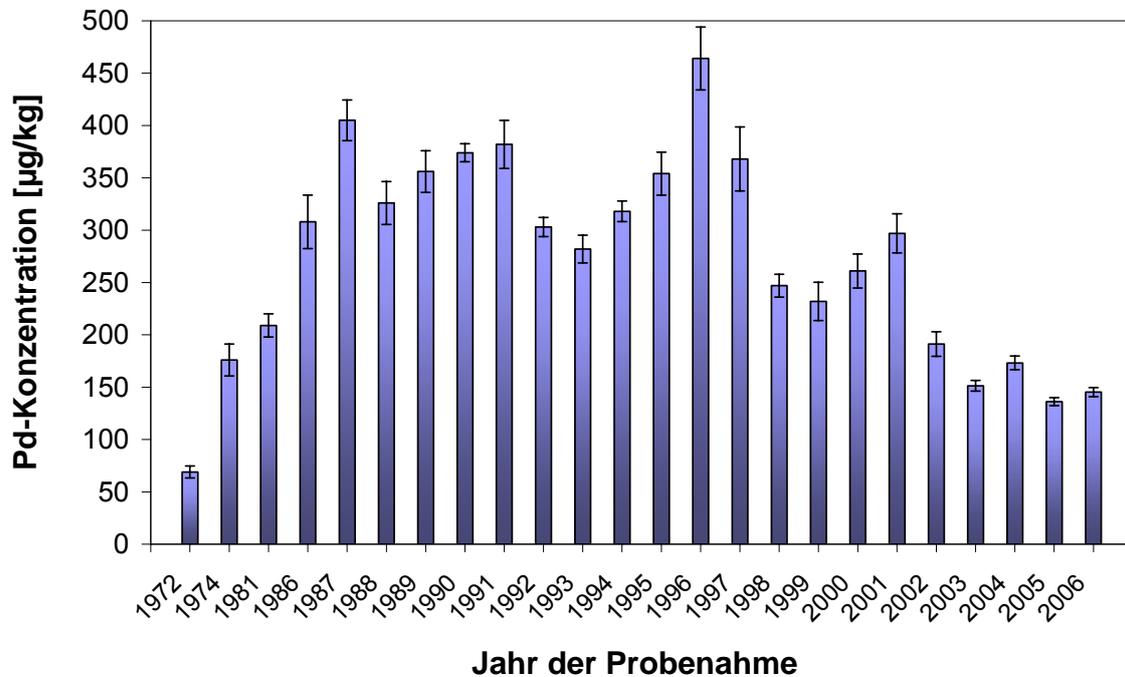
#### 4.4.4 Palladiumkonzentrationen

Die Palladiumkonzentrationen der vorliegenden Klärschlammproben wurden nach dem Totalaufschluss mittels FI-GF-AAS bestimmt. Die Kalibrierung kann hier mit wässrigen Pd(II)-Standardlösungen erfolgen, da Matrixeffekte in den untersuchten Proben durch die Pd-Abtrennung minimiert wurden. Nachfolgend sind die erhaltenen Palladiumkonzentrationen der Klärschlammmaschen von 2002 bis 2006 tabellarisch zusammengefasst (Tabelle 15). Die angegebenen Unsicherheiten entsprechen den Standardabweichungen von drei unabhängig von einander aufgeschlossenen Probenlösungen.

**Tabelle 15** *Palladiumkonzentrationen in Klärschlammmaschen von 2002 bis 2006*

Jahr der Probenahme	2002	2003	2004	2005	2006
Pd-Konzentration [ $\mu\text{g kg}^{-1}$ ]	191,2 $\pm$ 2,1	151,4 $\pm$ 3,4	179,2 $\pm$ 1,8	136,2 $\pm$ 2,8	145,2 $\pm$ 3,1

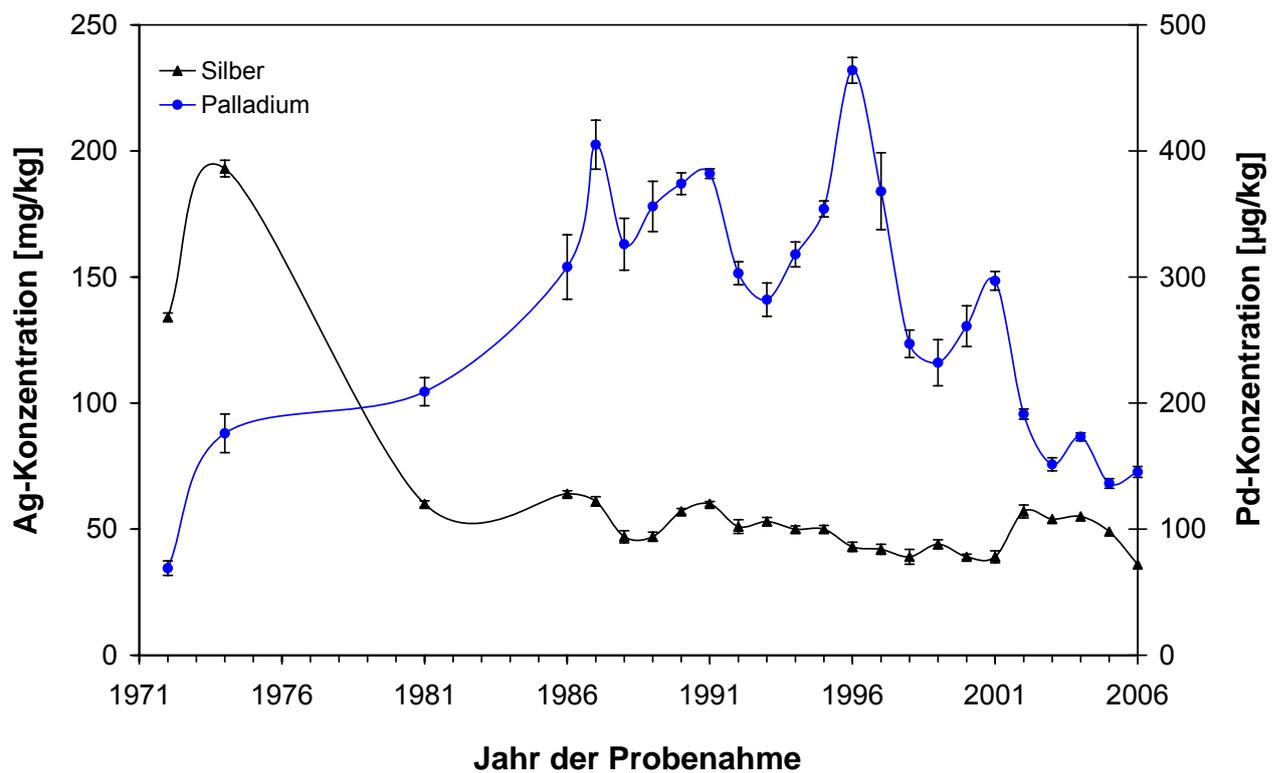
Die ermittelten Daten zeigen eine Tendenz zur Abnahme der Pd-Konzentration im Klärschlamm. In Abbildung 18 sind die erhaltenen Daten im Vergleich zu Palladiumgehalten früherer Klärschlammaschen des Klärwerks Stuttgart Mühlhausen dargestellt.



**Abbildung 18** Palladiumkonzentrationen in Klärschlammaschen von 1972 bis 2006 (Jahre 1972-2001 aus Lit. 175)

Die dargestellten Daten können in vier Abschnitte unterteilt werden. In den Jahren bis 1986 stieg der Palladiumgehalt von etwa  $69 \mu\text{g kg}^{-1}$  auf  $300 \mu\text{g kg}^{-1}$  an. Im Zeitraum von 1986 bis 2001 schwankte der Gehalt zwischen  $300$  und  $450 \mu\text{g kg}^{-1}$  und ab 2001 bis 2006 nahmen die Palladiumgehalte im Klärschlamm bis auf  $150 \mu\text{g kg}^{-1}$  ab. Der Anstieg der Palladiumkonzentration in der Klärschlammasche im Zeitraum von 1972 bis 1987 fand vor der Einführung des Dreiwegekatalysators in Deutschland statt und die Abnahme der Palladiumkonzentration im Klärschlamm im Zeitraum von 2001 bis 2006 fand in der Hochphase der Nutzung des Palladiums in Kfz-Katalysatoren statt. Die vorhandenen Palladiumkonzentrationen können daher nicht oder zumindest nicht ausschließlich der Emission aus Kfz-Katalysatoren zugeschrieben werden. Die Nutzung des Palladiums in der Dental-, Chemie-, und Elektronikindustrie bewirken hier offenbar einen nicht differenzierbaren Eintrag. Palladium-basierte Dentallegierungen wurden 1982 in Westeuropa eingeführt. Die

Anzahl verschiedener Typen dieser Legierungen stieg von 10 im Jahr 1981 auf 115 im Jahr 1993 [176]. Dies fällt zeitlich mit dem Anstieg der Palladiumkonzentrationen in den Aschen zusammen. Im gleichen Zeitraum wurde die Verwendung von Amalgamdentallegerungen (ca. 50%Hg, 36% Ag, 8%Cu und 6% Sn) reduziert, da diese aufgrund der vermeintlichen Toxizität von Hg unpopulär wurden [177]. Dies führte wahrscheinlich zu den sinkenden Silberkonzentrationen in den Klärschlamm-aschen zwischen 1974 und 1981 (Abbildung 19).



**Abbildung 19** Palladium und Silber-Konzentrationen in Klärschlamm-aschen von 1972 bis 2006 (Daten für Jahre 1972-2001 aus Lit. 14)

Der Einsatz des Palladiums in der Dentalmedizin erreicht 1997 seinen Maximalwert und sinkt danach wieder, was zeitlich zu den sinkenden Pd- Gehalten in den Aschen passt. Der reduzierte Einsatz in der Dentalmedizin ist zurückzuführen auf das Bekanntwerden allergener Reaktionen durch die Veröffentlichung mehrerer medizinischer Untersuchungen [178] und der darauf folgenden Empfehlung des Bundesgesundheitsministeriums vom Jahr 1992 auf Pd-Legierungen zu verzichten.

## 4.5 Zusammenfassung

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen einen starken Anstieg der Palladiumgehalte im Straßenstaub. Innerhalb der letzten 13 Jahre hat sich der Palladiumgehalt in den untersuchten Tunnelstäuben um den Faktor 24 erhöht. Dieser steile Anstieg ist offensichtlich auf den zunehmenden Anteil an Kraftfahrzeugen mit Palladiumkatalysatoren bzw. auf die Verwendung größerer Mengen von Pd in den Katalysatoren selbst zurückzuführen.

Das Abwaschen von Straßenstäuben mit dem Niederschlagswasser bewirkt die Anreicherung des Palladiums in Oberböden von Versickerungsmulden. Die Untersuchung von Tiefenprofilen der Muldenböden bestätigen des weiteren die Verfrachtung des Palladiums in Bodenschichten von mehr als 20 cm Tiefe. Die direkte Rückführung des Regenwassers in die Natur erhöht dabei das Risiko einer Durchsickerung des Edelmetalls in das Grundwasser.

Durch das Abflusswasser von kanalisierten Straßenläufen und durch die Verwendung des Palladiums in einigen Bereichen wie z.B. der Dentalmedizin, der Elektronik- und Chemieindustrie gelangt Palladium in das kommunale Abwasser und damit in den Klärschlamm. Die Untersuchung von Klärschlammmaschen ergab eine Abnahme der Palladiumkonzentration in den letzten Jahren. Daher kann der Eintrag des Palladiums in Kläranlagen nicht vorwiegend aus Autokatalysatoren stammen, sondern stellt eine Überschneidung verschiedener Emissionsquellen dar.

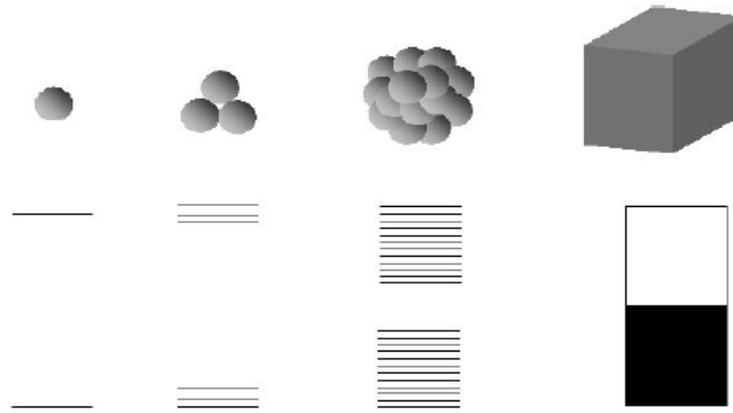
## 5 Synthese und Charakterisierung von Pd-Elementpartikeln

### 5.1 Hintergrund und Aufgabenstellung

Im Gegensatz zu anderen Schwermetallen wie Zink oder Kupfer zählt Palladium nicht zu den essentiellen Elementen und wegen seiner Seltenheit ist es für die belebte Natur völlig fremd. Studien zum toxikologischen und allergologischen Potenzial des Palladiums beziehen sich bisher nur auf lösliche Palladiumsalze und können daher die real existierende Umweltsituation nicht reflektieren. Hier liegen ca. 90% des emittierten Palladiums in nanopartikulärer Form vor [7]. Über das Gefährdungspotential dieser Palladiumnanopartikel für Natur und Menschen gibt es derzeit nur wenige Daten. Insbesondere ist unklar, ob die chemischen und katalytischen Besonderheiten von Pd-Nanopartikel in Organismen, d.h. unter physiologischen Bedingungen, Schäden anrichten können. Denkbar ist durchaus, dass Palladiumnanoteilchen nicht nur nützliche chemische Reaktionen katalysieren, sondern ihr Potentialil ebenso bei unerwünschten (biochemischen) Reaktionen entfalten.

Partikel in Nanometerbereich haben generell zwei besondere Eigenschaften:

1. Unterhalb von ca. 50 nm Größe gelten die klassischen physikalischen Gesetze nicht mehr, sondern die der Quantenphysik [179,180]. Bei Metallpartikeln im Nanometerbereich wird die Bandstruktur der elektronischen Zustände aufgehoben und die möglichen Energiezustände nähern sich mehr und mehr den diskreten Energieniveaus der molekularen und schließlich der atomaren Einheiten an. Dieser Übergang, bei dem die typischen Metalleigenschaften verloren gehen (Abbildung 20) wird als „Size Induced Metal Insulator Transition“ (SIMIT) bezeichnet [181,182]. Daher können Nanopartikel andere optische, magnetische oder elektrische Eigenschaften annehmen als gröbere Partikel des gleichen Materials [183,184].



**Abbildung 20** Modell der Valenz- und Leitungsband-Struktur eines Atoms, Clusters, Nanokolloids und von bulk-Material (von links nach rechts)

2. Mit abnehmender Größe des Partikels ändert sich das Verhältnis zwischen Masse und Oberfläche. Je kleiner ein Partikel ist, desto größer ist seine Oberfläche im Verhältnis zur Masse [185,186]. Durch eine sehr große relative Oberfläche können Nanopartikel stärker auf ihre Umwelt einwirken bzw. mit anderen Stoffen reagieren. Besonders Nanopartikel mit kristalliner Struktur besitzen auf ihrer Oberfläche mehr Atome, die weniger stark gebunden sind als solche die stark im Inneren des Partikels gebunden sind, was diese Partikel außerordentlich reaktiv macht.

Eine naturwissenschaftlich fundierte Aussage über das Risiko, welches für die belebte Natur von der partikulären Palladiumemission aus Autokatalysatoren ausgeht, kann daher nur mit Hilfe von Pd-Nanopartikel-haltigen Testsubstanzen gemacht werden. Die Testsubstanz muss der realen Emissionsqualität so ähnlich wie möglich sein und sollte keine zusätzlichen Kontaminanten enthalten. Die kommerziell erhältlichen Palladiumkatalysatoren bzw. zertifizierten Straßenstäube sind dafür nicht geeignet, da diese eine Vielzahl anderer Elementen wie Pb, Zn, Cd, Cu, usw. [187] enthalten, die die Wirkung von Pd überlagern können.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten daher Pd-Modellsubstanzen entwickelt und charakterisiert werden, die den Emissionen aus Autoabgaskatalysatoren möglichst ähnlich sind und Bioverfügbarkeits- bzw. Speziesumwandlungsstudien ermöglichen.

Für die Untersuchung der Löslichkeit von Palladium unter Umweltbedingungen ist vor allem eine einfache Abtrennung von partikulärem und gelöstem Pd erforderlich. Dazu sollten Pd-Nanopartikel auf sedimentierbaren  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Trägerpartikeln synthetisiert werden, die sich leicht durch Zentrifugieren von der Lösung abtrennen lassen. Diese Pd/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Partikel entsprechen sehr gut den aus Autoabgaskatalysatoren ausgetragenen Partikeln und sollten z.B. für Lösungsversuche mit Bodenlösung, Regenwasser und Oberbodenwasser zweckmäßig sein.

Lösliches  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ist für Expositionsversuche mit Pflanzen und aquatischen Tieren ungeeignet, da Aluminium toxische Effekte auslösen kann. Daher sollten Pd-Nanopartikel synthetisiert werden, die keinerlei Stabilisatoren oder Zusätze enthalten (im folgenden als reine Pd-Nanopartikel bezeichnet) und deren kolloidale Lösungen mit einem Pflanzennährmedium oder Aquariumswasser gemischt werden können. So kann die direkte Wirkung von Pd als Nanopartikel auf unterschiedliche Organismen verfolgt werden. Auch für Toxizitätsuntersuchungen im medizinischen Bereich kommen diese Partikel in Betracht.

Alternativ zu den Pd-Nanopartikeln, wurden auch sedimentierbare Pd-Mikropartikel und  $\text{SiO}_2$  geträgerte Pd-Nanopartikel synthetisiert, die die oben genannten Nachteile von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  geträgerten Partikeln nicht aufweisen.

## 5.2 Synthesemethoden zur Nano-Metallabscheidung auf Trägermaterialien

Bei der Herstellung der geträgerten Pd-Modellpartikel sollten in dieser Arbeit möglichst gleiche Synthesemethoden wie bei der Autoabgaskatalysatorsproduktion eingesetzt werden. In der Katalysatorindustrie werden Nanometall/Träger-Materialien meist in ein bis drei Stufen gewonnen, wobei für jede Stufe unterschiedliche Techniken zur Auswahl stehen.

### 1. Aufbringen eines Metallsalzes auf den Träger.

Bei der sehr häufig angewendeten Methode der *Imprägnierung* wird der poröse Träger mit einer wässrigen Lösung der Aktivkomponente oder eines Vor-

läufers in Kontakt gebracht, wobei der gelöste Stoff auf der Feststoffoberfläche adsorbiert wird [188,189]. Anschließend wird der Feststoff abgetrennt (z.B. durch Filtration) und thermisch behandelt. Ein Sonderfall der Imprägnierung, der häufig zur Katalysatorherstellung angewendet wird, ist die trockene Imprägnierung (*engl. dry impregnation*). Dabei wird ein Flüssigkeitsvolumen angeboten, das genau dem Porenvolumen entspricht. Wenn der poröse Träger ein Kationen- oder Anionenaustauscher ist, kann die Aktivkomponente durch *Ionenaustausch* eingebracht werden [190,191].

Beim Aufbringen des Metalls auf das Trägermaterial durch *Fällung* stehen zwei prinzipielle Varianten zur Auswahl: die *Auffällung* auf den vorgefertigten, in der wässrigen Phase suspendierten Träger und die *Cofällung*. Beide Methoden sind schwer zu kontrollieren. Insbesondere kann es zur Bildung unerwünschter Mischkristalle oder Einschlüsse kommen. Zudem kann auch eine Keimbildung und Partikelwachstum des Metalls in der Lösung, anstatt auf dem Träger erfolgen. Bei nachfolgender thermischer Behandlung können sich dann unerwünscht große Metallpartikel bilden und/oder die Verteilung des Metalls auf dem Träger kann inhomogen sein. Die Auffällung kann besser kontrolliert werden, wenn sie mithilfe von Reagenzien durchgeführt wird, die eine Art Depotwirkung haben. Das eigentliche Fällungsreagenz wird dabei *in situ* mit kontrollierbarer Geschwindigkeit durch eine chemische Reaktion erzeugt. Eine andere Möglichkeit kontrollierte Partikelgröße zu erreichen, ist die Herstellung von Metallkolloiden, die erst anschließend auf dem Träger deponiert werden.

## 2. Trocknung/Calcinierung.

Bei dem Trocknungsprozess werden die beladenen Trägermaterialien aufgeheizt. Während des Erhitzens ändert sich nämlich meist die Phasenzusammensetzung, was mehrere Ursachen hat: A) Die thermisch labilen Verbindungen im Kontaktvorläufer werden häufig unter Gasentwicklung zersetzt; B) Die verschiedenen bei der Zersetzung entstandenen Verbindungen können sich durch Festkörperreaktionen in andere Verbindungen umwandeln; C) Amorphe Bereiche wandeln sich durch Rekristallisation in kristalline Bezirke um; D) Verschiedene Modifikationen können sich ineinander umwandeln.

### 3. Reduktion.

Die auf dem Träger liegenden Metallverbindungen (Oxide oder Chloride) werden reduziert und so aktiviert. Abhängig von der Herstellungsmethode und vom Metall erfolgt die Reduktion im Gasstrom (z.B. Wasserstoff) oder in Lösung durch ein chemisches Reagenz (z.B. Formaldehyd, Natriumborhydrid oder Hydrazin).

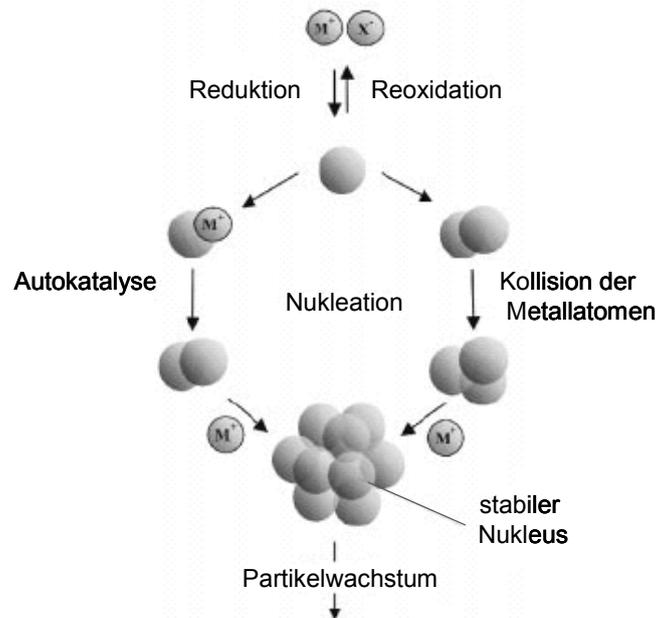
## 5.3 Synthesemethoden zur Herstellung von Metall-Nanopartikeln

Für die Herstellung von Nanopartikeln wurden im Laufe der Zeit zahlreiche Verfahren erarbeitet, die sich prinzipiell in zwei Methoden einteilen lassen: Die so genannten „*top-down*“-Methoden, bei denen „*bulk*“-Materialien durch geeignete mechanische oder physikalische Methoden gezielt zerkleinert werden und die „*bottom-up*“-Methoden, bei dem die Nanopartikel aus kleineren Einheiten mittels chemischer Prozesse aufgebaut werden. Abgesehen von einigen wenigen Ausnahmen werden „*top-down*“-Methoden industriell nicht genutzt. Grund hierfür sind der hohe apparative Aufwand und die schlechten Energiebilanzen, die eine Durchführung in präparativen Maßstäben ineffizient machen [192].

„*Bottom-up*“-Methoden hingegen nutzen die physikalisch-chemischen Grundsätze der molekularen bzw. atomaren Selbstorganisation. Bei diesen Herstellungsverfahren werden komplexere Strukturen gezielt aus Atomen bzw. Molekülen aufgebaut. Dabei ist die Kontrolle der Partikelgröße und Form sowie der Partikelgrößenverteilung möglich. Zu den „*Bottom-up*“-Methoden zählen neben Aerosolverfahren auch Fällungsreaktionen und Sol-Gel-Prozesse [192].

Metallische Nanopartikel lassen sich durch chemische oder elektrochemische Reduktion von Metallionen herstellen. Eine solche Methode wurde bereits 1857 von *Faraday* [193] publiziert und ist seitdem die am weitesten verbreitete und für viele Bereiche leistungsfähigste Methode. Die ersten reproduzierbaren Synthesevorschriften für Nanokolloide durch Reduktion wurden von *Turkevich* [194,195] für die Herstellung von Goldkolloiden durch Reduktion von  $\text{HAuCl}_4$  mit Natriumcitrat veröffentlicht. In seinen Arbeiten postuliert *Turkevich*, dass die Größe der Metallpartikel

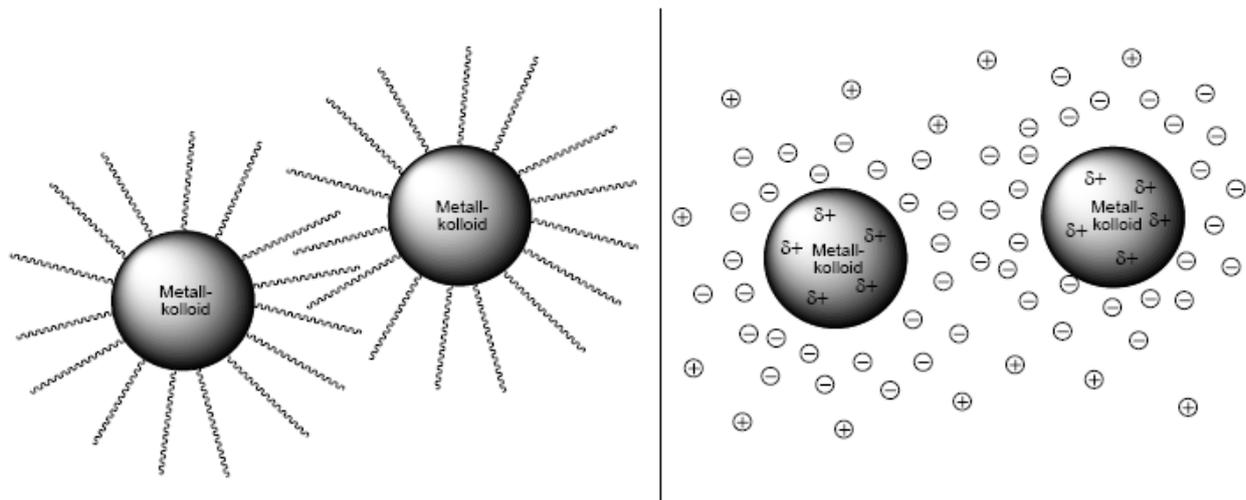
von den relativen Raten der Nukleation (Keimbildung) und dem Wachstum beeinflusst wird. Als dritter Schritt ist die Terminierung des Wachstums zu ergänzen. Dieses Postulat ist bis heute weitgehend akzeptiert und wird zur Erklärung von Effekten unterschiedlicher Reaktionsparameter herangezogen [196,197]. Für die Erzeugung möglichst kleiner Partikel spielt das Verhältnis von Keimbildungsgeschwindigkeit zu Wachstumsgeschwindigkeit (Abbildung 21) eine entscheidende Rolle.



**Abbildung 21** Schematische Darstellung der Keimbildung und des Wachstums von kolloidalen metallischen Partikeln am Beispiel einer Metallsalzreduktion [198]

Die Anzahl sehr kleiner Teilchen wird nur dann groß, wenn die Keimbildungsrate größer als die Wachstumsgeschwindigkeit der Partikel ist, da frühzeitig gebildete Atome und Cluster kurze Lebensdauern haben und extrem reaktiv sind [199,200].

Der Einsatz geeigneter Stabilisatoren, die sterische bzw. elektrostatische Wechselwirkungen zeigen, verhindert die Agglomeration der synthetisierten Nanopartikel (Abbildung 22). Adsorbierbare, amphiphile Substanzen können Metallnanopartikel „ummanteln“ und so stabilisieren. Man spricht dabei von *sterischer Stabilisierung* oder *Dispersionsstabilisierung* [201].



