

Anna Maria Świdwińska-Gajewska
Sławomir Czerczak

NANOMATERIAŁY – PROPOZYCJE DOPUSZCZALNYCH POZIOMÓW NARAŻENIA NA ŚWIECIE A NORMATYWY HIGIENICZNE W POLSCE

NANOMATERIALS – PROPOSALS OF OCCUPATIONAL EXPOSURE LIMITS IN THE WORLD AND HYGIENE STANDARDS IN POLAND

Instytut Medycyny Pracy im. J. Nofera w Łodzi / Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland
Zakład Bezpieczeństwa Chemicznego / Department of Chemical Safety

STRESZCZENIE

Obecnie nie ma prawnie obowiązujących normatywów dla substancji w postaci nanoobjektów w środowisku pracy. Istnieją różne podejścia do szacowania ryzyka i wyznaczania dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. Celem niniejszego opracowania jest zestawienie dopuszczalnych poziomów narażenia w środowisku pracy zaproponowanych przez międzynarodowe organizacje i światowych ekspertów oraz podstaw i sposobów ich szacowania. W artykule przedstawiono propozycje ekspertów Krajowego Instytutu Zdrowia Publicznego i Środowiska w Holandii (RIVM), Organizacji Rozwoju Nowych Energii i Technologii Przemysłowych w Japonii (NEDO), Narodowego Instytutu Bezpieczeństwa i Higieny Pracy w USA (National Institute for Occupational Safety and Health – NIOSH), opracowania dotyczące poziomów dla nanorurek węglowych (Baytubes® i Nanocyl) Pauluhna i Luizi oraz Pochodne Poziomy Niepowodujące Zmian (derived no-effect levels – DNEL) zgodne z rozporządzeniem REACH, zaproponowane przez zespół ekspertów w ramach 7. Programu Ramowego Komisji Europejskiej pod kierunkiem prof. Vicki Stone (Engineered Nanoparticles: Review Health and Environmental Safety – ENRHES), i alternatywne szacowanie poziomów DNEL dla cząstek słabo rozpuszczalnych według Pauluhna. Biorąc pod uwagę obecnie obowiązujący sposób wyznaczania najwyższych dopuszczalnych stężeń w środowisku pracy w Polsce, można rozważyć, czy jest on adekwatny dla nanoobjektów. Być może warto przychylić się do wprowadzenia wartości odniesienia, podobnych do zaproponowanych przez RIVM, lub zdefiniowania nowej frakcji dla cząstek o wymiarach z zakresu 1–100 nm, uwzględniającej powierzchnię i aktywność cząstek, oraz wypracowania odmiennego sposobu szacowania współczynników modyfikacyjnych. Ważny, jeśli nie kluczowy pozostaje problem właściwej miary (stężenie liczbowe, powierzchniowe, liczbowy rozkład wymiarowy cząstek), a także metod i aparatury, która byłaby dostępna dla wszystkich pracodawców, żeby mogli odpowiedzialnie kontrolować ryzyko związane z narażeniem na nanomateriały w środowisku pracy. Med. Pr. 2013;64(6):829–845

Słowa kluczowe: nanoobjekty, nanocząstki, narażenie zawodowe, najwyższe dopuszczalne stężenie

ABSTRACT

Currently, there are no legally binding workplace exposure limits for substances in the form of nanoobjects. There are different approaches to risk assessment and determination of occupational exposure limits. The purpose of this article is to compare exposure levels in the work environment proposed by international organizations and world experts, as well as the assumptions and methods used for their estimation. This paper presents the proposals of the National Institute for Public Health and the Environment in the Netherlands (RIVM), the New Energy and Industrial Technology Development Organization in Japan (NEDO) and the National Institute for Occupational Safety and Health in the USA (NIOSH). The authors also discuss the reports on the levels for carbon nanotubes (Baytubes® and Nanocyl) proposed by Pauluhn and Luizi, the derived no-effect levels (DNEL) complying with the REACH Regulation, proposed by experts under the 7th Framework Programme of the European Commission, coordinated by Professor Vicki Stone (ENRHES), and alternative estimation levels for poorly soluble particles by Pauluhn. The issue was also raised whether the method of determining maximum admissible concentrations in the work environment, currently used in Poland, is adequate for nanoobjects. Moreover, the introduction of nanoreference values, as proposed by RIVM, the definition of a new fraction for particles of 1–100 nm, taking into account the surface area and activity of the particles, and an adequate estimation of uncertainty factors seem to be worth considering. Other important, if not key issues are the appropriate measurement (numerical concentration, surface concentration, particle size distribution), as well as the methodology and equipment accessibility to all employers responsible for a reliable risk assessment of exposure to nanoparticles in the work environment. Med Pr 2013;64(6):829–845

Key words: nanoobjects, nanoparticles, occupational exposure, maximum allowable concentration

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Anna Maria Świdwińska-Gajewska, Zakład Bezpieczeństwa Chemicznego, Instytut Medycyny Pracy im. J. Nofera, ul. św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: answid@imp.lodz.pl
Nadesłano: 8 października 2013, zatwierdzono: 27 listopada 2013

WPROWADZENIE

Narażenie na cząstki ultradrobne – czyli cząstki o równoważnym wymiarze mniejszym niż 100 nm – powstałe na skutek różnych procesów (m.in. spawanie, spalanie), występuje od wielu lat. Dopiero jednak rozwój nanotechnologii spowodował większe zainteresowanie tym zagadnieniem higienistów przemysłowych ze względu na coraz szerzej stosowane nanomateriały – potencjalne źródło uwalniających się nanoobjektów.

Zgodnie z obowiązującą specyfikacją techniczną nanoobjekt to materiał, którego jeden, dwa lub trzy wymiary zewnętrzne znajdują się w zakresie nanoskali (1–100 nm). Nanoobjekty można więc podzielić, ze względu na liczbę wymiarów w nanoskali, na: nanopłytki (jeden), nanowłókna (dwa) bądź nanocząstki (trzy wymiary). Te ostatnie zwyczajowo obejmowały wszystkie nanoobjekty (1).

Ekspozycja na nanoobjekty może wystąpić podczas ich syntezy, ale również przy przetwarzaniu, a nawet użytkowaniu nanoproductów. Narażeni mogą być pracownicy sektora badań i rozwoju nanotechnologii oraz wielu gałęzi przemysłu. Nanoobjekty wchłaniane drogą oddechową mogą powodować poważne ryzyko dla zdrowia pracowników. Zatrudnieni w przemyśle wykorzystującym nanotechnologie są grupą osób szczególnie zagrożonych, ponieważ poziomy narażenia są zazwyczaj wyższe w miejscach pracy niż w innych środowiskach (2).

Według raportu Europejskiej Agencji Bezpieczeństwa i Zdrowia w Pracy (European Agency for Safety and Health at Work – EU-OSHA) nanomateriały i nanotechnologie są postrzegane jako jedno z głównych, nowych zagrożeń dla zdrowia pracowników w najbliższej przyszłości (3). Narażenie na nanoobjekty może zachodzić poprzez drogę oddechową, pokarmową oraz przez skórę. Największe zagrożenie stanowi ekspozycja inhalacyjna. Nanocząstki mają zdolność przenikania przez komórki nabłonkowe dróg oddechowych, istnieją także doniesienia o transporcie cząstek do mózgu przez buławkę węchową (4). Układ oddechowy spełnia rolę systemu filtrów, a każdy z jego elementów charakteryzuje inna budowa, co różnicuje stopień zalegania cząstek w każdym z odcinków układu.

Wiadomo, że nanocząstki (frakcja ultrafine) przemieszczają się dzięki ruchom Browna i podlegają zjawisku dyfuzji. Wchłonięte drogą inhalacyjną cząstki, w zależności od wielkości, mogą odkładać się w przewodzie oddechowym: w odcinku gardłowym, nosowym, tchawiczo-oskrzelowym i w płucach. Oddycha-

nie przez nos, w porównaniu z oddychaniem przez usta, zwiększa wychwytywanie cząstek w górnym odcinku układu oddechowego, chroniąc przed ich odkładaniem się w oskrzelach czy płucach. W miarę zmniejszania się wielkości cząstek dochodzi jednak do ich odkładania się również w dolnych odcinkach układu oddechowego. Co ciekawe, cząstki o średnicy poniżej 5 nm są wychwytywane efektywniej w górnej części układu oddechowego, dzięki czemu w mniejszym stopniu docierają do płuc.

Z całej puli wdychanych nanocząstek w płucach odkłada się 30–70% nich. W rezultacie do płuc docierają głównie cząstki o wielkości 10–50 nm. Efektywność oczyszczania płuc zależy od masy, rozmiaru, trwałości i wielkości powierzchni wchłoniętych cząstek, co powoduje trudności w usuwaniu nanocząstek z pęcherzyków płucnych (5). Narażenie na nanocząstki wywołuje wiele skutków, do których przyczynia się prawdopodobnie stres oksydacyjny. Reaktywne formy tlenu nie tyle pojawiają się w konsekwencji stanu zapalnego, ile odgrywają istotną rolę w jego powstawaniu w płucach. W zależności od ilości reaktywnych form tlenu, a więc wielkości powstałego stresu oksydacyjnego, skutkiem narażenia na nanocząstki może być jedynie odpowiedź antyoksydacyjna bądź objawy stanu zapalnego, a nawet efekty cytotoksyczne, uszkodzenia DNA i zmiany nowotworowe (6,7).

Zaobserwowano, że wiele substancji w postaci nanoobjektów wyraźnie różni się pod względem toksyczności od formy o większej średnicy cząstek. Mała średnica nanoobjektów sprawia, że charakteryzują się one dużą powierzchnią przy małej objętości. Większa jest także zdolność substancji do absorbowania innych cząstek na powierzchni. Zaobserwowano, że zmiany w płucach zwierząt są zależne od dawki, jeśli wielkość narażenia wyrażona jest w postaci powierzchni całkowitej cząstek. Toksyczność nanoobjektów związana jest więc z ich niewielkim rozmiarem, a przede wszystkim z wielkością powierzchni i jej aktywnością (8).

Standardowe pomiary zanieczyszczeń oparte są na stężeniu masowym. W przypadku nanoobjektów lepszą miarą narażenia wydaje się jednak stężenie powierzchniowe i liczbowe cząstek, mimo że większość zaproponowanych poziomów dopuszczalnych – ze względu na metody pomiarowe obowiązujące w środowisku pracy i stosowane w dostępnych badaniach eksperymentalnych – wyrażona jest w jednostkach masowych.

Obecnie nie ma prawnie obowiązujących normatywów dla nanoobjektów w środowisku pracy. Choć eksperci wielu krajów podjęli próby wyznaczenia do-

puszczalnych poziomów dla nanocząstek i nanorurek lub nanowłókien, wciąż nie obowiązują one prawnie. Istotnym problemem jest brak odpowiedniej metodyki pozwalającej na ocenę narażenia zawodowego. Nie ma jednolitych kryteriów dotyczących procedur i urządzeń monitorowania stanowisk pracy, a nawet mierzonych parametrów. Podstawą obecnie obowiązujących wartości jest stężenie masowe. W przypadku normatywów odnoszących się do nanoobjektów należałoby raczej określić liczbowy rozkład wymiarowy cząstek (stosunek liczby cząstek danego przedziału ich wielkości do całkowitej liczby cząstek fazy rozproszonej) lub stężenie powierzchniowe nanoaerozolu. Metody badania nanoobjektów opisane są w pracach przeglądowych (1,9).

