



Kunskapsöversikt

Kolnanorör

– Exponering, toxikologi och skyddsåtgärder
i arbetsmiljön

Rapport 2011:1

Kunskapsöversikt

Kolnanorör

- Exponering, toxikologi och skyddsåtgärder i arbetsmiljön

Författare:

Per Gustavsson, Maria Hedmer, Jenny Rissler

Referensgrupp:

Maria Albin, Mats Bohgard, Martin Kanje, Steffen Loft

Förord

Arbetsmiljöverket har fått i uppdrag av regeringen att informera och sprida kunskap om områden av betydelse för arbetsmiljön. Under kommande år publiceras därför ett flertal kunskapsöversikter där välrenommerade forskare sammanfattat kunskapsläget inom ett antal teman. Manuskripten har granskats av externa bedömare och behandlats vid seminarier på respektive lärosäte.

Rapporterna finns kostnadsfritt tillgängliga på Arbetsmiljöverkets webbplats. Där finns även material från de seminarier som Arbetsmiljöverket har arrangerat i samband med rapporternas publicering.

Den arbetsgrupp vid Arbetsmiljöverket som har initierat och organiserat framtagandet av översikterna har letts av professor Jan Ottosson. Vi vill även tacka övriga kollegor vid Arbetsmiljöverket som varit behjälpliga i arbetet med rapporterna.

De åsikter som uttrycks i denna rapport är författarens egna och speglar inte nödvändigtvis Arbetsmiljöverkets uppfattning.

Jan Ottosson

Författarna

Denna rapport har skrivits på uppdrag av Arbetsmiljöverket av forskare verksamma vid Lunds universitet inom forskningssamarbetena Metalund och Nano-Safety. Kunskapsöversikten är en sammanställning av litteratur inom området för kolnanorör och behandlar yrkesmässig exponering, toxikologi och skyddsåtgärder i arbetsmiljön. Frågeställningar som enligt uppdraget skulle utredas var vilken exponeringssituation som föreligger inom produktion, bearbetning och hantering av produkter som innehåller kolnanorör. En sammanställning av råd och riktlinjer för tekniskt arbetarskydd och personlig skyddsutrustning presenteras också. Även de toxikologiska data som finns för kolnanorör har sammanfattats. Syftet med översikten är att ge Arbetsmiljöverket information och underlag för olika typer av åtgärder. Översikten kan också bli ett underlag om det blir aktuellt med särskilda hygieniska gränsvärden på området eller andra föreskrifter. Rapporten bygger på originalarbeten och översiktsartiklar som identifierats i vetenskapliga databaser efter systematiska litteratursökningar. För den toxikologiska delen har ett urval av relevanta artiklar tagits med. Resterande fynd kommer att beskrivas i detalj i ett dokument som för närvarande tas fram åt Nordiska expertgruppen för kriteriedokument om kemiska hälsorisker (NEG).

Rapporten har författats av Fil Dr Per Gustavsson, Biologiska institutionen, Lunds universitet; Dr Med Vet Maria Hedmer, Avdelningen för Arbets och miljömedicin, Lunds universitet och Tekn Dr Jenny Rissler, Avdelningen för Ergonomi och Aerosolteknologi, Lunds universitet.

Till uppdraget har en referensgrupp med sakkunnig expertis knutits och i den har följande personer ingått: Docent Maria Albin, Avdelningen för Arbets och miljömedicin, Lunds universitet; Professor Mats Bohgard, Avdelningen för Ergonomi och Aerosolteknologi, Lunds universitet; Professor Martin Kanje, Biologiska institutionen, Lunds universitet och Professor Steffen Loft, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Köpenhamns universitet.

Förkortningar

APS	aerodynamic particle sizer
CPC	kondensationskärneräknare
CVD	chemical vapour deposition
DMA	differential rörlighet analys
DNA	deoxyribonukleinsyra
EDX	energidispersiv röntgenanalys
ELPI	elektrisk lågtrycksimpaktor
ESP	elektrostatiskt filter
FID	flamjonisationsdetektor
FMPS	fast mobility particle sizer
HEPA	high efficiency particulate air, högeffektivt partikelfilter
HiPCO	high pressure carbon monoxide
HSE	Health and Safety Executive
ICP-MS	induktivt kopplad-plasma masspektrometri
IFA	Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident Insurance
i.p.	intraperitonealt (i bukhålan)
i.v.	intravenöst
LOEL	lowest observable effect limit
LOD	limit of detection
MCE	mixed cellulose ester
MWCNT	multi-wall carbon nanotubes, flerväggiga kolnanorör
N/A	ej tillgänglig; prov ej tagits
ND	ej detekterbar
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
NMAM	NIOSH Manual of Analytical Methods
NOEL	no observable effect limit
OPC	optisk partikelräknare
PAS	fotoelektrisk aerosolsensor
SEM	svepelektronmikroskop
SMPS	scanning mobility particle sizer
STEM	sveptransmissionelektronmikroskop
SWCNT	single-wall carbon nanotubes, enkelväggiga kolnanorör
TEM	transmissionelektronmikroskop
TP	termoforetiskt filter
UCPC	kondensationskärneräknare för ultrafina partiklar
WHO	World Health Organisation

Innehållsförteckning

Sammanfattning.....	8
1. Inledning.....	11
2. Klassificering av kolnanorör	12
3. Fysikaliska och andra kemiska egenskaper	13
3.1 Mekaniska egenskaper.....	14
3.1.1. Kolnanorör som kompositmaterial	14
3.2 Elektriska egenskaper	15
3.3 Kemiska egenskaper	15
3.4 Reningsprocesser	16
3.5 Funktionalisering.....	17
3.6 Utmaningar för toxikologiska studier.....	17
4. Inhalation och lungdeposition	18
5. Förekomst, tillverkning och användning	19
5.1 Förekomst	19
5.2 Tillverkning	19
5.2.1 Chemical vapour deposition	21
5.2.2 Arc discharge.....	21
5.2.3 Laser ablation	21
5.3 Förekomst i arbetsmiljön	21
5.3.1 Yrkesmässig exponering vid tillverkning av kolnanorör	23
5.3.2 Yrkesmässig exponering vid laboratoriearbete	24
5.3.3 Yrkesmässig exponering vid bearbetning av produkter innehållande kolnanorör.....	25
6. Möjligheter att mäta exponering i arbetsmiljön	26
6.1 Luftexponering	26
6.1.2 Bestämning av totaldamm	26
6.1.3 Bestämning av respirabelt damm	26
6.1.4 Bestämning av respirabel fiberkoncentration	26
6.1.5 Bestämning av antal kolnanorör	26
6.1.6 Karaktärisering med aerosolinstrument.....	27
6.2 Hudexponering	27
6.3 Sammanfattning och diskussion	27
7. Yrkesmässig exponeringsdata	30
7.1 Masskoncentration.....	30