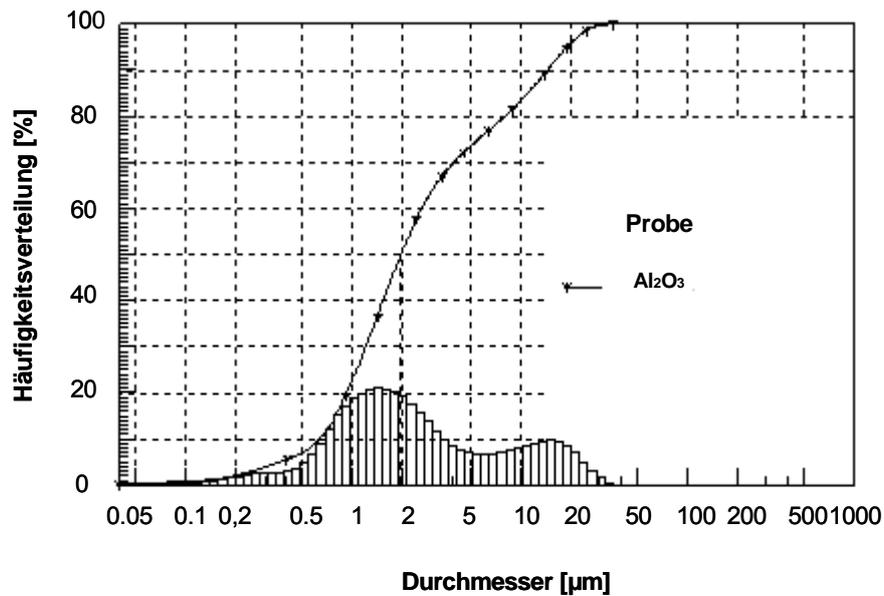
**Abbildung 22** Schematische Darstellung der sterischen Stabilisierung (links) bzw. elektrostatische Stabilisierung (rechts) von Nanopartikeln

Wenn Metallkolloide Oberflächenladungen tragen, die zwischen den kolloidalen Teilchen abstoßend wirken und dadurch eine begrenzte Dispersionsstabilität gewährleisten, spricht man von einer *elektrostatischen Stabilisierung* [202]. Elektrostatische Stabilisierung wird besonders bei wässrigen Systemen angewendet, in denen die Kolloidkonzentration sehr niedrig ist, da ab einer gewissen Annäherung trotzdem eine Partikelagglomeration stattfindet.

#### 5.4 Synthese und Charakterisierung von Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Modellpartikeln

In dieser Arbeit wurde für die Synthese von Nanopalladium auf Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Träger (vgl. Kapitel 5.1) das Prinzip der Imprägnierung mit anschließender Auffällung angewendet. Das experimentelle Vorgehen, wie Reagenzien, Konzentrationen, Temperatur usw. wurden speziell für diese Anwendung entwickelt und optimiert. Im Folgenden sind die einzelnen Syntheseschritte beschrieben, die experimentelle Durchführung ist in Kapitel 8.10.2 zu finden.

Käufliches  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Pulver mit einer Korngröße von 1 bis 5  $\mu\text{m}$  (vgl. Abbildung 23) wurde in Wasser suspendiert.



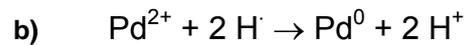
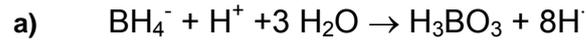
**Abbildung 23** Partikelgrößenverteilung des  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Trägermaterials gemessen mit Lasergranulometrie

An der  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Oberfläche bilden sich OH-Gruppen aus, die als Ankerpunkte für die Anbindung von Pd(II)-Ionen dienen können [203].

Zur Beschichtung des Aluminiumoxids mit Palladium wurde eine  $\text{Na}_2[\text{PdCl}_4]$ -Lösung hergestellt. Dazu wurde schwer wasserlösliches Palladium(II)chlorid in einer NaCl-Lösung drei Stunden im Ultraschallbad behandelt [204-206].

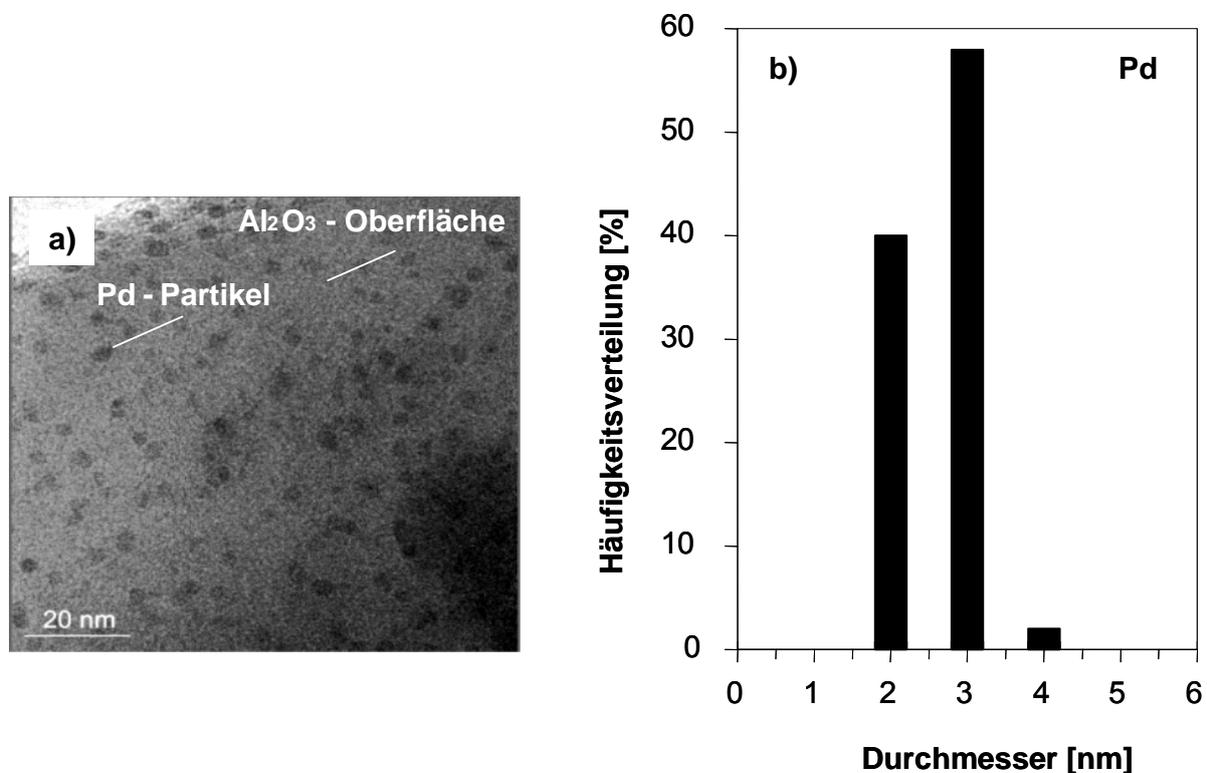
Das in Wasser suspendierte  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ -Pulver wurde dann unter starkem Rühren mit  $\text{Na}_2[\text{PdCl}_4]$ -Lösung versetzt. Nach 1 Stunde Rühren wurde die  $\text{Pd}^{2+}/\text{Al}_2\text{O}_3$ -Suspension bei  $0^\circ\text{C}$  mit Natriumborhydridlösung ( $\text{NaBH}_4$ ) zur Reduktion der Palladiumionen versetzt.

Bereits während der Zugabe von Reduktionslösung veränderte sich die Farbe der  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ -Partikel von weiß nach grau, was auf die Bildung von elementarem Palladium an der  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Oberfläche hinweist. Der Mechanismus der Reduktion des zweiwertigen Palladiums ist in Gleichung 4 dargestellt.



**Gleichung 4** *Mechanismus der Reduktion von Palladium: a) Bildung von naszierendem Wasserstoff als Reduktionsmittel; b) Reduktion von Pd<sup>2+</sup> zu Pd<sup>0</sup> c) Wasserstoffentwicklung als Nebenreaktion*

Die Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Suspension wurde nach einer Stunde zentrifugiert und die Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikel durch Abdekantieren der überstehenden Lösung abgetrennt. Die Partikel wurden durch zweimaliges Versetzen mit Ultrapurwasser (UPW) und Zentrifugation gereinigt und anschließend bei 150°C getrocknet. Die erhaltenen Partikel waren grau. Mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) konnte die Größe der Palladiumpartikel und ihre Verteilung auf der α-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Oberfläche ermittelt werden (Abbildung 24).



**Abbildung 24** a) TEM-Aufnahme und b) Größenverteilung von Pd-Partikeln (n=500) auf der α-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Oberfläche

Die auf der  $\alpha$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Oberfläche gebildeten Palladiumpartikel und deren gleichmäßige Verteilung sind auf der TEM-Aufnahme deutlich erkennbar. Sie zeigen eine schmale Partikelgrößenverteilung von 2 bis 4 nm Durchmesser, was die Auswertung von TEM-Untersuchungen aus fünf unabhängig durchgeführten Pd/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Synthesen ergab (Zahl der ausgewerteten Pd-Partikel  $n=100$  pro Synthese).

Auch der Palladiumgehalt im Verhältnis zur Partikelmasse wurde untersucht. Hierfür wurde ein Teil der Pd/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Partikel mittels Orthoborsäure-Schmelzaufschluss komplett in Lösung gebracht. Dabei kam ein von *Archibald* [207] entwickelter Aufschluss in optimierter Form zum Einsatz: Die Partikel wurden mit fester Borsäure im Verhältnis 1:3 gemischt und in einem Platintiegel gerade über den Schmelzpunkt der Borsäure erhitzt. Nach 10 Minuten wurde die Temperatur erhöht, bis eine Verfestigung der Mischung auftrat. Dann wurde die Mischung abkühlt, mit Wasser versetzt und 15 Minuten gekocht. Die Lösung wurde in ein Becherglas überführt und mit konzentrierter Salpetersäure versetzt. Diese Mischung wurde wiederum 15 Minuten zum Sieden erhitzt. Die Aufschlusslösung wurde dann in einen Messkolben überführt und bis zum entsprechenden Volumen mit Wasser aufgefüllt. Die genaue Durchführung des Aufschlusses ist in Kapitel 8.10.5 zu finden.

Als Alternative zum Schmelzaufschluss wurde ein mikrowellenunterstützter Teilaufschluss durchgeführt. Pd/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Partikel wurden mit konzentrierter Salpetersäure bei 75 bar 50 Minuten im Mikrowellengerät behandelt. Die Palladiumpartikel werden dabei mit Salpetersäure oxidiert und als  $\text{Pd}^{2+}$  gelöst (s. Kapitel 8.10.6). Der Palladiumgehalt wurde dann mittels GF-AAS in der Aufschlusslösung bzw. dem Überstand der Aufschlusslösung gemessen. Die ermittelten Palladiumkonzentrationen für beide Aufschlussvarianten sind in Tabelle 16 wiedergegeben.

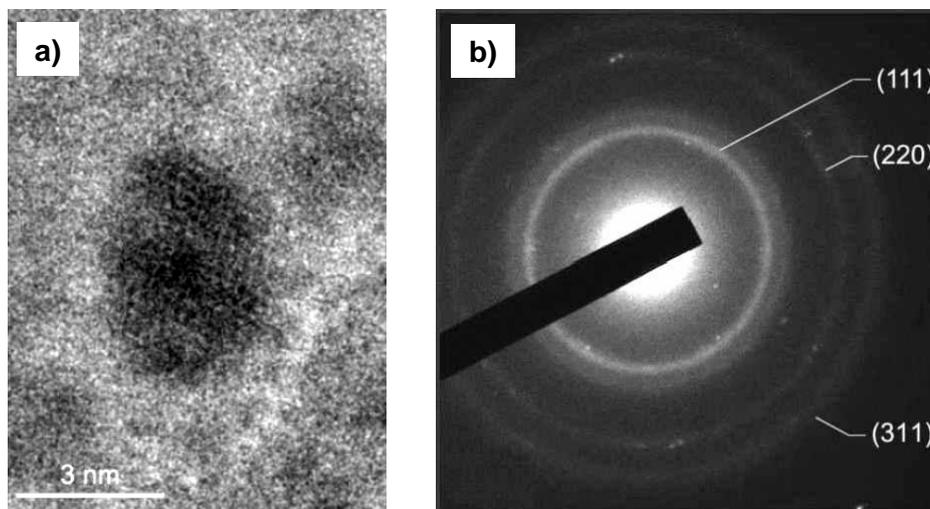
**Tabelle 16** *Palladiumkonzentration der Pd/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Partikel*

Aufschlussmethode	Pd-Konzentration [ $\mu\text{g Pd pro g Al}_2\text{O}_3$ ]
Schmelzaufschluss	$386 \pm 3$
Mikrowellenaufschluss	$389 \pm 9$
Mittelwert	$387,5 \pm 2$

Die Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung beider Aufschlussmethoden, weshalb für alle weiteren Untersuchungen die einfachere, mikrowellenunterstützte Variante eingesetzt wurde. Der Mittelwert der Pd-Konzentration von  $387,5 \pm 2 \mu\text{g Pd pro g Al}_2\text{O}_3$  entspricht 0,04 Gew.-% Palladium.

Die Reproduzierbarkeit der vorgeschlagenen Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikelsynthese wurde untersucht, indem die Palladiumkonzentration in mehreren Stichproben verschiedener Synthesansätze ermittelt wurde. Jeweils drei Proben dreier unabhängiger Ansätze zeigten vergleichbare Pd-Konzentrationen im Bereich von  $388 \pm 10 \mu\text{g Pd pro g Al}_2\text{O}_3$ .

Informationen über die Struktur der gebildeten Pd-Partikel auf dem Träger wurden durch hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen (*engl. High-Resolution Transmission Electron Microscopy HR-TEM*) gewonnen. In Abbildung 25a ist die kristalline Struktur der Palladiumpartikel an der gitterartigen Auflösung zu erkennen.



**Abbildung 25** a) HR-TEM-Aufnahme eines Pd-Nanopartikels b) Elektronenbeugungsaufnahme an einem Pd-Nanopartikel auf der  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Oberfläche

Das Beugungsbild in Abbildung 25b bestätigt dies und zeigt drei Beugungsringe, die mit den entsprechenden *Millerschen*-Indizes (hkl) der Netzebenen (111), (220) und (311) gekennzeichnet sind. Der erste, hellere Ring (111) entspricht einem Netzebenenabstand von 0,226 nm; der zweite (220) und dritte Ring (311) stammen von den Netzebenen mit den Abständen 0,138 nm bzw. 0,117 nm. Ein Vergleich

dieser Werte mit den kristallographischen Daten des *Joint Committee of Powder Diffraction Standards* (JCPDS, vgl. Tabelle 17) belegt eindeutig das Vorhandensein von metallischem Palladium mit kubisch flächenzentriertem Gitter

**Tabelle 17** Kristallographische Daten von nanokristallinem Palladium

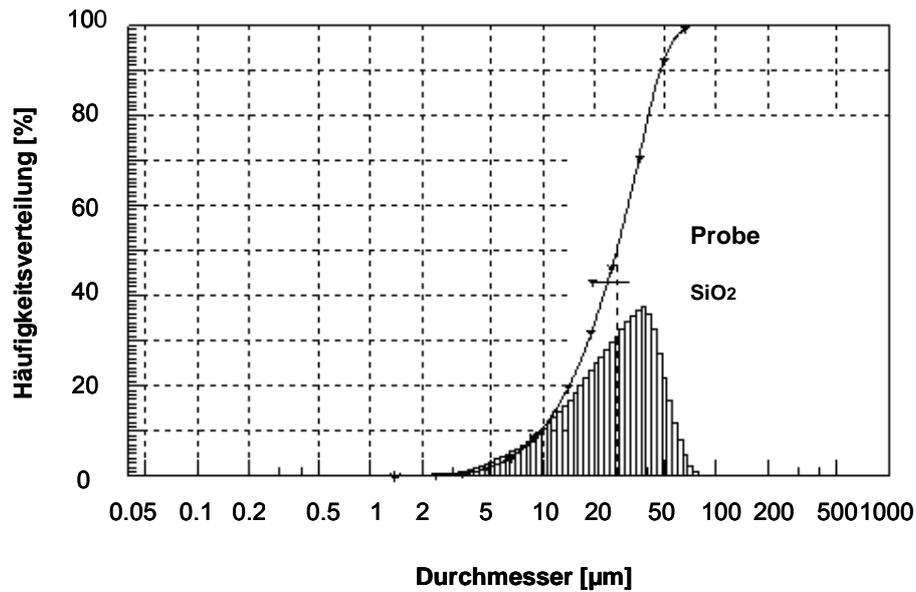
Netzebene hkl	Interplanarer Abstand [nm]	
	Gemessene Werte	JCPDS-Daten von Pd (0) fcc
(111)	0,226	0,2245
(222)	0,138	0,1375
(311)	0,117	0,1172

Das Vorhandensein weiterer Strukturen - z.B. kristalliner Oxidschichten oder Kristalle anderer Reagenzienbestandteile – kann ausgeschlossen werden, da keine weiteren Beugungsringe auftreten. Diese Partikel entsprechen sehr gut den aus Autokatalysatoren ausgetragenen Partikeln und sind für die geplanten Studien zur Mobilisierung und Bioverfügbarkeit von partikulärem Palladium bestens geeignet.

## 5.5 Synthese und Charakterisierung von Pd/SiO<sub>2</sub>-Modellpartikeln

Die Immobilisierung von Palladiumpartikeln auf SiO<sub>2</sub>-Trägermaterial wurde analog zur Synthese der Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikel durchgeführt. Ein Unterschied besteht jedoch in der Oberflächenhydrolyse des Trägermaterials in Wasser, die bei SiO<sub>2</sub> im Vergleich zu Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sehr viel langsamer verläuft. Daher sind lange Synthesezeiten erforderlich.

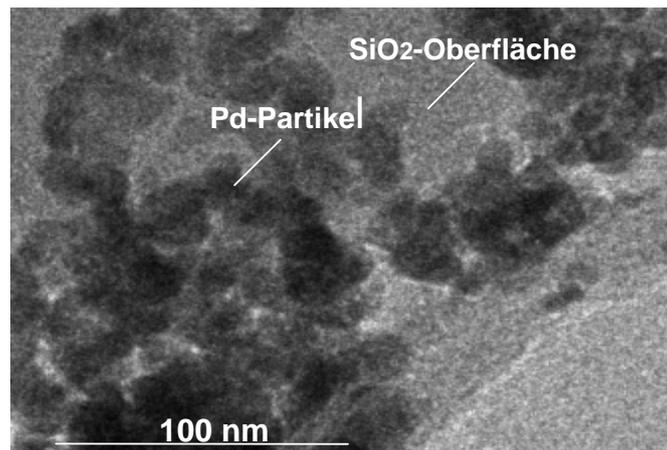
Das in Wasser suspendierte SiO<sub>2</sub>-Pulver mit einer Korngrößenverteilung von 5 bis 90 µm (vgl. Abbildung 26) wurde unter starkem Rühren mit Na<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]-Lösung versetzt.



**Abbildung 26** Partikelgrößenverteilung des SiO<sub>2</sub>-Trägermaterials gemessen mit Lasergranulometrie

Die Suspension wurde mit Eiswasser gekühlt und die Palladium(II)-Ionen durch Zugabe von NaBH<sub>4</sub> reduziert. Bei Zugabe der NaBH<sub>4</sub>-Lösung ändert sich die Farbe der SiO<sub>2</sub>-Partikel von weiß nach grau, was die Abscheidung von metallischem Palladium auf der SiO<sub>2</sub>-Oberfläche bestätigt.

Die Pd/SiO<sub>2</sub>-Suspension wurde zentrifugiert und die Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikel durch Abdekantieren der überstehenden Lösung abgetrennt. Die Partikel wurden durch zweimaliges Versetzen mit Ultrapurwasser und Zentrifugation gereinigt und anschließend bei 150°C getrocknet. Mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wurde die Größe der Palladiumpartikel und ihre Verteilung auf der SiO<sub>2</sub>-Oberfläche untersucht (vgl. Abbildung 27).



**Abbildung 27** TEM-Aufnahme von Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln

Die gebildeten Palladiumnanopartikel sind deutlich erkennbar und zeigen punktuell hohe Belegungsdichten auf der SiO<sub>2</sub>-Oberfläche. Dies erschwert eine genaue Bestimmung der Partikelgrößenverteilung. Im Falle von SiO<sub>2</sub> ist die Oberfläche in der Regel durch eine Mischung aus Siloxangruppen ( $\equiv \text{Si} - \text{O} - \text{Si} \equiv$ ), Silangruppen ( $\equiv \text{Si} - \text{H}$ ) und Silanolgruppen ( $\equiv \text{Si} - \text{O} - \text{H}$ ) beschreibbar [208,209]. Dabei liegen die Hydroxylgruppen nicht gleichmäßig verteilt auf der Oberfläche vor, sondern lagern sich aufgrund der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den einzelnen OH-Gruppen in Clustern zusammen [210,211]. So ist auch die ungleichmäßige Verteilung der Palladiumpartikel auf der SiO<sub>2</sub>-Oberfläche erklärbar. Eine gleichmäßigere Verteilung könnte nur unter Verwendung von Stabilisatoren erreicht werden. Dies würde gleichzeitig eine unerwünschte Kontamination der Testsubstanz bedeuten, weshalb diese Möglichkeit hier nicht angewendet wurde.

Die Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikel wurden zur Bestimmung der Palladiumkonzentration einem mikrowellenunterstützten dreistufigen Totalaufschluss unterzogen. Der eingesetzte Hochdruckaufschluss unterscheidet sich nur in der ersten Stufe von dem bereits beschriebenen Aufschluss für silikathaltige Straßenstaubproben (vgl. Kapitel 4.2.3).

In der ersten Stufe wird das elementare Palladium mittels Salpetersäure in eine lösliche Form gebracht. Die zweite Stufe dient dem Aufschluss des Silikatrückstands und wird mit Zugabe eines Überschusses an konzentrierter Flusssäure durchgeführt. Im letzten Schritt wird gesättigte Borsäurelösung zugegeben um die Fluss-

säure zu maskieren. Die genaue experimentelle Durchführung des Aufschlusses ist in Kapitel 8.9.2 zu finden.

Die Palladiumkonzentration in der Aufschlusslösung wurde mittels GF-AAS bestimmt. Jeweils drei unterschiedliche Pd/SiO<sub>2</sub>-Proben dreier unabhängiger Synthesenansätze wurden untersucht. Die Auswertung der erhaltenen Messdaten ergab eine Palladiumkonzentration von 481 µg Pd pro g SiO<sub>2</sub> (Tabelle 18). Dies entspricht 0,05 Gew.-% Palladium.

**Tabelle 18** *Palladiumkonzentration der Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikel*

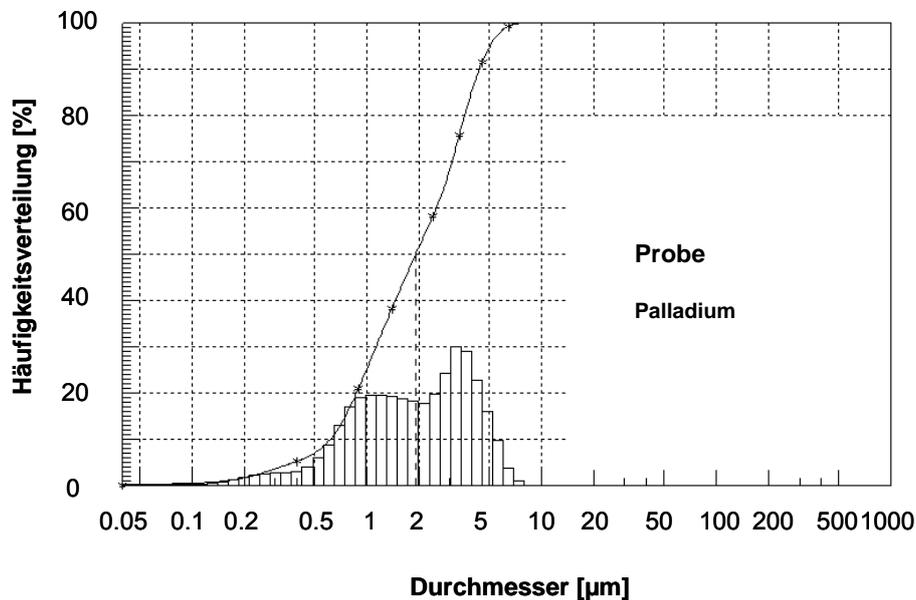
Aufschlussmethode	Pd-Konzentration
Mikrowellenunterstützter Hochdruckaufschluss	481 ± 4 µg Pd g <sup>-1</sup> SiO <sub>2</sub>

Ein maximaler Konzentrationsunterschied von 8 µg Pd pro g SiO<sub>2</sub> zwischen den untersuchten Syntheseansätzen belegt die hohe Reproduzierbarkeit der entwickelten Synthesemethode. Die Auswertung von HR-TEM-Untersuchungen bestätigt auch hier die Abscheidung von reinem, metallischem Palladium (vgl. Kapitel 5.4).

## 5.6 Synthese und Charakterisierung trägerfreier Palladium-Partikel

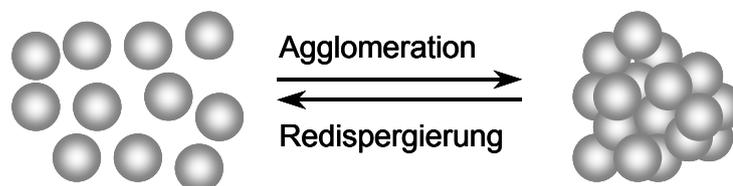
Metallische Nanopartikel lassen sich ganz allgemein durch chemische Reduktion von Metallionen herstellen (vgl. Kapitel 5.3). In dieser Arbeit wurden ausgehend von einer wässrigen Palladiumnitratlösung reine Palladiumnanopartikel durch Reduktion mit Natriumborhydrid synthetisiert. Hierzu wurde eine entsprechende Menge an Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Standardlösung mit eiskaltem, ultrareinem Wasser verdünnt und anschließend mit dem Reduktionsmittel versetzt. Der Reaktionsverlauf kann sehr gut visuell verfolgt werden, da sich die leicht gelb gefärbte Palladiumnitratlösung im Verlauf der Reduktion grauschwarz verfärbt. Durch Temperaturerhöhung kann eine Agglomeration und Sedimentation der Nanopartikel hervorgerufen werden. Die so entstandenen sedimentierbaren Partikel werden vom Lösungsmittel durch Zentrifu-

gieren und Dekantieren abgetrennt, zwei Mal mit ultrareinem Wasser gewaschen und wieder in Wasser suspendiert. Die Partikelgrößenverteilung der agglomerierten Partikel wurde granulometrisch bestimmt (vgl. Abbildung 28).



**Abbildung 28** Partikelgrößenverteilung der Palladium-Mikropartikel

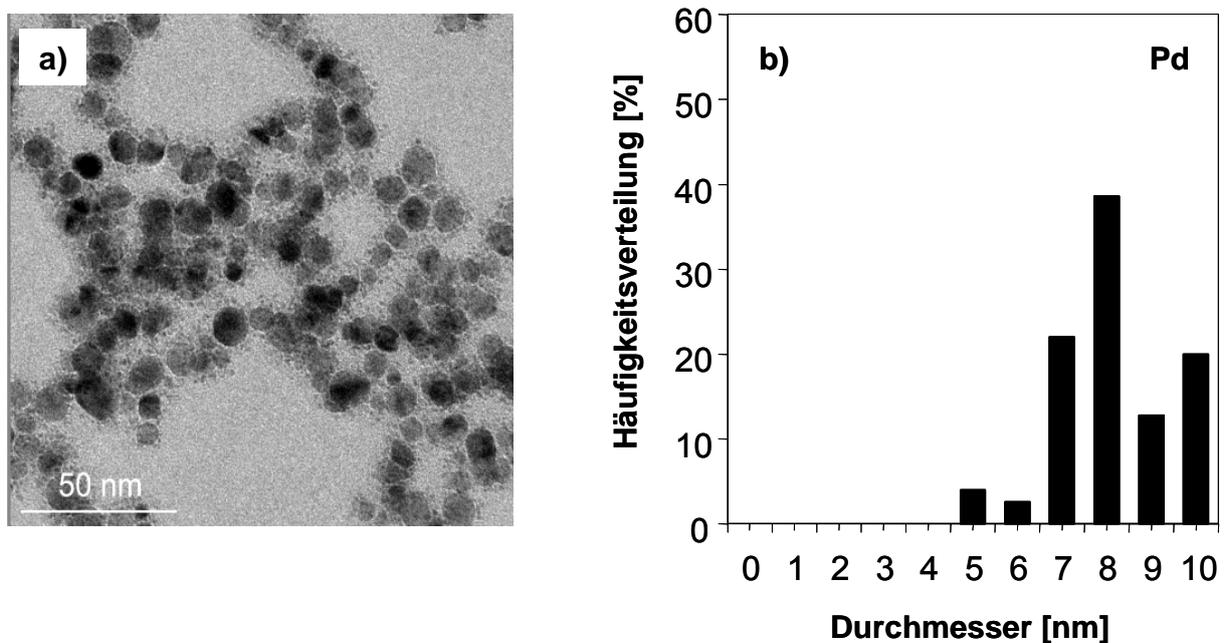
Die gebildeten Pd-Agglomerate liegen in einem Größenbereich von 0,2 bis 8 µm. Ca. 70% der Partikel zeigen eine Größenverteilung von 1 – 5 µm. Zur Erzeugung von Pd-Nanopartikeln wurden die gereinigten Pd-Partikelagglomerate in ultrareinem Wasser durch eine Behandlung im Ultraschallbad redispergiert. In Abbildung 29 ist die Agglomeration bzw. der Redispergierungsprozess dargestellt.