Grupy międzynarodowe prowadzą obecnie prace nad harmonizacją strategii oceny narażenia i ryzyka związanego z występowaniem nanoobjektów w środowisku pracy (10). Efektem współpracy instytutów niemieckich jest opracowanie wspólnego wielopoziomowego podejścia do oceny narażenia na nanoobjekty (11). Ocenę ryzyka można również przeprowadzić w oparciu o modele bezpomiarowe (12). Prawdopodobnie już w niedalekiej przyszłości zarówno Polska, jak i inne kraje Unii Europejskiej staną przed trudnym zadaniem ustanowienia normatywów higienicznych w środowisku pracy dla substancji występujących w formie nanocząstek, nanowłókien czy innych nanoobjektów.

Celem niniejszego opracowania jest zestawienie dopuszczalnych poziomów narażenia na nanoobjekty w środowisku pracy, zaproponowanych przez międzynarodowe organizacje i światowych ekspertów, oraz przedstawienie podstaw i sposobów ich szacowania. Wnikliwa analiza opisanych w niniejszym artykule prac może być pomocna nie tylko dla ekspertów odpowiedzialnych za ustalanie normatywów higienicznych w Polsce, ale również dla służb zajmujących się bezpieczeństwem pracy. Niniejszy artykuł może być również cennym źródłem informacji dla pracodawców i pracowników, którym może uświadomić konieczność właściwej oceny ryzyka pracy z nanomateriałami.

Istnieją różne podejścia do szacowania ryzyka i wyznaczania dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. W artykule przedstawiono propozycje ekspertów Krajowego Instytutu Zdrowia Publicznego i Środowiska w Holandii (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu – RIVM), Organizacji Rozwoju Nowych Energii i Technologii Przemysłowych (New Energy and Industrial Technology Development Organiza-

tion – NEDO), Narodowego Instytutu Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (National Institute for Occupational Safety and Health – NIOSH), opracowania Pauluhna i Luiziego dotyczące poziomów dla nanorurek węglowych Baytubes® i Nanocyl oraz pochodne poziomy niepowodujące zmian (derived no-effect levels – DNEL) zgodne z rozporządzeniem w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), zaproponowane przez zespół ekspertów w ramach 7. Programu Ramowego Komisji Europejskiej pod kierunkiem prof. Vicki Stone (Engineered Nanoparticles: Review Health and Environmental Safety – ENRHES), i alternatywne szacowanie poziomów DNEL dla cząstek słabo rozpuszczalnych według Pauluhna (13–21).

WARTOŚCI REFERENCYJNE DLA NANOMATERIAŁÓW – NRV

Wartości referencyjne dla nanomateriałów (nanoreference values – NRV) zostały opracowane przez ekspertów Krajowego Instytutu Zdrowia Publicznego i Środowiska w Holandii (RIVM) w celu zapewnienia tymczasowych wartości granicznych w sytuacjach, kiedy nie są dostępne odpowiednie wartości normatywów higienicznych OEL (occupational exposure levels – dopuszczalne poziomy narażenia w środowisku pracy) ani DNEL. Wartości referencyjne dla nanomateriałów są wyrażone jako wartości odpowiadające średniej ważonej 8-godzinny czas pracy oraz jako wartości chwilowe odpowiadające średniej ważonej 15-minutowym czasem pracy. Wartości te określają poziom ostrzegawczy – kiedy przekroczone są wartości referencyjne, należy zastosować odpowiednie środki kontroli narażenia.

Korzystanie z NRV wymaga pomiaru stężenia liczbowego cząstek i ich średnicy oraz informacji pozwalających na zaklasyfikowanie nanoobjektów uwalnianych się z nanomateriału do odpowiedniej klasy zagrożenia (kształt nanocząstek, trwałość w środowisku, gęstość). Poszczególne klasy zagrożenia zostały scharakteryzowane w następujący sposób (13,22):

1. Sztuczne nanowłókna, trwałe w środowisku, dla których nie można wykluczyć wystąpienia efektów podobnych do działania azbestu – przykłady: SWCNT (single-walled carbon nanotubes – jednościenne nanorurki węglowe) lub MWCNT (multi-walled carbon nanotubes – wielościenne nanorurki węglowe), albo włókna tlenków metali, o możliwym działaniu podobnym do działania azbestu.

- 2a. Ziarnisty nanomateriał (niewłóknisty), trwały w środowisku, o gęstości powyżej 6000 kg/m³ – przykłady: cząstki Ag, Au, CeO₂, COO, Fe, Fe_xO_y, La, Pb, Sb₂O₅, lub SnO₂.
- 2b. Ziarniste nanomateriały i nanowłókna, trwałe w środowisku, o gęstości poniżej 6000 kg/m³, dla których efekty działania podobne do azbestu mogą być wykluczone – przykłady: cząstki Al₂O₃, SiO₂, TiO₂, ZnO, CaCO₃, glinokrzemian warstwowy, sadza, C₆₀, dendrymery, polistyren lub nanowłókna.
3. Ziarnisty nanomateriał, nietrwały w środowisku lub rozpuszczalny w wodzie (rozpuszczalność powyżej 100 mg/l) – przykłady: NaCl, cząstki lipidów, mąki, sacharozy.

Propozycje wartości referencyjnych NRV dla 4 klas zagrożenia:

- klasa 1 – 0,01 włókien/cm³,
- klasa 2a – 20 000 cząstek/cm³,
- klasa 2b – 40 000 cząstek/cm³,
- klasa 3 – wartości OEL.

Powyższe wartości są odpowiednikami średniej ważonej 8-godzinny dzień pracy. Szacowanie poziomu chwilowego (15-min TWA) przeprowadzono zgodnie ze wzorem (13):

$$NRV_{15-TWA} = 2 \times NRV_{8h-TWA} \quad [1]$$

gdzie:

NRV – wartości referencyjne dla nanomateriałów,

TWA – średnia ważona w czasie (time weighted average).

POCHODNE POZIOMY NIEPOWODUJĄCE ZMIAN – DNEL

Pochodne poziomy niepowodujące zmian (derived no-effect levels – DNEL) to najwyższy dopuszczalny poziom narażenia ludzi na substancję produkowaną lub wprowadzaną do obrotu na terenie Unii Europejskiej na warunkach określonych w Rozporządzeniu (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH) (21), jako element oceny bezpieczeństwa chemicznego. Poziom ten wyznaczany jest wyłącznie dla substancji niewykazujących działania rakotwórczego i genotoksycznego.

Przy ustalaniu wartości DNEL brane są pod uwagę m.in. drogi narażenia, czas narażenia (długo-, krótko-okresowy) i charakter skutków (działania miejscowe, ogólnoustrojowe). Wartość DNEL może być szacowana z następujących dawek i stężeń wyznaczających:

- NOAEL (no observable adverse effect level) – najwyższy poziom bez obserwowanego działania toksycznego,
- NOAEC (no observable adverse effect concentration) – najwyższe stężenie bez obserwowanego działania toksycznego,
- LOAEL (lowest observed adverse effect level) – najniższy poziom działania toksycznego.

Do wyliczenia DNEL z odpowiednich dawek wyznaczających stosowane są korekcyjne współczynniki szacunkowe, które uwzględniają zmienność wewnątrzgatunkową, różnice międzygatunkowe, różnice w drogach podania substancji, czas trwania narażenia, a także jakość dostępnych danych (23,24). W niniejszym artykule przedstawiono wartości DNEL wraz z ich podstawami dla fulerenu, nanorurek węglowych oraz nanocząstek ditlenku tytanu i srebra, zaproponowane przez zespół ekspertów pod kierunkiem prof. Vicki Stone w ramach ENRHES (19). Zestawienie efektów krytycznych oraz poziomów NOAEL/LOAEL w eksperymentach na zwierzętach, zastosowanych przy wyznaczeniu wartości DNEL, przedstawiono w tabeli 1.

Fuleren

Na podstawie eksperymentów inhalacyjnych i drogą pokarmową ustalono krytyczny efekt działania fulerenu jako pojawienie się stanu zapalnego i odpowiedź oksydacyjną o działaniu progowym. Nie ma wystarczających danych na temat bezprogowego działania genotoksycznego. Sugeruje się nawet, że fuleren podawany w niskich dawkach może mieć działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne.

Narażenie inhalacyjne

Narażenie ostre

Podstawą wyznaczenia poziomu DNEL dla fulerenu w narażeniu ostrym było badanie przeprowadzone na szczurach narażanych m.in. na cząstki fulerenu o średnicy 55 nm, w stężeniu 2,22 mg/m³. Zwierzęta były ekspozowane inhalacyjnie (przez nos) 3 godziny dziennie przez 10 kolejnych dni (25). U narażanych szczurów nie zaobserwowano zmian zapalnych, więc stężenie 2,22 mg/m³ uznano za NOAEC.

1. Modyfikacje początkowe (korekta związana z różnicami między warunkami eksperymentalnymi u zwierząt a środowiskiem pracy u ludzi):
 - 8-godzinne narażenie pracownika (niska aktywność): NOAEC × 3 godz./8 godz. × 6,7 (standard 8-godzinny) / 10 m³ (8 godz. niskiej aktywności),
 - NOAEC dla pracownika (8 godz.): 0,55 mg/m³.

Tabela 1. Efekty krytyczne i poziomy NOAEL/LOAEL zastosowane przy wyznaczaniu wartości DNEL dla nanoobjektów w badaniach na zwierzętach (19)**Table 1.** Critical effects and experimental NOAEL/LOAELs used by DNEL estimation for nanoobjects (19)

Narażenie Exposure	Efekt krytyczny Critical effect	NOAEL/LOAEL	DNEL [µg/m ³]
C₆₀			
ostre / short term	stan zapalny płuc / pulmonary inflammation	NOAEL: 2,22 mg/m ³	44,40
przewlekłe / chronic	stan zapalny płuc / pulmonary inflammation	LOAEL: 0,12 mg/m ³	0,27
MWCNT			
ostre / short term,	stan zapalny płuc / pulmonary inflammation	NOAEL: 5,00 mg/m ³	201,00
przewlekłe / chronic			33,50
ostre / short term,	zmiany w układzie immunologicznym / systemic immune effects	LOAEL: 0,30 mg/m ³	4,00
przewlekłe / chronic			0,67
TiO₂			
przewlekłe / chronic	stan zapalny płuc / pulmonary inflammation	NOAEL: 0,50 mg/m ³	17,00
Ag			
przewlekłe / chronic	stan zapalny płuc / pulmonary inflammation	LOAEL: 49,00 µg/m ³	0,33
			0,10*
	zmiany w wątrobie / liver effects	NOAEL: 133,00 µg/m ³	0,67

C₆₀ – fuleren / fullerene.

MWCNT – wielościennie nanorurki węglowe / multi-walled carbon nanotubes.

TiO₂ – ditlenek tytanu / titanium dioxide.

Ag – srebro / silver.

NOAEL – najwyższy poziom bez obserwowanego działania toksycznego / no observable adverse effect level.

LOAEL – najniższy poziom działania toksycznego / lowest observed adverse effect level

DNEL – pochodny poziom niepowodujący zmian / derived no-effect level.