7.1.2 SWCNT	30
7.1.3 MWCNT	30
7.2 Respirabel fiberkoncentration	31
7.3 Antal kolnanorör	31
7.4 Karaktärisering	34
7.4.1 Antalskoncentration och storleksfördelning	34
7.4.1.1 Tillverkningsenheter	34
7.4.1.2 Forskningslaboratorier	34
7.4.2 Partikelmorfologi	34
7.5 Hudexponering	35
7.6 Sammanfattning och diskussion	35
8. Toxikokinetik	36
8.1 Upptag och distribution	36
8.3 Biotransformation	37
8.4 Utsöndring och eliminering	38
9. Toxiska mekanismer	39
9.1 Oxidativ stress	39
9.1.2 Oxidativ stress kan leda till DNA- och proteinskador	39
9.2 Frustrerad fagocytos	39
9.2.1 Frustrerad fagocytos kan leda till inflammation och oxidativ stress	39
10. Effekter på celler och djurförsök	40
10.1 Dödlighet	40
10.2 Kardiovaskulära effekter	40
10.3 Effekter på lever och mjälte	40
10.4 Effekter på luftvägarna	41
10.4.1 Samexponering i luftvägarna	41
10.5 Irritation	42
10.6 Nervsystemet	42
10.7 Hud	42
10.8 Reproduktion	42
10.9 Genotoxiska effekter	42
10.10 Carcinogena effekter	43
10.11 Korttids- och långtidseffekter efter upprepad exponering (upp till 90 dagar) ..	43
10.12 Sammanfattning och diskussion	43
11. Effekter hos människa	54
12. Hygieniska gränsvärden	54

13. Tekniskt arbetarskydd och personlig skyddsutrustning	55
13.1 Control banding	55
13.2 Tekniskt arbetarskydd.....	56
13.3 Personlig skyddsutrustning.....	56
13.3.1 Andningsskydd	56
13.3.2 Skyddshandskar	56
13.3.3 Skyddskläder	56
13.4 Städning	57
13.5 Avfallshantering av kolnanorör	57
13.6 Sammanfattning.....	57
14. Framtida forskningsbehov	58
15. Referenser.....	59

Sammanfattning

Användningen av kolnanorör har ökat kraftigt de senaste åren, och förutspås fortsätta att öka starkt framöver. Ökad produktion, hantering och bearbetning ger ökad risk för exponering i olika arbetsmiljöer. I dagsläget sker produktionen av kolnanorör huvudsakligen i utomnordiska länder, men kolnanorör används i Norden i forsknings- och utvecklingsarbete. Idag används kolnanorör främst som förstärkningsmaterial i olika typer av polymerer, dvs. i kompositmaterial, men stor potential finns för fler applikationer.

På senare tid har man blivit allt mer uppmärksam på att egenskaper hos nanopartiklar kan vara väsentligt annorlunda än de hos större partiklar av samma material, parallellt har också dragits mellan kolnanorörens fiberlika form och asbest.

Det finns därför anledning att närmare studera kolnanorörens toxikologiska effekter för att kunna bedöma riskerna med hantering av kolnanorör och vid behov genomföra regleringar, t ex i form av hygieniska gränsvärden.

Vi har i denna rapport beaktat exponering via sväljning, inandning och hud. Inandning framstår som den exponeringsväg som är förknippad med störst potentiell risk, eftersom kolnanorör är ett material som i bulkform har en mycket låg densitet och dammar kraftigt vid hantering. Mätningar visar också att den högsta yrkesmässiga exponeringen sker just vid hantering av torrt bulkmaterial av kolnanorör.

Kolnanorör är en hel klass av nanomaterial, inte ett enda material, eftersom kolnanorör finns i ett stort antal varianter med avseende på bland annat diameter, längd, kirala vinklar, kemisk funktionalisering, renhet och bulkdensitet (ofta relaterad till damningsbenägenhet).

Exponering i arbetsmiljön och mätmetoder

Karaktäristiskt för kolnanorör är att massan är liten, men att antalet nanopartiklar är mycket stort på grund av den låga densiteten. Majoriteten av exponeringsmätningarna på olika arbetsplatser där kolnanorör tillverkas eller används har varit traditionella dammätningar, där man bestämt masskoncentrationen. De uppmätta halterna har vanligen varit 0,1 mg/m³ eller därunder, men även högre halter har rapporterats. Resultaten från denna typ av mätningar är osäkra, eftersom metoden inte specifikt mäter kolnanorör, utan inkluderar även andra luftburna partiklar i den bestämda massdosen. Hittills använd mätmetodik har huvudsakligen givit exponeringsdata för emission och möjlig exponering för kolnanorör på arbetsplatser samt underlag för utvärdering av teknisk skyddsutrustning. Mätningarna har gjorts under korta tidsperioder och på få arbetsmoment/exponeringssituationer. Vidare har olika typer av provtagningsutrustning använts, vilket gör det svårt att jämföra resultaten.

Det finns behov av en standardiserad mätmetodik för kvantifiering av den yrkesmässiga exponeringen för kolnanorör. För att särskilja kolnanorör från andra luftburna partiklar krävs för närvarande analys med svep- eller transmissionselektronmikroskopi. Det amerikanska arbetslivsinstitutet, NIOSH, undersöker nu om deras metod för mätning av dieselpartiklar (analys av elementärt kol) kan användas även för att

massbestämna kolnanorör, eftersom även dessa är uppbyggda framför allt av kol. Provtagningen av kolnanorör skulle då kunna göras med "open-face" filterkassetter med kvartsfilter (bestämning av totaldamm) och sedan analyseras med termisk-optisk analys med flamjonisationsdetektor (FID). Samtidig provtagning med "open-face" filterkassetter med MCE-filter (bestämning av totaldamm) för analys med transmissionselektronmikroskopi skulle dock ändå behövas fortsättningsvis för att säkerställa specificiteten.