**Abbildung 29** Agglomeration bzw. Redispergierungsprozess in kolloidalen Systemen

Die notwendige Dauer der Ultraschallbehandlung zur Redispergierung ist von der Palladiumkonzentration abhängig. Je kleiner die Palladiumkonzentration der Lö-

sung ist, desto schneller verläuft der Redispergierungsprozess. Auf diese Weise hergestellte Palladiumkolloide im Konzentrationsbereich von 1 bis 5 mg Pd l<sup>-1</sup> (Ultraschallbehandlung 30-90 Minuten) sind bei Raumtemperatur bis zu 2 Wochen in rein wässriger Lösung stabil. Abbildung 30 zeigt eine exemplarische TEM-Aufnahme und die Partikelgrößenverteilung der synthetisierten Pd-Nanopartikel.



**Abbildung 30** a) TEM-Aufnahme und b) Größenverteilung der Pd-Nanopartikel (n=500)

Die synthetisierten Pd-Nanopartikel zeigen eine schmale Größenverteilung von 5 bis 10 nm, wie die Auswertung der TEM-Aufnahmen fünf unabhängig durchgeführter Synthesen ergab (Zahl der ausgewerteten Pd-Partikel n=100 pro Synthese). Die größeren und kontrastreicherer Flecken der TEM-Aufnahme sind auf eine Überlagerung einzelner Kolloidteilchen auf dem Probeträger zurückzuführen. HR-TEM-Aufnahmen bestätigen auch hier das Vorhandensein reiner Pd<sup>0</sup>-Partikel (vgl. Kapitel 5.4).

## 5.7 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, Palladiumpartikel zu synthetisieren, die sich als Modellsubstanzen zur Simulation von Palladiumabrieb aus Autokatalysatoren eignen. Die Modellpartikel sind für umweltrelevante und medizinische Untersuchungen geeignet, da alle hergestellten Partikel von unerwünschten Kontaminationen gereinigt werden können. Somit können in Expositionsstudien toxikologische Effekte ursächlich auf Palladium zurückgeführt werden. Der exakte, reproduzierbare Palladiumgehalt der Partikel ermöglicht es, die Bioverfügbarkeit partikulären Palladiums in unterschiedlichen Medien zu quantifizieren. Außerdem bietet die exakte elektronenmikroskopische Charakterisierung die Möglichkeit, morphologische Veränderungen auf der Partikeloberfläche beim Kontakt mit verschiedenen Umweltkompartimenten zu verfolgen.

## 6 Expositionsversuche mit Pd-Elementpartikeln

### 6.1 Hintergrund und Aufgabenstellung

Die zunehmende Anwendung von Palladium in Autoabgaskatalysatoren und damit die Emission von partikulärem Palladium in die Umwelt hat – wie in den Kapiteln 2.4 und 2.5 beschrieben – bereits zu einer Erhöhung der Palladiumkonzentration in der Luft, im Straßenstaub sowie den Böden geführt. Grundsätzlich liegen erst wenige Daten zur Toxikologie, zum Umweltverhalten und zur Gefährdungspotential von Pd-Nanopartikeln vor. Bisher wurden nur wenige Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von partikulärem Palladium durchgeführt. Wichtig ist dabei zu untersuchen, ob Palladium von Pflanzen nur in ionischer Form aufgenommen – hierzu gibt es bereits einige wenige Untersuchungen - oder auch als Nanopartikel aufgenommen wird. Von besonderem Interesse sind auch Untersuchungen zur Akkumulation von Nanopartikeln im menschlichen Organismus und deren Langzeitwirkungen auf die Gesundheit.

Zur Abschätzung des ökotoxikologischen Potentials von partikulären Palladiumeinträgen wurde die toxische Wirkung von Palladium auf biologische Systeme in Kooperation mit anderen Forschern untersucht. In Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung der Technischen Universität München wurden Gerstepflanzen gezüchtet, deren Nährmedium mit Pd-Nanopartikeln, Pd-Mikropartikeln bzw. Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln versetzt wurde. Dabei wurde die Toxizität auf die Pflanze und die Aufnahmeformen von Palladium ermittelt. In Kooperation mit dem Lehrstuhl für Biologie der Universität Bologna (Italien) wurden Untersuchungen zur toxischen Wirkung von partikulärem bzw. löslichem Palladium auf die Keimungsfähigkeit von Kiwipollen durchgeführt. Anschließend wurde in Kooperation mit dem Lehrstuhl für Arbeitsmedizin der Universität „G. D' Annunzio“ Chieti-Pescara (Italien) der Einfluss von partikulärem bzw. löslichem Palladium auf die Freisetzung von Zytokinen aus peripheren mononukleären Blutzellen PBMC (*engl. Peripheral blood mononuclear cells*) untersucht.

## 6.2 Expositionsversuche an Gerste

### 6.2.1 Pflanzenanzucht und Probenahme

Als Versuchspflanze wurde die Gerstensorte „Barke“ (*Hordeum vulgare L.*) eingesetzt. Bei dieser Sorte handelt es sich um eine begrannete, zweizeilige Sommerbraugerste, die 1996 von der Saatzucht *Breun* gezüchtet wurde [212]. Diese Gerstensorte ist gegen Mehltau, *Rhynchosporium* und Zwergrost resistent und ist daher eine aktuell häufig gepflanzte Gerstesorte [213,214]. Gerste ist neben dem Weizen in Deutschland die landbaulich wichtigste Getreidepflanze, besitzt aber im Gegensatz zum Weizen, welcher über einen hexaploiden Chromosomensatz verfügt, nur einen diploiden Chromosomensatz aus 7 Chromosomen [215]. Das Genom der Gerste ist also einheitlicher und einfacher strukturiert, was genetische Analysen stark vereinfacht. Gerstenpflanzen werden deshalb bevorzugt als Modellorganismus für molekularbiologische Experimente verwendet.

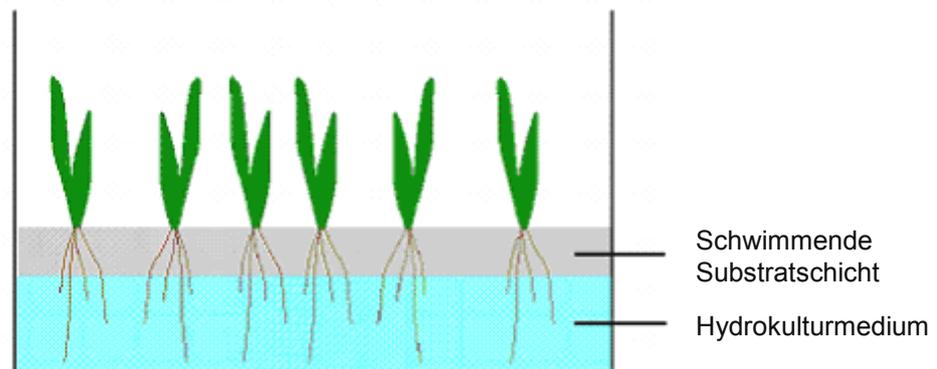
Als Anzuchtmedium der Gerstepflanzen wurde ein modifiziertes *Hoagland's E* Nährmedium eingesetzt [216]. Entsprechend der Zielsetzung der Versuche wurde das Medium mit Pd-Nanopartikeln, sedimentierbaren Pd-Mikropartikel bzw. Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln versetzt (vgl. Kapitel 8.9.5).

Die Pflanzen wurden in einem Schwimmschichthydrokulturverfahren gezüchtet. Dieses Hydrokultursystem basiert auf einem schwimmfähigen Kultursubstrat aus Polymer-Granulat HD-PE (*engl. High density-polyethylen*), welches einen im Kulturmedium schwimmenden Substratkörper bildet. Dieses Verfahren erlaubt eine einfache, schnelle, preiswerte und effiziente Kultivierung der Gerstepflanzen im wässrigen Kulturmedien. Für die Anzucht werden zunächst die keimfreien Gerstenkörner auf der Schwimmschicht in einem Kulturgefäß aufgebracht. Das flüssige Kulturmedium wird am Rand des Kulturgefäßes zugegossen. Dabei füllt sich zunächst der Porenraum in der Granulatschicht mit Flüssigkeit. Bei weiterer Zugabe von Medium schwimmt die Schicht mit den Samen auf [214] (Abbildung 31).



**Abbildung 31** Gerstesamen auf der Schwimmschichtkultur

Die Gerstenpflanzen wachsen nun in dieser schwimmenden PE-Granulat-Substratschicht heran. Die Wurzeln finden genügend Halt für eine stabile Verankerung der Pflanzen. Das Flüssigmedium unter der Schwimmschicht versorgt die wachsenden Pflanzen zuverlässig mit Wasser und Nährsalz (Abbildung 32).



**Abbildung 32** Schematische Darstellung der Schwimmschicht-Hydrokultur [214]

Bei der Ernte der Pflanzen können diese problemlos aus der Granulatschicht herausgezogen und die gewünschten Pflanzenteile ohne Verletzungen entnommen werden. Durch Spülen der Pflanzen mit ultrareinem Wasser werden Reste des Kulturmediums entfernt [217]. Neben einer Kontrollprobe (ohne Palladiumpartikelzusatz) wurden jeweils drei Pflanzenproben pro Pd-Partikelart bzw. Konzentration 7 Tage angezogen. Nach der Ernte der Gerste wurden Blätter, Samenkorn und Wurzeln voneinander getrennt, zerkleinert, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und danach in einer Kugelmühle gemahlen.

## 6.2.2 Matrixcharakterisierung

Für die Optimierung der Aufschlussmethode zur Palladiumbestimmung wurde die Matrix der Gerstepflanzen untersucht. Dabei wurde die Elementzusammensetzung der Blätter, Körner und Wurzeln mittels Elementaranalyse und Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse bestimmt. Die erhaltenen Messdaten sind in Tabelle 19 zusammengestellt.

**Tabelle 19** *Elementgehalte von Blättern, Körnern bzw. Wurzeln der Gerstepflanzen (bestimmt mittels Elementaranalyse und TRFA)*

Element	Blätter [%]	Körner [%]	Wurzeln [%]
Elementaranalyse			
C	48	56	46
H	5	6	6
N	4	5	2
S	< 0,1	0,1	< 0,1
Si	< 0,1	< 0,1	< 0,1
TRFA			
K	4,5	4,4	4,2
Ca	0,25	0,30	0,30
Fe	1,52	2,83	2,03
Zn	1,54	2,52	7,45
Cu	0,23	3,73	1,52

Die Elementgehalte der Blätter, Körner und Wurzeln der Gerstepflanzen zeigen eine ähnliche Matrixzusammensetzung der drei Komponenten. Lediglich Zn, Cu und Mn sind in den Wurzeln deutlich stärker als in den Körnern bzw. den Blättern enthalten.

### 6.2.3 Aufschluss des Pflanzenmaterials

Der Löseprozess beim Aufschluss der Gerstepflanzen konzentriert sich auf die Zerstörung der organischen Matrix und auf die vollständige Freisetzung des Palladiums. Dies wurde erfolgreich mittels eines einstufigen mikrowellenunterstützten Totalaufschlusses erreicht.

Das trockene Probenmaterial wurde mit Salpetersäure, Wasserstoffperoxid und Salzsäure versetzt und unter Hochdruck bei 75 bar aufgeschlossen. Die genaue experimentelle Durchführung des Aufschlusses ist im Kapitel 8.9.5 zu finden. Die Vollständigkeit des Aufschlusses und die Richtigkeit der Palladiumbestimmung in diesen Aufschlusslösungen wurde durch die Aufnahme von jeweils drei Wiederfindungsfunktionen (vgl. Kapitel 8.11) für Blätter, Körner und Wurzeln überprüft. Dafür wurde jeweils eine konstante Probeneinwaage der Kontrollprobe mit Palladiumstandardlösung im Konzentrationsbereich 0 bis 300 ng Pd/l versetzt, aufgeschlossen und mittels FI-GF-AAS gemessen.

**Tabelle 20** *Wiederfindungsraten berechnet aus den Pd-Wiederfindungsfunktionen (n=3) in Blättern, Körnern und Wurzeln der Gerstepflanzen*

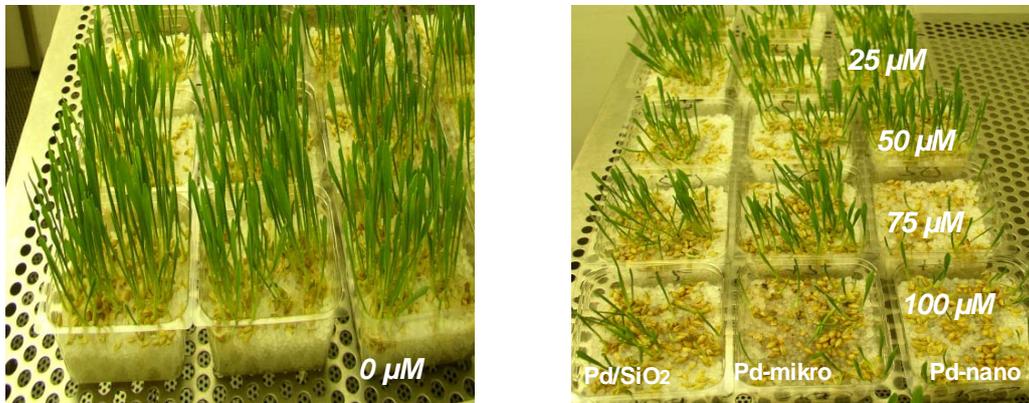
	Blätter	Körner	Wurzeln
Wiederfindungsrate	102 ± 5%	104 ± 4%	107 ± 9%

Die berechneten Pd-Wiederfindungen im Bereich von 102-107% belegen die Eignung des Aufschluss- und Messverfahrens.

### 6.2.4 Palladiumkonzentrationen in Gerstepflanzen und im Kulturmedium

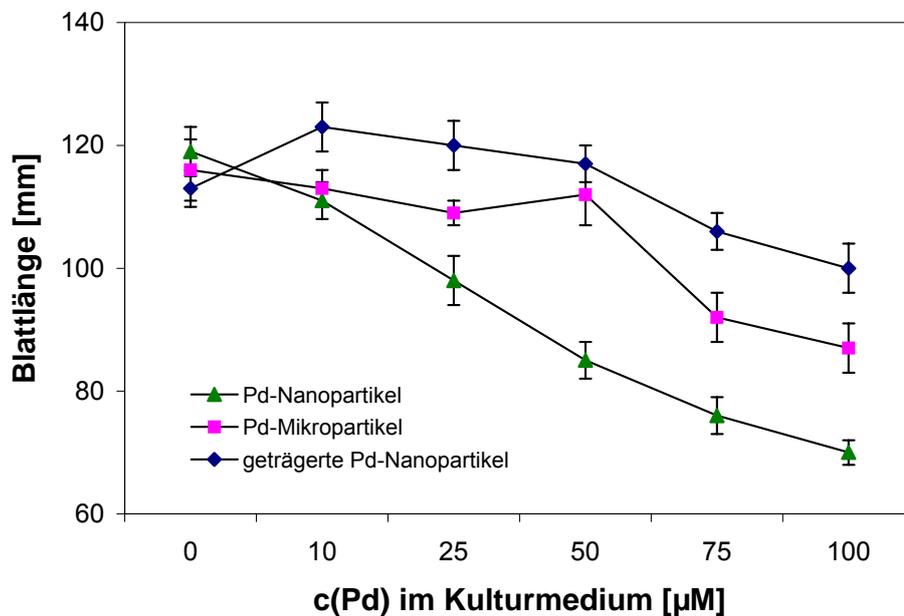
Erste Effekte bei der Anzucht von Gerste in mit Palladium versetzten Kulturmedien waren bereits bei der Ernte der Pflanzen zu erkennen. So sind in den Kulturgefäßen mit hohen Palladiumgehalten im Anzuchtmedium manche Samen nicht

aufgegangen, d.h. es sind deutlich weniger Gerstepflanzen gewachsen als in den Medien mit geringen Palladiumgehalten bzw. in der Kontrollgruppe (Abbildung 33).



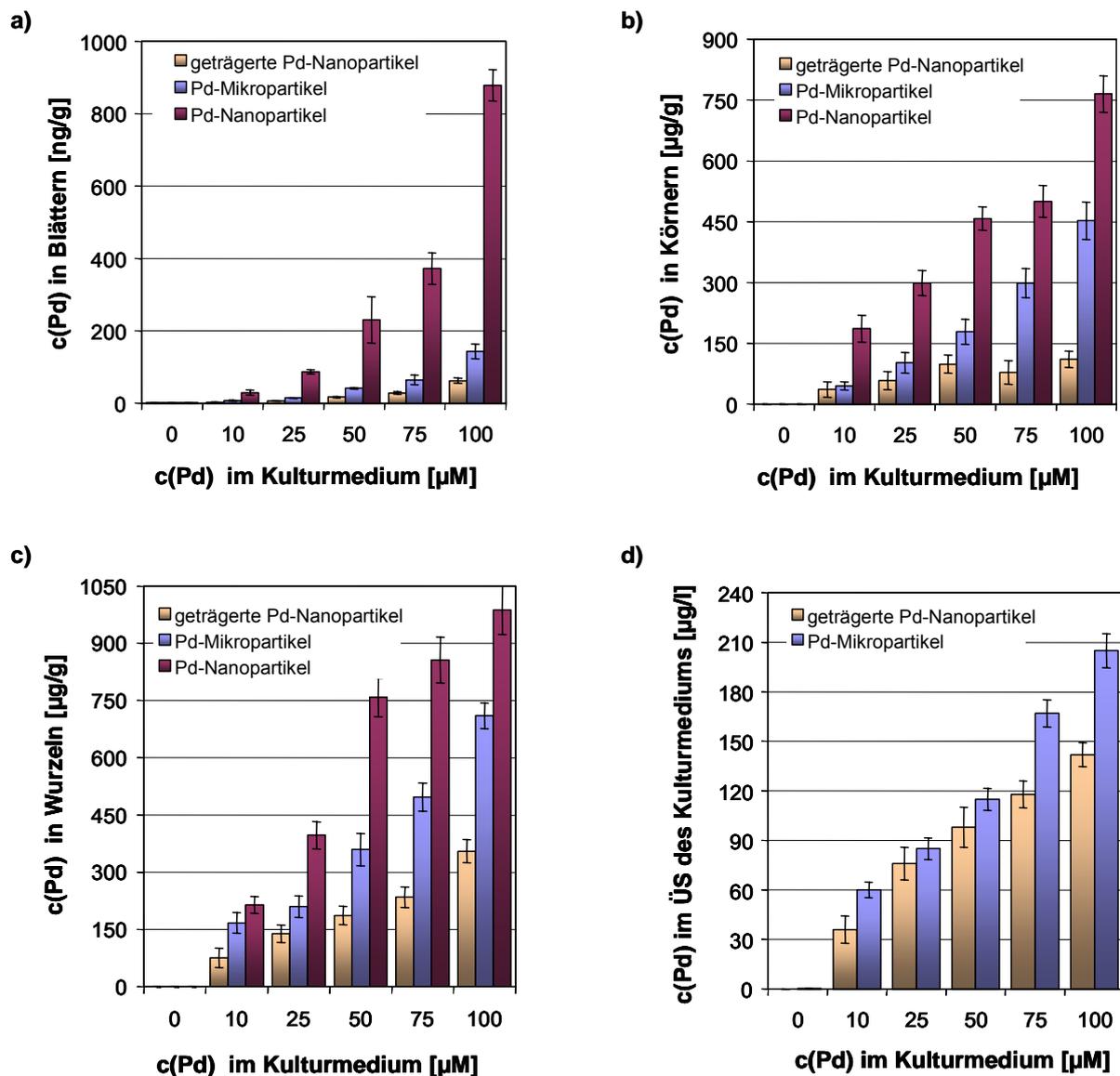
**Abbildung 33** Gerstepflanzen in Kulturmedium mit Palladium versetztem (rechts) bzw. ohne Palladium (links)

Auch die Blattlänge der Gerstepflanzen ist von der Palladiumkonzentration bzw. der Partikelart im Kulturmedium abhängig (vgl. Abbildung 34).



**Abbildung 34** Blattlängen der Gerstepflanzen bei Wachstum im Kontrollmedium bzw. in mit Pd versetztem Kulturmedium

Die Blätter der Pflanzen der Kontrollprobe sind deutlich länger als die der Pflanzen mit Pd im Kulturmedium. Bei allen eingesetzten Partikelarten nimmt mit steigender Palladiumkonzentration im Kulturmedium die Blattlänge der Pflanzen ab. Eine besonders starke Wachstumshemmung ist bei der Exposition der Gerste mit Pd-Nanopartikeln zu beobachten. Am wenigsten wurden die Pflanzen bei der Exposition mit geträgerten Pd/SiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln geschädigt. Dies weist auf eine verstärkte Bioverfügbarkeit der trägerfreien Pd-Nanopartikel hin. Nach einwöchiger Exposition der Gerste wurden die Pflanzen geerntet und der Pd-Gehalt in den Blättern, Körnern, bzw. in den Wurzeln mittels FI-GF-AAS bestimmt. Außerdem wurde die Konzentration an gelöstem Palladium im Kulturmedium der Pd-Mikro- und Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikel untersucht. Die Messergebnisse sind in Abbildung 35 dargestellt.



**Abbildung 35** Pd-Konzentration in a) Blättern; b) Körnern; c) Wurzeln; und im d) Überstand (ÜS) des Kulturmediums nach einer Woche Exposition mit unterschiedlichen Pd-Partikelarten

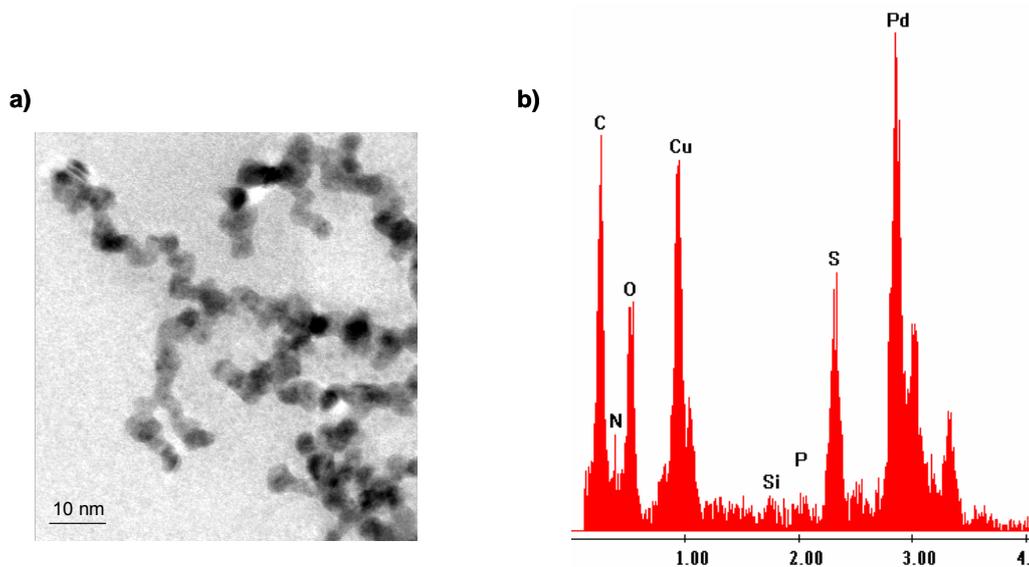
Der Pd-Gehalt in Blättern, Körnern und Wurzeln nimmt mit zunehmender Pd-Konzentration im Kulturmedium bei allen Pd-Partikelarten zu. Die höchste Palladiumkonzentration wurde jeweils in den Wurzeln nachgewiesen, gefolgt von den Körnern; die geringste Konzentration fand sich jeweils in den Blättern. Diese Reihenfolge erscheint für eine 7-tägige Anzucht der Pflanzen sinnvoll, da alle Stoffe zunächst über die Wurzel aufgenommen und dann erst in die Blätter weitertransportiert werden.

Bei der Exposition mit Pd-Nanopartikeln zeigt sich eine deutlich höhere Pd-Aufnahme als bei der Exposition mit Pd-Mikropartikeln bzw. Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln. Ein unterschiedliches Löseverhalten scheint hier unwahrscheinlich, da die aktive Pd-Oberfläche aller Partikel vergleichbar sein sollte. Im System mit Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln könnte allerdings die Re-Adsorption des gelösten Palladiums an die SiO<sub>2</sub>-Oberfläche eine Rolle spielen. Die Konzentrationsbestimmung von Palladium in den Kulturmedien bestätigt dies: Nach einer Expositionszeit von einer Woche im Kulturmedium beträgt der gelöste Pd-Anteil an Gesamtpalladium durchschnittlich 3,2 Gew.-% für Pd-Mikropartikel bzw. 2,3 Gew.-% für Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikel. Im Vergleich hierzu ist die Löslichkeit der gleichen Partikel in reinem Wasser nach einer Woche sehr viel geringer und beträgt nur 0,4 bzw. 0,2 Gew.-%. Die Löslichkeit der Palladiumpartikel ist also wie zu erwarten stark von der Zusammensetzung des Mediums abhängig.

Die direkte Aufnahme von Pd-Nanopartikeln über die Pflanzenwurzel würde die extrem hohen Werte bei der Exposition mit Nanopartikeln erklären, während bei der Exposition mit Mikropartikeln nur der gelöste Teil des Palladiums im Kulturmedium aufgenommen werden kann. Daher wurde dieser Aspekt weiter untersucht. (s. Kapitel 6.2.5).

#### 6.2.5 Partikelaufnahme durch die Pflanze

Die sehr hohen Konzentrationen von Palladium bei der Exposition der Gerstepflanzen im Kulturmedium mit Pd-Nanopartikeln legen die Vermutungen nahe, dass Nanopartikel direkt von der Pflanze aufgenommen werden können. Daher wurden Untersuchungen zur Aufnahme von Pd-Nanopartikeln durch die Wurzeln durchgeführt. Ein Trieb einer lebenden Gerstepflanze wurde am Stängel (ca. 1,5 cm) oberhalb der Wurzel abgeschnitten und ein Kapillarschlauch angeschlossen. Mithilfe einer Vakuumpumpe wurde Pflanzensaft gewonnen, wobei sich die Wurzeln der Pflanzen in einer hochkonzentrierten Pd-Nanopartikellösung befanden. Der gesammelte Pflanzensaft wurde mittels TEM und EDX untersucht (Abbildung 36).

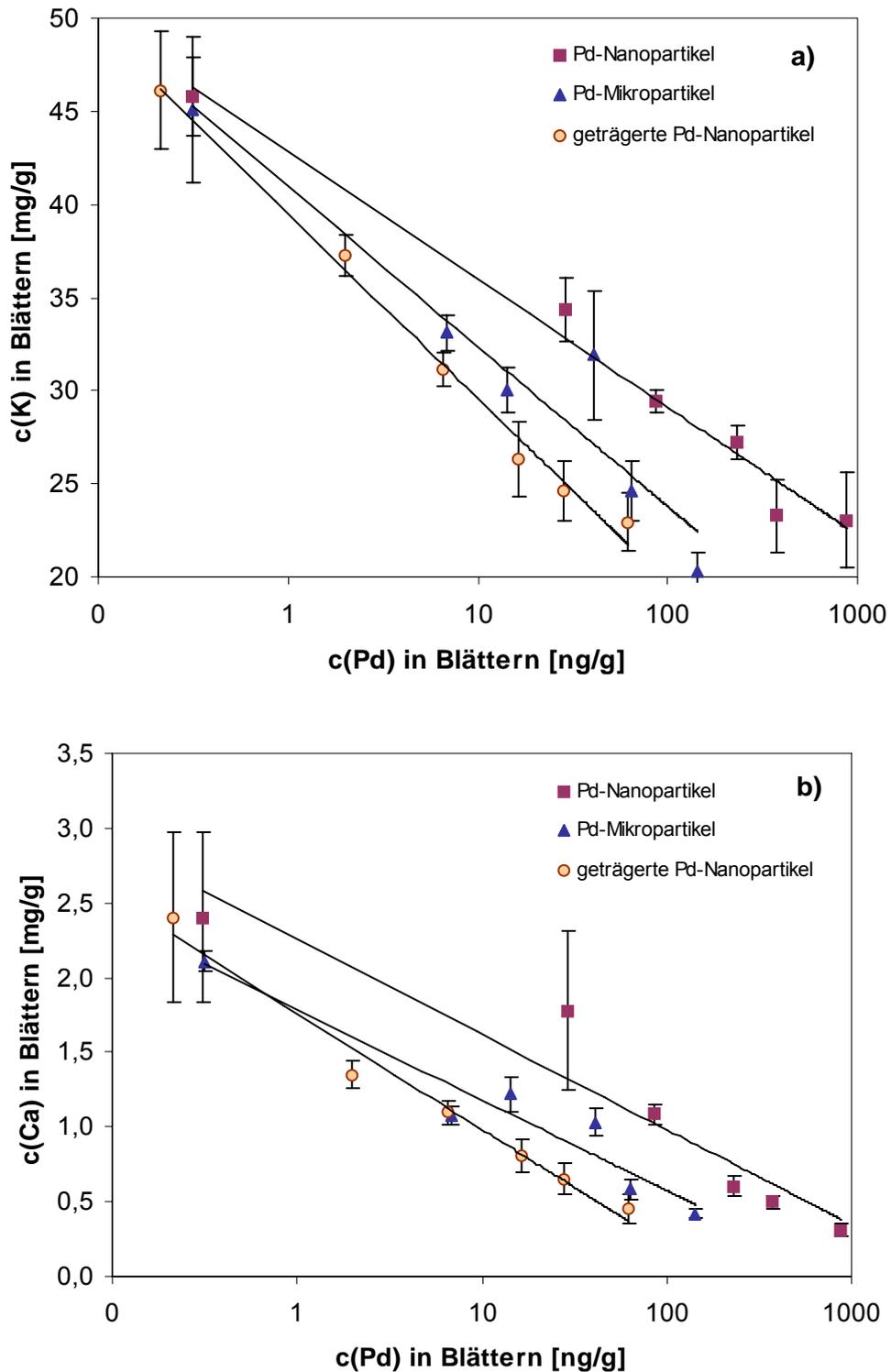


**Abbildung 36** a) TEM bzw. b) EDX-Aufnahme von Pflanzensaft

Die TEM-Abbildung zeigt eindeutig Nanopartikel (<10 nm) im Pflanzensaft, die durch die Wurzeln aufgenommen und über die Kanäle in den Stängel der Pflanze transportiert wurden. Die EDX-Aufnahme belegt, dass es sich hierbei um Palladium handelt. Die höheren Pd-Konzentrationen in den Pflanzen bei Exposition mit Nanopartikeln können also auf eine direkte Partikelaufnahme zurückgeführt werden.