* Zastosowano odmienne współczynniki modyfikacyjne / different assessment factors were used.

2. Różnice międzygatunkowe:

- skalowanie allometryczne: brak (ekspozycja inhalacyjna),
- współczynnik uwzględniający różnice międzygatunkowe – 2,5.

3. Różnice wewnątrzgatunkowe:

- współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej wśród pracowników – 5.

Współczynnik ogólny dla narażenia krótkotrwałego w środowisku pracy: $2,5 \times 5 = 12,5$.

DNEL: $0,044 \text{ mg/m}^3 = 44,4 \text{ µg/m}^3$.

Narażenie przewlekłe

Pochodne poziomy niepowodujące zmian dla narażenia przewlekłego oszacowano na podstawie eksperymentu inhalacyjnego, w którym szczury (całe ciało) narażano m.in. na fuleren (cząstki o średnicy 96 nm) w stężeniu $0,12 \text{ mg/m}^3$, $4,1 \times 10^4$ cząstek/cm³ przez 6 godzin dziennie, 5 dni w tygodniu przez 4 tygodnie (26). Cząstki fulerenu były obecne w komórkach nabłonkowo-pę-

cherzykowych lub zostały pochłonięte przez makrofagi. Badania ekspresji genów wykazały jedynie łagodny stan zapalny. Podane stężenie uznano za LOAEC.

1. Modyfikacje początkowe (korekta związana z różnicami między warunkami eksperymentalnymi a środowiskiem pracy):

- 8-godzinne narażenie pracownika (niska aktywność): LOAEC $\times 6 \text{ godz./}8 \text{ godz.} \times 6,7$ (standard 8-godzinny) / 10 m^3 (8 godz. niskiej aktywności),
- LOAEC dla pracownika (8 godz.): $0,06 \text{ mg/m}^3$.

2. Ekstrapolacja z wartości LOAEC do NOAEC – 3:

- NOAEC: $0,02 \text{ mg/m}^3$.

3. Różnice międzygatunkowe:

- skalowanie allometryczne: brak (ekspozycja inhalacyjna),
- współczynnik uwzględniający różnice międzygatunkowe – 2,5.

4. Różnice wewnątrzgatunkowe:

- współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej wśród pracowników – 5.

5. Ekstrapolacja z narażenia podprzewlekłego do przewlekłego – 6.

Współczynnik ogólny dla narażenia długotrwałego w środowisku pracy: $2,5 \times 5 \times 6 = 75$.

$$\text{DNEL} = 0,27 \mu\text{g}/\text{m}^3$$

Nanorurki węglowe

W oparciu o badania następstw narażenia inhalacyjnego i dermalnego ustalono, że efekty takie, jak stan zapalny, stres oksydacyjny czy procesy zwłóknieniowe mają charakter progowy. Nie ma jasnych dowodów działania genotoksycznego, które może być wtórnym efektem stanu zapalnego czy stresu oksydacyjnego, bądź efektem pierwotnym, wynikającym ze swoistego działania cząstek. Wyprowadzony poniżej poziom DNEL może nie obejmować skutków bezpośredniego genotoksycznego działania nanorurek węglowych. Szacowanie to również nie dotyczy możliwego działania rakotwórczego, jakie mogą wykazywać niektóre wielościennie nanorurki węglowe (powstawanie międzybłoniaków).

Podstawą szacowania jest badanie przeprowadzone na myszach narażanych na wielościennie nanorurki węglowe o rozmiarach $10\text{--}20 \text{ nm} \times 5\text{--}15 \mu\text{m}$ (zanieczyszczenie: 0,5% niklu) w zakresie stężeń $0,3\text{--}5 \text{ mg}/\text{m}^3$ (27). Zwierzęta narażano inhalacyjnie (całe ciało) 6 godzin dziennie przez 7 lub 14 dni. Badania histopatologiczne oraz analiza popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych wykazały obecność cząstek w makrofagach, jednak nie zaobserwowano zmian zapalnych, podwyższonego poziomu limfocytów ani uszkodzeń w płucach. U myszy narażanych przez 14 dni wystąpiły natomiast objawy immunosupresyjne (obniżona odpowiedź przeciwciał zależnych od limfocytów T na erytrocyty owcze oraz obniżona zdolność proliferacyjna w obecności mitogenu – konkanawaliny A). Wykazano również zwiększenie ekspresji genów cytokin i wskaźników stresu oksydacyjnego w śledzionie, natomiast w płucach nie zaobserwowano żadnych zmian.

Do wyznaczenia wartości DNEL wybrano 2 scenariusze obejmujące różne efekty krytyczne – zmiany w płucach (scenariusz 1) oraz zmiany w układzie immunologicznym (scenariusz 2).

Zmiany w płucach

Scenariusz 1 – NOAEC – $5 \text{ mg}/\text{m}^3$ dla myszy (6 godz.), brak stanu zapalnego w płucach:

1. Modyfikacje początkowe (korekta związana z różnicami między warunkami eksperymentalnymi a środowiskiem pracy):

- 8-godzinne narażenie pracownika (niska aktywność): $\text{NOAEC} \times 6 \text{ godz.}/8 \text{ godz.} \times 6,7$ (standard 8-godzinny) / 10 m^3 (8 godz. niskiej aktywności),
- NOAEC dla pracownika (8 godz.): $2,5 \text{ mg}/\text{m}^3$.

2. Różnice międzygatunkowe:

- skalowanie allometryczne: brak (ekspozycja inhalacyjna),
- współczynnik uwzględniający różnice międzygatunkowe – 2,5.

3. Różnice wewnątrzgatunkowe:

- współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej wśród pracowników – 5.

4. Ekstrapolacja z narażenia ostrego do przewlekłego (tylko przy DNEL dla działania długotrwałego) – 6. Współczynnik ogólny dla:

- narażenia krótkotrwałego w środowisku pracy: $2,5 \times 5 = 12,5$;
- narażenia długotrwałego w środowisku pracy: $2,5 \times 5 \times 6 = 75$.

DNEL_{droga inhalacyjna, scenariusz 1}:

- narażenie krótkotrwałe: $0,2 \text{ mg}/\text{m}^3 = 201 \mu\text{g}/\text{m}^3$,
- narażenie długotrwałe: $0,034 \text{ mg}/\text{m}^3 = 33,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Zmiany w układzie immunologicznym

Scenariusz 2 – LOAEC – $0,3 \text{ mg}/\text{m}^3$ dla myszy (6 godz.), zmiany w układzie immunologicznym:

1. Modyfikacje początkowe (korekta związana z różnicami między warunkami eksperymentalnymi a środowiskiem pracy):

- 8-godzinne narażenie pracownika (niska aktywność): $\text{NOAEC} \times 6 \text{ godz.}/8 \text{ godz.} \times 6,7$ (standard 8-godzinny) / 10 m^3 (8 godz. niskiej aktywności),
- LOAEC dla pracownika (8 godz.): $0,15 \text{ mg}/\text{m}^3$.

2. Ekstrapolacja z LOAEC do NOAEC – 3:

- NOAEC (pracownik): $0,05 \text{ mg}/\text{m}^3$.

3. Różnice międzygatunkowe:

- skalowanie allometryczne: brak (ekspozycja inhalacyjna),
- współczynnik uwzględniający różnice międzygatunkowe – 2,5.

4. Różnice wewnątrzgatunkowe:

- współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej wśród pracowników – 5.

5. Ekstrapolacja z narażenia ostrego do przewlekłego (tylko przy DNEL dla działania długotrwałego) – 6. Współczynnik ogólny dla:

- narażenia krótkotrwałego w środowisku pracy: $2,5 \times 5 = 12,5$;
- narażenia długotrwałego w środowisku pracy: $2,5 \times 5 \times 6 = 75$.

$DNEL_{\text{droga inhalacyjna, scenariusz 2}}$:

- narażenie krótkotrwałe: $0,004 \text{ mg/m}^3 = 4 \text{ }\mu\text{g/m}^3$,
- narażenie długotrwałe: $0,0007 \text{ mg/m}^3 = 0,67 \text{ }\mu\text{g/m}^3$.

Ditlenek tytanu

Nanocząstki ditlenku tytanu (TiO_2) u zwierząt eksperymentalnych wywołują stres oksydacyjny, który może prowadzić do zmian zapalnych i innych, nawet nowotworowych. Badacze ocenili działanie tego związku jako progowe. Za podstawę szacowania wartości DNEL przyjęto 13-tygodniowy eksperyment inhalacyjny na szczurach, myszach i chomikach, które narażano na nanocząstki TiO_2 o średnicy 21 nm, w stężeniu $0,5\text{--}10 \text{ mg/m}^3$ przez 6 godzin dziennie, 5 dni w tygodniu.

U zwierząt oceniano złogi w płucach i węzłach chłonnych, a także zmiany zapalne, cytotoksyczne, proliferacyjne i histopatologiczne w płucach. U wszystkich narażanych zwierząt, zależnie od dawki, płuca były obciążone cząstkami, co zmniejszało się w miarę upływu czasu po ekspozycji. Zapalenie płuc wystąpiło u myszy i szczurów narażanych na najwyższe stężenie TiO_2 . U szczurów w tej grupie zaobserwowano ponadto zmiany proliferacyjne. U chomików nie wystąpiły żadne zmiany toksyczne w płucach (28). Za najbardziej wrażliwy gatunek uznano szczury. Poziom $0,5 \text{ mg/m}^3$ przyjęto za stężenie niewywołujące negatywnych zmian (NOAEC) u tych zwierząt.

1. Modyfikacje początkowe (korekta związana z różnicami między warunkami eksperymentalnymi a środowiskiem pracy):
 - 8-godzinne narażenie pracownika (niska aktywność): $\text{NOAEC} \times 6 \text{ godz.} / 8 \text{ godz.} \times 6,7$ (standard 8-godzinny) / 10 m^3 (8 godz. niskiej aktywności),
 - NOAEC dla pracownika (8 godz.): $250 \text{ }\mu\text{g/m}^3$.
2. Różnice międzygatunkowe:
 - skalowanie allometryczne: brak (ekspozycja inhalacyjna),
 - współczynnik uwzględniający różnice międzygatunkowe – 1,5 (szczur jako najbardziej wrażliwy gatunek).
3. Różnice wewnątrzgatunkowe:
 - współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej wśród pracowników – 5.
4. Ekstrapolacja z narażenia podprzewlekłego do przewlekłego – 2.
Współczynnik ogólny: $1,5 \times 5 \times 2 = 145$.
 $DNEL_{\text{droga inhalacyjna}} = 17 \text{ }\mu\text{g/m}^3$.

Srebro

Zgromadzone dane wskazują, że zmiany toksyczne indukowane przez nanocząstkowe srebro mają charakter

progowy, co skłania do oszacowania poziomów DNEL. Nie da się jednak wykluczyć działania bezprogowego, specyficznego dla nanocząstek. Podstawą szacowania poziomu DNEL jest 90-dniowe badanie przeprowadzone na szczurach narażanych inhalacyjnie (całe ciało) na cząstki srebra o średnicy 18–19 nm i stężeniu $0,6\text{--}3 \times 10^6$ cząstek/ cm^3 ($49\text{--}515 \text{ }\mu\text{g/m}^3$) przez 6 godzin dziennie, 5 dni w tygodniu (29).