När tillförlitlig mätmetodik för massbestämning av kolnanorör finns tillgänglig måste fler arbetsplatser undersökas och fler heldagsmätningar genomföras. Vidare måste personburna mätningar med provtagning i andningszonen göras vid fler arbetsmoment/exponeringssituationer. När tillförlitlig exponeringsdata för kolnanorör finns är det först då som det möjligt att göra riskbedömning för kolnanorör.

Då det i dagsläget varken finns tillräckligt med kunskaper om hälsoeffekterna eller exponeringsnivåerna vid hantering, bör försiktighetsprincipen råda vid tillverkning, hantering och användning av kolnanorör samt bearbetning av material innehållande kolnanorör. I praktiken betyder det att man ska använda etablerat tekniskt arbetarskydd såsom inkapslingar och processventilation tillsammans med personlig skyddsutrustning, till exempel andningsskydd, skyddshandskar och skyddskläder.

Toxiska effekter

Det är för närvarande svårt att dra entydiga slutsatser vad gäller kolnanorörens toxicitet. Det faktum att kolnanorörens fysikaliska egenskaper varierar och att de innehåller föroreningar från framställningsprocesserna så som metaller, försvårar tolkningen av resultaten från genomförda toxikologiska tester. I vissa publikationer saknas en tydlig karaktärisering av fysikaliska egenskaper och föroreningar för de kolnanorör man använt i experimenten.

Flera studier talar för att kolnanorör kan utgöra en hälsorisk, eftersom man ser effekter hos försöksdjur vid ganska låga koncentrationer. Samtidigt finns det studier som inte påvisar några effekter, eller effekter först vid höga doser. Dessa studier brister i vissa fall i beskrivning av den experimentella metodiken eller i hur noga effekterna studerats. Relevanta studier på människa saknas.

På grund av de fysiska likheterna mellan asbest och kolnanorör finns misstankar om att de skulle kunna ha liknande biologisk effekt, d.v.s. orsaka fibros i lungor och luftvägar samt lungcancer och mesoteliom (en elakartad tumör med ursprung från mesotelceller, vanligen i lungsäcken). Vi bedömer att exponering genom inandning är en potentiell risk vid arbete med kolnanorör, eftersom man har sett att både enkelväggiga och flerväggiga sådana kan orsaka inflammation och fibros i luftvägar, lungor och lungsäck, i relevanta djurmodeller. Några studier antyder att längre kolnanorör orsakar större biologiska effekter än vad kortare kolnanorör gör. Det finns inte tillräckligt många långtidsstudier med upprepad exponering för att dra klara slutsatser om förmågan hos kolnanorör att orsaka lungcancer eller mesoteliom. Flera fynd har gjorts där kolnanorör orsakat skador och mutationer i DNA, vilket indikerar att upprepad långvarig exponering skulle kunna öka risken att utveckla cancer.

Baserat på effekter hos försöksdjur är de lägsta doser som observerats orsaka negativa effekter på luftvägarna (inflammation och lätt granulombildning) 0,2-0,3 mg/kg kroppsvikt, den lägsta lufthalt där detta observerats är 0,1 mg/m³. Vid högre nivåer ses allvarligare lungskada samt hjärtpåverkan. Efter exponering för doser på 0,06 mg/kg kroppsvikt genom sondmatning fann man DNA-skada.

Det finns risk för att även andra organ än lungorna kan exponeras för kolnanorör om dessa passerar över till blodet. En sådan övergång skulle kunna ske i lungorna eller i magtarmkanalen. Kolnanorör kan komma att hamna i magtarmkanalen efter att de av flimmerhåren transporterats från luftvägarna upp till svalget, där kolnanorören sedan sväljs ner.

Det finns stora kunskapsluckor när det gäller hälsoeffekter av kolnanorör. Särskilt angeläget är fler långtidsstudier med försöksdjur av effekter efter inandning, men det behövs också fler studier av reproduktionseffekter och effekter av hudexponering. Funktionalisering av kolnanorör dvs. att man sätter på kemiska grupper på rören påverkar kraftigt halveringstiden i blod och kan påverka deras biologiska effekter. Fler studier behövs därför med luftvägsexponering med funktionaliserade kolnanorör. Humandata saknas.

Slutsatser

En viktig fråga för hantering av kolnanorör berör klassificering av dessa. Bör de klassificeras som ett eget ämne eller som kol, vilket är den huvudsakliga beståndsdelen i rören, och ska i så fall alla rör klassificeras som ett ämne eller som enkel- respektive flerväggiga kolnanorör, med sina respektive funktionaliseringar och riskbedömas utifrån detta. Mycket pekar på att de toxiska egenskaperna hos kolnanorör kan skilja sig från andra typer av nanopartiklar som är uppbyggda av grafenlager. Det skulle tala för att kolnanorör bör ha en särskild klassificering.

Riskbedömningen för kolnanorör försvåras av kunskapsbrister på flera nivåer: 1) Samsyn saknas om vilket dosmått som är mest relevant för hälsoeffekterna, 2) Kolnanorör finns i ett stort antal varianter som sannolikt har olika toxicitet, 3) Toxikologiska data är bristfälliga men indikerar risk för inflammatorisk reaktion och lungfibros vid inandning vid relativt låga doser samt för en DNA-skadande effekt, 4) Exponeringsnivåerna vid yrkesmässig hantering är ofullständigt karakteriserade.

I avvaktan på att kunskapsläget klarnar, kan en strategi vid reglering av de yrkesmässiga exponeringsförhållandena vara att ta fasta på de effekter som observerats för de mest toxiska kolnanorören. Föreslagna gränsvärden internationellt ligger på mycket låga nivåer. Luftburen exponering uppkommer vid tillverkning, hantering, och användning av kolnanorör samt vid bearbetning av produkter innehållande kolnanorör. Etablerade tekniska skyddsåtgärder såsom inkapslingar och processventilation bör tillämpas tillsammans med personlig skyddsutrustning, såsom andningsskydd, skyddshandskar och skyddskläder.