#### 6.2.6 Untersuchung weiterer Elemente in exponierten Gerstepflanzen

Nach der Exposition der Pflanze mit dem Palladium wurden auch die Konzentrationen von Ca, Fe, Cu, K, S und Mn gemessen und mit denen der Kontrollprobe verglichen. Auffällig waren hier die abnehmenden K- bzw. Ca-Gehalte mit steigender Pd-Konzentration in den Gerstebblättern. In Abbildung 37 sind die Zusammenhänge zwischen Palladium- und Kaliumgehalt (a) bzw. zwischen Palladium- und Calciumgehalt (b) in den Gerstebblättern dargestellt.



**Abbildung 37** Korrelation zwischen Palladium- und a) Kalium- bzw. b) Calciumgehalte in Gerstenblättern

Beide Diagramme zeigen eine lineare Abnahme der K- bzw. Ca- Gehalte mit aufsteigender Palladiumkonzentration in allen exponierten Pflanzengruppen. Die mit den reinen Nanopartikeln exponierten Pflanzen zeigen den schwächsten Einfluss auf

die K- bzw. Ca-Versorgung in Blättern im Vergleich zu den beiden anderen Expositionsgruppen. Dies lässt vermuten, dass die Regelung des K- bzw. Ca-Haushaltes der Pflanzen durch das lösliche Palladium unmittelbar beeinflusst wird. Wahrscheinlich bleiben die Nanopartikel in den Pflanzen einige Zeit in der partikulären Form d.h. die Wirkung des ionischen Palladiums tritt erst zeitlich verzögert auf.

Die Stärke des Zusammenhangs zwischen Palladiumgehalt und Kalium- bzw. Calciumgehalt in Blättern wurde durch die Bestimmung der Pearsons Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) und Signifikanz ( $p$ ) für jede Expositionsreihe ermittelt (vgl. Kapitel 8.11.4). In Tabelle 21 sind die Ergebnisse der Korrelationsanalysen aufgeführt.

**Tabelle 21** *Ergebnisse der Korrelationsanalyse zwischen den Palladium-/Kalium- bzw. Palladium-/Calciumgehalten in Blättern exponierten Gerstepflanzen*

Partikelart	Kalium		Calcium	
	$r$	$p$	$r$	$p$
Pd-Nanopartikel	-0,618	< 0,003	-0,704	< 0,0005
Pd-Mikropartikel	-0,784	< 0,0001	-0,763	< 0,0001
geträgerte Pd-Nanopartikel	-0,734	< 0,0003	-0,691	< 0,0008

Der negative Einfluss des Palladiums auf die Kalium- bzw. Calciumaufnahme der Gerstepflanzen erwies sich für alle Expositionsgruppen als signifikant ( $p < 0,003$ ). Die errechneten Korrelationskoeffizienten bestätigten die hohe negative Korrelation, bzw. den gegenläufigen Zusammenhang zwischen Palladium und Kalium bzw. Palladium und Calcium in Pflanzenblättern, wie er aus der grafischen Darstellung abzulesen war.

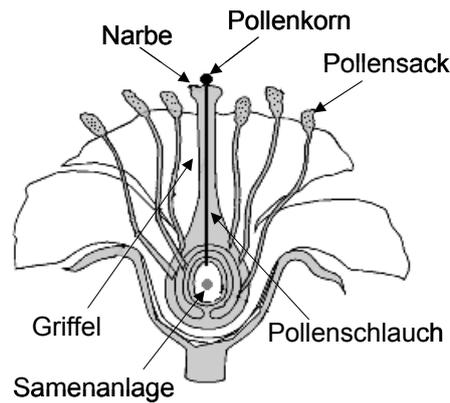
Kalium- und Calciumionen besitzen eine Schlüsselrolle in den Stoffwechselprozessen von Pflanzen. Die Kaliumionen haben in erster Linie sehr große Bedeutung für den Wasserhaushalt und für den Stofftransport in der Pflanze. Kalium ist ein unentbehrliches Osmotikum pflanzlicher Zellen [218]. Bei unzureichender  $K^+$ -Versorgung werden die Synthesen zahlreicher Moleküle, besonders der Makromoleküle wie Cellulose, Stärke und Proteine, behindert [219]. Calciumionen kontrollieren direkt den Stofftransport durch Zellmembranen [220].  $Ca^{2+}$  bindet sich vorwiegend an die

negativ aufgeladenen „Kopfgruppen“ biologischer Membranen und es hat in dieser Funktion essentielle Bedeutung für deren Stabilität [221]. Unzureichende Absättigung der Membranen mit  $\text{Ca}^{2+}$  erhöht ihre Durchlässigkeit erheblich.

### 6.3 Expositionsversuche an Kiwipollen

#### 6.3.1 Pollen als Bioindikatoren

Pollen entwickeln sich in den Pollensäcken innerhalb einer Blüte der Samenpflanzen. Die wichtige Funktion der Polle ist die Bestäubung, also Übertragung des männlichen Erbguts zum weiblichen Blütenteil (Narbe) [222,223]. Der Transport der Pollen geschieht meistens durch Wind, Wasser oder Insekten. Die Keimung beginnt mit dem Kontakt einer teilweise dehydrierten Polle mit der Narbe der passenden Blüte. Die Aufnahme von Wasser aus der Narbe führt zur Rehydrierung des Pollenkorns und der Reaktivierung des Metabolismus. Die Reorganisation des Zytoplasmas führt zur Bildung eines  $\text{Ca}^{2+}$ - Gradienten mit der höchsten Konzentration an einer Pore der äußersten Schicht des Pollenkorns (Porus) [224]. An dieser Stelle wächst der Pollenschlauch aus dem Pollenkorn heraus. Die  $\text{Ca}^{2+}$  -Ionen sind für das gerichtete Längenwachstum der Pollenschläuche essentiell [225]. Die zellulären Prozesse, die für das Wachstum des Pollenschlauches wichtig sind, sind vielfach über ein regulatorisches Netzwerk miteinander verknüpft, sodass nur eine genaue Steuerung aller Prozesse zu einem erfolgreichen und schnellen Wachstum führt. Der Pollenschlauch wächst durch das Gewebe von Narbe, Griffel und Fruchtknoten bis zur Samenanlage [226] (Abbildung 38).



**Abbildung 38** Bestäubung und Befruchtung von Blüten

Im Pollenschlauch werden die Spermazellen bis zur Eizelle herangeführt, wo schließlich die Verschmelzung zwischen Ei- und Spermakern stattfindet. Dieser Verschmelzungsprozess heißt Befruchtung [223].

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre zeigen, dass die physiologischen Prozesse der Pollen durch Luftschadstoffe bzw. Feinstaubpartikel sehr stark beeinflussbar sind [227,228]. Pollen werden daher in mehreren Studien als biologische Indikatoren für Umweltverschmutzung eingesetzt [229,230]. Insbesondere die Auswirkung von Oxidantien auf die Stoffwechselprozesse der Pollen wurde in den vergangenen Jahren intensiv untersucht. So stellten *Black et al.* [231] fest, dass die Begasung von reifen Maispollen mit Ozon zu geringerer Keimfähigkeit, einem höheren Anteil an freien Aminosäuren und geringerer Konzentration an reduzierendem Zucker in den Pollenkörnern führte. *Feder et. al* [232] konnten bei Begasungsversuchen mit Tabakpollen zeigen, dass 0,1 ppm Ozon eine um 40-50% reduzierte Keimung und ein um 50% gehemmtes Schlauchwachstum verursachte, während *Mumford et al.* [233] bei Maispollen schon bei 0,03 ppm Ozon einen veränderten Stoffwechsel feststellten. Auch bei kurzfristigen Begasungen mit 1 ppm SO<sub>2</sub> trat eine starke Hemmung des Schlauchwachstums bei Pollen verschiedener Baum- und Krautarten ein [234]. Im Gegensatz zu Ozon und SO<sub>2</sub> fördert Kohlendioxid auch in hohen Konzentrationen die Pollenkeimung und das Schlauchwachstum [235].

Feine Staubpartikel (<2 µm) lagern sich an Pollenoberflächen an [236] und können damit Strukturveränderungen bewirken [237,238]. Wissenschaftler vom Zentrum Allergie und Umwelt der TU München (ZAUM) konnten nachweisen, dass

mit Staubpartikeln behaftete Birkenpollen dreimal mehr Allergene freisetzen als Pollen, die von Bäumen auf einer Wiese gesammelt wurden [239].

In der vorliegenden Arbeit wurde die toxische Wirkung von Pd-Nanopartikeln auf die Keimungs- und Lebensfähigkeit der Pollen von Fruchtpflanzen untersucht. Als Modellorganismen dienten die Pollen der Kiwibäume.

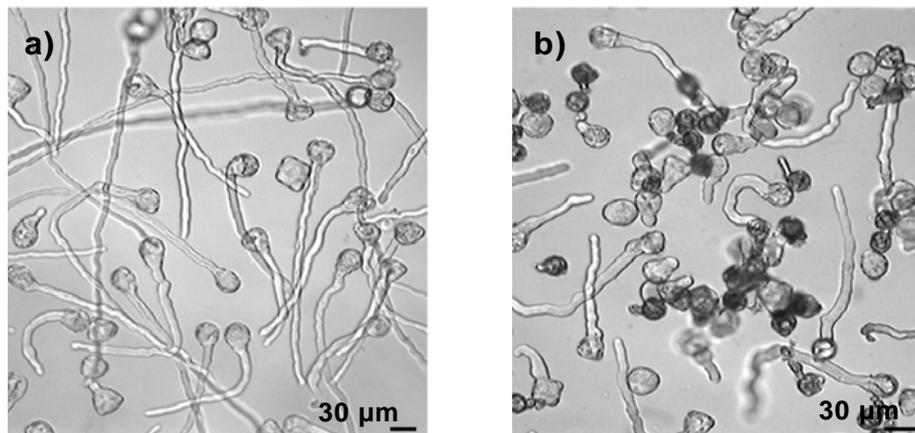
### 6.3.2 Probenvorbereitung und Exposition

Kiwipollen wurden von den Bäumen des männlichen Genotyps der Sorte *Actinidia deliciosa* im Versuchsbetrieb *Azienda Tarozzi*, Faenza (Italien) gewonnen und bis zum Gebrauch bei  $-20\text{ °C}$  aufbewahrt [240]. Vor den Expositionsversuchen wurden die Pollen für 30 min bei  $30\text{ °C}$  und hoher relativer Luftfeuchte von 100 % rehydratisiert. Die Keimungsvorgänge wurden in Petri-Schalen durchgeführt. Als Kulturmedium für die Pollenkeimung wurde eine Nährlösung aus Saccharose und Borsäure eingesetzt [240]. Entsprechend der Zielsetzung der Versuche wurde das Medium mit definierten Konzentrationen ( $0\text{-}7\text{ mg l}^{-1}$ ) von Palladiumnanopartikeln (vgl. Kapitel 5.6) versetzt. Zum Vergleich wurden die gleichen Expositionsversuche mit löslichem Palladium(II) durchgeführt. Neben einer Kontrollprobe wurden jeweils drei Pollenproben für jede Pd-Konzentration eingesetzt. Die Expositionszeiten betragen 30 bzw. 90 min.

### 6.3.3 Toxikologische und morphologische Effekte

Für die Keimfähigkeitsprüfung wurden die Pollenkörner auf das Expositionsmedium ( $1\text{ mg Pollen ml}^{-1}\text{ Medium}$ ) gebracht. Unter dem Lichtmikroskop wurde der prozentuale Anteil der Pollenkörner ermittelt, die nach 90 min einen Schlauch ausgebildet hatten. Dieser prozentuale Anteil gilt auch als Kennzahl für die Lebensfähigkeit der erfassten Pollenprobe [222].

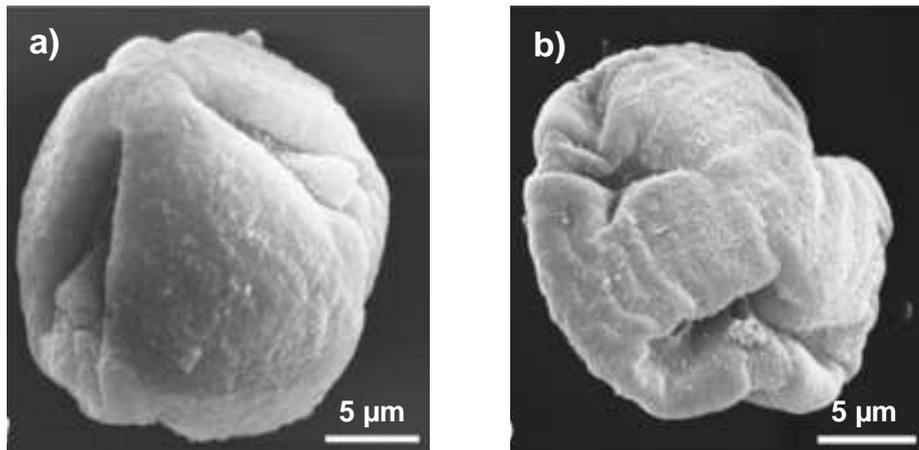
Die Untersuchungen zeigten, dass Pd-Nanopartikel schon in sehr niedrigen Konzentrationen eine Hemmung der Pollenschlauchbildung auslösen. Eine signifikante Hemmung ( $p < 0,001$ , Keimungsrate 65%) begann bei einer Pd -Konzentration ab  $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ . Bei einer Konzentration von  $0,4 \text{ mg l}^{-1}$  wurden keine Schläuche mehr an den Pollen gebildet. Abbildung 39 zeigt die Pollenkeimung in der Kontrollprobe bzw. in der mit den Pd-Partikeln exponierten Probe.



**Abbildung 39** Lichtmikroskopische Aufnahmen der Pollenkeimung a) Kontrollprobe b) Exposition mit Pd-Nanopartikeln ( $0,3 \text{ mg Pd l}^{-1}$ )

Die Expositionsversuche mit gelöstem Palladium zeigten eine signifikante Schlauchbildungshemmung ab  $2,5 \text{ mg Pd l}^{-1}$  ( $p < 0,001$ ; Keimungsrate 70%). Bei einer Konzentration von  $7 \text{ mg l}^{-1}$  betrug die Keimungsrate 25%. Der  $EC_{50}$ -Wert (Keimungsrate 50%) liegt für Pd-Nanopartikel somit bei  $0,23 \text{ mg l}^{-1}$  bzw. für Palladium(II)-Lösung bei  $3,6 \text{ mg l}^{-1}$ .

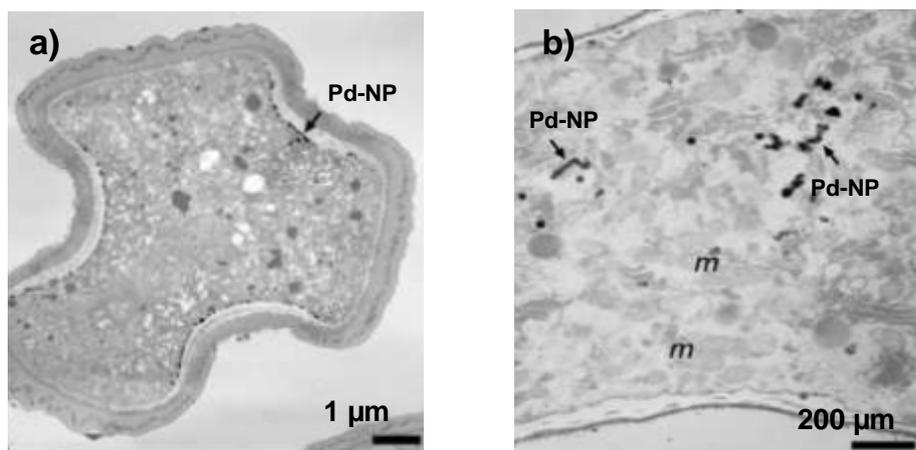
Bei allen mit Pd-Nanopartikeln exponierten Pollen wurde auch die Faltung der Pollenkornoberfläche beobachtet. Die Pollenfaltung verstärkte sich mit der Expositionszeit bzw. mit steigender Pd-Konzentration. Abbildung 40 zeigt die REM-Aufnahmen von einer Polle aus der Kontrollprobe (a) und von einer Polle aus der mit Pd-Partikeln exponierten Probe (b).



**Abbildung 40** REM-Aufnahmen von Kiwipollen aus a) Kontrollprobe, b) Expositionsprobe mit Pd-Nanopartikeln

Bei  $7 \text{ mg l}^{-1}$  partikulärem Palladium im Kulturmedium wurden alle Pollen innerhalb von 15 min gefaltet. Die mit gelöstem Palladium exponierten Pollen zeigten keine erkennbaren Oberflächenänderungen.

Der große Wirkungsunterschied von partikulärem und löslichem Palladium auf die Pollenkeimung deutet darauf hin, dass die Pd-Partikel von den Pollenkörnern aufgenommen werden. Dies wurde durch zelluläre TEM-Untersuchungen der Pollenkörner untersucht. In Abbildung 41 sind die TEM-Aufnahmen von den Pd-Nanopartikeln im Zytoplasma der Pollenzellen dargestellt.



**Abbildung 41** TEM-Aufnahmen von Pd-Nanopartikeln (Pd-NP) im Zytoplasma der Pollenzellen; (m-Mitochondrien)

Die Pd-Nanopartikel wurden größtenteils im Zytoplasma der Pollenzellen nachgewiesen. Dabei wurden auch Veränderungen der Konsistenz und der Viskosität des Zellzytoplasmas der Pollenzellen festgestellt. In einigen Zellen wurden auch komplett zerstörte Zellorganellen beobachtet.

#### 6.3.4 Pd- und Ca-Konzentrationen in Kiwipollen

Die Keimhemmung der exponierten Pollen lässt vermuten, dass durch Palladium metabolische Prozesse in Pollenkörnern stark beeinflusst werden. Insbesondere der Calciumstoffwechsel ist hier betroffen, da Calcium bei der Regulation der Keimungsprozesse der Pollen eine wichtige Rolle spielt (vgl. Kapitel 6.3.1). Durch die Bestimmung der Pd- und Ca-Konzentrationen in den exponierten Pollen sollte überprüft werden, ob ein Zusammenhang zwischen diesen Elementen bei der Pollenkeimung besteht. Dafür wurden die exponierten Pollen abzentrifugiert, mit dem frisch vorbereiteten Kulturmedium gewaschen, abgetrocknet und im Mikrowellengerät (vgl. Kapitel 8.9.6) aufgeschlossen. Die Pd-Konzentrationen wurden mittels GF-AAS, die Ca-Konzentrationen mittels TRFA bestimmt. Untersucht wurden jeweils drei Proben für jede Expositions-konzentration nach 30 bzw. 90 min Expositionszeit. Die erhaltenen Daten sind in Abbildung 42 dargestellt.

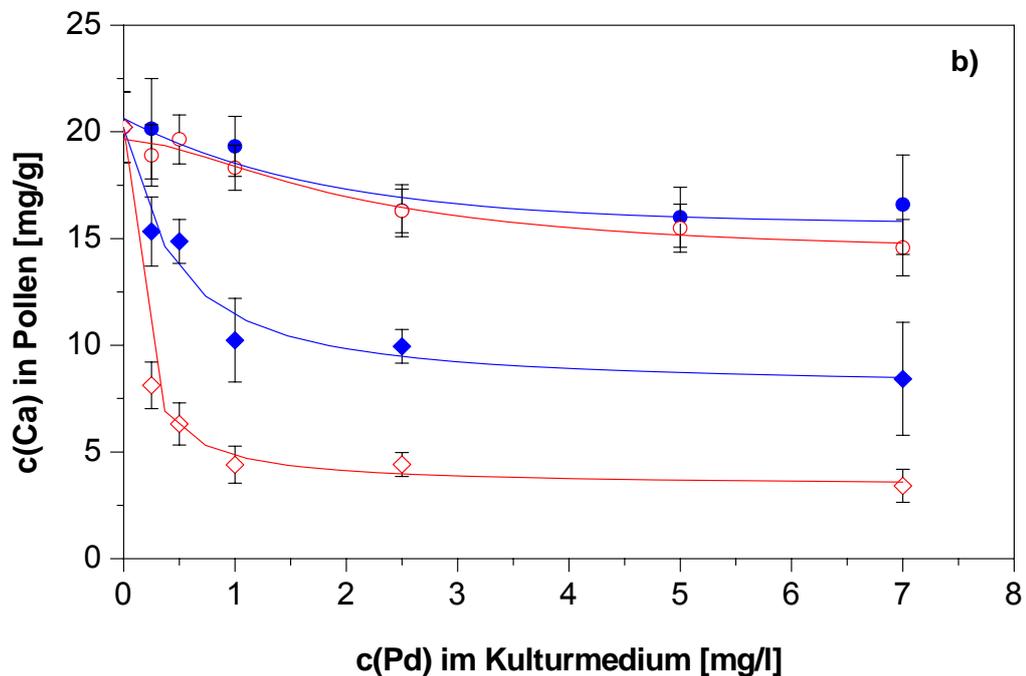
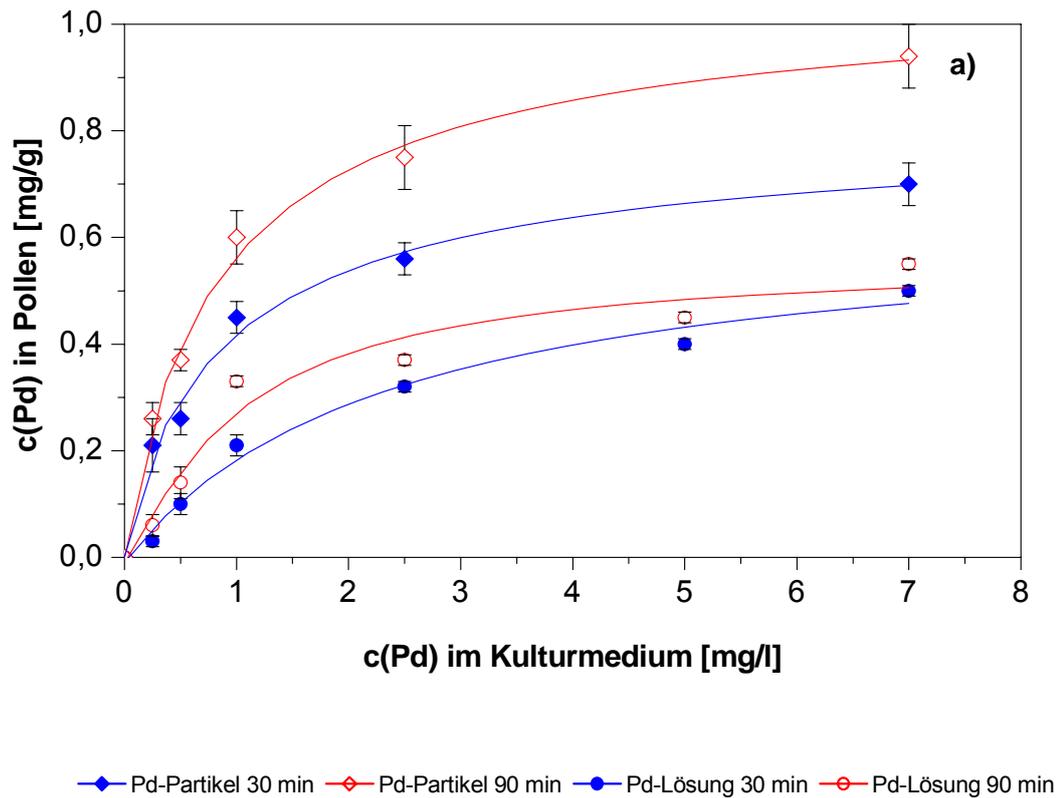


Abbildung 42 Konzentrationen von a) Palladium bzw. b) Calcium in den exponierten Pollen

Die mit Pd-Nanopartikeln exponierten Pollen zeigen eine deutlich höhere Pd-Aufnahme sowohl nach 30 als auch nach 90 min Expositionszeit als Pollen, die mit löslichem Palladium exponiert wurden (Abbildung 42 a). Außerdem wurde ein

größerer zeitliche Pd-Konzentrationsanstieg bei der Exposition mit partikulärem Palladium im Vergleich zu löslichem Palladium festgestellt.

Mit zunehmenden Pd-Konzentrationen wurde eine Abnahme des Calciumgehalts in den Pollen festgestellt (Abbildung 42 b). Dieser Effekt fällt bei der Exposition mit Pd-Nanopartikel deutlich höher aus als bei der Exposition mit löslichem Palladium. Die Stärke des Zusammenhangs zwischen dem Pd- und Ca-Gehalt in den Pollen wurde durch Korrelationsanalysen (vgl. Kapitel 8.11.4) für jede Expositionsreihe ermittelt (Tabelle 22).

**Tabelle 22** *Ergebnisse der Korrelationsanalyse zwischen den Pd- und Ca-Gehalten in Kiwipollen*

Exposition	30 min		90 min	
	r	p	r	p
Pd-Nanopartikel	-0,98	< 0,0006	-0,85	< 0,03
PdCl <sub>2</sub>	-0,89	< 0,008	-0,94	< 0,002

Die negative Wirkung von Palladium auf den Ca-Haushalt der Pollen erwies sich für beide Palladiumformen (löslich und partikulär) als signifikant ( $p < 0,03$ ). Die negativen Pearson Koeffizienten (r) bestätigten den gegenläufigen Zusammenhang zwischen Palladium und Calcium in Kiwi-Pollen. Die starke Wirkung von Pd-Nanopartikeln auf die Stoffwechselprozesse der Pollen wird dabei durch die morphologischen Veränderungen des Zellzytoplasmas und der Pollenoberfläche verursacht.