Nanocząstki srebra wykazywały działanie obejmujące przede wszystkim płuca i wątrobę, dlatego przyjęto 2 scenariusze, odpowiednio dla różnych efektów krytycznych. Odpowiedź zapalna i zmiany w funkcjonowaniu płuc obserwowano już przy najniższym zastosowanym stężeniu – $49 \text{ }\mu\text{g/m}^3$ ($0,6 \times 10^6$ cząstek/ cm^3 i $1,08 \times 10^9 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$), dlatego stężenie to przyjęto za LOAEL. Dla innych efektów, głównie ze strony wątroby, zaproponowano NOAEL (NOAEC) na poziomie $133 \text{ }\mu\text{g/m}^3$ ($1,4 \times 10^6$ cząstek/ cm^3 i $2,39 \times 10^9 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$). Wartość ta sugerowana była także przez autorów niniejszego badania (29).

Zmiany w płucach

LOAEL – 49 mg/m^3 – odpowiednio $0,6 \times 10^6$ cząstek/ cm^3 i $1,08 \times 10^9 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$.

1. Modyfikacje początkowe (korekta związana z różnicami między warunkami eksperymentalnymi a środowiskiem pracy):
 - 8-godzinne narażenie pracownika (niska aktywność): $\text{LOAEC} \times 6 \text{ godz.} / 8 \text{ godz.} \times 6,7$ (standard 8-godzinny) / 10 m^3 (8 godz. niskiej aktywności),
 - LOAEC dla pracownika (8 godz.): $25 \text{ }\mu\text{g/m}^3$, odpowiednio: 3×10^5 cząstek/ cm^3 i $0,54 \times 10^9 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$.
 Ze względu na trudności w ekstrapolacji LOAEC do NOAEC zaproponowano dwa poniższe scenariusze uwzględniające różne współczynniki.
2. Ekstrapolacja z LOAEC do NOAEC – 3 (scenariusz 1), 10 (scenariusz 2):
 - $\text{NOAEL}_{\text{scenariusz 1}}$: $8,2 \text{ }\mu\text{g/m}^3$, odpowiednio: 1×10^5 cząstek/ cm^3 i $0,18 \times 10^9 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$,
 - $\text{NOAEL}_{\text{scenariusz 2}}$: $2,5 \text{ }\mu\text{g/m}^3$, odpowiednio: 3×10^4 cząstek/ cm^3 i $0,054 \times 10^9 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$.
3. Różnice międzygatunkowe:
 - skalowanie allometryczne: brak (działanie miejscowe, niezależne od metabolizmu),
 - współczynnik uwzględniający różnice międzygatunkowe – 2,5.
4. Różnice wewnątrzgatunkowe:
 - współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej wśród pracowników – 5.
5. Ekstrapolacja z narażenia podprzewlekłego do przewlekłego – 2.

Współczynnik ogólny OAF: $2,5 \times 5 \times 2 = 25$.

$DNEL_{\text{działanie na płuca, scenariusz 1}}$: $NOAEL_1/OAF - 0,33 \mu\text{g}/\text{m}^3$,
odpowiednio: $4000 \text{ cząstek}/\text{cm}^3$ i $7,2 \times 10^6 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$.

$DNEL_{\text{działanie na płuca, scenariusz 2}}$: $NOAEL_2/OAF - 0,098 \mu\text{g}/\text{m}^3$,
odpowiednio: $1200 \text{ cząstek}/\text{cm}^3$ i $2,2 \times 10^6 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$.

Zmiany w wątrobie

Wartość NOAEC – $133 \mu\text{g}/\text{m}^3$, odpowiednio: $1,4 \times 10^6 \text{ cząstek}/\text{cm}^3$ i $2,39 \times 10^9 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$.

1. Modyfikacje początkowe (korekta związana z różnicami między warunkami eksperymentalnymi a środowiskiem pracy):

- 8-godzinne narażenie pracownika (niska aktywność): $NOAEC \times 6 \text{ godz.}/8 \text{ godz.} \times 6,7$ (standard 8-godzinny) / 10 m^3 (8 godz. niskiej aktywności),
- NOAEC dla pracownika (8 godz.): $67 \mu\text{g}/\text{m}^3$, odpowiednio: $7 \times 10^5 \text{ cząstek}/\text{cm}^3$ i $1,2 \times 10^9 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$.

2. Różnice międzygatunkowe:

- z uwzględnieniem braku innych danych oraz skalowania alometrycznego – 10.

3. Różnice wewnątrzgatunkowe:

- współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej wśród pracowników – 5.

4. Ekstrapolacja z narażenia podprzewlekłego do przewlekłego – 2.

Współczynnik ogólny OAF: $10 \times 5 \times 2 = 100$.

$DNEL_{\text{działanie na wątrobę}}$: $0,67 \mu\text{g}/\text{m}^3$, odpowiednio: $7000 \text{ cząstek}/\text{cm}^3$ i $1,2 \times 10^7 \text{ nm}^2/\text{cm}^3$.

SZACOWANIE POZIOMÓW DNEL DLA CZĄSTEK SŁABO ROZPUSZCZALNYCH WEDŁUG PAULUHNA

Pauluhn zaproponował ogólne, oparte na masie, podejście do szacowania poziomów DNEL dla wytwarzanych nanoobjektów, na podstawie wniosków z przewlekłych badań inhalacyjnych (20). Zdaniem autora wielkość obrazująca objętość dystrybucji cząstek jest najbardziej odpowiednim i uniwersalnym czynnikiem łączącym dawkę zatrzymaną w płucach z toksycznością.

Zakłada się, że początkowo powierzchnia cząstek wchodzi w interakcje z surfaktantem w rejonie pęcherzykowym. Oddziaływanie wolnych cząstek może powodować obniżenie ilości surfaktantu i ostre zmiany zapalne. W warunkach narażenia przewlekłego fagocytoza cząstek przez makrofagi pęcherzykowe jest kluczowym czynnikiem determinującym odpowiedź organizmu na narażenie na nanocząstki. Wyższe dawki cząstek prowadzą do adaptacyjnego wzrostu puli fagocytów. Ogólna pula komórek fagocytów płucnych stanowi objętość dystrybucji cząstek (Vd).

Publikacje porównawcze potwierdzają, że częściowe wykorzystanie Vd do 6% jest równoważne wolumetrycznej hemostatycznej pojemności pobierania $1 \mu\text{l}$ cząstek/g płuca (30). Tak długo, jak ta skumulowana dawka płucna nie jest przekroczona, nie obserwuje się żadnych negatywnych skutków w płucach w odpowiedzi na narażenie na cząstki. To stężenie graniczne chroni więc przed poziomem zapalnym indukowanym przez endogenne procesy adaptacyjne. Przekroczenie tego progu może spowodować zapalenie, proliferację, stres oksydacyjny, niekompletną fagocytozę cząstek oraz opóźnienie lub zahamowanie klirensu cząstek. U szczurów, u których została osiągnięta skumulowana dawka graniczna, następuje zjawisko przeładowania płuc.

W przypadku występowania agregatów objętość cząstek można obliczyć, stosując specyficzną gęstość aglomeratów. Wszystkie obliczenia oparte są na objętości cząstek zdeponowanych i zatrzymanych w pęcherzykach (PM_{resp}). Wielkość ta jest określona na podstawie badań inhalacyjnych i szacowania przy użyciu modelu MPPD-V2.0 (Multiple-Path Particle Dosimetry Model).

U zwierząt toksyczność na płuca po narażeniu na cząstki porównywana jest ze skumulowaną objętościową dawką płucną. Na podstawie powyższych rozważań Pauluhn zaproponował sposób oszacowania poziomu NOAEL bądź NOEL (no observable effect level – najwyższy poziom bez obserwowanego działania) dla szczura według następującego wzoru:

$$NO(A)EL = \frac{1 \mu\text{l}}{0,29 \text{ m}^3} \times \frac{\rho}{f_{\text{vi}}} \times \frac{100}{PM_{\text{resp}}} [\text{mg}/\text{m}^3] \quad [2]$$

gdzie:

$1 \mu\text{l}$ – progowa objętość makrofagów, odpowiadająca 6-procentowej objętości dystrybucji cząstek (Vd),

$0,29 \text{ m}^3$ – średnia dzienna wentylacja dla szczura w przeliczeniu na kg na dzień,

ρ – efektywna gęstość aglomeratu w g/cm^3 ,

f_{vi} – dzienna objętościowa dawka narażenia przy utrzymanej równowadze w płucach (dla poszczególnych okresów narażenia – 1, 4, 13 lub 104 tygodnie – obliczono współczynniki, odpowiednio: 4,9; 17,5; 40 lub 61),

PM_{resp} – pęcherzykowa dawka cząstek obliczona za pomocą modelu MPPD2.

Zgodnie z poniższym wzorem obliczony został poziom NOAEL odpowiadający narażeniu ludzi na cząstki:

$$NO(A)EL_{HEC} = NO(A)EL_A \times \frac{AF_{lung\ burden-A/H}}{AF_{clearance-A/H}} \times \frac{1}{A_{study\ duration}} \approx NO(A)EL_A \times 1 \quad [3]$$

gdzie:

HEC – Human Equivalence Concentration – stężenie odpowiadające narażeniu człowieka,

A – wielkość odnosząca się do zwierząt (szczur),

H – wielkość odnosząca się do ludzi,

AF_{lung burden} – współczynnik szacowania uwzględniający różnice międzygatunkowe w obciążeniu płuc cząstkami,

AF_{clearance} – współczynnik szacowania uwzględniający różnice międzygatunkowe w klirensie płuc z osadzonych cząstek,

A_{study duration} – współczynnik szacowania uwzględniający czas narażenia.

$$AF_{clearance-A/H} = \frac{V_{d-A} \times k_{e-A}}{V_{d-H} \times k_{e-H}} = \frac{V_{d-A} \times t_{1/2-H} \times \ln 2}{V_{d-H} \times t_{1/2-A} \times \ln 2} = \frac{7 \times 10^{10} \times 400}{50 \times 10^{10} \times 60} = 0,93 \quad [4]$$

gdzie:

V_d – objętość dystrybucji cząstek zatrzymanych w makrofagach pęcherzykowych płuc [μl],

k_e – stała szybkości eliminacji,

t_{1/2} – półokres retencji cząstek z płuc [dni],

ln – logarytm naturalny.

$$AF_{lung\ burden-A/H} = \frac{V_{E-A} \times F_{a-A}}{V_{E-A} \times F_{a-H}} = \frac{BW_H}{BW_A} = \frac{0,29 \times 0,075 \times 70}{10 \times 0,164 \times 1} = 0,93 \quad [5]$$

gdzie:

V_E – minutowa objętość oddechowa wdychana w czasie narażenia na dzień [m³],

F_a – frakcyjna depozycja cząstek w regionie pęcherzykowym (oszacowana za pomocą modelu MPPD2),

BW – masa ciała.

Osiągnięcie poziomu 6-procentowej objętości dystrybucji cząstek V_d inicjuje zmiany zależne od tej wielkości w hemostazie płuc fizjologicznego klirensu cząstek. To zjawisko odpowiada skumulowanemu stężeniu objętościowemu ok. 1 μl objętości cząstek/g płuca. Skutki przeładowania cząstkami z towarzyszącymi efektami kinetycznymi (opóźnienie klirensu cząstkowego) nie występują u szczurów po 13-tygodniowym narażeniu (6 godz./dzień przez 5 dni/tydzień), jeżeli skumulowana graniczna objętość cząstek zdeponowana w płucach wynosi poniżej 0,105 μl/kg m.c. (20).