1. Inledning

Observationer av kolnanorör rapporterades för första gången i den vetenskapliga litteraturen 1991 (Iijima, 1991) och har sedan dess varit föremål för mycket forskning. Efter upptäckten och karaktäriseringen av kolnanorör har otaliga användningsområden föreslagits och kolnanorören har förutspåtts kunna bidra till material med revolutionerande egenskaper när det gäller bl.a. mekanisk hållfasthet, elektriska egenskaper, kemisk stabilitet och medicinska tillämpningar.

I dagsläget används kolnanorör främst i kompositer i bl.a. plaster och gummi för att göra dessa lättare eller starkare (Lam et al., 2006). Av nanokompositmaterial, som typiskt innehåller mellan 1-10% kolnanorör, tillverkas bl.a. delar till bilar och flygplan, vindkraftsblad samt sportutrustning (Hussain et al., 2006; Köhler et al., 2008; Sass et al., 2008; Thomas et al., 2009; KEMI 2009). På marknaden finns också mobiltelefoner och bärbara datorer med uppladdningsbara litiumjonbatterier innehållande kolnanorör (Köhler et al., 2008; iRAP, 2011). Kolnanorör finns även i bottenfärger till båtar (Nanocyl, 2010). Den globala produktionen av kolnanorör är idag över 2,5 ton/dag.

Några framtida potentiella applikationer som föreslagits för kolnanorör är tyger, byggnadsmaterial, elektronik, energisystem, biomedicin, membranteknik och medicinska applikationer (Bhushan 2004; Aitken et al., 2006; Schneider et al., 2007; Endo et al., 2008; Köhler et al., 2008; Kostarelos et al., 2009; Aschberger et al., 2010; Barkauskas et al., 2010). Trots att det gått 20 år sedan upptäckten så är de faktiska användningsområdena för kolnanorör idag mycket begränsade, främst på grund av problem med välkontrollerad massproduktion. Det förutspås att det största användningsområdet kvantitativt även i framtiden kommer vara som kompositmaterial, vilka inte kräver lika hög renhet och väldefinierade egenskaper som vid många elektronikapplikationer.

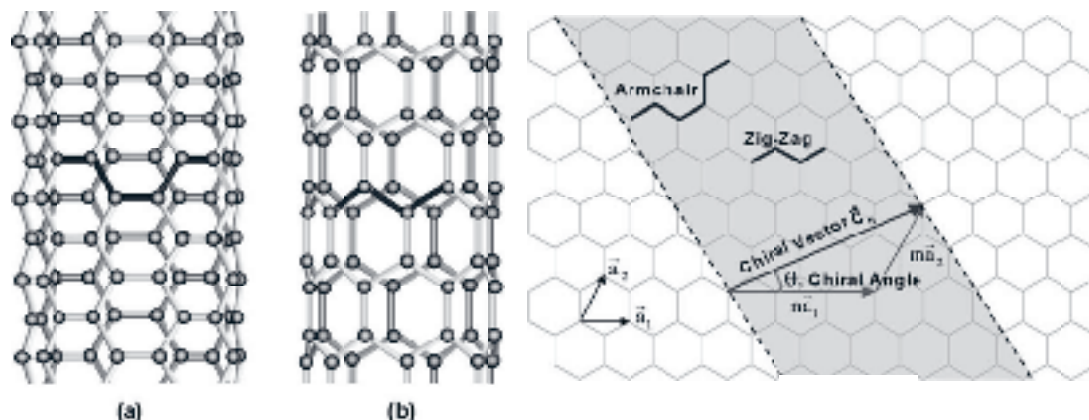
Användningen av kolnanorör förutspås öka kraftigt framöver och därmed även exponeringen för dessa på arbetsplatser. För att kunna använda kolnanorör i sin fulla potential är en av utmaningarna att hantera rören på ett säkert sätt både vid tillverkning, bearbetning, i användarleden och vid avfallshanteringen. Denna rapport är en sammanställning av kolnanorörens egenskaper, exponeringssituationer som föreligger inom produktion, bearbetning och hantering av produkter som innehåller kolnanorör samt en sammanfattning av det toxikologiska kunskapsläget.

2. Klassificering av kolnanorör

Kolnanorör består av kolatomer strukturerade i grafenlager ihoprullade till en cylinder. I grafen är varje kolatom symmetrisk bunden till tre andra kolatomer i ett plan som i sin tur bildar sexkantiga ringar (Figur 1). Kolnanorören kan vara öppna eller slutna i ändarna. Man brukar kategorisera kolnanorör i två grupper - enkelväggiga och flerväggiga. Ett kolnanorör som består av endast ett grafenlager brukar benämnas enkelväggiga kolnanorör eller SWCNT (från Single Walled Carbon NanoTube). De flerväggiga kolnanorören består av flera grafenlager formade till koncentriskt cylindrar, vilka binds samman av van der Waalskrafter. Vi kommer i denna rapport att referera till flerväggiga kolnanorör som MWCNT (från Multi-Walled Carbon NanoTubes). Då MWCNT består av flera grafenlager kommer dessa att ha större diameter än SWCNT. De mest extrema MWCNT kan vara uppbyggda av upp till flera hundra koncentriskt cylindrar med ett typiskt avstånd mellan grafenlagren på ~ 0.34 nm (Popov, 2004). Även om kolnanorör generellt kategoriseras i dessa två grupper, så kan varje grupp bestå av en komplex blandning av rör med varierande längd, diameter, kristallstruktur, ytkemi m.m.