## 6.4 Einfluss von Palladium auf die Zytokinproduktion von peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC)

### 6.4.1 Zytokine

Zytokine sind Bausteine des unspezifischen (angeborenen) sowie des spezifischen (erworbenen) Immunsystems. Es handelt sich um Eiweißmoleküle, die von Immunzellen, aber auch von nichtimmunologischen Zellen gebildet und freigesetzt

werden [241]. Zytokine können Immunantworten stimulieren oder hemmen: Sie fungieren als "Botenstoffe", über welche die Immunzellen miteinander "kommunizieren". Zytokine steuern und koordinieren so die Abwehr von Krankheitserregern. Sie sind demnach mitverantwortlich dafür, dass eine Immunreaktion erfolgreich abläuft. Dabei wirken sie als Wachstumsfaktoren, aktivieren oder deaktivieren Zellen und schützen das Gewebe vor Schädigungen. Zytokine müssen nicht in die Zelle eindringen, um zu wirken. Sie docken lediglich an einen sogenannten Rezeptor an, der auf der Zelloberfläche sitzt. Die Freisetzung der Zytokine bei einer Immunreaktion wird durch drei Gruppen von T-Helfer-Zellen (Th1, Th2 und Th17) reguliert [242,243]. Jede Th-Gruppe hat ein unterschiedliches Zytokinmuster und unterschiedliche Effektorfunktionen. Dabei ist das Gleichgewicht zwischen Zytokinen essentiell für jede Effektorreaktion und die Verhinderung immunologischer Dysbalancen [244]. Wenn das Gleichgewicht und damit das Zusammenwirken von Zytokinen gestört ist, kommt es zu schwer wiegenden Erkrankungen, da der Krankheitserreger entweder nicht beseitigt werden kann oder die Immunreaktion nicht zum Erliegen kommt, obwohl der Erreger nicht mehr vorhanden ist. Die Zytokine lassen sich in folgende Gruppen einteilen: Interleukine (IL), Interferone (IFN), Koloniestimulierende Faktoren (CSF), Tumornekrosefaktoren (TNF), Wachstumsfaktoren, Monokine, und Chemokine [245]. Nach ihren Hauptfunktionen während einer Immunantwort lassen sich die Zytokine wie folgt zusammenfassen: (nur wichtige Zytokine)

- entzündungsfördernd: IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, TNF $\alpha$
- entzündungshemmend: IL-10, IL-11, IL-13, TGF- $\beta$
- hämatopoese-fördernd (Blutzellbildung): IL-3, IL-5, IL-7, IL-11, G-CSF
- immunregulatorisch: IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IFN $\gamma$
- antiinfektiös: IFN $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IL-28, IL-29 (Vieren), TNF $\alpha$  (Bakterien)
- antiproliferativ (wachstumshemmend): TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , TGF- $\beta$

Zahlreiche Studien der letzten Jahre belegen, dass Schadstoffe wie Schwefeldioxid, Ozon, Stickoxide, atmosphärische Schwebstoffe, Dieselrußpartikel [246] und Schwermetalle wie Nickel, Blei und Cadmium [247] zunehmend häufiger Reaktionen des Immunsystems auslösen [248]. Die chronische Einwirkung von Schadsubstanzen schon im Niedrigdosisbereich kann eine Modulation der Zytokin-freisetzung bedingen. Kurzfristige Änderungen werden in der Regel gut und ohne wesentliche Folgen kompensiert. Wenn dieser Mechanismus allerdings langfristig

und in der Regel über Jahre einwirkt, ergeben sich hieraus Konsequenzen für das immunologische Verhalten. Beispiele für eine gestörte Immunbalance verschiedener Zytokine sind die Allergie, die Atopie und Autoimmunerkrankungen.

#### 6.4.2 Probenahme und Präparation

In Übereinstimmung mit den Richtlinien der Ethikkommission der Universität „G. D' Annunzio“, Chieti-Pescara (Italien) wurden durch einen Arzt jeweils 8-10 mL peripheres Blut von insgesamt 8 freiwilligen nicht atopischen gesunden Spendern (Frauen im Alter von 20-46 Jahren) entnommen.

Für die Untersuchung der Zytokinproduktion wurden periphere mononukleäre Blutzellen PBMC (*engl. Peripheral Blood Mononuclear Cell*) aus den entnommenen Blutproben gewonnen. Die Isolierung der PBMC (Lymphozyten, Monozyten und Thrombozyten) erfolgte mittels Dichtegradientenzentrifugation [249]. Dabei wurden PBMC aufgrund ihrer Dichte im Ficoll-Gradienten von Erythrozyten, Granulozyten und toten Zellen getrennt, danach mit Hank's Salzlösung HBSS (*engl. Hanks buffered salt solution*) gewaschen und in einem speziellen Zellkulturmedium mit bzw. ohne Palladiumzugabe inkubiert.

Zur Untersuchung der Zytokinproduktion wurde jede PBMC-Probe wie folgt präpariert:

- Kontrollproben (ohne zusätzliche Reagenzien)
- mit  $10 \mu\text{g ml}^{-1}$  Lipopolysaccharid (LPS)
- mit  $10^{-5}$  bzw.  $10^{-6}$  M Pd-Nanopartikeln oder  $\text{K}_2[\text{PdCl}_6]$ -Lösung
- mit  $10 \mu\text{g/ml}$  LPS und  $10^{-5}$  bzw.  $10^{-6}$  M Pd-Nanopartikeln oder  $\text{K}_2[\text{PdCl}_6]$ -Lösung

Das hier verwendete Lipopolysaccharid (LPS) oder Endotoxin wird üblicherweise zur Stimulierung der Zytokinproduktion von PBMC eingesetzt. LPS ist ein charakteristischer Bestandteil der äußeren Membran gramnegativer Bakterien und ist

ein potenter Mediator entzündlicher Reaktionen [250]. Schon in niedrigsten Konzentrationen ( $\text{pg ml}^{-1}$ ) ist LPS biologisch wirksam.

### 6.4.3 Zytokinkonzentration

Die Konzentrationen von fünf Zytokinen (IL-10,  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IFN}\gamma$ , IL-5, IL-17) wurden in PBMC-Proben mittels Sandwich-ELISA [251] unter Verwendung der entsprechenden monoklonaren Antikörper an der Universität „G. d' Annunzio“ bestimmt.

In Tabelle 23 sind die mittleren Zytokinkonzentrationen in PBMC-Kontrollproben und in mit LPS stimulierten PBMC-Proben dargestellt.

**Tabelle 23** *Zytokinkonzentrationen in PBMC-Kontrollproben bzw. mit LPS stimulierten PBMC-Proben*

pg/ml (MW)	IL-10	$\text{TNF}\alpha$	$\text{IFN}\gamma$	IL-5	IL-17
PBMC-Kontroll	62	40	3,8	0,3	1,7
PBMC mit LPS	654	1237	5,3	1,1	5,2

Erwartungsgemäß ist die Zytokinproduktion von Blutzellen der Kontrollprobe deutlich niedriger als die Zytokinproduktion der mit LPS stimulierten PBMC. Die erhaltenen Zytokinkonzentrationen wurden als 100 %-ige Zytokinsekretion der unstimulierten bzw. stimulierten PBMC angenommen. Die Produktion der Zytokine der mit Pd behandelten Blutzellen werden im Verhältnis zur PBMC-Kontrollprobe bzw. LPS-PBMC betrachtet.

Tabelle 24 zeigt die Zytokinproduktionen von mit Palladium exponierten PBMC im Verhältnis zur Zytokinproduktion der Kontrollprobe.

**Tabelle 24** Zytokinproduktion palladiumexponierter PBMC im Verhältnis zur Zytokinproduktion der Kontrollprobe (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ )

%	IL-10	TNF $\alpha$	IFN $\gamma$	IL-5	IL-17
Pd-Lös. $10^{-5}$ M	56*	126	128	-	42**
Pd-Lös. $10^{-6}$ M	102	105	130	-	54
Pd-Part. $10^{-5}$ M	115	74*	92	-	51**
Pd-Part $10^{-6}$ M	99	95	100	-	52*

Bei der Exposition der PBMC mit Pd-Salz ( $10^{-5}$  M) bzw. mit Pd-Nanopartikeln ( $10^{-5}$  M) wurde eine signifikante Produktionshemmung von IL-10 (56%) und IL-17 (42%) bzw. der TNF $\alpha$  (74%) und der IL-17 (51%) im Vergleich zur Kontrollprobe festgestellt. Die niedrigeren Konzentrationen von partikulärem Palladium ( $10^{-6}$  M) im Expositionsmedium bewirkte ebenfalls eine signifikante Inhibition von IL-17 (52%). Alle andere Effekte des Palladiums auf die Zytokinfreisetzung erwiesen sich als statistisch nicht signifikant ( $p > 0,05$ ). Die Messwerte von IL-5 lagen unter der Nachweisgrenze.

In Tabelle 25 ist die Zytokinproduktion bei der kombinierten Wirkung von LPS und Pd auf PBMC im Verhältnis zur Zytokinproduktion von LPS-PBMC dargestellt.

**Tabelle 25** Zytokinproduktion von PBMC bei der Kombinierten Wirkung von LPS und Pd im Verhältnis zur Zytokinproduktion von LPS- PBMC (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ )

%	IL-10	TNF $\alpha$	IFN $\gamma$	IL-5	IL-17
Pd-Lös. $10^{-5}$ M	3,8*	0,7*	20,8**	127,3	32,7*
Pd-Lös. $10^{-6}$ M	68,7*	139,5	47,2	72,7	69,2
Pd-Part. $10^{-5}$ M	99,2	80,5*	217,0*	172,0	32,7*
Pd-Part $10^{-6}$ M	92,7	94,4	111,3	90,9	51,9

Bei der Exposition der LPS-stimulierten Blutzellen mit  $10^{-5}$  M Pd konnten starke Einflüsse sowohl von partikulärem als auch von löslichem Palladium auf die Zytokinproduktion von PBMC nachgewiesen werden. Die Pd-Partikel ( $10^{-5}$  M) stimulierten eine höhere Freisetzung von IFN $\gamma$  (217%) und inhibierten gleichzeitig die Sekretion von TNF $\alpha$  (80,5%) bzw. von IL-17 (32,7%). Durch lösliches Pd-Salz ( $10^{-5}$  M) wurden

die Sekretionen von IL-10 (3,8%), TNF $\alpha$  (0,7%), IFN $\gamma$  (20,8%) und IL-17 (32,7%) stark unterdrückt. Auch die niedrigere Konzentration von löslichem Pd ( $10^{-6}$  M) ergab eine signifikante Hemmung der IL-10-Produktion (68,7%) im Vergleich zu LPS-PBMC-Proben. Alle andere Effekte von Palladium auf die Zytokinproduktion von LPS-PBMC erwiesen sich als statistisch nicht signifikant.

Insgesamt weisen beide Palladiumformen (löslich und partikulär) bei den durchgeführten Untersuchungen eine immuntoxische Wirkung auf die Zytokinsekretion menschlicher PBMC auf. Auffällig ist die sehr starke Stimulation von IFN $\gamma$  durch Pd-Nanopartikel. Sowohl die hemmende als auch die stimulierende Wirkung des Pd auf die Zytokinproduktion von PBMC kann zu Störungen der Immunbalance führen, was zu überflüssiger oder sehr niedriger Immunreaktion führen kann und dabei unterschiedliche Krankheiten beeinflusst. So kann die Dominanz von Th2-Zytokinen (IL-5, IL-4, IL-6, IL-13, IL-10) die Entstehung allergischer Erkrankungen beeinflussen [252]. Die Dominanz von Th1-Zytokinen (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-5) bzw. Th17-Zytokin (IL-17) stimuliert dagegen die Entwicklung von Autoimmunkrankheiten [253, 254].

## 6.5 Zusammenfassung

Die durchgeführten Expositionsversuche an Gerste, Kiwipollen und an peripheren mononukleären Humanblutzellen zeigen, dass Pd-Partikel für Pflanzen und Menschen toxische Wirkung besitzen.

Die Expositionen von Gerstepflanzen mit Pd-Nanopartikeln, Pd-Mikropartikeln und Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln zeigen zunächst eine deutlich erhöhte Löslichkeit von partikulärem Palladium im Kulturmedium im Vergleich zu reinem Wasser. Bei allen verwendeten Pd-Modellpartikeln wurden ansteigende Palladiumkonzentrationen in den Pflanzen mit steigender Konzentration im Kulturmedium nachgewiesen. Die höchsten Palladiumgehalte wurden dabei jeweils in den Wurzeln, gefolgt von Körnern und Blättern nachgewiesen. Die höchste Palladiumaufnahme in die Gerstepflanzen und die höchste Wachstumshemmung der Blätter wurde jedoch bei der Exposition mit Pd-Nanopartikeln festgestellt, was eine direkte Aufnahme der Nanopartikel nahe legt. Dies konnte durch eine TEM-Analyse des Pflanzensafts belegt werden. Bei den

Untersuchungen weiterer Elementgehalte in den palladiumexponierten Gerstenpflanzen wurde ein deutlicher Kalium- und Calciummangel im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt. Dies kann eine Störung des Wasserhaushaltes bzw. der Aktivierung von Enzymen in den Pflanzen verursachen.

Die phytotoxische Wirkung von partikulärem Palladium auf die Befruchtungsprozesse von Fruchtpflanzen wurde durch eine Expositionsstudie mit Kiwipollen (*Actinidia deliciosa*) untersucht. Dabei wurden die Keim- und Lebensfähigkeit der Pollen in Anwesenheit unterschiedlicher Konzentrationen von Pd-Partikeln und durch Expositionsversuche mit löslichem Pd untersucht. Partikuläres Palladium dringt im Vergleich zu löslichem sehr schnell und in großen Mengen durch die Pollenmembran und verursacht dabei eine starke morphologische Änderung der Pollenkörner. Außerdem führt die Anreicherung von Pd-Partikeln in den Pollenkörnern zur einer starken Verringerung des Calciumgehalts und letztlich zu einer totalen Hemmung der Keimbildung.

Bei der Exposition von peripheren mononukleären Blutzellen mit partikulärem bzw. löslichem Pd wurde in beiden Fällen eine unterdrückte Sekretion von Zytokinen wie IL-10, TNF $\alpha$ , IL-17 festgestellt. Bei der Exposition mit partikulärem Palladium wurde außerdem eine sehr hohe Freisetzung von IFN $\gamma$ -Zytokinen nachgewiesen, was zur Störung der Immunbalance führen kann. Mögliche Folgen einer solchen Immunstörung sind starke allergische Reaktionen oder Autoimmunkrankheiten.

## 7 Zusammenfassung

Der zunehmende Einsatz von Palladium als katalytisch aktivem Element in Autoabgaskatalysatoren hat die Emissionen dieses Elements in die Umwelt deutlich ansteigen lassen. Daher geriet Palladium in den letzten Jahren verstärkt ins toxikologische und ökotoxikologische Interesse. Die emittierten palladiumhaltigen groben Partikel (15-30  $\mu\text{m}$ ) werden in unmittelbarer Nähe der Straßen auf und im Boden deponiert, während die feineren Teilchen (0,1-15  $\mu\text{m}$ ) mit dem Wind in der Umwelt verbreitet werden [58]. In einer Vielzahl von Umweltmatrices, wie z.B. in Straßenstaub, Gräsern und im Boden in Autobahnnähe wurden in den letzten Jahren zunehmende Palladiumkonzentrationen festgestellt [64,67]. Verbleib und Verhalten des Palladiums in der Umwelt z.B. die Aufnahme durch Pflanzen und damit der Transfer in die Nahrungskette oder das Gesundheitsrisiko für Menschen beim Einatmen der nanopartikulären Pd-Teilchen sind bisher nicht ausreichend geklärt.

Für die ökotoxikologische Rolle des Kfz-emittierten Palladiums ist daher die Dokumentation der Kontamination unterschiedlicher Umweltkompartimente, sowie die Untersuchung des Mobilisierungsverhaltens und der Bioverfügbarkeit der beteiligten Palladiumspezies von entscheidender Bedeutung.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde daher eine Langzeitstudie zum Palladiumgehalt in Münchner Straßenstaub und in Klärschlammaschen der Kläranlage Stuttgart Mühlhausen durchgeführt bzw. fortgesetzt. Die ermittelten Daten zeigen einen fast 24-fachen Anstieg der Palladiumgehalte in den Straßenstäuben innerhalb der letzten 13 Jahre. Dieser steile Anstieg muss auf den zunehmenden Anteil an Kraftfahrzeugen mit palladiumhaltigen Katalysatoren bzw. den mengenmäßig verstärkten Einsatz des Pd in den Katalysatoren zurückgeführt werden. Die Untersuchung der Klärschlammaschen ergab eine Abnahme der Palladiumkonzentration in den letzten Jahren. Der Eintrag des Palladiums in Kläranlagen wird daher offenbar durch anderen Emissionsquellen (z.B. Dentalpraxen) als den Straßenverkehr stärker beeinflusst. Der Verzicht auf palladiumhaltige Dentallegierungen seit 1992 würde die Abnahme der Pd-Gehalte in den Aschen erklären. Eventuell sorgen aber auch generell strengere Abwasserentsorgungsvorschriften als in den neunziger Jahren hier für einen verminderten Eintrag.

In Zusammenarbeit mit dem *Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft der TU München* wurden auch Quer- und Tiefenprofile von Oberböden in Versickerungsmulden entlang einer Autobahn- bzw. einer Kreisstraße untersucht. Die Bodenproben zeigen allgemein eine deutliche Kontamination mit Pd und eine hohe Mobilität des Palladiums im Boden. Bis zu einer Tiefe von 30 cm wurde ein Palladiumgehalt von bis zu  $18 \mu\text{g kg}^{-1}$  gefunden. Durch die hohe Eindringtiefe des Palladiums in die Oberböden der Versickerungsmulden besteht das Risiko einer Durchsickerung des Edelmetalls ins Grundwasser.

Für die Untersuchung der ökotoxikologischen Auswirkungen von Palladiumpartikeln in der Umwelt wurden im zweiten Teil dieser Arbeit geeignete Partikel-Testsubstanzen synthetisiert. Die Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikel entsprechen sehr gut den aus Autoabgaskatalysatoren ausgetragenen Partikeln und sind für Lösungsversuche mit Bodenlösung, Regenwasser und Oberbodenwasser etc. geeignet. Die Anwesenheit von Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ist allerdings für Versuche mit Pflanzen und aquatischen Tieren nicht sinnvoll, da Aluminium ebenfalls toxische Effekte auslösen kann. Daher wurden Pd-Nanopartikel synthetisiert, die keinerlei Stabilisatoren oder Zusätze enthalten und deren kolloidale Lösungen mit dem Nährmedium von Pflanzen oder Aquariumswasser gemischt werden können. So kann die direkte Wirkung von Pd als Nanopartikel auf unterschiedliche Organismen verfolgt werden. Auch für Toxizitätsuntersuchungen im medizinischen Bereich kommen diese Partikel in Betracht. Alternativ zu Pd-Nanopartikeln, die aufgrund ihrer geringen Größen direkt von aquatischen Tieren und Pflanzen aufgenommen werden können, wurden auch sedimentierbare Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikel bzw. reine Pd-Partikel in  $\mu\text{m}$ -Größenbereich synthetisiert. Diese Partikel sind für die Untersuchung der Löslichkeit von geträgerten bzw. agglomerierten Pd-Nanopartikeln in unterschiedlichen biologischen Medien geeignet. Die Partikelgrößenverteilung wurde mittels Lasergranulometrie bzw. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) bestimmt. Informationen über die Struktur der gebildeten Pd-Nanopartikel wurden durch hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (*engl. High-resolution transmission electron microscopy HR-TEM*) gewonnen. Die Elektronenbeugungsaufnahmen zeigen für alle Partikel die gleiche kristalline Struktur von kubisch-flächenzentriertem (*engl. face centered cubic fcc*) Palladiummetall. Der exakte Palladiumgehalt der hergestellten Modellpartikel wurde mittels Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie (GF-AAS) ermittelt.

Der reproduzierbare Palladiumgehalt der synthetisierten Partikel und die exakte elektronenmikroskopische Charakterisierung ermöglichten die Untersuchung der Bioverfügbarkeit des partikulären Palladiums und der dabei entstehenden phytotoxischen Effekte in Pflanzenmodellorganismen wie Gerste (*Hordeum vulgare L.*) bzw. Kiwi-Pollen (*Actinidia deliciosa*). Diese Untersuchungen wurden in Kooperation mit dem *Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung der Technischen Universität München* bzw. mit dem *Lehrstuhl für Biologie der Universität Bologna* (Italien) durchgeführt. Die Expositionsversuche mit Pd-Nanopartikeln, Pd-Mikropartikeln und Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln im Nährmedium der Gerste belegen eine sehr hohe Pd-Aufnahme in die Pflanze. Bei allen verwendeten Pd-Modellpartikeln wurden steigende Palladiumkonzentrationen in der Pflanze mit steigender Konzentration von Palladium im Kulturmedium nachgewiesen. Die höchsten Palladiumgehalte wurden dabei in den Wurzeln, gefolgt von Körnern und den Blättern festgestellt. Die Exposition mit Pd-Nanopartikeln führt zur höchsten Palladiumaufnahme und auch zur stärksten Wachstumshemmung der Blätter. Die direkte Aufnahme der Pd-Nanopartikel über die Wurzel in die Pflanze konnte durch TEM-Untersuchungen von Pflanzensaft belegt werden. Alle Palladium-exponierten Gerstenpflanzen zeigen außerdem einen deutlichen Kalium- und Calciummangel im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies kann Störungen des Wasserhaushaltes und der Aktivierung von Enzymen in der Pflanze verursachen. Bei der Exposition der Kiwipollen mit Pd-Partikeln wurde die Keim- bzw. Lebensfähigkeit der Pollen in Anwesenheit unterschiedlicher Konzentrationen der Pd-Partikel untersucht. Zum Vergleich wurden jeweils Expositionsversuche mit löslichem Pd durchgeführt. Partikuläres Palladium dringt im Vergleich zu löslichem sehr schnell und in großen Mengen durch die Pollenmembran und verursacht dabei eine starke Morphologieänderung und eine verringerte Lebensfähigkeit der Pollenkörner. Außerdem führten die zunehmenden Konzentrationen der Pd-Partikel in den Pollenkörnern zur starken Verringerung des Calciumgehalts in den Pollen, die dann eine totale Hemmung der Pollenkeimung verursacht.

In Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Arbeitsmedizin der Universität „G. D'Annunzio“ Chieti-Pescara (Italien) wurde der Einfluss von partikulärem Palladium bzw. löslichem Palladium auf die Freisetzung von Zytokinen aus menschlichen peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass sowohl das lösliche als auch das partikuläre Pd die Produktion der Zytokine IL-10,

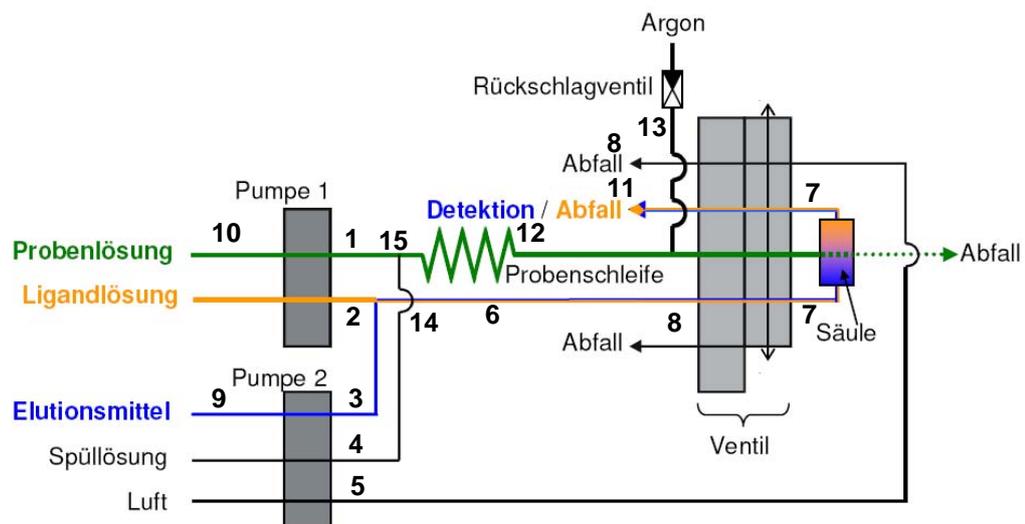
TNF $\alpha$  und IL-17 von PBMC unterdrücken. Bei der Exposition mit partikulärem Palladium wurde außerdem eine sehr hohe Freisetzung von IFN $\gamma$ -Zytokinen nachgewiesen, was zur Störung der Immunbalance führen kann. Mögliche Folgen einer solchen Immunstörung sind starke allergische Reaktionen oder Autoimmunkrankheiten.

Die erhaltenen Ergebnisse zum Monitoring, zur Bioverfügbarkeit und zum Gefährdungspotenzial von partikulärem Palladium zeigten, dass es notwendig ist, mehr über die Wirkmechanismen von Pd-Nanopartikeln auf zellulärer und molekularer Ebene zu erfahren. Auch die genaue Untersuchung der Transportprozesse und der Mobilität des Nano-Palladiums in der Umwelt ist von großem Interesse. Die Verwendung der in dieser Arbeit synthetisierten Pd-Modellpartikel ermöglicht eine bessere Abschätzung des Risikos von Pd-Emissionen und kann so die Datenlage zu möglichen schädigenden Einflüssen der Pd-Nanomaterialien auf die Natur deutlich verbessern.

## 8 Anhang

### 8.1 Pd-Anreicherung im FI-System

Zur Pd-Anreicherung wurde ein FIAS-400 (Perkin-Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland) eingesetzt, das mit zwei peristaltischen Schlauchpumpen und einem 5:4-Wege-Ventil mit den zwei einstellbaren Positionen „Fill“ und „Inject“ ausgestattet ist. Das Gerät besitzt einen Autosampler mit 90 Probenpositionen (AS-90). Die Steuerungssoftware für die Kopplung mit GFAAS (FIAS-Furnace, RPE B0509524) ist in die Steuerungssoftware des AAS-Spektrometers integriert. Der Transport der Lösungen erfolgt mit Pumpen- bzw. Kapillarschläuchen. Abbildung 43 zeigt die Verschlauchung des FIAS. Die numerierten Bestandteile des Systems sind im Anschluss an die Abbildung näher erläutert.



**Abbildung 43** Verschlauchung des Fließinjektionssystems

Bestandteile des FIA-Systems:

Die Pumpenschläuche TYGON<sup>®</sup>, Peristaltik, LIQUID-Scan GmbH & Co. KG, Überlingen, Deutschland:

1. Farbcode rot-rot, 3 Stopper, Innendurchmesser (ID) 1,52 mm
2. Farbcode weiß-weiß, 3-Stopper, ID 0,76 mm

3. Farbcode orange-gelb, 3 Stopper, ID 0,38 mm
4. Farbcode rot-rot, 3 Stopper, ID 1,52 mm
5. Farbcode schwarz-schwarz, 3-Stopper, ID 0,76 mm

Kapillarschläuche, LIQUID-Scan GmbH & Co. KG, Überlingen, Deutschland

6. PTFE, ID 0,8 mm, Länge 60 mm, selbst gefertigt
8. PTFE, ID 1,0 mm, selbst gefertigt
- 13 PTFE, ID 1,0 mm, Länge 30 mm, selbst gefertigt

Kapillarschläuche, Perkin-Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland

7. PTFE, ID 0,35 mm, Länge 60 mm, PE-Nr. B019-1594
9. PTFE, ID 1,0 mm, Länge 60 mm, PE-Nr. B019-1059
- 10 PTFE, AS-90, Probenkapillare, PE-Nr. B019-6966
- 11 PTFE, AS 60/70, Probenkapillare, PE-Nr. B019-6966
- 12 PTFE ID 1,0 mm, für Probenschleife 2,7 ml, selbst gefertigt

Als Verbindungsstücke für die Schläuche wurden die Mischbausteine (14, 15) der Firma Perkin-Elmer eingesetzt.

Die Anreicherungssäule besteht aus einem selbstgefertigten Polymethylpenten-Zylinder mit einem Volumen von ca. 10  $\mu\text{l}$ . Der Säulezylinder wird mit dem Füllmaterial Polygosil 60-4063 RP<sub>18</sub> (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) befüllt und von beiden Seiten mit den selbst gefertigten PTFE-Fritten (Porengröße < 10  $\mu\text{m}$ ) verschlossen. Die Mikrosäule wird in einer Kunststoffhülse geschlossen, die mit den Schläuchen des Fließsystems verschraubbar ist.

Zur Kalibrierung werden Pd-Standardlösungen immer frisch durch schrittweise Verdünnung einer Standardlösung (1000 mg Pd  $\cdot\text{l}^{-1}$ ) mit verdünnter Salpetersäure (1,4 mol  $\text{HNO}_3\cdot\text{l}^{-1}$ ) hergestellt. Der typische Kalibrierbereich ist 10 bis 1000 ng Pd(II)  $\text{l}^{-1}$ . Die Bestimmung des Palladiumgehalts in den Proben mit komplexen Matrices (z.B. Bodenproben) wird durch die Anwendung der Standardadditionsmethode erreicht.

Bei dieser Methode wird die Kalibrierung in der Probenmatrix durchgeführt. Aliquote der Aufschlusslösung werden mit Standardlösung 0, 50, 150 und 300 ng Pd l<sup>-1</sup> versetzt und mittels FI-GF-AAS gemessen.

In Tabelle 26 ist ein optimiertes FIAS-Programm zur Palladiananreicherung wiedergegeben.