DOPUSZCZALNE POZIOMY NARAŻENIA W ŚRODOWISKU PRACY

Zestawienie efektów krytycznych oraz poziomów NOAEL/LOAEL – w eksperymentach na zwierzętach – które zostały zastosowane przy wyznaczaniu wartości dopuszczalnych poziomów narażenia w środowisku pracy, przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Poziomy NOAEL/LOAEL zastosowane przy wyznaczaniu wartości OEL dla nanoobjektów w badaniach na zwierzętach w oparciu o efekt krytyczny – stan zapalny płuc **Table 2.** Experimental NOAEL/LOAELs used while estimating OEL for nanoobjects based on pulmonary inflammation as a critical effect

Substancja Substance	NOAEL/LOAEL [mg/m ³]	OEL [mg/m ³]	Piśmiennictwo References
MWCN			
Baytubes*	NOAEL: 0,10	0,05	(17)
Nanocyl	LOAEL: 0,10	0,0025	(18)
SWCNT	NOAEL: 0,13	0,03	(14)
MWCN	NOAEL: 0,37	0,08	(14)
C ₆₀	NOAEL: 3,1	0,39	(14)
TiO ₂	NOAEL: 2,00	0,61	(14)

Baytubes* – specyficzny rodzaj nanorurek węglowych / specific kind of carbon nanotubes.

SWCNT – jednościenne nanorurki węglowe / single-walled carbon nanotubes.

OEL – dopuszczalne poziomy narażenia w środowisku pracy / occupational exposure levels.

Inne objaśnienia jak w tabeli 1 / Other abbreviations as in Table 1.

Wielościennie nanorurki węglowe (Baytubes®) (17)

Podstawą szacowania jest 13-tygodniowy eksperyment inhalacyjny (przez nos) na szczurach, które narażano na nanorurki Baytubes® (średnica: 10–15 nm, długość: 200–1000 nm) o stężeniu 11 mg/m³ i 241 mg/m³. Obserwacje prowadzono przez okres 3 lub 6 miesięcy po ustaniu ekspozycji.

Efekt krytyczny, który przyjęto w powyższym eksperymencie, to przewlekły stan zapalny, będący skutkiem przeciążenia płuc i upośledzenia funkcji ich oczyszczania.

Do ekstrapolacji wyników do odpowiednich stężeń dla człowieka wykorzystano różnice depozytów pęcherzykowych, wentylacji i zdolności akumulacji cząstek w zależności od czasu (półokresu oczyszczania płuc z cząstek).

Wewnątrzgatunkowe zróżnicowanie jest pomijane ze względu na brak biodostępności nanorurek

Baytubes® oraz na mechanizm toksyczności związany z przeciążeniem płuc, niezależnym od metabolizmu. Ekstrapolacja z dawek w płucach szczura do odpowiednich dawek w płucach człowieka zależy od skumulowanej dawki zdeponowanej i dawki zatrzymanej w pęcherzykach:

$$PD = C \times \text{Exp.D.} \times \text{Dep.} \times \text{Vent.} - \text{Cl} \quad [6]$$

gdzie:

PD – dawka pęcherzykowa,

C – stężenie podczas narażenia,

Exp.D. – liczba dni ekspozycji,

Dep. – frakcja cząstek osadzonych w rejonie pęcherzykowym,

Vent. – wentylacja,

Cl – klirens pęcherzykowy.

Na zróżnicowanie międzygatunkowe wpływają także różnice w kinetyce retencji. W przypadku wdychanych cząstek słabo rozpuszczalnych w wodzie różnice te można zobrazować półokresem retencji:

■ $t_{1/2} = 60$ dni (szczur),

■ $t_{1/2} = 1$ rok (człowiek).

Oszacowano, że obciążenie płuc szczurów narażonych przez 3 miesiące oraz ludzi przewlekle narażonych różni się 10-krotnie – $AF_{\text{kinet.}} = 10/1$.

Uważa się, że wskaźnik klirensu pęcherzykowego u ludzi jest niezależny od obciążenia cząstkami dla oczekiwanego narażenia, natomiast u szczurów zależy od liczby cząstek w regionie pęcherzykowym. Szczur wydaje się więc bardziej wrażliwym gatunkiem pod względem efektów związanych z „przeładowaniem” cząstkami, z uwagi na upośledzony klirens pęcherzykowy. Depozycję płucną oszacowano w oparciu o model MPPD2 (Multiple-Path Particulate Dosimetry) dla aerozolu cząstek stałych o średniej średnicy 3 μm , która dla szczurów wyniosła 0,057, a dla ludzi – 0,118.

Różnice zewnątrzgatunkowe obejmują również wentylację – dla szczura tylko przez nos wynosi ona 0,8–1 $\text{dm}^3/\text{min}/\text{kg}$ m.c., a dla pracownika – 10 m^3 w czasie zmiany roboczej. Jeśli weźmie się pod uwagę czas narażenia zwierząt 6 godz./dzień, średnia dzienna wentylacja wynosi 0,29 $\text{m}^3/\text{kg}/\text{dzień}$ dla szczura i 10 $\text{m}^3/70$ kg, czyli 0,14 $\text{m}^3/\text{kg}/\text{dzień}$ dla człowieka. Współczynnik szacunkowy uwzględniający różnice w wentylacji i depozycji obliczono więc zgodnie ze wzorem:

$$\begin{aligned} AF_{\text{deposited dose}} &= \frac{\text{Ventilation}_H}{\text{Ventilation}_A} \times \frac{\text{Pulm.Deposition}_H}{\text{Pulm.Deposition}_A} = \\ &= \frac{0,14}{0,29} \times \frac{11,8}{5,7} = 1 \end{aligned} \quad [7]$$

gdzie:

$AF_{\text{deposited dose}}$ – współczynnik szacunkowy dawki zdeponowanej w płucach,

Ventilation – wentylacja,

H – wielkość odnosząca się do człowieka,

A – wielkość odnosząca się do szczura,

Pulm.Deposition – depozycja płucna.

Na podstawie powyższych obliczeń można stwierdzić, że zwiększona wentylacja u szczurów jest równoważona poprzez wyższą respirabilność cząstek u ludzi.

Przeładowanie cząstkami jest powodowane pochłanianiem cząstek (np. wielościennych nanorurek węglowych) przez makrofagi pęcherzykowe. Oczywiście zjawiska związane z makrofagami pęcherzykowymi (alveolar macrophage – AM) – takie jak fagocytoza, klirens zależny od AM i przeładowanie – powinny być, przynajmniej częściowo, zależne od wielkości makrofagów, która jest cechą specyficzną gatunkowo (ludzkie makrofagi pęcherzykowe są większe niż szczurze), oraz ich ogólnej liczby (w płucach ludzi występuje więcej makrofagów niż u szczurów). W oparciu o liczbę i objętość makrofagów można oszacować różnice międzygatunkowe:

■ średnia objętość makrofagów pęcherzykowych wynosi 1166 μm^3 dla szczurów oraz 4990 μm^3 dla ludzi,

■ średnia liczba makrofagów pęcherzykowych w płucach wynosi $2,6 \times 10^7$ u szczurów i 7×10^9 u ludzi,

■ objętość makrofagów pęcherzykowych na płuco w przeliczeniu na kg masy ciała (zakładając masę szczura 350 g oraz człowieka 70 kg) wynosi $8,7 \times 10^{10}$ $\mu\text{m}^3/\text{kg}$ m.c. dla szczura i 5×10^{11} $\mu\text{m}^3/\text{kg}$ m.c. dla człowieka.

Współczynnik szacunkowy obejmujący powyższe elementy zróżnicowania międzygatunkowego obliczono więc następująco:

$$AF_{\text{obj. AM}} = 5 \times 10^{11} / 8,7 \times 10^{10} = 5,7 \quad [8]$$

gdzie:

$AF_{\text{obj. AM}}$ – współczynnik szacunkowy obejmujący liczbę i objętość makrofagów.

Wynika z tego, że szczury są około 6-krotnie bardziej wrażliwe na przeładowanie płuc cząstkami.

Ogólny współczynnik szacunkowy powinien obejmować takie wielkości, jak objętość płuc, ich masę, pole powierzchni oraz całkowitą ilość surfaktantu, które wynikają z różnic allometrycznych zależnych od masy ciała.

Biorąc pod uwagę powyższe mechanizmy i właściwości, ogólny współczynnik międzygatunkowy obejmujący dawkę zdeponowaną w płucach można opisać za pomocą wzoru:

$$AF_{\text{retained dose}} = AF_{\text{deposited dose}} \times \frac{AF_{\text{kinetics}}}{AF_{\text{AM volume}}} =$$

$$= 1 \times \frac{10}{1} \times \frac{8,7 \times 10^{10}}{5 \times 10^{11}} = 1 \times 10 \times 0,17 \approx 2 \quad [9]$$

gdzie:

$AF_{\text{retained dose}}$ – współczynnik szacunkowy dotyczący dawki cząstek zatrzymanej w płucach, będący ogólnym współczynnikiem zróżnicowania międzygatunkowego,

$AF_{\text{deposited dose}}$ – współczynnik szacunkowy dawki zdeponowanej w płucach,

AF_{kinetics} – współczynnik szacunkowy uwzględniający kinetykę retencji,

$AF_{\text{AM volume}}$ – współczynnik szacunkowy opisujący zróżnicowanie objętości makrofagów pęcherzykowych przypadających na płuco w przeliczeniu na kg masy ciała.

Ogólny współczynnik uwzględniający zróżnicowanie międzygatunkowe wynosi 2.

Zróżnicowanie związane z czasem narażenia jest uwzględnione w różnicach międzygatunkowych w kinetyce retencji i stopniu przeładowania makrofagów pęcherzykowych.

Powyższe obliczenia wskazują, że wyższa dawka docierająca do płuc u ludzi ze względu na dłuższy czas oczyszczania (półokres klirensu) zatrzymanych cząstek jest częściowo kompensowana wyższą dawką potrzebną do osiągnięcia warunków w makrofagach pęcherzykowych, podobną do stanu przeładowania płuc u szczurów.

■ NOAEL: 0,1 mg/m³,

■ OEL(TWA) = NOAEL_A/AF_{retained dose} = 0,1 mg/m³/2 = 0,05 mg/m³.

Wielościennie nanorurki węglowe (Nanocyl) (18)

Szacowanie przeprowadzono w oparciu o 13-tygodniowy eksperyment inhalacyjny na szczurach, narażając zwierzęta na nanorurki Nanocyl NC 7000 (średnica: 5–15 nm, długość: 100 nm – 10 μm) o stężeniu 0 mg/m³, 0,5 mg/m³ i 2,5 mg/m³ (31).

Jako efekt krytyczny opisano zmiany zapalne oraz powstawanie ziarnistości w płucach i okolicznych węzłach chłonnych. Powyższe zmiany zaobserwowano przy stężeniach 0,5 mg/m³ i 2,5 mg/m³, jednak przy najniższym zastosowanym stężeniu zaobserwowano przypadki pojedynczych ziarnistości związanych ze stanem zapalnym w płucach. Ze względu na istnienie tych zmian podklinicznych stężenie 0,1 mg/m³ zostało uznane jako LOAEC.