Typiskt är diametern på ett kolnanorör i storleksordningen 1-100 nm (10^{-9} m) - enkelväggiga med en diameter på runt 1-3 nm (Jorio et al., 2001) och flerväggiga på normalt 10-200 nm (Hou et al., 2003). Diametern på rören beror på framställningsförfarandet där diametern på de katalytiska metallpartiklar som används har en avgörande roll, särskilt för enkelväggiga rör. Även om längden på kolnanorör kan variera är dessa typiskt i storleksordningen tiotal mikrometer. Det längsta kolnanoröret som rapporterats mätte 18 cm (Wang et al., 2009) och det kortaste är den organiska föreningen cykloparafenylen, vilken syntetiserades i början av 2009 på Berkley (<http://www.lbl.gov/msd/assets/docs/highlights/09-Bertozzi.pdf>). Längden på rören beror på tillveknings- och reningsprocessen. Under reningsprocessen, då rester och orenheter från tillverkningsprocessen avlägsnas, tenderar kolnanorören att bli kortare på grund av de destruktiva förhållanden som reningen innebär för rören (Liu et al., 1998).

Den atomära strukturen hos kolnanorör beskrivs av rörens kirala vinkel. Den kirala vinkeln avgör hur vridna hexagonerna i grafenstrukturen är, vilket illustreras i Figur 1. Eftersom avståndet mellan kolatomerna i grafenstrukturen är konstant så kommer rör av olika kirala vinklar att ha olika diameter. I flerväggiga kolnanorör har oftast de intilliggande koncentriskt grafenlagren därför olika kirala vinkel.



Figur 1. a-b) Atomstrukturen för enkelväggiga kolnanorör för två typer av rör; (a) visar en s.k. "armchair" struktur och (b) en zig-zag struktur. c) Ett diagram över olika skärningar och kirala vinklar av ett grafenark (källa: Thostenson et al., 2001 Composites Science and Technology 61:1899-1912).

Den kirala vinkeln beskrivs ofta av en vektor (n,m) där n och m betecknar det heltal av enhetsvektorerna längs grafenstrukturen (a_1 och a_2 i Figur 1). Det finns tre huvudtyper av kolnanorör. Om $m=0$ betecknas rören vara av zig-zag typ, om $n=m$ av armchair typ, och alla kombinationer däremellan som varande av kirala form.

Den kirala vinkeln hos kolnanorören påverkar en del av deras egenskaper såsom mekaniska egenskaper, optiska egenskaper och, i synnerhet, de elektriska egenskaperna. Grafen är i sig själv en halvledare. Nanotuber däremot kan både vara metalliska eller halvledare beroende på den kirala vinkeln. De mekaniska egenskaperna påverkas endast i mindre utsträckning av den kirala vinkeln (Thostenson et al., 2001).

3. Fysikaliska och andra kemiska egenskaper

SWCNT (enkelväggiga kolnanorör) återfinns mycket sällan som enskilda rör utan som ordnade i större knippen, ofta 5-50 nm i diameter (Maynard et al., 2007), vilka hålls samman av van der Waalskrafter. Dessa knippen formar sig i sin tur till större nystan eller klumpar. MWCNT (flerväggiga kolnanorör) återfinns i högre grad som enskilda rör, men även dessa tenderar att bilda knippen (Lam et al., 2006). De sammanhållande van der Waalskrafterna är dock svagare för MWCNT än för SWCNT (Yu et al., 2000).

På grund av sin struktur har kolnanorör en mycket stor yta jämfört med massan. Kvoten mellan yta och massa för rören beror på deras diameter samt i vilken grad de formar knippen. Enskilda SWCNT har en kvot (yta mot massa) på omkring 1300 m^2/g , medan MWCNT typiskt har en kvot på runt några hundra m^2/g (Peigney et al., 2001). På grund av att SWCNT i hög grad formar knippen är det effektiva förhållandet mellan yta och massa ofta mindre eller runt $\sim 300 m^2/g$ (Ye et al., 1999).

Densiteten för kolnanorör i pulverform¹ är mycket låg och är beroende av tillverkningsmetod. I en studie där man jämförde bulkdensiteter¹ för kolnanorör tillverkade med laser ablation och HiPCO® (High-Pressure Carbon Monoxide process) fann man att den senare metoden gav ett mer poröst material med bulkdensiteter i storleksordningen 1 mg/cm³ (Baron et al., 2003). Ingen densitet angavs för laser ablation. Enligt specifikation av Baytubes® produkter är dessa av en densitet på ~120-170 mg/cm³. Andra producenter anger bulkdensiteter runt ~100 mg/cm³.

3.1 Mekaniska egenskaper

En av kolnanorörens eftertraktade egenskaper är att de har en mycket hög hållfasthet. Enkelväggiga kolnanorör sägs vara runt 10 gånger starkare än stål och 1-2 gånger styvare (axiellt) än diamant (Walters et al., 1999; Yu et al., 2000) och räknas som ett av de starkaste materialen. Dess goda mekaniska egenskaper kommer från de starka kovalenta bindningar (sp² hybridiser) som binder samman kolatomerna i grafenstrukturen. Radiellt är kolnanorören relativt mjuka och kan lätt deformeras. En studie har visat att van der Waalskrafterna från intilliggande kolnanorör är tillräckligt för att deformera rören (Ruoff et al., 1993). Radiellt är de mycket flexibla och kan böjas flera gånger upp till 90° utan att skadas.

3.1.1. Kolnanorör som kompositmaterial

Mycket forskning har gjorts på användning av kolnanorör som kompositmaterial, speciellt för plastkompositer. Man vill på detta sätt i första hand utnyttja rörens mekaniskt fördelaktiga egenskaper men även deras förmåga att ändra polymerers termiska och elektriska egenskaper (Thostenson et al., 2001; Harris, 2004). Idag dominerar denna applikation användningen av kolnanorör inom industrin mängdmässigt. Utöver polymerer har rören föreslagits för att användas i flera andra kompositmaterial. Två exempel är keramiska material och i metallkompositer.

Ett problem med kolnanorör som kompositmaterial har varit att dessa inte riktigt fäster i materialet utan tenderar vid sprickbildning att lossna från materialet och dras ur istället för att gå av. Detta gör att rörens egenskaper inte till fullo utnyttjas (Harris, 2004).

Kolnanorör i polymerer ändrar även polymerens termiska egenskaper liksom de elektriska (Kymakis et al., 2002). Enligt Harris (2004) har den största arbetsinsatsen tidigare gjorts för att exploatera de mekaniska egenskaperna hos kolnanorör snarare än de elektriska egenskaperna, men elektriska egenskaper ses nu med ett ökat intresse. Om vi till fullo skulle kunna utnyttja rörens unika egenskaper i kompositmaterial skulle detta ge oss ett material som är både lätt, starkt, styvt och termiskt och elektriskt ledande.