**Tabelle 26** FIAS-Programm zur Palladiananreicherung aus 2,7 ml Probevolumen

Schritt Nr.	Zeit [s]	Pumprate Pumpe 1 [U min <sup>-1</sup> ]	Pumprate Pumpe 2 [U min <sup>-1</sup> ]	Ventilstellung
1	21	120	0	Fill
2	55	60	0	Inject
3	30	0	100	Inject
4	15	80	0	Inject
5	160	0	100	Inject
6	26	0	30	Fill
7	99	0	30	Inject
8	50	0	100	Fill

Obwohl alle verwendeten Chemikalien von hoher Reinheit sind treten bei Ultrapurenanalysen immer Blindwerte auf. Bei Palladium liegen die Blindwerte der einzelnen Reagenzien jedoch weit unterhalb der Nachweisgrenze (18 ng/l) weshalb der Blindwert des Gesamtverfahrens (Probenvorbereitung und Messung) bestimmt wurde. Dazu werden drei verschiedene Blindproben (nur Reagenzien, keine Probe) jeweils drei Mal gemessen, der Mittelwert der erhaltenen Blindwerte ausgerechnet und von den Messwerten der Proben abgezogen.

## 8.2 Atomabsorptionsspektrometrie

Die atomabsorptionsspektrometrischen Analysen werden mit einem Spektrometer GF-AAS SIMAA 6000 (Perkin-Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland) durchgeführt. Das Gerät ist mit einer Zeeman-Untergrundkorrektur und einem Autosampler AS-72 ausgestattet. Für die Messungen werden querbeheizte Graphitrohre eingesetzt. Zur Gerätsteuerung wird die Software „Perkin Elmer

AAWinLab, für SIMAA 6000, Version 2,5“ verwendet. Als Strahlungsquelle kamen Hohlkathodenlampe (Perkin-Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland bzw. Photron, Narre Warren, Australia) und elektrodenlose Entladungslampe (Perkin-Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland) zum Einsatz.

Für alle Messungen wird das SIMAA 6000 GFAAS direkt mit dem FIAS-400 gekoppelt. Die Pippetierspitze am Dosierarm des GFAAS wird dabei durch die Pippetierspitze des FIA-System ersetzt.

Tabelle 27 enthält die wesentlichen GF-AAS Messparameter für die Pd-Bestimmung.

**Tabelle 27** GF-AAS-Parameter für die Palladiumanalyse

Lampentyp, -stromstärke	Pd-HKL (Photron), 30 mA
Messwellenlänge	247,6 nm
Spaltbreite	0,7 nm (klein)
Signalauswertung	Peakfläche
Integrationsdauer	5 s
Basislinienausgleichskorrektur	2 s
Untergrundkorrektur	Zeeman

### 8.3 Totalreflexionsröntgensfluoreszenzanalyse

Die Totalreflexionsröntgensfluoreszenzanalyse wird zur Matrixcharakterisierung der Proben eingesetzt. Die Messungen werden mit einem TRFA-Gerät 8010 (Atomika, Oberschleißheim, Deutschland) durchgeführt, das mit einem Si(Li)-Detektor ausgestattet ist. Als Anregungsquelle dient eine Molybdän-Röhre, wobei die Röhrenspannung 50 kV, die Stromstärke 40 mA beträgt. Das Gerät steht in einer Laminarflowbox (Krause, Bad Hersfeld). Die Flowbox ist mit einem Filter ausgestattet, das in der Lage ist, 99,99% aller Partikel mit einer Größe von > 0,5 µm zurückzuhalten. Die Partikelfreiheit in der Flowbox wird damit gegenüber der Umgebung, um ca.1000 fache verbessert.

Die Messzeit für eine Probe im Spektrometer beträgt 300 s. Als Spülgas wird Helium (99.999 %  $\equiv$  5.0, Westfalen AG, Münster, Deutschland) verwendet, im Vergleich zu Argon wird das Helium nicht von TRFA detektiert und so wird eine Signalüberlappung mit anderen Elementen wie z.B. Chlor vermieden.

Die Quantifizierung der TRFA-Messungen erfolgt durch Zugabe eines internen Vanadiumstandards zu den aufgeschlossenen Probelösungen. Dafür werden 10  $\mu$ l Ammoniumvanadatlösung (1000 mg V l<sup>-1</sup>) zu 990  $\mu$ l Probelösung gegeben und durch intensives Schütteln vermischt. 1  $\mu$ l dieser Mischung wird auf einen 6-Zoll-Si-Wafer (Silchem, Freiberg, Deutschland) mit Hilfe einer Waferpositionsschablone aufgetragen und auf einer Heizplatte eingedampft. Alle Wafer werden vor der Nutzung durchgemessen und auf eventuelle Kontaminationen überprüft. Die gesamte Probenvorbereitung wird in einer Laminarflowbox Typ LFV-1SHU (Asys, Ulm, Deutschland) durchgeführt. Für den Transport der Wafer zur TRFA werden spezielle Waferboxen verwendet.

#### **8.4 Mikrowellenunterstützter Aufschluss**

Zur Auflösung der untersuchten Proben wird ein Mikrowellengerät Multiwave (Perkin Elmer GmbH, Überlingen, Deutschland & Anton Paar, Graz, Österreich) eingesetzt. In geschlossenen, mikrowellentransparenten Druckgefäßen wird das Probegut mit der Säuremischung auf typischerweise 200 bis 300 °C erhitzt, zersetzt und in Lösung gebracht. Der Rotor des Geräts ist insgesamt mit 6 Plätzen für Aufschlussgefäße ausgestattet. Der Betrieb des Geräts wird durch die Software: MULTIWAVE V 4.20. gesteuert. Die Aufschlüsse für spezielle Proben werden in den Kapiteln 8.9.2, 8.9.3, 8.9.4, 8.9.5

#### **8.5 Lasergranulometrie**

Die Korngrößenverteilungen der synthetisierten Partikel werden mittels Lasergranulometer CILAS 1064 (Quantachrome, Orlean, Frankreich) bestimmt. Der Messbereich des verwendeten Gerätes liegt zwischen 0,05 und 1000  $\mu$ m [255].

Zur Messung werden ca. 500 mg Partikel in einem Becherglas eingewogen, mit ca. 10 ml UPW versetzt und nach starkem Rühren rasch in die Probezelle des Granulometers eingebracht. Bei der Messung der Korngrößenverteilung wird das Partikelgemisch nach der Partikelgröße auf die zugehörigen Mengenanteile unterteilt. Wenn jeder Mengenanteil auf die Intervallbreite seiner Partikelgröße bezogen wird, ergibt sich die Verteilungsdichte, auch Frequenzverteilung genannt [256]. Wegen der feinen Körnung der Partikel wird die Mie-Korrektur bei der Messung der Korngrößenverteilung immer berücksichtigt.

## 8.6 Elektronenmikroskopie

Für die elektronenmikroskopische Charakterisierung der Pd-Nanopartikel wird ein Transmissionselektronenmikroskop JEM 2000 FX (JEOL, Tokio, Japan) eingesetzt, das mit einem SAD (JEOL, Tokio, Japan), HRTEM 2011 (JEOL, Tokio, Japan) und einem EDX (EDAX, Mahwah, USA) ausgestattet ist. Zu den Messprinzipien der Geräte sei auf die Kapitel 3.2.3 verwiesen. Alle Messungen werden mit einer Beschleunigungsspannung von 120 kV durchgeführt.

Zur Probevorbereitung wird 1 µl der wässrigen Partikelsuspension auf ein mit Kohlenstoff beschichtetes Kupfer-Netz gegeben und nach dem Verdampfen des Lösungsmittels ins Hochvakuum des Mikroskops eingeschleust.

## 8.7 Sonstige Geräte

Ein Elementanalysator Vario EL (Elementar, Hanau, Deutschland) wird für die Bestimmung von C-, H-, und N- Elementen in den Probenmatrices eingesetzt. Ca. 3 mg Probensubstanz werden in einer Zinnkapsel eingewogen und im Autosampler des Gerätes plziert. Die Kapsel fällt dann in einen Ofen, in dem ein Überschuss von Sauerstoff vorgelegt ist. Bei ca. 990 °C wird die Probesubstanz verbrannt. Anschließend werden die definierten Verbrennungsgase (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>) in spezifischen Trennsäulen (sog. Adsorptions-/ Desorptions-Säulen, *engl. Purge-and-Trap*)

separiert und nacheinander einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor zugeführt und quantifiziert. Dabei wird der prozentuale Anteil eines Elements am Gesamtgewicht der Substanz bestimmt.

Der Si-Gehalt in den Proben wird als Molybdänblaukomplex nach DIN 38405-D21 photometrisch bei einer Wellenlänge von 695 nm bestimmt [257]. Die Messungen werden mit einem Spectrophotometer UV-160 (Shimadzu, Kyoto, Japan) durchgeführt.

Ein ELISA (*engl. Enzyme-linked immunosorbent assay*)-Spektrophotometer (Endogen, Woburn, USA) wird für den quantitativen Nachweis der von Blutzellen (PBMC) produzierten Zytokine eingesetzt.

Außerdem werden folgende Geräte zur Probenvorbereitung verwendet:

Klimakammer Typ VB 1014/S, Vötsch, Balingen, Deutschland

Laminarflowbox Typ DMK, Krause, Bad Hersfeld, Deutschland

Laminarflowbox Typ LFV-1SHU, Asys, Ulm, Deutschland

Laminarflowbox, Captair Filtersystem GmbH, Düsseldorf, Deutschland

Ultraschallbad, Branson, Ultrasonic Cleaner, Danbury, USA

Waage, Sartorius BP 310 S, Sartorius, Göttingen, Deutschland

Zentrifuge 5810R, Eppendorf, Hamburg, Deutschland

Kugelmühle, Typ S 1000, Retsch, Haan, Deutschland

Trockenschrank, Memmert, Schwabach, Deutschland

Quarzglas-Ausdämpfapparatur, Kürner Analysetechnik, Rosenheim, Deutschland

Reinstwasseranlage, Werner EASYpure® RoDI, GmbH, Leverkusen, Deutschland

## 8.8 Verwendete Chemikalien

$\alpha$ -Aluminiumoxid, p.a., Fluka, Buchs  
Ammoniumvanadat, Standardlösung, 1000 mg V l<sup>-1</sup>, Merck, Darmstadt  
Borsäure, p. a., Merk, Darmstadt  
Calciumnitrat, p. a., Merk, Darmstadt  
Complete<sup>TM</sup>-EDTA-free, Roche Applied Science, Mannheim  
Flusssäure 49 %, SLSI Selectipur, Merck, Darmstadt  
Ethanol für die Gaschromatographie, Merk, Darmstadt  
Hanks' Salzlösung (HBSS), Biochrom, Berlin, Deutschland  
Kaliumdihydrogenphosphat, p. a., Merk, Darmstadt  
Kupfersulfat-Pentahydrat, p. a., Merk, Darmstadt  
Magnesiumsulfat-Heptahydrat, p. a., Merk, Darmstadt  
Manganchlorid-Tetrahydrat, p. a., Merk, Darmstadt  
Methanol für die Gaschromatographie, Merk, Darmstadt  
N,N-Diethyl-N'-benzoylthioharnstoff, (im Arbeitskreis vorhanden)  
Natriumborhydrid, p. a., Merck, Darmstadt  
Natriumchlorid, p. a., Merck, Darmstadt  
Natriummolybdat-Tetrahydrat, p. a., Merck, Darmstadt  
Palladium(II)chlorid, p. a., Merck, Darmstadt  
Palladiumnitrat, Standardlösung, 1000 mg l<sup>-1</sup>, Merck, Darmstadt  
Polygosil 60-4063 RP<sub>18</sub>, 40-60  $\mu$ m, Macherey-Nagel, Düren, Deutschland  
Salpetersäure 65%, p. a., Merck, Darmstadt  
Salzsäure rauchend 37%, p.a., Merck, Darmstadt  
Siliziumdioxid, 60G, p. a., Merck, Darmstadt  
Wasserstoffperoxid 30%, Merk, Darmstadt  
Zellkulturmedium RPMI 1640, Biochrom, Berlin, Deutschland  
Zinksulfat-Heptahydrat, p. a., Merck, Darmstadt

## 8.9 Probennahme und Probenvorbereitung

### 8.9.1 Reinigung der Gefäße

Die verwendeten Glasgefäße werden vor Gebrauch in einer Quarzglas-Ausdämpfapparatur mindestens 4 Stunden mit Salpetersäuredampf gereinigt, dreimal mit ultrareinem Wasser gespült und in einer Laminarstrombox aufbewahrt.

Die Mikrowellengefäße werden im Mikrowellengerät mit konzentrierter Salpetersäure mit einem von Hersteller angegebenen Reinigungsprogramm behandelt.

### 8.9.2 Tunnelstaub

Die Tunnelstaubproben wurden im Juni 2007 von Dächern der Notruftelefonzellen mit einer Bürste und einem Kunststoffspatel im Verlauf eines Tages gesammelt und in handelsüblichen PE-Gefäßen aufbewahrt. Vor der Analyse werden die Staubproben 24 h im Trockenschrank bei 120 °C getrocknet und 2 min in einer Kugelmühle bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 800 U min<sup>-1</sup> homogenisiert. Da sich nur kleine Partikel auf den Telefonzellendächern absetzen, ist vorhergehendes Sieben nicht erforderlich.

Für den mikrowellenunterstützten Totalaufschluss der Proben werden 300 bis 500 mg Straßenstaub, 5 ml HNO<sub>3</sub> (65 Gew.-%) und 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (31 Gew.-%) in die Tetrafluorometoxil-(TFM) Aufschlussgefäße gegeben. Feste Partikel werden mit den Aufschlussreagenzien von der Gefäßwand gespült. Nach etwa 10 min, wenn die ersten heftigen Reaktionen abgeklungen sind, werden die Gefäße verschlossen und die erste von insgesamt drei Mikrowellenaufschlussstufen gestartet (vgl. Tabelle 28).

Nach dem Abkühlen auf die RT werden die Gefäße geöffnet und 3 ml HF (49 Gew.-%) zur Aufschlusslösung zugegeben. Die Gefäße werden wieder verschlossen und der zweite Aufschlussstufe wird gestartet. Nach dem Abkühlen auf die RT werden die Gefäße erneut geöffnet und entweder 54 ml einer gesättigten H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>-

Lösung ( $47 \text{ g l}^{-1}$ ) oder 2 g feste  $\text{H}_3\text{BO}_3$  und 30 ml ultrareines Wasser zugegeben und die dritte und letzte Aufschlussstufe gestartet (vgl. Tabelle 28).

**Tabelle 28** *Leistungsprogramme und Reagenzien für den mikrowellenunterstützten Hochdruckaufschluss der Tunnelstaubproben (<sup>(+)</sup>: gepulster Kühlmodus)*

Schritte	Energie [W]	Zeit [min]	Energie [W]	Kühlung
<i>Erste Stufe: 5 ml HNO<sub>3</sub>, 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></i>				
1	100	10	500	0 <sup>(+)</sup>
2	500	8	800	0 <sup>(+)</sup>
3	800	10	800	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3
<i>Zweite Stufe: 3 ml HF</i>				
1	500	5	1000	0 <sup>(+)</sup>
2	1000	25	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3
<i>Dritte Stufe: 2 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> und 30 ml H<sub>2</sub>O</i>				
1	500	5	1000	0 <sup>(+)</sup>
2	1000	10	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3

Die Aufschlusslösungen werden in 100 bzw. 50 ml Glasskolben überführt und mit ultrareinem Wasser aufgefüllt.

### 8.9.3 Boden

Die Bodenproben wurden im November 2007 in den Versickerungsmulden entlang der Autobahn (A 92) und der Kreisstraße Freising (FS 6) gesammelt. Die Probennahme wird gemäß DIN EN ISO Norm 22475-1 mit einem 60 cm langen Stechzylinder (Bohrstock) mit einem Durchmesser von 1 cm durchgeführt. Der Zylinder wird ohne Drehungen in den Boden gedrückt und dann wird die Probe durch eine 180°-Drehung abgeschert und langsam nach oben gezogen. Die erhaltenen Bodenproben werden dann bei 105°C in einem Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend werden sie zerkleinert und gesiebt. Die Maschenweite des

Siebs betrug 2 mm. Vor dem Aufschluss werden die Bodenproben 10 min in einer Kugelmühle bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von  $800 \text{ U min}^{-1}$  homogenisiert.

Der Totalaufschluss wird im Mikrowellengerät in drei Stufen erreicht. In der ersten Aufschlussstufe werden 300 mg Boden mit einer Mischung aus 5 ml  $\text{HNO}_3$  (65 Gew.-%) und 2 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$  (31 Gew.-%) in Quarzaufschlussgefäßen versetzt. Nach etwa 15 min, wenn die ersten heftigen Reaktionen abgeklungen sind, werden 3 ml  $\text{HCl}$  (37 Gew.-%) zugegeben. Die Mischung bleibt nun eine Stunde stehen, damit die Vorreaktionen ablaufen können. Anschließend werden die Gefäße verschlossen und die erste von drei Aufschlussstufen gestartet (vgl. Tabelle 29).

Für die zweite Stufe werden die Proben aus den Quarzgefäßen in Tetrafluorometoxil-(TFM) Aufschlussgefäße überführt. Die Quarzgefäße werden mit 1 ml  $\text{HNO}_3$  (65 Gew.-%) nachgespült und die Spüllösung ebenfalls in die TFM-Gefäße überführt. Danach werden 3 ml  $\text{HF}$  (49 Gew.-%) zugegeben. Die Gefäße werden wieder verschlossen und der zweite Aufschlussstufe wird gestartet. Nach dem Abkühlen auf die RT werden die Gefäße erneut geöffnet und 2 g feste  $\text{H}_3\text{BO}_3$  und 30 ml ultrareines Wasser wird zur Aufschlusslösung gegeben. Die Gefäße werden verschlossen und die letzte Stufe des Aufschlusses wird gestartet (vg. Tabelle 29).

**Tabelle 29** Leistungsprogramme und Reagenzien für den mikrowellenunterstützten Hochdruckaufschluss der Bodenproben (<sup>(+)</sup>: gepulster Kühlmodus)

Schritte	Energie [W]	Zeit [min]	Energie [W]	Kühlung
<i>Erste Stufe: 5 ml HNO<sub>3</sub>, 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 3 ml HCl</i>				
1	500	5	1000	0 <sup>(+)</sup>
2	1000	25	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3
<i>Zweite Stufe: 3 ml HF</i>				
1	500	5	1000	0 <sup>(+)</sup>
2	1000	25	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3
<i>Dritte Stufe: 2 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> und 30 ml H<sub>2</sub>O</i>				
1	500	5	1000	0 <sup>(+)</sup>
2	1000	10	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3

Die Aufschlusslösungen werden in 100 ml Messkolben überführt und mit ultra-reinem Wasser aufgefüllt.

#### 8.9.4 Klärschlammasche

Die Klärschlammascheproben wurden vom Klärwerk Stuttgart-Mühlhausen zur Verfügung gestellt. Die Proben sind als Rückstellmuster im Hauptklärwerk Stuttgart-Mühlhausen archiviert.

Die Klärschlammasche wird durch Verbrennung von Klärschlamm gewonnen. Der Klärschlamm wird zunächst mit Hilfe eines Schwefelkrafteindickers und einer Zentrifuge unter Einsatz kationischer, organischer Reagenzien entwässert, auf einen Wassergehalt von ca. 50% getrocknet und in einem Wirbelschichtofen bei 950°C verbrannt. Dabei entstehende Klärschlammasche wird durch einen Elektrofilter abgetrennt. Eine Stichprobe der Asche entspricht einer Mischprobe über einen Zeitraum von 10 Tagen. Es handelte sich um bereits homogenisierte Proben, die vor

dem mikrowellenunterstützten Aufschluss lediglich 24 h im Trockenschrank bei 120 °C getrocknet wurden.

Der Aufschluss der Klärschlammmasche wird in TFM-Aufschlussgefäßen durchgeführt. Zu 100 mg Probe werden nacheinander 4 ml HNO<sub>3</sub> (65 Gew.-%), 1 ml HCl (31 Gew.-%) und 0,5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (96 Gew.-%) gegeben. Feste Partikel werden mit den Aufschlussreagenzien von der Gefäßwand gespült. Die Gefäße werden dann verschlossen und die erste von insgesamt drei Aufschlussstufen gestartet (vgl. Tabelle 30).

Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden die Gefäße geöffnet und als Aufschlusslösung 1,5 ml HF (49 Gew.-%) hinzugefügt. Die Gefäße werden wieder verschlossen und die zweite Aufschlussstufe wird gestartet. Nach dem Abkühlen auf RT werden 27,2 ml einer gesättigten H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>-Lösung (47 g l<sup>-1</sup>) zugegeben und die dritte Aufschlussstufe gestartet (vgl. Tabelle 30).

**Tabelle 30** *Leistungsprogramme und Reagenzien für den mikrowellenunterstützten Hochdruckaufschluss der Klärschlammascheprobe<sup>(+)</sup>: gepulster Kühlmodus*

Schritte	Energie [W]	Zeit [min]	Energie [W]	Kühlung
<i>Erste Stufe: 4 ml HNO<sub>3</sub>, 1 ml HCl, 0,5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i>				
1	400	10	900	0 <sup>(+)</sup>
2	900	25	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3
<i>Zweite Stufe: 1,5 ml HF</i>				
1	400	5	900	0 <sup>(+)</sup>
2	900	25	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3
<i>Dritte Stufe: 27,2 ml</i>				
1	400	5	1000	0 <sup>(+)</sup>
2	1000	10	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3

Die Aufschlusslösungen werden in 50 ml Glasskolben überführt und mit ultra-reinem Wasser aufgefüllt.

## 8.9.5 Gerstepflanzen

Als Versuchspflanze wird die Gerstensorte „Barke“ (*Hordeum vulgare L.*) eingesetzt. Das Saatgut wurde von der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Freising, erhalten. Als Anzuchtmedium der Gerstepflanzen wird ein modifiziertes *Hoagland's E* Kulturmedium eingesetzt. Die chemische Zusammensetzung des Mediums ist in Tabelle 31 angegeben.

**Tabelle 31** Zusammensetzung des modifizierten *Hoagland's E*-Kulturmediums [216].

Chemikalie	Konzentration
H <sub>2</sub> O (UPW)	auf 1000ml auffüllen
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,115 g l <sup>-1</sup>
KNO <sub>3</sub>	0,606 g l <sup>-1</sup>
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,657 g l <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,241 g l <sup>-1</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86 mg l <sup>-1</sup>
MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	1,81 mg l <sup>-1</sup>
ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,22 mg l <sup>-1</sup>
CuSO <sub>4</sub> x 5H <sub>2</sub> O	0,08 mg l <sup>-1</sup>
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> x 4H <sub>2</sub> O	0,02 mg l <sup>-1</sup>
Fe-HBED	1,7 mg l <sup>-1</sup>

Fe-HBED-Eisen-N,N'-Bis-(2-Hydroxybenzoyl)-Ethylendiamin-N,N'-diacetat

Als Kulturgefäße werden aus transparentem Kunststoff gefertigte Pflanzenanzuchtgefäße Phytatray II™ (Sigma, Taufkirchen, Deutschland) eingesetzt. Die Kulturmedien werden mit Pd-Nanopartikeln, Pd-Mikropartikel bzw. Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln versetzt, so dass die Pd-Endkonzentrationen der Medien für jeden Partikelart 10 µmol l<sup>-1</sup>, 25 µmol l<sup>-1</sup>, 50 µmol l<sup>-1</sup>, 75 µmol l<sup>-1</sup> und 100 µmol l<sup>-1</sup> entsprechen.

Die Pflanzen werden in einem Schwimmschichthydrokulturverfahren gezüchtet. Dieses Hydrokultursystem basiert auf einem schwimmfähigen Kultursubstrat aus Polymer-Granulat HD-PE (*engl. High density-polyethylen*), welches einen im Kulturmedium schwimmenden Substratkörper bildet. Für die Anzucht werden zunächst die

keimfreien Gerstensamen auf der 2 cm dicke Schwimmschicht in einem Kulturgefäß aufgebracht. 150 ml des Kulturmediums wird am Rand des Kulturgefäßes zugegossen. Dabei füllt sich zunächst der Porenraum in der Granulatschicht mit Flüssigkeit. Bei weiterer Zugabe von Medium schwimmt die Schicht mit den Samen auf. Die Gerstepflanzen wachsen nun in dieser schwimmenden HD-PE-Granulat-Substratschicht heran. Neben einer Kontrollprobe (ohne Palladiumpartikelzusatz) werden jeweils drei Pflanzenproben pro Pd-Partikelart bzw. Pd-Konzentration 7 Tage unter kontrollierten Bedingungen angezogen. Dazu werden die Kulturgefäße in einer Klimakammer Typ VB 1014/S (Vötsch, Balingen, Deutschland) in einer randomisierten Anordnung aufgestellt. Folgende Anzuchtbedingungen wurden eingesetzt:

Lichtphase : 16 h

Dunkelphase : 8 h

Temperatur : 24°C (Licht) / 20°C (Dunkel)

PAR (Photosynthetisch aktive Strahlung): 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Nach der Ernte der Gerste werden Blätter, Samenkorn und Wurzeln voneinander getrennt, zerkleinert, bis zur Gewichtkonstanz bei 105°C in einem Trockenschrank getrocknet und anschließend in einer Kugelmühle bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 800 U  $\text{min}^{-1}$  homogenisiert.

Die Auflösung der Gerstepflanzen wird mittels eines einstufigen mikrowellenunterstützten Totalaufschlusses erreicht. Zu 100 mg trockenem Probenmaterial werden nacheinander 3 ml Salpetersäure, 2 ml Wasserstoffperoxid und 3 ml Salzsäure gegeben und unter Hochdruck (75 bar) aufgeschlossen (Tabelle 32).

**Tabelle 32** *Leistungsprogramm und Reagenzien für den mikrowellenunterstützten Hochdruckaufschluss der Gersteproben <sup>(+)</sup>: gepulster Kühlmodus*

Schritte	Energie [W]	Zeit [min]	Energie [W]	Kühlung
<i>Reagenzien: 3 ml HNO<sub>3</sub>, 3 ml HCl, 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></i>				
1	500	5	1000	0 <sup>(+)</sup>
2	1000	25	1000	0 <sup>(+)</sup>
Abkühlen	0	15	0	3

Die Aufschlusslösungen werden in 25 ml Messkolben überführt und mit ultra-reinem Wasser aufgefüllt.

#### 8.9.6 Kiwipollen

Kiwipollen wurden von den Bäumen des männlichen Genotyps der Sorte *Actinidia deliciosa* im Versuchsbetrieb der Universität Bologna (Italien) gewonnen und bei  $-20\text{ °C}$  in PE-Probengefäßen bis zum Gebrauch aufbewahrt [258]. Vor den Expositionsversuchen werden die Pollen für 30 min bei  $30\text{ °C}$  und hoher relativer Luftfeuchte von 100 % rehydratisiert.

Als Kulturmedium zur Keimung der Kiwipollen wird eine Nährlösung aus Saccharose (0,29 M) und Borsäure (0,4 mM) eingesetzt [240]. Die Keimungsvorgänge werden in Petri-Schalen durchgeführt. Entsprechend der Zielsetzung der Versuche werden die Kulturmedien mit Palladiumpartikeln bis zur jeweiligen Pd-Endkonzentration von  $0,25\text{ mg l}^{-1}$ ,  $0,5\text{ mg l}^{-1}$ ,  $1\text{ mg l}^{-1}$ ,  $2,5\text{ mg l}^{-1}$ ,  $5\text{ mg l}^{-1}$ ,  $7\text{ mg l}^{-1}$  versetzt. Die gleichen Expositionsversuche wurden mit löslichem Palladium durchgeführt. Neben einer Kontrollprobe werden jeweils drei Pollenproben für jede Pd-Konzentration eingesetzt. Die Expositionszeiten werden auf 30 bzw. 90 min beschränkt. Nach der Exposition werden die Pollen mit der frischvorbereiteten Nährlösung gewaschen, an der Luft getrocknet und in PE-Probengefäßen bei  $-20\text{ °C}$  aufbewahrt.

Zur Aufschluss der Kiwipollen wird das in Tabelle 32 beschriebene Verfahren eingesetzt.

#### 8.9.7 Blutzellen

Zur Gewinnung mononukleärer Blutzellen (PBMC) wurden Blutproben (jeweils 8 bis 10 ml) von freiwilligen nicht atopischen Spendern (Frauen im Alter von 20-46 Jahren) durch einen Arzt in einem medizinischen Labor der Universität „G. D’

Annunzio“ (Chieti-Pescara, Italien) entnommen und in sterile PE-Gefäße mit jeweils 4 ml endotoxinfreier EDTA-Lösung eingebracht. Die Blutproben wurden dann innerhalb einer Stunde verarbeitet.

Die Isolierung der PBMC (Lymphozyten, Monozyten und Thrombozyten) aus der Blutproben wird mittels Dichtegradientenzentrifugation (Eppendorf, Hamburg Deutschland) durchgeführt [259]. Dabei werden PBMC aufgrund ihrer Dichte im Ficoll-Gradienten von Erythrozyten, Granulozyten und toten Zellen getrennt, danach mit Hank's Salzlösung HBSS (*engl. Hanks buffered salt solution*) gewaschen und in einem Zellkulturmedium RPMI 1640 (*engl. Roswell Park Memorial Institute*) mit bzw. ohne Palladiumzugabe 1 Stunde inkubiert.