Współczynnik ogólny wynosi 40 (brak szczegółowych opisów).

Stężenie w powietrzu niewywołujące efektów przy narażeniu 8 godz./dzień wynosi: OEL = 2,5 μg/m³.

PROJEKT NEDO

Projekt Organizacji Rozwoju Nowych Energii i Technologii Przemysłowych (New Energy and Industrial Technology Development Organization – NEDO), prowadzony przez japońskich ekspertów pod kierunkiem Junko Nakanishi, dotyczy oceny ryzyka wytwarzanych nanoobjektów: ditlenku tytanu, fulerenu i nanorurek węglowych (14).

Jednościennie nanorurki węglowe

Podstawą szacowania jest 4-tygodniowe badanie inhalacyjne na szczurach, które poddano działaniu jednościennych nanorurek węglowych (średnica: 3 nm, długości nie określono, specyficzne pole powierzchni: 1064 m²/g) o stężeniu 0,03 mg/m³ i 0,13 mg/m³. Zwierzęta obserwowano przez 3 miesiące po zakończeniu ekspozycji. Za efekt krytyczny przyjęto objawy stanu zapalnego w płucach, jednak nie zaobserwowano powyższych zmian u narażanych zwierząt.

Podstawa wyliczeń – NOAEL: 0,13 mg/m³.

Współczynniki:

■ Ekstrapolacja z narażenia podprzewlekłego do przewlekłego – 2.

W celu ekstrapolacji do narażenia przewlekłego obliczono liczbę cząstek pozostających w płucach po narażeniu trwającym 13 tygodni, a następnie podano dotchawczo szczurom większą ilość substancji. Przeprowadzone badania zwierząt (badanie popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych BALF i badania histopatologiczne) były podobne do uzyskanych w eksperymentach 4-tygodniowych. Ustalono więc, że NOAEL w badaniach podprzewlekłych były podobny.

■ Zróżnicowanie międzygatunkowe człowiek vs szczur – 3.

Zróżnicowanie międzygatunkowe uwzględnia: długość dziennej ekspozycji, różną objętość oddechową płuc, frakcję depozytową nanocząstek w płucach i powierzchnię pęcherzyków płucnych (zastąpioną masą ciała), zgodnie ze wzorem:

$$NOAEL_H = NOAEL_R \times \frac{t_R}{t_H} \times \frac{d_R}{d_H} \times \frac{Q_R}{Q_H} \times$$

$$\times \frac{DF_R}{DF_H} \times \frac{BW_H}{BW_R} \times \frac{1}{UF} \quad [10]$$

gdzie:

t – liczba godzin dziennie,

d – liczba dni w tygodniu,

Q – objętość oddechowa,

DF – frakcja depozytowa,

BW – masa ciała,

H – wielkość odnosząca się do człowieka,

R – wielkość odnosząca się do szczura,

UF – współczynnik niepewności.

Wartość OEL(PL) wynosi $0,03 \text{ mg/m}^3$, gdzie PL (period limited) to ograniczony czasowo, dopuszczalny poziom narażenia, który obowiązuje przez okres do 15 lat, przy założeniu, że w przeciągu 10 lat ukażą się nowsze dane.

Wielościennne nanorurki węglowe

Za podstawę wyliczeń przyjęto 4-tygodniowe badanie inhalacyjne na szczurach. Zwierzętom podawano wielościennne nanorurki węglowe (średnica: 30 nm, długość: $> 1 \mu\text{m}$, specyficzne pole powierzchni: $69 \text{ m}^2/\text{g}$) o stężeniu $0,37 \text{ mg/m}^3$. Po zakończeniu ekspozycji obserwację prowadzono przez 3, 28 i 91 dni.

Objawy stanu zapalnego w płucach przyjęto za efekt krytyczny. Wobec braku powyższych zmian zastosowane stężenie ($0,37 \text{ mg/m}^3$) przyjęto za NOAEL.

Współczynniki:

- ekstrapolacja z narażenia podprzewlekłego do przewlekłego – 2,
- zróżnicowanie międzygatunkowe człowiek vs szczur – 3,
- ekstrapolację do narażenia przewlekłego, a także zróżnicowanie międzygatunkowe, obliczono analogicznie do jednościennych nanorurek węglowych,
- OEL(PL) = $0,08 \text{ mg/m}^3$.

Fuleren (C_{60})

Podstawą szacowania było 4-tygodniowe badanie inhalacyjne na szczurach narażanych na cząstki fulerenu (średnica: 96 nm, GSD = 2) o stężeniu $0,12 \text{ mg/m}^3$. Po zakończeniu ekspozycji zwierzęta obserwowano 3 dni, 1 miesiąc, 3 miesiące i 6 miesięcy.

Za efekt krytyczny przyjęto objawy stanu zapalnego w płucach. Wobec braku wystąpienia negatywnych zmian zastosowane stężenie $0,12 \text{ mg/m}^3$ dla działania krótkotrwałego przyjęto za NOAEL.

Ekstrapolacja z narażenia podprzewlekłego do przewlekłego: obliczono liczbę cząstek pozostających

w płucach po narażeniu trwającym 13 tygodni, a następnie podano dotchawczo szczurom większą ilość substancji. Na podstawie badań przeprowadzonych u zwierząt (BALF i badania histopatologiczne) nie stwierdzono szkodliwego działania substancji. Dawkę podawaną dotchawczo zwiększano aż do uzyskania skutków działania i oszacowano poziom NOAEL dla działania przewlekłego:

- NOAEL_R : $3,1 \text{ mg/m}^3$,
 - po uwzględnieniu zróżnicowania międzygatunkowego: $\text{NOAEL}_H = 3,5 \text{ mg/m}^3$,
 - zróżnicowanie międzygatunkowe przeprowadzono analogicznie do nanorurek węglowych.
- Współczynniki:
- ekstrapolacja z narażenia podprzewlekłego do przewlekłego – 3,
 - zróżnicowanie międzygatunkowe człowiek vs szczur – 3,
 - OEL(PL) (średnica: 96 nm, GSD = 2) = $0,39 \text{ mg/m}^3$.

Ditlenek tytanu

Za podstawę szacowania przyjęto 13-tygodniowe badanie inhalacyjne u szczurów, które narażano na cząstki TiO_2 (średnica: 21 nm, specyficzne pole powierzchni: $73 \text{ m}^2/\text{g}$) w stężeniu: $0,5 \text{ mg/m}^3$; 2 mg/m^3 i 10 mg/m^3 (28). Za efekt krytyczny uznano zmiany zapalne w płucach, które wystąpiły u zwierząt narażanych na najwyższe stężenie. Stężenie 2 mg/m^3 uznano za poziom NOAEL.

Ekstrapolację z poziomu NOAEL dla zwierząt do NOAEL dla człowieka wykonano według wzoru:

$$\text{NOAEL}_H = \text{NOAEL}_R \times \frac{(\text{RMV}_R \times T_R \times \text{DF}_R) / \text{BW}_R}{(\text{RMV}_H \times T_H \times \text{DF}_H) / \text{BW}_H} \quad [11]$$

gdzie:

$\text{NOAEL}_H = 1,82 \text{ mg/m}^3$,

RMV – objętość oddechowa na minutę [m^3/min],

T – czas całodziennego narażenia [min/dzień],

DF – frakcja depozytowa (z zastosowaniem modelowania MPPD),

BW – masa ciała [kg].

Współczynniki:

- zróżnicowanie międzygatunkowe – 3,
- OEL (PL) = $1,82 \text{ mg/m}^3 / 3 = 0,61 \text{ mg/m}^3$.

SZACOWANIE DOPUSZCZALNYCH POZIOMÓW NARAŻENIA WEDŁUG NIOSH

Nanorurki węglowe i nanowłókna

Do oszacowania rekomendowanego poziomu narażenia eksperci Narodowego Instytutu Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (National Institute for Occupational Safety and Health – NIOSH) wykorzystali modelowanie ryzyka przy użyciu dawki wyznaczającej BMD (BenchMark Dose – dawka wyznaczająca). W oparciu o wyniki 13-tygodniowych badań toksyczności wielościennych nanorurek węglowych u szczurów (warunki eksperymentów opisano powyżej (20,31)) oszacowano, że u pracowników pracujących 45 lat w narażeniu na nanorurki o stężeniu $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ryzyko wczesnych zmian w płucach zwiększa się o 0,5–16%. Wyliczone ryzyko na podstawie innych badań na zwierzętach z udziałem jedno- lub wielościennych nanorurek szacuje się na podobnym poziomie. Rekomendowany przez NIOSH poziom narażenia to $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ mierzony jako stężenie węgla w 8-godzinnej frakcji respirabilnej (15).

Ditlenek tytanu

Eksperti NIOSH rekomendują zróżnicowaną wartość REL (recommended exposure level – rekomendowany dopuszczalny poziom narażenia) dla ditlenku tytanu w zależności od wielkości cząstek (16). Dla frakcji fine (cząstki drobne) wartość ta wynosi $2,4 \text{ mg}/\text{m}^3$, a dla frakcji ultrafine (nanocząstki) – $0,3 \text{ mg}/\text{m}^3$.

Ditlenek tytanu oraz inne słabo rozpuszczalne cząstki o niskiej toksyczności niekorzystnie działają na płuca szczurów, powodując m.in. przewlekłe zapalenie płuc i nowotwory, zależnie od dawki wyrażonej w postaci stężenia powierzchniowego cząstek. Rozróżnienie wartości rekomendowanych poziomów dopuszczalnych wyrażonych w jednostkach masowych jest więc związane z tym, że nanocząstki mają większą powierzchnię niż cząstki drobne.

Eksperti NIOSH przeprowadzili wnikliwą analizę badań na temat wpływu na układ oddechowy narażenia na TiO_2 . Wyniki 2-letniego badania inhalacyjnego u szczurów wykazały istotny statystycznie wzrost przypadków nowotworów płuca (gruczolakoraki) u zwierząt narażonych na frakcję ultrafine ($> 100 \text{ nm}$) TiO_2 w stężeniu $10 \text{ mg}/\text{m}^3$ (32). W późniejszych badaniach epidemiologicznych nie znaleziono natomiast zależności między narażeniem na ditlenek tytanu (ani frakcja wdychalna, ani frakcja respirabilna) a występowaniem nowotworów płuc u narażonych pracowników (33,34). Zdaniem ekspertów NIOSH ditlenek tytanu nie jest

bezpośrednim kancerogenem, ale działa poprzez wtórny mechanizm genotoksyczny, który jest związany z wielkością cząstek i ich polem powierzchni.

Na podstawie badań eksperymentalnych i ilościowej oceny ryzyka uznano, że jedynie nanocząstki TiO_2 (frakcja ultrafine) działają rakotwórczo. Rekomendowane wartości poziomów narażenia w środowisku pracy mają utrzymać dodatkowe ryzyko nowotworu płuc poniżej wartości 1/1000. Warto podkreślić, że wartości rekomendowanych poziomów, wyrażonych w postaci krytycznych dawek w płucach człowieka jako stężenie powierzchniowe cząstek, są równe dla obu frakcji TiO_2 i wynoszą $93,5 \text{ m}^2/\text{płuco}$.