¹ Bulkdensitet: egenskap hos pulver, granulat och andra finfördelade fasta ämnen. Bulkdensiteten definieras som massan av partiklar av materialet delat med den volym som partiklarna upptar (Wikipedia, September 2010).

3.2 Elektriska egenskaper

Kolnanorör finns både som elektriskt ledande och som halvledare. De elektriska egenskaperna hos rören bestäms främst av deras kirala vinkel, men för rör av liten diameter även av ytans kurvatur (Lu and Chen, 2005). Teoretiskt sett kan metalliska kolnanorör leda ström med 1000 gånger högre densitet än metaller såsom koppar. Den elektriska resistansen hos rören bestäms av kvantmekaniska fenomen och är oberoende av rörens längd.

Applikationerna för användningen av kolnanorör som elektrisk komponent är många. T.ex. skulle dioder kunna produceras genom att sammanfoga SWCNT av olika elektriska egenskaper (Chico et al., 1996). Det har även visat sig att de elektriska egenskaperna hos rören ändras vid deformation och sträckning. Detta ökar ytterligare potentialen för användningen av kolnanorör i elektromekaniska komponenter såsom sensorer (Mahar et al., 2007).

3.3 Kemiska egenskaper

Som beskrivits i tidigare kapitel består kolnanorör av kolatomer vilka är bundna i ett hexagonalt mönster. Dessa bygger upp grafenlager vilka är ihoprullade till långa tuber. Dessa tuber är relativt stabila och kan hettas upp till över 500 °C innan de oxideras och brinner upp (Zhang et al., 2002). Ju mindre diameter, desto mer reaktiva är de. Bulkprover av kolnanorör innehåller dock inte endast kolnanorör utan, beroende på tillverkningsprocedurer, även en rad orenheter i varierande halter. Dessa kan klassificeras i fem olika grupper (Donaldson et al., 2006):

- | | | |
|----------------------------|---|------------|
| 1) SWCNT | } | Kolnanorör |
| 2) MWCNT | | |
| 3) Metaller | } | Rester |
| 4) Stödmaterial | | |
| 5) Kol och organiska ämnen | | |

Vid produktion av kolnanorör använder man ofta metaller som katalysatorer. De vanligaste är järn, nickel, kobolt and molybden, av vilka bl.a. nickel och kobolt är allergiframkallande. Vid tillverkning av SWCNT är dessa katalytiska metaller nödvändiga, och produktion av dessa resulterar ofta i ett material med högre metallinnehåll än MWCNT. Vid tillverkningen används även stödmaterial såsom aluminium, manganoxid eller kisel.

Den sista gruppen (grupp 5) kan delas upp i två undergrupper i) organiska molekyler och ii) olika former av kol såsom sotpartiklar, fullerener eller grafit (Lam et al., 2006). Graden och typen av orenheter beror på produktions- och reningsmetod. Generellt tenderar gasfasmetoder att generera kolnanorör med mindre grad av orenheter och anses även vara lättare att skala upp. Produktionsmetoder diskuteras vidare i senare kapitel. Produktspecifikationer för Baytubes® kolnanorör anger en renhetsgrad på >95% (massa), medan det för andra kommersiella produkter anges renhetsgrad från

>60% och upp till >99% (www.cheaptubes.com, 2011-11-11). I toxikologiska studier bör effekten av orenheter i de bulkprover man använder övervägas då vissa orenheter i så låg mängd som 1 % kan vara toxiska i sig själv.

3.4 Reningsprocesser

En kritisk punkt när det gäller att skala upp produktion av kolnanorör för vissa applikationer med höga krav på specifikation och homogenitet är renhet och sortering av kolnanorör. Detta är viktigt även för att designa toxikologiska tester för djupare förståelse av mekanismen bakom rörens toxicitet.

Det finns idag flera olika typer av reningsmetoder, men ännu återstår en hel del förbättringsarbete bl.a. för att kunna skala upp produktionen (Liu et al., 1998, Barkauskas et al., 2010). Även om metallkatalysatorn till hög grad kan renas bort från bulkmaterialet kvarstår ändå signifikanta mängder (Donaldson et al., 2006). Eftersom reningsprocesserna i sig kan skada kolnanorören, måste omfattningen av reningen balanseras mot att man genom den även introducerar orenheter i produkten i form av skadade kolnanorör. T.ex. innehåller ofta ultrarena prover av kolnanorör defekter i form av karboxylgrupper (Donaldson et al., 2006). En annan anledning till att SWCNT hittills används för relativt få kommersiella applikationer, trots den stora potential som finns i materialet, är att bulkmaterialet för många ändamål inte är tillräckligt uniformt (Hersam, 2008). För att övervinna detta har mycket arbete lagts ner på att utveckla renings-/sorteringsprocesser.

Det finns i princip två huvudtyper av reningsprocesser: 1) för att sortera bort orenheter samt 2) selektiva metoder för att ge ett mer homogent prov av kolnanorör med avseende på t.ex. diameter, längd eller elektriska egenskaper. Amorf sot, metallrester och stödmaterial tvättas ofta bort med ultraljudsbad i kombination med syror eller baser. Vissa typer av orenheter såsom kisel eller aluminium, kräver dock starka syror. För att undvika att utsätta kolnanorören för dessa mer destruktiva reningsmetoder använder man i allt högre grad stödmaterial som löses upp i mildare syror (t.ex. magnesiumoxid). Andra typer av reningsprocedurer är magnetisk rening, funktionalisering och mikrofiltrering. Ofta används kombinationer av olika metoder.

För att generera ett mer homogent material kan kromatografiska metoder användas för att separera rör av samma längd och diameter. Den metod som med högst upplösning kan separera rör av olika längd ger en upplösning på <10% (Huang et al., 2005). Kolnanorör av olika diametrar kan även separeras med hjälp av "density-gradient ultracentrifugation" (DGU), (Hersam, 2008). Många typer av applikationer kräver dock rör av ännu högre homogenitet än vad som kan genereras med DGU, vilka ställer högre krav på sorteringsprocedurer. Exempel på detta kan vara olika typer av elektroniska komponenter vilka kräver att ledande kolnanorör sorteras från halvledande (Hirsch and Vostrowsky, 2005). Andra applikationer kräver sortering av rör efter kiral vinkel.