Zur Untersuchung der Zytokinproduktion wurde jede PBMC-Probe wie folgt präpariert:

- Kontrollproben (ohne zusätzliche Reagenzien)
- mit  $10 \mu\text{g ml}^{-1}$  Lipopolysaccharid (LPS)
- mit  $10^{-5}$  bzw.  $10^{-6}$  M Pd-Nanopartikeln oder  $\text{K}_2[\text{PdCl}_6]$ -Lösung
- mit  $10 \mu\text{g/ml}$  LPS und  $10^{-5}$  bzw.  $10^{-6}$  M Pd-Nanopartikeln oder  $\text{K}_2[\text{PdCl}_6]$ -Lösung

Das hier verwendete Lipopolysaccharid (LPS) oder Endotoxin ist ein potenter Mediator entzündlicher Reaktionen [260]. LPS wird aus der Membran gramnegativer Bakterien gewonnen und zur Stimulierung der Zytokinproduktion von PBMC eingesetzt. Nach der Inkubation werden die Proben bei  $-70^\circ\text{C}$  aufbewahrt.

## 8.10 Durchführung der Partikelsynthesen

### 8.10.1 Herstellung von 0,03 M $\text{Na}_2[\text{PdCl}_4]$ -Lösung

Zur Beschichtung von  $\text{Al}_2\text{O}_3$ - bzw.  $\text{SiO}_2$ -Partikeln mit Palladium wird eine 0,03 M  $\text{Na}_2[\text{PdCl}_4]$ -Lösung hergestellt. Dafür werden 0,053 g Palladiumchlorid ( $\text{PdCl}_2$ ) bei Raumtemperatur in 10 ml 0,035 M NaCl-Lösung (0,041 g NaCl in 20 ml UPW) gelöst und dann ca. 3 Stunden im Ultraschallbad behandelt.

### 8.10.2 Herstellung von Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikeln

5 g Aluminiumoxid ( $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) werden in 100 ml UPW suspendiert. Unter starkem Rühren bei 0 bis 5 °C werden 0,78 ml Na<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]-Lösung (0,03 M) zur Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Suspension pipettiert. Nach 1 Stunde Rühren werden 1,27 ml einer 0,03 M Natriumborhydrid-Lösung (0,022 g NaBH<sub>4</sub> in 20 ml UPW) zügig zugetropft. Die Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikel werden abzentrifugiert und durch Abdekantieren von der überstehenden Lösung abgetrennt. Die erhaltenen Partikel werden erneut mit Ultrapurwasser versetzt, intensiv gerührt und abzentrifugiert. Dieser Reinigungsvorgang wird zwei Mal wiederholt. Gereinigte Partikel werden anschließend 12 Stunden bei 150 °C im Trockenschrank getrocknet.

### 8.10.3 Herstellung von Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikeln

5 g Siliziumoxid (SiO<sub>2</sub>) werden in 100 ml UPW suspendiert und 24 Stunden gerührt. Danach werden 0,78 ml Na<sub>2</sub>[PdCl<sub>4</sub>]-Lösung (0,03 M) unter starkem Rühren bei 0 bis 5 °C zur SiO<sub>2</sub>-Suspension pipettiert. Nach 6 Stunden Rühren werden 1,27 ml 0,03 M Natriumborhydrid-Lösung (0,022 g NaBH<sub>4</sub> in 20 ml UPW) zügig zugegeben. Die Pd/SiO<sub>2</sub>-Partikel werden abzentrifugiert und durch Abdekantieren von der überstehenden Lösung abgetrennt.

Zur Partikelreinigung werden die erhaltenen Partikel erneut mit Ultrapurwasser versetzt, intensiv gerührt und anschließend abzentrifugiert. Dieser Reinigungsvorgang wird zwei Mal wiederholt. Die erhaltenen Partikel werden schließlich im Trockenschrank 12 Stunden bei 150 °C getrocknet.

#### 8.10.4 Herstellung von reinen Pd-Nanopartikeln

Ein entsprechendes Volumen (siehe Spalte 1 Tabelle 33) einer Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Standardlösung (1000 mg Pd l<sup>-1</sup>) wird in 100 ml UPW unter Rühren verdünnt. Nach 20 min Rühren wird bei 0 bis 5 °C eine stöchiometrische Menge (siehe Spalte 3 Tabelle 33) einer 0,03 M- Natriumborhydrid-Lösung (0,022 g NaBH<sub>4</sub> in 20 ml UPW) zügig zugegeben. Dabei verändert sich die Farbe der Probenlösungen in Abhängigkeit von Pd-Konzentration von farblos nach grau bzw. schwarz.

**Tabelle 33** *Herstellung von reinen Palladium-Partikeln*

Konzentration hergestellter Pd-Suspension (100 ml)	Volumen von Pd-Standardlösung	Volumen von NaBH <sub>4</sub> -Lösung (0,03 M)
10 µM	0,10 ml	0,05 ml
25 µM	0,50 ml	0,25 ml
50 µM	1,00 ml	0,50 ml
75 µM	1,5 ml	0,75 ml
100 µM	2,00 ml	1,00 ml

Zur Reinigung der synthetisierten Nanopartikel werden diese soweit agglomeriert, dass man letztlich sedimentierbare Agglomerate erhält. Dafür werden die kalten Pd-Suspensionen unter starkem Rühren sehr schnell auf 25-30 °C erwärmt. Dabei bilden sich Agglomerate in einem Größenbereich von 1 bis 5 µm, die sich leicht durch zentrifugieren abtrennen lassen. Die Partikel werden dann zwei Mal mit UPW gereinigt und anschließend in UPW aufbewahrt. Die Erzeugung von Pd-Nanopartikeln (1-10 nm) wird durch eine Behandlung der gereinigten Agglomeraten im Ultraschallbad (60-90 min) erreicht. Die erhaltenen kolloidale Lösungen werden im Kühlschrank aufbewahrt.

### 8.10.5 Schmelzaufschluss von Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikeln

100 mg Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikel werden mit 300 mg Borsäure gemischt und in einem Platintiegel gerade über den Schmelzpunkt der Borsäure erhitzt. Nach 10 min wird die Temperatur erhöht, bis eine Verfestigung der Mischung auftritt. Diese Temperatur wird für weitere 10 min gehalten. Danach wird die Mischung auf RT abgekühlt, mit 3 ml UPW versetzt und 15 min gekocht. Die Lösung wird dann in ein Becherglas gebracht und mit 10 ml Salpetersäure (65 Gew.-%) versetzt. Diese Mischung wird zum Sieden erhitzt. Nach 15 min Kochen wird die Lösung auf RT abgekühlt, in einen Messkolben überführt und mit UPW aufgefüllt.

### 8.10.6 Mikrowellenunterstützter Aufschluss von Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikeln

300 mg Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Partikel werden mit 7 ml Salpetersäure (65 Gew.-%) bei 75 bar 50 min im Mikrowellengerät behandelt. Partikuläres Palladium wird dabei mit Salpetersäure oxidiert und gelöst. α-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> bleibt dabei nicht aufgeschlossen. Zur Pd-Bestimmung werden 5 ml der Überstandlösung in eine 25 ml Messkolbe überführt und mit ultrareinem Wasser aufgefüllt. Das Aufschlussprogramm ist in Tabelle 34 angegeben.

**Tabelle 34** *Leistungsprogramme und Reagenzien für den mikrowellenunterstützte Hochdruckaufschluss der Partikelproben (+): gepulster Kühlmodus*

Schritte	Energie [W]	Zeit [min]	Energie [W]	Kühlung
Reagenzien: 7 ml HNO <sub>3</sub>				
1	100	10	500	0 (+)
2	500	8	800	0 (+)
3	800	10	800	0 (+)
Abkühlen	0	15	0	3

## 8.11 Statistische Grundlagen

Die aus den analytischen Verfahren erhaltenen Daten sind grundsätzlich fehlerbehaftet. Dabei unterscheidet man konstant- bzw. proportional-systematische und statistische Fehler. Systematische Fehler, die durch Matrix- oder Verfahrenseinflüsse entstehen, wirken sich auf die Richtigkeit der Ergebnisse aus und können bzw. müssen vermieden werden. Die statistischen Fehler wirken sich dagegen auf die Präzision aus und können nur minimiert werden. Aufgrund dessen sind zur Bewertung der Präzision eines Analyseergebnisses Mehrfachmessungen erforderlich, deren statistische Auswertung Rückschlüsse auf die wahre Konzentration des Analyten zulässt.

### 8.11.1 Mittelwert und Standardabweichung

Wird eine Analytkonzentration n-fach bestimmt, so werden die zugehörigen Einzelmesswerte als  $y_i$  bezeichnet. Der Mittelwert  $\bar{y}$  errechnet sich nach Formel 1.

**Formel 1** Mittelwert

$$\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i$$

$\bar{y}$	Mittelwert der Einzelmessungen
$n$	Anzahl der Messwerte
$y_i$	i-ter Einzelmesswert

Die Standardabweichung  $s$  ist ein Maß für die Streuung der Messwerte um ihren Mittelwert. Je enger die Werte um  $\bar{y}$  verteilt sind, desto kleiner ist die Standardabweichung. Sie wird nach Formel 2 berechnet.

**Formel 2** Standardabweichung

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n-1}}$$

s	Standardabweichung
n	Anzahl der Messwerte
$y_i$	i-ter Einzelmesswert
$\bar{y}$	Mittelwert der Einzelmessungen

## 8.11.2 Ermittlung der Verfahrenskenndaten aus der Kalibrierfunktion

Bei der Atomabsorptionsspektrometrie handelt es sich um eine kalibrierbedürftige Methode. Aus einem Kalibrierexperiment resultieren primär N Wertepaare  $(x_i, y_i)$ , wobei einem Konzentrationswert  $x_i$  der Informationswert  $y_i$  zugeordnet wird. N entspricht hierbei der Anzahl der Gesamtmessungen aller Kalibrierstandards. Durch die erhaltenen Punkte kann eine ideale Gerade  $\hat{y} = a + bx$  gelegt werden.

Zur Bestimmung des Achsenabschnitts a und der Steigung b wird die Methode der kleinsten Fehlerquadrate nach *Gauß* herangezogen (lineare Regression). Dabei sind a und b wie folgt definiert:

**Formel 3** Steigung der Kalibriergerade

$$b = \frac{N \sum_{i=1}^N x_i y_i - \sum_{i=1}^N x_i \sum_{i=1}^N y_i}{N \sum_{i=1}^N x_i^2 - \left( \sum_{i=1}^N x_i \right)^2}$$

b	Steigung
N	Gesamtzahl aller Messungen im Kalibrierexperiment
$x_i$	i-ter Konzentrationswert des Kalibrierexperiments
$y_i$	i-ter Einzelmesswert des Kalibrierexperiments

**Formel 4** Achsenabschnitt der Kalibriergerade

$$a = \frac{\sum_{i=1}^N y_i - b \sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

a	Achsenabschnitt
b	Steigung
$y_i$	i-ter Einzelmesswert des Kalibrierexperiments
$x_i$	i-ter Konzentrationswert des Kalibrierexperiments
N	Gesamtzahl aller Messungen im Kalibrierexperiment

Die Reststandardabweichung  $s_y$  ist ein Maß für die Streuung der Messwerte um die Regressionsgerade. Sie wird nach Formel 5 berechnet.

**Formel 5** Reststandardabweichung

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{N - 2}}$$

$s_y$	Reststandardabweichung
$\hat{y}_i$	aus der Regressionsfunktion berechneter i-ter Messwert
$y_i$	i-ter Einzelmesswert des Kalibrierexperiments
N	Gesamtzahl aller Messungen im Kalibrierexperiment

Ausgehend von  $s_y$  kann die Verfahrensstandardabweichung  $s_{x0}$  berechnet werden. Sie beschreibt in eindeutiger und allgemeingültiger Weise die Güte eines Analysenverfahrens.

**Formel 6**      Verfahrensstandardabweichung

$$s_{x0} = \frac{s_y}{b}$$

$s_{x0}$	Verfahrensstandardabweichung
$s_y$	Reststandardabweichung
$b$	Steigung

Die Unsicherheit der Kalibrierfunktion kann aus Berechnung der Unsicherheit aller Punkte  $x_i$  der Kalibrierfunktion bestimmt werden. Sie wird als Vertrauensbereich der Kalibrierfunktion bezeichnet. Dazu wird Formel 7 verwendet.

**Formel 7**      Vertrauensbereich der Kalibrierfunktion

$$VB_{\text{Kalib.}} = \sqrt{2F_{P, f_1, f_2}} \cdot s_y \sqrt{\frac{1}{N_c} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{b^2 \sum_{i=1}^{N_c} (x_i - \bar{x})^2}}$$

$VB_{\text{Kalib.}}$	Vertrauensbereich der Kalibrierfunktion
$F$	Tabellenwert des F-Tests ( $f_1 = 2, f_2 = N - 2$ )
$P$	statistische Sicherheit
$s_y$	Reststandardabweichung
$N_c$	Gesamtzahl aller Messungen im Kalibrierexperiment
$x_i$	$i$ -ter Konzentrationswert des Kalibrierexperiment
$\bar{x}$	Mittelwerte der $x_i$
$b$	Steigung

Die geforderte statistische Sicherheit und die Anzahl der Wiederholungsmessungen wird durch das Quantil der t-Verteilung berücksichtigt, welche in den F-Test eingeht. Alle in dieser Arbeit berechneten Werte beziehen sich auf eine statistische Sicherheit von 95%.

Der Vertrauensbereich eines zukünftigen Messwerts, das Prognoseintervall  $PI(x)$  ist ein Maß für die Messunsicherheit einer unbekannt Probe. Es wird mit Formel 8 berechnet.

**Formel 8** Prognoseintervall

$$PI(x) = \pm t_{P,N-2} \cdot \frac{s_y}{b} \sqrt{\frac{1}{N_p} + \frac{1}{N} + \frac{(\bar{y}_{N_p} - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}}$$

PI	Prognoseintervall
t	Quantil der t-Verteilung
P	statistische Unsicherheit
b	Steigung
$s_y$	Reststandardabweichung
$N_p$	Anzahl der Mehrfachmessungen einer zukünftigen Probe
N	Gesamtzahl aller Messungen im Kalibrierexperiment
$\bar{y}_{N_p}$	Mittelwert aus den Einzelmessungen der Probe
$\bar{y}$	Mittelwerte der $y_i$
$x_i$	i-ter Konzentrationswert des Kalibrierexperiments
$\bar{x}$	Mittelwerte der $x_i$

Neben der Verfahrensstandardabweichung bestimmt die Nachweisgrenze die Leistungsfähigkeit eines Verfahrens. Diese ist nach *Funk et al.* [261] definiert als die kleinste Konzentration, welche mit der jeweils geforderten statistischen Sicherheit nachgewiesen werden kann. Zu ihrer Ermittlung wird die Kalibrierfunktion herangezogen, da so im Gegensatz zum  $3\sigma$ -Verfahren reale Streuungen der Messwerte über den betrachteten Konzentrationsbereich berücksichtigt werden. Die Nachweisgrenze wird nach Formel 9 unter Verwendung des Hilfwerts  $y_c$  (s. Formel 10) ermittelt.

**Formel 9** Nachweisgrenze: 
$$NWG = 2 \cdot t_{P,N-2} \cdot \frac{s_y}{b} \sqrt{\frac{1}{N_P} + \frac{1}{N} + \frac{(y_c - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}}$$

NWG	Nachweisgrenze
t	Quantil der t-Verteilung
P	statistische Unsicherheit
b	Steigung
s <sub>y</sub>	Reststandardabweichung
N <sub>P</sub>	Anzahl der Mehrfachmessungen einer zukünftigen Probe
N	Gesamtzahl aller Messungen im Kalibrierexperiment
$\bar{y}$	Mittelwerte der y <sub>i</sub>
x <sub>i</sub>	i-ter Konzentrationswert des Kalibrierexperiments
$\bar{x}$	Mittelwerte der x <sub>i</sub>
y <sub>c</sub>	Hilfswert (s. Formel 10)

**Formel 10** Hilfswert zur Berechnung der Nachweisgrenze

$$y_c = a + t_{P,N-2} s_y \sqrt{\frac{1}{N_P} + \frac{1}{N} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}}$$

a	Achsenabschnitt
t	Quantil der t-Verteilung
s <sub>y</sub>	Reststandardabweichung
N <sub>P</sub>	Anzahl der Mehrfachmessungen einer zukünftigen Probe
N	Gesamtzahl aller Messungen im Kalibrierexperiment
x <sub>i</sub>	i-ter Konzentrationswert des Kalibrierexperiments
$\bar{x}$	Mittelwerte der x <sub>i</sub>

### 8.11.3 Standardadditionsmethode

Wenn mit Hilfe der Wiederfindungsfunktion systematische Fehler erkannt wurden, müssen diese beseitigt bzw. kompensiert werden. Bei konstant-systematischen Fehlern kann dies relativ unproblematisch durch Matrixanpassung der Kalibrierstandards geschehen. Bei proportional-systematischen Fehlern muß das Verfahren der Standardaddition angewendet werden [262]. Dabei wird zu der Probenlösung mit unbekanntem Analytgehalt in verschiedenen Konzentrationen zudosiert. Daraus resultiert eine Kalibrierfunktion, deren Schnittpunkt mit der Konzentrationsachse dem gesuchten Analytgehalt in der Probe entspricht. Bei der Wahl der addierten Konzentrationen muss darauf geachtet werden, daß der lineare Arbeitsbereich des Verfahrens nicht überschritten wird. Die Anzahl der Additionsstandards sollte vier nicht unterschreiten, wobei die Additionskonzentration maximal 100 % der Ursprungskonzentration betragen sollte. Da die Streuung der Additionsfunktion an dieser Stelle naturgemäß sehr groß ist, ist ein durch Standardaddition ermittelter Wert immer unsicherer als normal gemessene Konzentrationen.

### 8.11.4 Korrelationsanalyse

Für die Korrelationsanalyse wurden die Statistik Software wie „Win STAT“ für EXCEL und GraphPad Software, La Jolla, CA, USA, version 5.0 a verwendet.

Mit einer Korrelationsanalyse wird üblicherweise untersucht, ob zwischen zwei Variablen ein Zusammenhang besteht. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson ( $r$ ) ist ein Maß für den linearen Zusammenhang zwischen zwei kontinuierlich skalierten Variablen. Der Korrelationskoeffizient kann Werte zwischen  $-1$  und  $+1$  annehmen. Das Vorzeichen des Koeffizienten gibt die Richtung des Zusammenhangs und sein Absolutwert die Stärke an. Eine positive Korrelation bedeutet, dass so bald sich Werte der einen Variable erhöhen, sich auch Werte der anderen Variable erhöhen (grafisch: von links unten nach rechts oben ansteigende Gerade: positives

Vorzeichen). Eine negative Korrelation bedeutet, dass die Werte der einer Variable abnehmen, während die Werte der anderen Variable ansteigen (grafisch: von links oben nach rechts unten fallende Gerade: negatives Vorzeichen). Ein niedriger Korrelationskoeffizient drückt aus, dass kein linearer Zusammenhang zwischen den beiden untersuchten Variablen vorliegt. Werte um +/-1 drücken einen perfekten linearen Zusammenhang aus.

Die statistische Signifikanz (p-Wert) sagt aus, wie groß die Wahrscheinlichkeit ist, dass der gemessene Unterschied dem Zufall entspringt.  $p < 0,05$  bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit kleiner als 5% ist, dass der gemessene Unterschied zwischen den zwei Vergleichsgruppen nur auf Zufall beruht. In der Forschung ist es deshalb bedeutsam, signifikante Unterschiede genauer zu analysieren.

$p > 0,05$  nicht signifikant  
 $p \leq 0,05$  signifikant

$p \leq 0,01$  sehr signifikant  
 $p \leq 0,001$  höchst signifikant

Die detaillierten theoretischen Grundlagen der Korrelationsanalyse bzw. statistischer Signifikanz sind im Lehrbuch von *Bühl* [263] ausführlich dargestellt.

## 9 Literatur

- 1 J. Abthoff, W. Zahn, G. Loose, A. Hirschmann, *Motortechnische Zeitschrift*, 55(5) (1994) 292.
- 2 J. Gieshoff, *Der Autoabgaskatalysator: Zusammensetzung, Herstellung und Charakterisierung*. In: *Autoabgaskatalysatoren*, Hrsg.: C. Hagelüken, Expert Verlag GmbH, 2001.
- 3 *Handbuch Kraftfahrzeugtechnik*, Hrsg.: H.-H. Braess, U. Seiffert, Vieweg & Teubner Verlag, 2007.
- 4 J. Begerow, L. Dunemann, *Bedeutung und Analytik von Edelmetallen*. In: *Umwelthygiene, Jahresbericht*, Hrsg.: Gesellschaft zur Förderung der Lufthygiene und Silikoseforschung e.V., Band 27, Dusseldorf, 1995.
- 5 G. Dongarra, D. Varrica, G. Sabatino, *Appl. Geochem.*, 18 (2003) 109.
- 6 I. K. Kalavrouziotis, P. H. Koukoulakis, *Water Air Soil Pollut*, 196 (2009) 393.
- 7 K. Kanitsar, G. Köllensperger, S. Hann, A. Limbeck, H. Puxbaum and G. Stinger, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18 (2003) 239.
- 8 S. Rauch, G. M. Morrison, M. Moldovan, *Sci. Tot. Environ.*, 286 (2002) 243.
- 9 B. Gomez, M. A. Palacios, M. Gomez, J. L. Sanchez, G. Rauch, S. McLeod, R. Ma, S. Caroli, A. Alimonti, F. Petrucci, B. Bocca, P. Schramel, M. Zischka, C. Petterson, U. Wass, *Sci. Tot. Environ.*, 299 (2002) 1.
- 10 S. Rauch, G. M. Morrison, *Elements*, 4 (2008) 259.
- 11 M. Farago, P. Parsons, *Chemical Speciation and Bioavailability*, 6(1) (1994) 1.

- 12 M. Daunderer, *Handbuch der Umweltgifte – Palladium*, III-3, (1993) 13.
- 13 T. Gebel, T. (1999): *Toxikologisches Gefährdungspotential der Platingruppen-elemente Platin, Palladium und Rhodium*. In: Emissionen von Platinmetallen, Hrsg.: F. Zereini, F. Alt, Springer Berlin, (1999) 269.
- 14 K. Boch, M. Schuster, *Determination of palladium in road dust and sewage sludge ashes*. In: *Palladium Emissions in the Environment. Analytical Methods, Environmental assesment and Health Effects*, Ed.: F. Zereini, F. Alt, Springer Verlag, Berlin Heidenberg New York, 2006.
- 15 A. Henne, G. A. Wiesmüller, *Palladium*. In: *Handbuch der Arbeitsmedezin: Arbeitsphysiologie, Arbeitspatalogie, Prevention*, Hrsg.: L. Konietzko, H. Dupuis, Ecomed Verlag, Landsberg/Lech, 1989.
- 16 L. Overman, *Chem. & Eng. News*, 81 (2003) 116.
- 17 V. M. Goldschmidt, *Geochemistry*, Oxford University Press, Oxford 1954.
- 18 G. G. Robson, *Platinum 1986*, Jonson Matthey plc., London, 1987.
- 19 *Produktinformation "Platinum 2006"*, Johnson Matthey, plc. London, 2006.
- 20 H. Renner, *Platinmetalle* In: *Metalle in der Umwelt*, Verlag Chemie, Weinheim, Band 2, Kapitel 17, 1984.
- 21 L. B. Hunt, *Palladium Met. Rev.*, 5 (1971) 102.
- 22 *Edelmetalltaschenbuch*, Degussa, 1995.
- 23 C. Hochfeld, *Bilanzierung der Umweltauswirkungen bei der Gewinnung von Platingruppen-Metalle für Pkw-Abgaskatalysatoren*, TU Berlin, 1997.

- 
- 24 H. H. Binder, *Lexikon der chemischen Elemente*, S. Hirzel Verlag, 1999.
- 25 *Kapitalmärkte*, Landesbank Baden-Württemberg Commodity, Yearbook, 2008.
- 26 *Produktinformation "Platinum 2008"*, Johnson Matthey, plc. London, 2008.
- 27 V. Jung, *Automotive exhaust catalysts: PGM usage and recovery*, EMC , Non-ferrous Metallurgy, Elsevier, London, 1991.
- 28 M. Beck, *Umicore focuses on precious metals*, *Recycling International*, Oct. (2002) 32.
- 29 R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2004.
- 30 M. Schuster, M. Schwarzer, *Anal. Chim. Act.*, 328 (1996) 1.
- 31 J.-D. Eckhard, J. Schäfer, *Pflanzenverfügbarkeit, Boden – Pflanze Transfer*. In: Emissionen von Platinmetallen, Hrsg.: F. Zereini, F. Alt, Springer Verlag, Berlin, 1999.
- 32 J.-M. Beyer, F. Zereini, S. Artelt, H. Urban, *Platinkonzentrationen in Staubproben aus Frankfurt am Main und Umgebung*. In: Emissionen von Platinmetallen, Hrsg.: F. Zereini, F. Alt, Springer Verlag, Berlin, 1999.
- 33 B. Skerstupp, H. Urban, *Zur Löslichkeit und Speziestransformation von Platin aus Autoabgaskatalysatoren durch Huminsäure*. In: Emissionen von Platinmetallen, Hrsg.: F. Zereini, F. Alt, Springer Berlin, (1999) 249.
- 34 K. E. Jarvis, S. J. Parry, J. M. Piper, *Environ. Sci. Technol.*, 35 (2001) 1031.

- 
- 35 T. Claus, F. Zereini, H. Urban, *Verteilung und Konzentrationen von Platin, Palladium und Rhodium in Umweltmaterialien an der Bundesautobahn A5*. In: Emissionen von Platinmetallen, Hrsg.: F. Zereini, F. Alt, Springer Verlag, Berlin, 1999.
- 36 N. N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemie der Elemente*, Verlag Chemie, Weinheim, 1988.
- 37 A. F. Holleman, E. Wiberg, *Lehrbuch der anorganischen Chemie*, Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York, 1985.
- 38 *Ullmanns Enzyklopedie der technischen Chemie*, Verlag Chemie, Weinheim, 1998.
- 39 E. C. Frias, K. H. Pitsch, J. Ly, C. Poitrenaud, *Talanta*, 42 (1995) 1975.
- 40 R. M. Izatt, D. Eatough, J. J. Christensen, *J. Chem. Soc. (A)*, (1967), 1301.
- 41 G. E. M. Hall, J. F. Pelchat, *J. Anal. At. Spectrom.*, 8 (1993) 1059.
- 42 *Produktinformation "Platinum 2007"*, Johnson Matthey, plc. London, 2007.
- 43 E. Kuberstein, *Chem. in u. Zeit*, 18 (1984) 37.
- 44 H. Engelhard, W. Schäfer, *Chem. Ingen. Techn.*, 44 (2004) 645.
- 45 C. Hagelüken, *Sonderdruck aus Autoabgaskatalysatoren*, Expert Verlag, 2005.
- 46 *Kfz-Technik*, <http://www.kfztech.de>, 2006.
- 47 *Umweltbundesamt Dessau*, 2006, [www.umweltbundesamt.de](http://www.umweltbundesamt.de).

- 
- 48 *Basiswissen Rohstoffe*, Frankfurt a. Main, www.warrants.com, 2007.
- 49 *Zahnärztliche Mitteilung*, Gemeinsames Rundschreiben zur Verwendung von Dentallegierungen der Spitzenverbände der Krankenkassen und der KZBV, 1009, 1986.
- 50 B. Kutting, R. Brehler, *Hautarzt*, 45 (1994) 176.
- 51 T. Zinke, *Palladium-Basis-Legierungen*. Bundesgesundheitsblatt, 11/92:579, 1992.
- 52 J. C. Blasko, P. D. Grimm, J. E. Sylvester, K. R. Badiozamani, D. Hoak, W. Cavanagh, *Int. J. Radiat. Oncol.*, 46 (2000) 839.
- 53 D. T. Thompson, *Chemistry in Britain*, 4 (1984) 333.
- 54 H. Rüdell, S. Reher, *Verbleib von Platingruppenelementen in der Umwelt*, Fraunhofer IME, UBA, Schmallenberg, 2004.
- 55 H.-D. Jakubke, H. Jeschkeit, *Fachlexikon abc Chemie in zwei Bänden*, 2 und 3 Auflage, Harri Verlag, Frankfurt am Main, 1987.
- 56 H. Römpp, *Lexikon der Chemie*, Hrsg.: J. Falbe, M. Regitz, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1989.
- 57 F. Dirksen, F. Zereini, B. Skerstupp, H. Urban, *PGE-Konzentrationen in Böden entlang der Autobahnen A 45 und A 3 im Vergleich zu Böden im Einflussbereich der edelmetallverarbeitenden Industrie in Hanau*. In: Emissionen von Platinmetallen, Hrsg.: F. Zereini, F. Alt, Springer Verlag, Berlin, 1999.
- 58 M. A. Palacios, M.M. Gómez, M. Moldovan, *Sci. Total. Environ.*, 257 (2000) 1.