PORÓWNANIE DOPUSZCZALNYCH POZIOMÓW NARAŻENIA W ŚRODOWISKU PRACY ZAPROPONOWANYCH PRZEZ ŚWIATOWYCH EKSPERTÓW

Opisane powyżej propozycje dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla nanoobjektów różnią się znacznie między sobą i to zarówno wielkością czy nawet rzędem wielkości, jak i sposobem wyliczenia. Zestawienie wartości dopuszczalnych poziomów w środowisku pracy dla nanorurek węglowych, fulereny i ditlenku tytanu zawiera tabela 3.

Tabela 3. Proponowane wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego na nanoobjekty w warunkach narażenia przewlekłego (OEL/REL) lub przewlekłego i krótkotrwałego (DNEL)
Table 3. Proposed limits of occupational exposure to nano-objects in conditions of chronic exposure (OEL) and chronic or short term exposure (DNEL)

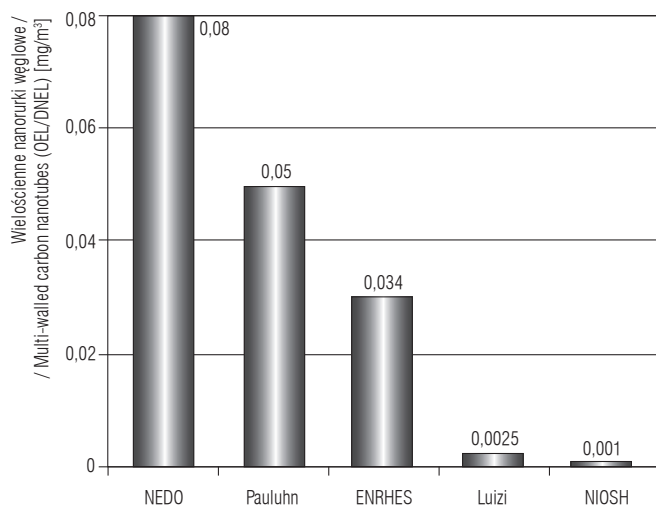
Substancja Substance	OEL/REL [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	DNEL [$\mu\text{g}/\text{m}^3$] (narażenie / exposure)	Piśmiennictwo References
MWCNT			
Baytubes*	50		(17)
	80		(14)
		34 (przewlekłe / chronic)	(19)
Nanocyl	2,5		(18)
CNT	1		(15)
Fuleren		44 (krótkotrwałe / short term)	(19)
		0,27 (przewlekłe / chronic)	(19)
	390		(14)
TiO_2		17 (przewlekłe / chronic)	(19)
	300		(16)
	610		(14)

REL – rekomendowany poziom narażenia zawodowego / recommended exposure limit.
Inne objaśnienia jak w tabeli 1 i 2 / Other abbreviations as in Tables 1 and 2.

Z kolei na rycinach 1–3. przedstawiono różnice w propozycjach stężeń dla poszczególnych substancji.

Najwięcej propozycji opracowano dla nanorurek węglowych (14,15,17–19). Oszacowane wartości mieszczą się w przedziale 1–80 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Porównanie tych wartości nie jest łatwe, ponieważ jest to bardzo różnorodna grupa nanoobjektów pod względem budowy i wielkości (długości i średnicy), co może mieć wyraźny wpływ na działanie toksyczne substancji. Ze względu na złożoność budowy lub modyfikacje funkcyjne, jakim mogą podlegać nanowłókna, normatywy higieniczne powinny być opracowywane dla określonego rodzaju nanorurek, o konkretnych wymiarach i właściwościach fizykochemicznych.

Dla fulereny wartości dopuszczalnych stężeń zostały opracowane jedynie przez 2 grupy ekspertów – z japońskiej organizacji New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO) (14) oraz z Komisji Europejskiej (19) – i mieszczą się w szerokim przedziale



NEDO – propozycja ekspertów Organizacji Rozwoju Nowych Energii i Technologii Przemysłowych w Japonii / the proposal of the New Energy and Industrial Technology Development Organization in Japan.

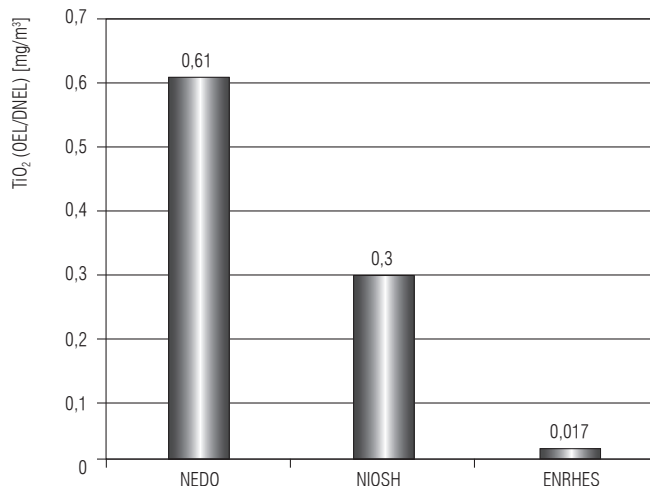
Pauluhn – propozycja dla specyficznego rodzaju nanorurek węglowych Baytubes® / the proposal for the specific kind of carbon nanotubes – Baytubes®.

ENRHES – propozycja ekspertów w ramach 7. Programu Ramowego Komisji Europejskiej / the proposal of experts under the 7th Framework Programme of the European Commission.

Luizi – propozycja dla specyficznego rodzaju nanorurek węglowych Nanocyl / the proposal of Luizi for the specific kind of carbon nanotubes – Nanocyl.

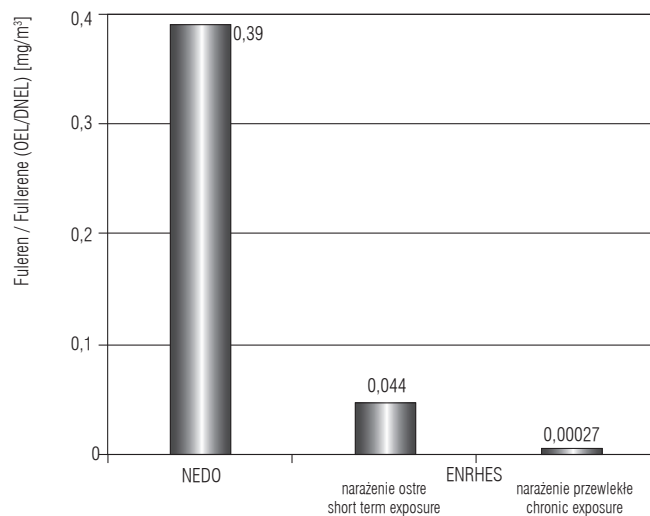
NIOSH – propozycja ekspertów Narodowego Instytutu Bezpieczeństwa i Higieny Pracy / the proposal of the National Institute for Occupational Safety and Health.

Ryc. 1. Proponowane dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego na wielościennie nanorurki węglowe zaproponowane przez ekspertów NEDO, NIOSH, ENRHES oraz Pauluhna dla nanorurek Baytubes® i Luizi dla nanorurek Nanocyl (14,15,17–19)
Fig. 1. Levels of occupational exposure to multi-walled carbon nanotubes proposed by NEDO, NIOSH, ENRHES and Pauluhn for carbon nanotubes Baytubes® and Luizi for carbon nanotubes Nanocyl (14,15,17–19)



Objaśnienia jak w rycinie 1 / Abbreviations as in Figure 1.

Ryc. 2. Proponowane dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego na nanocząstki ditlenku tytanu (TiO_2) (14,16,19)
Fig. 2. Proposed levels of occupational exposure to nanoparticles of titanium dioxide (TiO_2) (14,16,19)



Objaśnienia jak w rycinie 1 / Abbreviations as in Figure 1.

Ryc. 3. Proponowane dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego na fuleren (14,19)
Fig. 3. Proposed levels of occupational exposure to fullerene (14,19)

(0,27–390 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). Przykład tej substancji w postaci nanoobjektów pokazuje, jak sposób szacowania i założenia wpływają na końcową wartość proponowanego normatywu. Obie grupy ekspertów za podstawę do wycień przyjęły inne badania, jednak na tak znaczące różnice w głównej mierze wpłynęły współczynniki modyfikacyjne. Zaproponowane poziomy DNEL są o wiele niższe ze względu na wysoką wartość iloczynu zastosowanych współczynników szacunkowych. Podobne zależności widać w porównaniu wartości proponowanych stężeń dla

ditlenku tytanu (14,16,19). Wahają się one od 17 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (DNEL) do 610 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Przy tym wartości OEL/REL zaproponowane przez ekspertów NEDO i NIOSH różnią się jedynie 2-krotnie.

NORMATYWY HIGIENICZNE W POLSCE

Normatywy w Polsce obejmują 3 kategorie: najwyższe dopuszczalne stężenie (NDS), najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (NDSCh) i najwyższe dopuszczalne stężenie pułapowe (NDSP). Podstawą do wyznaczania normatywów higienicznych dla substancji o działaniu układowym lub drażniącym jest określenie granicznych poziomów narażenia – NOAEL(C) lub LOAEL – wyznaczonych na podstawie wyników badań epidemiologicznych, obserwacji lekarskich grup narażanych na czynniki chemiczne lub badań na zwierzętach doświadczalnych.

W wyliczaniu wartości normatywów stosowane są współczynniki niepewności, które uwzględniają różnice wrażliwości osobniczej człowieka, różnice międzygatunkowe, różnice wynikające z drogi podania, związane z przejściem z badań krótkoterminowych do badań przewlekłych, ze stosowaniem wartości LOAEL zamiast wartości NOAEL, oraz współczynnik modyfikacyjny, dotyczący oceny eksperta o kompletności danych i potencjalnych skutkach odległych (35). Równoległe do procesu opracowania dokumentacji i propozycji wartości dopuszczalnych stężeń uruchamiana jest procedura opracowania metody oznaczania stężeń substancji w powietrzu na stanowiskach pracy (36).

Nanoobiekty w środowisku pracy zazwyczaj występują w formie aerozolu. Warto więc nadmienić, że w odniesieniu do aerozoli wprowadzono następujące frakcje, dla których ustalane są wartości normatywów (37):

- frakcja wdychalna – frakcja aerozolu wnikająca przez nos i usta, która po zdeponowaniu w drogach oddechowych stwarza zagrożenie dla zdrowia,
- frakcja torakalna – frakcja aerozolu wnikająca do dróg oddechowych w obrębie klatki piersiowej stwarzająca zagrożenie dla zdrowia po zdeponowaniu w obszarze tchawiczo-oskrzelowym i obszarze wymiany gazowej,
- frakcja respirabilna – frakcja aerozolu wnikająca do dróg oddechowych, która stwarza zagrożenie dla zdrowia po zdeponowaniu w obszarze wymiany gazowej.

Istnieje pogląd, że nanocząstki stanowią nowy (piąty) stan skupienia materii – nanofazę (38). Podstawowe cechy charakteryzujące nanofazę to nadzwyczajna reaktywność związana z usytuowaniem większości

molekuł przy jej powierzchni. Głównym mechanizmem depozycji nanofazy w drogach oddechowych jest dyfuzja, a nanocząstki w organizmie zachowują się w sposób zbliżony do zachowania cząsteczek par, a nie cząstek stałych. Ocena narażenia na nanocząstki i cząstki ultradrobne polega obecnie na ocenie stężeń masowych. Stężenia masowe nanofazy są jednak słabo skorelowane ze skutkami biologicznymi. Dla cząstek nanofazy znacznie lepsze kryteria stanowią stężenia liczbowe i powierzchniowe (38).