Det existerar idag metoder som gör det möjligt att sortera kolnanorör efter ledningsförmåga, men ännu inte för massproduktion. En metod som man tror har stor potential bygger just på DGU (Arnold et al., 2006). Med metoden sorteras rör av olika kiral

vinkel och är baserad på att rör av olika kiral vinkel har olika densitet. En annan lovande metod för separation av SWCNT bygger på att infrysning av provet, upptining och kompression av kolnanorören inbäddade i en gel av agarose (Tanaka et al., 2009a). Separation av SWCNT kan även göras med kromatografiska metoder (Tanaka et al., 2009b). Även sortering av kolnanorör med avseende på kiral vinkel har demonstrerats (Tu et al., 2009).

3.5 Funktionalisering

Rena kolnanorör är mycket svåra att finfördela i både vatten och andra organiska media. Detta har försvårat användningen som kompositmaterial. Genom funktionalisering av rören kan deras egenskaper ändras och kan på så sätt göras vattenlösliga (Hirsch and Vostrowsky, 2005). Även rörens mekaniska och elektriska egenskaper kan ändras genom funktionalisering.

Funktionalisering delas ofta upp i tre huvudtyper: kovalent, exohedral icke-kovalent och endohedral icke-kovalent. Kovalent funktionalisering bygger på att funktionella enheter binder in med kovalenta bindningar till rören, medan icke-kovalent funktionalisering bygger på andra typer av bindningar, såsom van der Waalskrafter eller π -bindningar. Vid icke-kovalent funktionalisering kan atomer eller molekyler bindas både till rörens insida och utsida. Fördelen med icke-kovalent funktionalisering är att rörens stabila struktur bevaras. Denna typ av funktionalisering har föreslagits för icke destruktiva reningsmetoder av rören och kan användas för att göra rören lättare att dispergera i vatten.

Då det är kolnanorörens yta som till stor del påverkar den biologiska interaktionen har rörens funktionalisering antagligen stor effekt på vilken biologisk respons exponering ger (Sayes et al., 2006). Detta utnyttjas bl.a. vid medicinska tillämpningar såsom bildiagnostik eller vid administrering av läkemedel (Kostarelos et al., 2009). Intresset för att använda kolnanorör i terapeutiska syften, som t.ex. bärare av läkemedel eller som kontrastmedel för röntgen, har ökat på senare år. Mycket av den forskning som sker på celler och djur syftar till just detta. I denna rapport beaktas inte dessa tillämpningar i någon högre grad då det handlar om en speciell kategori av kolnanorör som ofta är ytmodifierade och funktionaliserade med molekyler (läkemedel) som inte har tillämpningar inom andra områden, som t.ex. ytbeläggningar eller i kompositmaterial. I avsnitt 8. Tokikokinetik beskrivs dock hur vissa typer av dessa funktionaliserade kolnanorör beter sig i kroppen efter en intravenös injektion

3.6 Utmaningar för toxikologiska studier

Kolnanorör kan produceras med flera olika metoder, vilka vid en första anblick genererar liknande material. Vid en närmare granskning kan materialen dock skilja sig väsentligt åt vad gäller kristallstruktur, morfologi och innehåll av restprodukter från produktionsmetoden (ENHRES, 2009) – egenskaper som kan vara avgörande för rörens toxicitet. För att kunna tolka observerade biologiska effekter bör därför toxikologiska studier innehålla en detaljerad beskrivning av de fysikaliska och kemiska egenskaper som kan vara relevanta för den biologiska responsen.

En annan relevant frågeställning i toxikologiska studier är om kolnanorörens fysiska egenskaper i exponeringsstudien är de samma som dem vi förväntar vid en verklig exponeringssituation. Exempel på detta är om kolnanorören inhaleras som enskilda rör som knippen av flera rör, eller ihoprullade till större nystan. Till exempel har nystan eller aggregat ofta en större aerodynamisk diameter än enskilda rör och kommer därför att i större grad fastna i de övre luftvägarna där andra mekanismer transporterar bort eller bryter ner rören än de i t.ex. alveolerna. Att suspendera kolnanorör till luftburet tillstånd på ett kontrollerat och reproducerbart sätt är ett problem vid toxikologiska inhalationsstudier. Detta gör att andra modeller för lungdeponering istället tillämpas, så som intracheal instillation eller aspiration. Detta diskuteras vidare i senare kapitel. Aggregeringstillståndet har inte bara effekt på var i lungan kolnanorören deponeras utan även på det biologiska svaret (Mercer et al., 2008; Shvedova et al., 2005). Endast ett fåtal av de toxikologiska studierna har gjorts som inhalationsstudier och endast ett fåtal metoder för suspension av kolnanorör till luft för detta ändamål har utvecklats. Två metoder som använts vid suspension av kolnanorör till luft är att spraya upp droppar av en lösning med kolnanorör och torka ut vätskan så att endast rören kvarstår (Lee et al., 2010) eller direkt genom att suspendera ett pulver (Maynard et al., 2004).

4. Inhalation och lungdeposition

Vi kan påverkas av nanopartiklar genom flera olika exponeringsvägar såsom inandning, hudkontakt och nedsväljning. För arbetsplatsexponering av kolnanorör är inhalation den exponeringsväg som här identifierats som den viktigaste. Vi exponeras dagligen för mer eller mindre höga halter av ultrafina partiklar genom luften vi andas. Att vissa typer av partiklar av denna storleksordning kan vara skadligt är inget nytt, utan har visats i flera studier av partiklars toxicitet (Donaldson et al., 2005). Mest bekant är för de flesta exponeringen för asbest (Donaldson et al., 2010).