- 
- 59 M. Moldovan, M.A. Palacios, M.M. Gomez, G. Morrison, S. Rauch, C. McLeod, R. Ma, S. Caroli, A. Alimenti, F. Petrucci, B. Bocca, P. Schramel, M. Zischka, C. Petterson, U. wass, M. Luna, J.C. Saenz, J. Santamaria, *Sci. Total. Environ.*, 296 (2002) 1999.
- 60 F. Petrucci, B. Bocca, A. Alimenti, S. Caroli, *J. Anal. At. Spectrom.*, 15 (2000) 525.
- 61 S. Rauch, M. Lu, G.M. Morrison, *Environ. Sci. Technol.*, 35 (2001) 595.
- 62 F. Zereini, F. Alt, J. Messerschmidt, A. von Bohlen, K. Liebl, W. Püttmann, *Environ. Sci. Technol.*, 38 (2004) 1686.
- 63 M. B. Gomez, M. M. Gomez, P. A. Palacios, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18 (2003) 80.
- 64 J. Tilch, M. Schuster, M. Schwarzer, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367 (2000) 450.
- 65 V. F. Hodge, M. O. Stallard, *Environ. Sci. Technol.*, 20 (1986) 1058.
- 66 G. Köllensperger, S. Hann, G. Stinger, *J. Anal. At. Spectrom.*, 15 (2000) 1553.
- 67 F. Zereini, F. Alt, K. Rankenburg, J. M Beyer, S. Artelt, *UWSF-Z. Umweltchem. Ökotox.*, 9 (1997b) 193.
- 68 H. Puchelt, J.-D. Eckhardt, J. Schäfer, *Einträge von Platingruppenelementen aus Kfz-Katalysatoren in straßennahe Böden*. Hrsg.: Landesanstalt für Umweltschutz, Baden-Württemberg, 1995.

- 
- 69 K. Boch, M. Schuster, G. Risse, M. Schwarzer, *Anal. Chem. Acta.*, 459 (2002) 257.
- 70 J. Schäfer, J. D. Eckard, H.T. Puchelt, V. M. Goldschmidt Conf., *J. Conf. Abstr.*, 1 (1996) 536.
- 71 E. Helmers, M. Schwarzer, M. Schuster, *Environ. Sci. & Pollut. Res.*, 5(1) (1998) 44.
- 72 B. Sures, S. Zimmermann, F. Alt, *Society of Environ. Toxicol. and Chemistry*, (2002) 19.
- 73 E. J. Hutchinson, M. E. Farago, P.R. Changes, *Platinum Concentrations in soils and dust from UK cities*. In: Anthropogenic platinum-group element emissions. Their impact on man and environment. Ed.: F. Zereini, F. Alt, Springer Verlag, Berlin, 2000.
- 74 R. Garcia, M. Gomez, M. A. Palacios, J. Bettmer, C. Camara, *J. Anal. At. Spectrom.*, 16 (2001) 481.
- 75 J. D. Whiteley, F. Murray, *Sci. Tot. Environ.*, 317(1-3) (2003) 121.
- 76 DWA- Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e.V., *Planung, Bau und Betrieb von Anlagen zur Versickerung von Niederschlagwasser*, Arbeitsblatt A 138, Honnef, 2005.
- 77 F. Scheffer, P. Schachtschabel, *Lehrbuch der Bodenkunde*, Spektrum Akademischer Verlag, 2002.
- 78 F. A. Dijkstra, S. E. Hobbie, J. M. H. Knops, P. B. Reich, *Ecol. Lett.*, 7 (2004) 1192.

- 
- 79 Landesamt für Umweltschutz Baden-Württemberg, *Einträge von Platingruppenelementen (PGE) aus Kfz-Abgaskatalysatoren in straßennahe Böden.*, Sachstandsbericht anhand ausgewählter Standorte, Institut für Petrographie und Geochemie der Universität Karlsruhe, Karlsruhe, 1995.
- 80 E. Heinrich, G. Schmidt, K. L. Kratz, *J. Anal. Chem.*, 354 (1996) 883.
- 81 M. Cubelic, R. Pecoroni, J. Schäfer, J. D. Eckhard, Z. Berner, D. Stüben, *UWSF-Z. Umweltchem. Ökotox.*, 9 (1997) 249.
- 82 M. Müller, K. G. Heumann, *J. Anal. Chem.*, 368 (2000), 109.
- 83 O. Morton, H. Puchelt, E. Hernandez, E. T. Lounejeva, *J. Geochem. Explor.*, 72 (2001) 223.
- 84 M. T. Jackson, J. Sampson, H. M. Prichard, *Sci. Tot. Environ.*, 385 (2007) 117.
- 85 P. S. Hooda, A. Miller, A. C. Edwards, *J. Sci. Tot. Environ.*, 384 (2007) 384.
- 86 F. Zereini, *Ermittlung der aktuellen Konzentrationen und Verteilung von Platingruppenelementen (PGE), insbesondere von Palladium in Straßennahe Böden im Umfeld der Autobahn A5 an im Jahr 1994 beprobten Standorten*, 2005.
- 87 J. Schäfer, H. Puchelt, *J. Geochem. Exploration.*, 64 (1998) 307.
- 88 D. S. Lee, *Nature*, 305 (1983) 47.
- 89 C. B. Tuit, G.E. Ravizza, *Sci. Technol.*, 34 (2000) 927.
- 90 S. Rauch, M. Motelica-Heino, G. M. Morrison, *J. Anal. At. Spectrom.*, 15 (2000a) 329.

- 
- 91 M. Moldovan, S. Rauch, M. Gomez, M. A. Palacios, G. M. Morrison, *Water Res.*, 35 (2001) 4175.
- 92 C. Barbante, G. Cozzi, G. Capodoglio, K. Van de Velde, C. Ferrari, *Anal. Chem.*, 71 (1999) 4125.
- 93 C. Barbante, A. Veysseyre, C. Ferrari, K. Van de Velde, G. Capodoglio, P. Cescon, G. Scarponi C.F. Bautron, *Environ. Sci. Technol.*, 35 (2001) 835.
- 94 E. Helmers, N. Mergel, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 362 (1998) 522.
- 95 K. Haider, A. Schäfer, *Umwandlung und Abbau von Pflanzenschutzmitteln in Böden - Auswirkungen auf die Umwelt*. Enke im Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York: 164 S, 2000.
- 96 W. A. Fuchs, A. W. Rose, *Econ. Geol.*, 69 (1974) 332.
- 97 S. A. Wood, *Goldschmidt Conference Abstracts*, Moscow/daho 2005.
- 98 J. Schäfer, D. Hannker, J-D. Eckhardt, D. Stüben, *Sci. Total. Environ.*, 251 (1998) 59.
- 99 M. Schuster, M. Schwarzer, G. Risse, *Determination of palladium in environmental samples*. In: Anthropogenic platinum-group element emissions. Their impact on man and environment. Hrsg.: F. Zereini, F. Alt., Springer-Verlag, Berlin. (2000) 173.
- 100 R. Djingova, P. Kovacheva, G. Wagner, B. Markert, *Sci. Total. Environ.*, 308 (2003) 235.
- 101 B. Sures, S. Zimmermann, J. Messeschmid, A. von Bolen, *Ecotoxicology*, 11 (2002) 385.

- 
- 102 B. Sures, S. Zimmermann, J. Messeschmid, A. von Bolen, F. Alt, *Environ. Pollut.*, 113 (2001) 341.
- 103 M. Schuster, M. Schwarzer, G. Risse, *Bestimmung von Palladium in biologischen Proben*, In: Emissionen von Platinmetallen: Analytik, Umwelt – und Gesundheitsrelevanz, Hrsg.: F. Zereini, F. Alt, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 1999.
- 104 K. Murl, *Epidemiologische Untersuchungen zu gesundheitlichen Wirkungen verkehrsbedingter Immissionen auf Kinder (1995-1997)*. Hrsg.: Ministerium für Umwelt, Raumordnung und Landwirtschaft des Landes Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf, 1999.
- 105 D. Keller, I. Mangelsdorf, C. Melber, *Umweltmedizin in Forschung und Praxis*, 3(4) (1998) 214.
- 106 W. Moore, D. Hysell, L. Hall, K. Cambel, J. Stara, *Environmental Health Perspectives*, 10 (1975) 63.
- 107 W. Moore, D. Hysell, L. Hall, K. Cambel, J. Stara, *Environmental Research*, 8 (1974) 234.
- 108 D. J. Olbrook, M. E. Washington, H. Leake, P. E. Brubaker, *Environmental Health Perspectives*, 10 (1975) 95.
- 109 M. J. Wiester, *Environmental Health Perspectives*, 12 (1975) 41.
- 110 R. F. Fisher, D. J. Holbrook, H. B. Leake, P. E. Brubaker, *Environmental Health Perspectives*, 12 (1975) 57.
- 111 S. M. Colon, J. Vollmer, H. U. Weltzien, *Eur. J. Immunol.*, 25 (1995) 3308.

- 
- 112 D. Unro-Ashman, D. D. Munro, T. H. Hughes, *Transact. St. John's Hospital Derm. Soc.*, 55 (1969) 196.
- 113 A. Grammertz, M. Augthun, *Wissenschaft und Umwelt*, 4 (1992) 285.
- 114 I. Mangelsdorf, M. Aufderheide, A. Boehnke, Ch. Melber, G. Rosner, U. Höpfner, J. Borken, A. Patyk, F. Pott, M. Roller, K. Schneider, J.-U. Voß, *Durchführung eines Risikovergleichs zwischen Dieselmotoremissionen und Ottomotoremissionen hinsichtlich ihrer kanzerogenen und nicht-kanzerogenen Wirkungen*. Hrsg.: Umweltbundesamt, 1999.
- 115 E. Abbey, N. Nishino, W. F. McDonnell, R. J. Bruchette, S. F. Lawrence Beeson, W. Yang, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 159(2) (1999) 373.
- 116 C. A. Pope, R. T. Burnett, M. J. Thun, E. E. Calle, D. Krewski, K. Ito, G. D. Thurston, *JAMA-Journal of the American Medical Association*, 287 (2002) 1132.
- 117 C. R. M. Rao, G. S. Reddi, *Trends Anal. Chem.*, 19 (2000) 565.
- 118 G. Erdtmann, H. Petri, *Treatise on Analytical Chemistry*, Hrsg.: P. J. Elvin, John Wiley & Sons Verlag, New York, 1986, Bd. 14.
- 119 M. Schwarzer, M. Schuster, R. von Hentig, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 368 (2000) 240.
- 120 J. Wang, K. Varughese, *Anal. Chim. Acta*, 199 (1987) 185.
- 121 J. Messerschmidt, A. von Bohlen, F. Alt, R. Klockenkämper, *Analyst* 125 (2000) 397.
- 122 R. R. Barefoot, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 702.

- 
- 123 M.-L. Lee, *Dissertation*, Universität Dortmund, 1993.
- 124 J. Begerow, M. Turfeld, L. Dunemann, *Anal. Chim. Acta*, 440 (1997a) 277.
- 125 S. Rauch, M. Motelica-Heino, G. M. Morrison, O. F. X. Donard, *J. Anal. At. Spectrom.* 15 (2000) 329.
- 126 K.-H. König, M. Schuster, *Platinum Group Metals*, in: *Handbook on metals in clinical and analytical chemistry*, Hrsg.: H. G. Seiler, A. Siegel, H. Siegel, Marcel, Dekker inc., 1994.
- 127 P. Kovacheva, R. Djingova, *Anal. Chim. Acta* 464 (2002) 7.
- 128 Q. Hu, X. Yang, Z. Huang, J. Chen, G. Yang, *J. Chromatogr. A* 1094 (2005) 77.
- 129 R. Bitsch, *LaborPraxis*, (1994) 76.
- 130 R. Chakroborty, A. K. Das, M. L. Cervera, M de la Guardia, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 99.
- 131 P. Schramel, S. Haase, G. Knapp, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 326 (1987) 142.
- 132 U. Bartels, *Chemie in Labor und Biotechnik*, 41(11) (1990) 640.
- 133 *Microwave Cookbook of Pathology*. Coulomb Press Leyden, 1988. The Netherlands, ISBN 90-71421-10-4. Editor: M. E. Boon, L. P. Kok.
- 134 *Microwave Enhanced Chemistry: Fundamentals*, Sample Preparation and Applications, Editors: H. M. Kingston, S. J. Haswell, Washington, DC: ACS Professional Reference Book, 1997

- 
- 135 S. A. Mathes, R. F. Farall, A. J. Mackie, *Techn. Prog. Rep. U.S. Bur. Mines, TPR*, 120, 9 (1983) 12.
- 136 K. J. Lamble, S. J. Hill, *Analyst*, 123 (1998) 103R.
- 137 C. Feldmann, *Anal. Chem.*, 55 (1983) 2451.
- 138 M. Gallorini, E. Orvini, A. Rolla, M. Burdisso, *Analyst*, 106 (1981) 328.
- 139 J. Ruzicka, E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, 78 (1975) 145-157.
- 140 S. Olsen, L. C. R. Pessenda, J. Ruzicka, E. H. Hansen, *Analyst*, 108 (1983) 905.
- 141 M. Schuster, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 342 (1992) 791.
- 142 I. B. Douglas, F. B. Dains, *J. Am. Chem. Soc.*, 56 (1934) 719.
- 143 G. Fitzl, L. Beyer, J. Sieler, R. Richter, J. Kaiser, E. Hoyer, *Z. Anorg. allg. Chem.*, 433 (1977) 237.
- 144 M. Schuster, *Habilitationsschrift*, Universität Frankfurt/M, 1990.
- 145 M. Schwarzer, *Dissertation*, TU München, 1998.
- 146 B. Welz, *Atomabsorptionsspektrometrie*, Verlag Chemie, Weinheim, 1983.
- 147 H. Massmann, *Spectrochim. Acta*, 23B (1968) 215.
- 148 H. Massmann, *Méthode Physique d'Analyse*, 4 (1968) 193.
- 149 A. Skoog, J. J. Leary, *Instrumentelle Analytik*, Springer Verlag, Berlin, 1996.

- 
- 150 *Instrumentelle Analytische Chemie*, Spektrum Verlag, Hrg.: K. Cammann, Heidelberg, 2001.
- 151 DIN 51003 *Entwurf, Totalreflektions-Röntgenfluoreszenz-Analyse (TXRF), Allgemeine Grundlagen*, Beuth Verlag GmbH, 2001.
- 152 A. Prange, H. Schwenke, *Adv. X-Ray Anal.*, 35 (1992) 899.
- 153 W. Michaelis, R. Pepelnik, A. Prange, *Adv. X-Ray Anal.*, 35 (1992) 953.
- 154 R. Klockenkämper, *Total-reflection X-Ray fluorescence analysis*, Chemical Analysis Vol. 140, John Wiley&Sons Verlag, New York, 1997.
- 155 B. Beckhoff, B. Kanngiesser, N. Langhoff, *Handbook of Practical X-Ray Fluorescence Analysis*, Springer Verlag GmbH, 2006.
- 156 L. Reimer, *Transmission electron microscopy, Physics of image formation and analysis*, Springer Verlag, Berlin, 1993.
- 157 D. B. Williams, *Practical analytical electron microscopy in materials Science*, Verlag Chemie International, Weinheim, 1984.
- 158 C. F. Bohren, D. R. Huffmann: *Absorption and scattering of light by small particles*. New York, Wiley-Interscience, 1983.
- 159 W. C. Hinds, *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*, John Wiley & Sons, 1999.
- 160 *Partikelmessstechnik*, Quantochrome GmbH, [www.quantochrome.de](http://www.quantochrome.de)
- 161 Landeshauptstadt München, *Referat für Stadt-planung und Bauordnung, Verkehrsplanung, Planungs-referat HAI/31-1*, 2007.

- 
- 162 M. Zischka, P. Schramel, H. Muntau, A. Rehnert, M. Gomez , B. Stojanik, G. Wannemaker, R. Dams, P. Quevauviller, E. A. Maier, *Trends in analytical chemistry*, 21 (12) (2002) 851.
- 163 K. Boch, *Doktorarbeit*, Technische Universität München, 2002.
- 164 S. Wu, X. Feng, A. Wittmeier, *J. Anal. At. Spectrom*, 12 (1007) 797.
- 165 R. Schelenz, E. Zeiller, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 345 (1993) 68.
- 166 P. Schramel, I. Wendler, G. Knapp, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 356 (1996) 512.
- 167 Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, *Naturnahe Entwässerung von Verkehrsflächen in Siedlungen*, München, 2005.
- 168 Bayerische Landesanstalt für Wasserwirtschaft, *Merkblatt DWA-M 153*, 2007.
- 169 Bayerisches Landesamt für Umwelt, *Merkblattsammlung Teil 4 Siedlungsentwässerung*, 2007.
- 170 DWA- Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e.V., *Planung, Bau und Betrieb von Anlagen zur Versickerung von Niederschlagwasser*, Arbeitsblatt A 138, Honnef, 2005.
- 171 W. Geiger, H. Dreiseitl, *Neue Wege für das Regenwasser*, Oldenbourg, München, 2001.
- 172 *Versickerungs-Handbuch*, Ratgeber für Planung, bau und Genehmigung von Anlagen zur Versickerung von Regenwasser. AQUA-Bautechnik, Köln, 2007.
- 173 K. Krolo, *Diplomarbeit*, TU München, 2007

- 
- 174 S. Weber, *Diplomarbeit*, Technische Universität München, 2002.
- 175 K. Leopold, M. Maier, S. Weber, M. Schuster, *Environ. Pollut.*, 156 (2008) 341.
- 176 *Dental Vademecum*, Bundeszahnärztekammer und kassenzahnärztliche Bundesvereinigung, Deutscher Ärzteverlag (1981-1993).
- 177 G. Schmalzt, *Biokompatibilität zahnärztlicher Werkstoffe*, Urban & Fischer Verlag, München, 2005.
- 178 W. Aberer, H. Holub, R. Strohal, R. Slavicek, *Contact dermatitis*, 28 (1993) 163.
- 179 C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawendi, *Science*, 270 (1995) 1335.
- 180 H. Weller, *Angew. Chem.*, 105 (1993) 43-56.
- 181 G. Schön, U. Simon, *Colloid. Polym. Sci.*, 273 (1995) 101.
- 182 M. Antonietti, *Spektrum der Wissenschaft*, 8 (1994) 92.
- 183 R. E. Hummel, *Electronic properties of materials*, Springer Verlag, Heidelberg, 1992.
- 184 C. Kittel, *Einführung in die Festkörperchemie*, Oldenburg Verlag, München, 1996.
- 185 J. H. Fendler, *Nanoparticles und nanostructured films*, Wiley-VCH, Weinheim, 1998.
- 186 G. Schmidt, *Cluster and colloids. From Theory to application*, Wiley-VCH, Weinheim, 1994.

- 
- 187 L. Martin, J. L. Arranz, O. Prieto, R. Trujillano, M. J. Holgado, M. A. Galan, *Appl. Catal. Environ.*, 44 (2003) 41.
- 188 M. Kotter, *Chem.-Ing.-Tech.*, 55(39) (1983) 179.
- 189 N. Komyjama, *Catal. Rev.-Sci Eng.*, 27(2) (1985) 341.
- 190 R. L. Moss, *Preparation und characterization of supported metall catalyst*, in: R. B. Anderson, Hrsg.: P. T. Dowson; *Experimental methods in catalytic research*, Vol. II, Academic Press, New York, 1976, 43.
- 191 R. D. Conzales, *Catal. Rev.-Sci. Eng.*, 36(1) (1994) 145.
- 192 C. Raab, M. Simkó, U. Fiedeler, M. Nentwich, A. Gzásó, *NanoTrust-Dossier* Nr. 006, November 2008.
- 193 M. Faraday, *Philos. Trans. R. Soc. London*, 147 (1857) 154.
- 194 J. Turkevich, P. C. Stevenson, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.*, (1951) 55.
- 195 J. Turkevich, *Gold Bull.*, 18 (1985) 86.
- 196 A. Henglein, *Top. Curr. Chem.*, 143 (1988) 113.
- 197 A. Henglein, M. Giersig, *J. Phys. Chem.*, 103 (1999) 9533.
- 198 U. Kreibitz, H. Bönningmann, J. Hormes, *Nanostructured metal cluster and colloids* in Handbook of surfaces and interfaces of materials. Nanostructured materials, micelles and colloids. Academic Press: San Diego, 2001, 1.
- 199 A. Henglein, *Chem. Rev.*, 89 (1989) 1861.

- 
- 200 N. R. Jana, L. Gerheart, C. J. Murphy, *Chem. Mater.*, 13 (2001) 2313.
- 201 H.-D. Dörpfler, *Grenzflächen- und Kolloidchemie*, VCH, Weinheim, 1994.
- 202 R. Hunter, *Foundations of Colloid Science*, Oxford University Press, 2000.
- 203 M. Che, C. O. Bennett, *Adv. Catal.*, 36 (1989) 55.
- 204 M. R. Mucalo, R. P. Cooney, J. B. Metson, *Colloids and Surface*, 60 (1991) 175.
- 205 J. Schmidt, *Reationstechnische Untersuchungen zur Herstellung von Nanopartikeln in Mikroemulsionen*, PhD -Thesis, Technische Universität Berlin, 2000.
- 206 H. L. Grube, *Handbuch der Präparativen Anorganischen Chemie*, Band 3, F. Enke Verlag, Stuttgart, 1981.
- 207 A. K. Archibald, M. E. McLeod, *Analyt. Chem.*, 24(1) (1952) 222.
- 208 C. G. Armestead, A. J. Tyler, F. H. Hambleton, *J. Phys. Chem.*, 73 (1969) 3947.
- 209 P. L. J. Gunter, W. J. H. Niemantsverdriet et.al., *Catal. Rev. Sci., Eng.*, 39 (1997) 77.
- 210 S. Hauka, E. L. Lakoma, T. Suntola, *Appl. Surf. Sci.*, 75 (1994) 220.
- 211 P. Serp, P. Kalck, R. Feurer, *Chem. Rev.*, 102 (2002) 3085.

- 
- 212 K. Scheurer, *Genetische Analyse der Vererbung von Toleranz der Gerste (Hordeum vulgare L.) gegenüber Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV)*, Shaker Verlag, 2001.
- 213 S. Wohlleben, *Z. Gesunde Pflanze*, 56 (2004) 17.
- 214 F. M. Battke, *Dissertation*, TU München, München, 2005.
- 215 E. Schiemann, *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 7 (1935) 249.
- 216 J. Acremann, <http://www.mobot.org/jwccross/duckweed/media.htm>.
- 217 F. M. Battke, P. Schramel, D. Ernst, *Plant Mol. Biol. Rep.*, 21 (2003) 405.
- 218 T.C. Hsiao, A. Läuchli, *Adv. Plant Natur.*, 2 (1986) 281.
- 219 K. Koch, K. Mengel, *The influence of potassium nutritional status on the absorption and incorporation of nitrate nitrogen*. In: *Plant Analysis and Fertilizer Problems*, Intern. Colloq., Hannover, 1974.
- 220 F. Bangert, *Annu.Rev. Phytopathol.*, 17 (1979) 97.
- 221 L. Rensing, G. Cornelius, *Biol. Rdsch.*, 18 (1980) 197.
- 222 R. G. Stanley, H. F. Linkens, *Pollen*, Urs Freund Verlag GmbH, Greifenberg, 1985.
- 223 P. H. Paven, R. F. Evert, S. E. Eichcorn, *Biologie der Pflanzen*, Gruyter Verlag, 2000.
- 224 V. E. Franklin-Tong, *Plant Cell*, 11 (1999) 727.

- 
- 225 L. K. Wilhelmi, D. Preuss, *Current Opinion in Plant Biology*, 2 (1999) 18.
- 226 P. Bedinger, *The Plant Cell*, 4 (1992) 879.
- 227 U. Kristen, *Toxicology in Vitro*, 11 (1997) 181.
- 228 M. Mišik, K. Mičieta, M. Solenská, H. Pisarčíková, S. Knasmüller, *Environm. Pollution*, 145 (2007) 459.
- 229 U. Kristen, *Toxicology in Vitro*, 11 (1997) 181.
- 230 M. Mišik, K. Mičieta, M. Solenská, H. Pisarčíková, S. Knasmüller, *Environm. Pollution*, 145 (2007) 459.
- 231 V. Black, C. Black, J. Roberts, C. Stewart, *New Phytol.*, 147 (2000) 421.
- 232 W. A. Feder, *Science, N. Y.*, 160 (1968) 1122.
- 233 R. A. Mumford, H. Lipke, D. A. Lauver, W. A. Feder. *Environ. Sci. & Technol.*, 6 (1972) 427.
- 234 W. Döpp, *Ber. dt. bot. Ges.*, 49 (1931) 173.
- 235 R. W. Search, R. G. Stanley, *Pl. Physiol., Lancaster*, 43, (1970) 52.
- 236 J. H. B. Wolters, M.J. M. Martern, *Botanical Review*, 53 (1987) 372.
- 237 A. Majd, A. Chehregani, M. Moin, M. Gholami, S. Kohno, T. Nabe, M. A. shariatzade, *Aerobiologia*, 20 (2004) 111.
- 238 H. Behrendt, W. M. Becker, *Cur. Opi. Immunol.*, 13 (2001) 709.

- 
- 239 J. Ring, H. Behrendt, *New Trends in Allergy*, Springer Verlag, 2002.
- 240 A. Speranza, P. Ferri, M. Battistelli, R. Crivelli, V. Scoccianti, *Chemosphere*, 66 (2007a) 1165.
- 241 C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, Spektrum Verlag, Heidelberg, Berlin, 2002.
- 242 C. T. Weaver, L. E. Harrington, P. R. Mangan, M. Gavrieli, K.M. Murphy, *Immunity*, 24 (2006) 677.
- 243 T. R. Mosmann, R. L. Coffman, *Annu. Rev. Immunol.*, 7 (1989) 145.
- 244 S. Romagnani, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 80 (1996) 225.
- 245 E. J. Speckmann, *Physiologie*, Urban & Fischer Verlag, 2008.
- 246 D. Nowak, *Arbeitsmedizin*, Elsevier Verlag, München, 2005.
- 247 M. Dauderer, *Gifte im Alltag*, Beck Verlag, 2005.
- 248 H. Behrendt, *Allergologie*, 12 (1989) 95.
- 249 B. Alberts, A. Johnson, M. Raff, J. Lewis, *Molekularbiologie der Zelle*, Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
- 250 C. Mims, H. M. Dockrell, R. V. Goering, I. Roitt, D. Wakelin, M. Zuckerman, *Medizinische Mikrobiologie – Infektiologie mit Virologie, Immunologie*, Elsevier Verlag, 2006.
- 251 H. Hahn, S. H. E. Kaufmann, T. F. Schulz, S. Suerbaum, *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, Springer Verlag, 2008.

- 
- 252 S: Greenfeder; S. P. Umland, F. M. Cuss, R. W. Chapman, *Respir. Res.*, 2 (2001) 71.
- 253 G. Wachlin, P. Augstein, D. Schroder, B. Kuttler, I. Kloting, P. Heinke, S. Schmidt, *Autoimmun.*, 20(4) (2003) 12.
- 254 E. Betelli, M. Oukka, V.K. Kuchroo, *Nature immunologie*, 8 (2007) 345.
- 255 Werbeprospekt, Quantachrome GmbH, Partikelmesstechnik, CILAS LASER Particle sizing and shape analysis, URL, <http://www.quantachrome.de>, <http://www.particlesize-analyzer.com>, 2006.
- 256 F. Löffler, J. Raasch, *Grundlagen der Mechanischen Verfahrenstechnik*, Vieweg, Wiesbaden, 1992.
- 257 F. Ehrenberger, *Quantitative Organische Elementaranalyse*, VCH, Weinheim, 1991.
- 258 A. Speranza, P. Ferri, M. Battistelli, R. Crivelli, V. Scoccianti, *Chemosphere*, 66 (2007a) 1165.
- 259 B. Alberts, A. Johnson, M. Raff, J. Lewis, *Molekularbiologie der Zelle*, Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
- 260 C. Mims, H. M. Dockrell, R. V. Goering, I. Roitt, D. Wakelin, M. Zuckerman, *Medizinische Mikrobiologie – Infektiologie mit Virologie, Immunologie*, Elsevier Verlag, 2006.
- 261 W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert, *Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie*, VCH, Weinheim, 1992.

- 262   Arbeitspapier Nr. STAT 3-89 des Fachausschusses „*Statistik in der Wasseranalytik*“ der Fachgruppe Wasserchemie bzw. des DIN NAW „Normvorlage für DIN 38402 Teil 44: Das Verfahren der Standardaddition“ 1989.
- 263   A. Bühl, *Einführung in die moderne Datenanalyse*, Pearson Studium Verlag, 2008.