NORMATYWY HIGIENICZNE DLA NANOObIEKTÓW

Należy zastanowić się, czy obecnie obowiązujący sposób wyznaczania najwyższych dopuszczalnych stężeń w środowisku pracy jest odpowiedni dla nanoobiektów. Może warto rozważyć wprowadzenie wartości odniesienia podobnych do zaproponowanych przez RIVM w Holandii. Można również zaproponować zdefiniowanie nowej frakcji w odniesieniu do aerozolu, odpowiedniej dla substancji w formie nanoobiektów, uwzględniając ich powierzchnię i wysoką aktywność. Uwzględniając specyficzny mechanizm działania nanoobiektów, można zmodyfikować sposób wyznaczania normatywów, a w szczególności szacowania współczynników modyfikacyjnych, kładąc większy nacisk na takie właściwości, jak depozycja pęcherzykowa, zdolność akumulacji cząstek i objętość dystrybucji cząstek zatrzymanych w makrofagach.

Ważna jest właściwa metodyka. Przede wszystkim należy ustalić odpowiedni rodzaj miary, która najbardziej odzwierciedla wielkość zagrożenia (stężenie liczbowe, powierzchniowe, liczbowy rozkład wymiarowy cząstek). Należy też opracować odpowiednie metody, biorąc pod uwagę również aparaturę i sprzęt, którym dysponowałyby nie tylko wiodące ośrodki, ale który byłby dostępny dla wszystkich pracodawców. Umożliwiłoby im to kontrolowanie ryzyka związanego z narażeniem na nanocząstki w środowisku pracy.

PIŚMIENNICTWO

1. Jankowska E.: Nanoobiekty w środowisku pracy. Podst. Met. Oceny Środ. Pr. 2011;4(70):7–20
2. Savolainen K., Pylkkänen L., Norppa H., Falck G., Lindberg H., Tuomi T. i wsp.: Nanotechnologies, engineered nanomaterials and occupational health and safety – A review. Safety Sci. 2010;48(8):957–963, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ssci.2010.03.006>

3. European Agency for Safety and Health at Work: Workplace exposure to nanoparticles, 2009 [cytowany 2 października 2013]. Adres: https://osha.europa.eu/en/publications/literature_reviews/workplace_exposure_to_nanoparticles/view
4. Kao Y.Y., Cheng T.J., Yang D.M., Wang C.T., Chiung Y.M., Liu P.S.: Demonstration of an olfactory bulb–brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent cells *in vitro* and *in vivo*. *J. Mol. Neurosci.* 2012;48(2):464–471, <http://dx.doi.org/10.1007/s12031-012-9756-y>
5. Kreyling W.G., Semmler M., Möller W.: Dosimetry and toxicology of ultrafine particles. *J. Aerosol Med.* 2004;17(2):140–152, <http://dx.doi.org/10.1089/0894268041457147>
6. Li N., Hao M., Phalen R.F., Hinds W.C., Nel A.E.: Particulate air pollutants and asthma. A paradigm for the role of oxidative stress in PM-induced adverse health effects. *Clin. Immunol.* 2003;109:250–265, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2003.08.006>
7. Świdwińska-Gajewska A.M.: Nanocząstki (Część 2) – Korzyści i Ryzyko dla Zdrowia. *Med. Pr.* 2007;58(3): 253–263
8. Donaldson K., Stone V., Tran C.L., Kreyling W., Borm P.J.A.: Nanotoxicology. *Occup. Environ. Med.* 2004;61:727–728, <http://dx.doi.org/10.1136/oem.2004.013243>
9. Bujak-Pietrek S.: Narażenie na nanocząstki w środowisku pracy jako zagrożenie dla zdrowia. *Problemy oceny ekspozycji zawodowej. Med. Pr.* 2010;61(2):183–189
10. Brouwer D., Berges M., Virji M.A., Fransman W., Bello D., Hodson L. i wsp.: Harmonization of measurement strategies for exposure to manufactured nano-objects; report of a workshop. *Ann. Occup. Hyg.* 2012;56(1):1–9, <http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/mer099>
11. Tiered approach to an exposure measurement and assessment of nanoscale aerosols released from engineered nanomaterials in workplace operations. 2011 [cytowany 2 października 2013]. Adres: <https://www.vci.de/Downloads/Nanomaterials%20in%20Workplace%20Operations.pdf>
12. Pośniak M., Dobrzyńska E., Szewczyńska M.: Projektowane nanomateriały w środowisku pracy. Narzędzia do oceny ryzyka. *Przem. Chem.* 2012;91(4):588–592
13. van Broekhuizen P., van Broekhuizen F., Cornelissen R., Reijnder L.: Workplace exposure to nanoparticles and the application of provisional nanoreference values in times of uncertain risks. *J. Nanopart. Res.* 2012;14:770, <http://dx.doi.org/10.1007/s11051-012-0770-3>
14. Risk Assessment of Manufactured Nanomaterials – Fullerene (C60) – Carbon Nanotubes (CNT) – Titanium Dioxide (TiO₂); NEDO Project (PO6041). NEDO 2011 [cytowany 2 października 2013]. Adres: http://www.aist-riss.jp/main/modules/product/nano_rad.html
15. NIOSH: Occupational exposure to carbon nanotubes and nanofibers. NIOSH 2013. *Current Intelligence Bulletin* 65 [cytowany 2 października 2013]. Adres: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2013-145/pdfs/2013-145.pdf>
16. NIOSH: Occupational exposure to titanium dioxide. NIOSH 2011. *Current Intelligence Bulletin* 63 [cytowany 2 października 2013]. Adres: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2011-160/pdfs/2011-160.pdf>
17. Pauluhn J.: Multi-walled carbon nanotubes (Baytubes®): Approach for derivation of occupational exposure limit. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2010;57:78–89, <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.12.012>
18. Luizi F.: Responsible care and nanomaterials case study nanocyl. European Responsible Care Conference, Prague, 21–23rd October 2009 [cytowany 2 października 2013]. Adres: http://www.cefic.org/Documents/ResponsibleCare/04_Nanocyl.pdf
19. Engineered Nanoparticles: Review Health and Environmental Safety. ENRHES 2009 [cytowany 2 października 2013]. Adres: http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/whats-new/enhres-final-report/at_multi_download/file?name=ENRHES_review.pdf
20. Pauluhn J.: Poorly soluble particulates: Searching for a unifying denominator of nanoparticles and fine particles for DNEL estimation. *Toxicology* 2011;279(1–3): 176–188, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2010.10.009>
21. Rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH) i utworzenia Europejskiej Agencji Chemikaliów, zmieniające Dyrektywę 1999/45/WE oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 793/93 i rozporządzenie Komisji (WE) nr 1488/94, jak również Dyrektywę Rady 76/769/EEG i dyrektywy Komisji 91/155/EEG, 93/67/EEG, 93/105/WE i 2000/21/WE z późn. zm.
22. Bezpieczna praca z nanomateriałami wytworzonymi (technicznymi) i nanoproduktami. Poradnik dla pracodawców i pracowników. Wersja 4.2. Sierpień 2012 [cytowany 2 października 2013]. Adres: www.ichp.pl/attach.php?id=1524
23. Gromiec J.: Problemy związane z wprowadzeniem DNEL (Pochodny Poziom Niepowodujący Zmian) do prawnego systemu ochrony zdrowia pracujących. *Med. Pr.* 2008;59(1):65–73
24. Kupczewska-Dobecka M., Świercz R.: Wyznaczenie bezpiecznych wartości substancji chemicznych obecnych na stanowiskach pracy – wyznaczenie wartości DNEL_{INH}

- zgodnie z założeniami REACH na przykładzie but-2-yno-1,4-diolu. *Med. Pr.* 2009;60(5):347–357
25. Baker G.L., Gupta A., Clark M.L., Valenzuela B.R., Staska L.M., Harbo S.J.: Inhalation toxicity and lung toxicokinetics of C₆₀ fullerene nanoparticles and microparticles. *Toxicol. Sci.* 2008;101(1):122–131, <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfm243>
26. Fujita K., Morimoto Y., Ogami A., Myojyo T., Tanaka I., Shimada M. i wsp.: Gene expression profiles in rat lung after inhalation exposure to C₆₀ fullerene particles. *Toxicology* 2009;258:47–55, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2009.01.005>
27. Mitchell L.A., Gao J., Vander Wal R., Gigliotti A., Burchiel S.W., McDonald J.D.: Pulmonary and systemic immune response to inhaled multiwalled carbon nanotubes. *Toxicol. Sci.* 2007;100(1):203–214, <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfm196>
28. Bermudez E., Mangum J.B., Wong B.A., Asgharian B., Hext P.M., Warheit D.B. i wsp.: Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol. Sci.* 2004;77:347–357, <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfh019>
29. Sung J.H., Ji J.H., Park J.D., Yoon J.U., Kim D.S., Jeon K.S. i wsp.: Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles. *Toxicol. Sci.* 2009;108(2):452–461, <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfn246>
30. Morrow P.E.: Possible mechanism to explain dust overloading of the lungs. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1988;10:369–384, [http://dx.doi.org/10.1016/0272-0590\(88\)90284-9](http://dx.doi.org/10.1016/0272-0590(88)90284-9)
31. Ma-Hock L., Treumann S., Strauss V., Brill S., Luiz F., Mertler M. i wsp.: Inhalation toxicity of multiwall carbon nanotubes in rats exposed for 3 months. *Toxicol. Sci.* 2009;112(2):468–81, <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfp146>
32. Heinrich U., Fuhst R., Rittinghausen S., Creutzenberg O., Bellmann B., Koch W. i wsp.: Chronic inhalation exposure of Wistar rats and two different strains of mice to diesel engine exhaust, carbon black, and titanium dioxide. *Inhal. Toxicol.* 1995;7(4):533–556, <http://dx.doi.org/10.3109/08958379509015211>
33. Fryzek J.P., Chadda B., Marano D., White K., Schweitzer S., McLaughlin J.K. i wsp.: A cohort mortality study among titanium dioxide manufacturing workers in the United States. *J. Occup. Environ. Med.* 2003;45:400–409
34. Boffetta P., Soutar A., Cherrie J.W., Granath F., Andersen A., Anttila A. i wsp.: Mortality among workers employed in the titanium dioxide production industry in Europe. *Cancer. Causes. Control.* 2004;15(7):697–706, <http://dx.doi.org/10.1023/B:CACO.0000036188.23970.22>
35. Czerczak S.: Zasady ustalania wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń chemicznych czynników szkodliwych w środowisku pracy. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2004;4(42):5–18
36. Skowroń J.: Bezpieczne i higieniczne warunki pracy w Polsce – rola i misja Międzyresortowej Komisji do Spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy. *Chemia, Zdrowie, Środowisko. Biul. Biura Subst. Chem.* 2012;4:21–29
37. Międzyresortowa Komisja ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy: Czynniki szkodliwe w środowisku pracy – wartości dopuszczalne. CIOP PIB, Warszawa 2012
38. Więcek E.: Kryteria zdrowotne pobierania próbek aerozoli w środowisku pracy. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2011;2(68):5–21