Kolnanorörens fiberliknande struktur har gjort att man dragit paralleller till asbestfibrer och deras kända toxikologiska effekter. Men det är ännu oklart hur långt denna parallell är hållbar. De egenskaper som man enligt fiberparadigmet ser som kritiska för asbestfibrer är i) att dimensionerna och storleken på fibrerna gör att de kan följa med luftströmmen långt ner i lungan vid en inhalation och deponeras i den alveolära regionen, ii) att de är tillräckligt långa och styva för att makrofagerna inte lyckas fagocytera (innesluta och föra bort/bryta ner) och rensa bort dem samt iii) att de är biopersistent (Donaldson et al., 2006).

De huvudsakliga mekanismerna genom vilka partiklar deponeras i lungorna är impaktion, sedimentation, diffusion och interseption. Fibrer med diameter ≤ 100 nm har ofta en aerodynamisk diameter på ≤ 400 nm (Gross, 1981) och eftersom fiberliknande partiklar tenderar att linjera sig parallellt med ett luftflöde kan de, trots sin längd, transporteras långt ner i lungan där de slutligen deponeras. Depositionen sker på grund av interseption vilken ökar med ökad fiberlängd (Lippmann, 1990). I den nedre delen av lungan står makrofagerna för den huvudsakliga borttransporten av deponerade icke-lösliga partiklar. Makrofagerna är i storleksordningen 10-20 μm och

har svårigheter att transportera bort fibrer av och över denna storlek (Donaldson et al., 2010).

5. Förekomst, tillverkning och användning

5.1 Förekomst

Kolnanorör förekommer i naturen och bildas t ex naturligt vid eldning och finns i sot. Sedan upptäckten av kolnanorör tillverkas dessa och blandas i plaster, gummi, kompositmaterial för att göra dessa lättare eller starkare (Lam et al., 2006). Av nanokompositmaterial, som innehåller mellan 1-10% kolnanorör, tillverkas delar till bilar och flygplan, vindkraftsblad samt sportutrustning såsom tennisracket, hockey- och golfklubbor, cyklar, cykelskor, skidor, dartpilar och basebollslagträn (Hussain et al., 2006; Köhler et al., 2008; Sass et al., 2008; Thomas et al., 2009; KEMI, 2009). På marknaden finns också mobiltelefoner och bärbara datorer med uppladdningsbara litiumjonbatterier innehållande kolnanorör (Köhler et al., 2008; iRAP, 2011). Kolnanorör finns även i bottenfärger till båtar (Nanocyl, 2010). I framtiden kommer kolnanorör att användas inom många fler områden t ex i tyger, byggnadsmaterial, elektronik, energisystem och medicinska applikationer (Bhushan, 2004; Aitken et al., 2006; Schneider et al., 2007; Endo et al., 2008; Köhler et al., 2008; Kostarelos et al., 2009). I dagsläget pågår fortfarande forsknings- och utvecklingsarbete inom dessa områden. Värdemässigt predikteras elektronik vara den viktigaste kolnanorörproduktgruppen, medan användningen i kompositmaterial i bilar kommer att stå för de stora volymerna (KEMI, 2009).

5.2 Tillverkning

Den globala produktionen av kolnanorör 2006 beräknades vara 300 ton av MWCNT och sju ton av SWCNT (WTEC, 2007). 2007 fanns det ca 35 tillverkare av MWCNT i världen (KEMI, 2009). I dagsläget finns minst 42 leverantörer av kolnanorör enligt en hemsida på Internet (www.nanotube-suppliers.com), som gemensamt upprättats av tillverkare och säljare av kolnanorör. Den globala produktionskapaciteten för kolnanorör idag är över 2,5 ton/dag (ENHRES, 2009) och ca 710 ton kolnanorör förväntats ha producerat under 2010, vilket motsvarar ungefär 17% av produktionskapaciteten (iRAP, 2011). Den faktiskt produktionen av kolnanorör förutspås bli mer än 9300 ton år 2015 (iRAP, 2011). Produktionskapaciteten för både SWCNT och MWCNT är 2-3 gånger högre i Asien jämfört med Europa och USA tillsammans, se tabell 1. (WTEC, 2007; iRAP, 2011). Japan är världsledande på produktion av MWCNT, men Kina och Korea kommer snabbt i kapp (iRAP, 2011). I Japan är det användningen av MWCNT i litiumjonbatterielektroder som har drivit upp produktionsvolymerna (iRAP, 2011). Nordamerika verkar fokusera mer på forskning och tillverkning av SWCNT (WTEC, 2007). I tabell 2 redovisas vilka länder som har företag som producerar kolnanorör samt deras produktionskapacitet. I Norden finns bara ett norskt företag som tillverkar MWCNT (Schneider et al., 2007; KEMI, 2009). På minst tre

företag i Sverige pågår forsknings- och utvecklingsarbete med kolnanorör i kompositmaterial till framför allt flygindustrin (Schneider et al., 2007; personlig kommunikation med P Fernberg).

Kolnanorör tillverkas vanligtvis med tre olika tekniker, chemical vapour deposition (CVD), arch discharge och laser ablation.

Tabell 1. Den globala produktionskapaciteten för SWCNT respektive MWCNT (WTEC, 2007).

Världsdel	Produktionskapacitet	
	SWCNT (kg/år)	MWCNT (ton/år)
Nordamerika	1457	74
Europa	100	27
Asien	5302	170
Total kapacitet	6859	271

Tabell 2. Tillverkare av kolnanorör samt deras produktionskapacitet (enligt www.nanotube-suppliers.com samt WTEC, 2007).

Världsdel	Land	Antal företag	Typ av kolnanorör som tillverkas		Produktionskapacitet	
			SWCNT	MWCNT	SWCNT (kg/år)	MWCNT (ton/år)
Europa	Belgien	1	Ja	Ja		400
Europa	Cypern	1	Nej	Ja		0,2 ^a
Europa	Frankrike	2	Nej	Ja		
Europa	Grekland	1	Ja	Ja		1
Europa	Storbritannien	1	Ja	Ja		
Europa	Tyskland	2	Ja (1 st)	Ja (2 st)	~25 ^b	~5 ^b -200
Europa	Österrike	1	Ja	Ja		5-10
Nordamerika	USA	21	Ja (17 st)	Ja (16 st)	12-600 ^c	10-50 ^c
Nordamerika	Kanada	4	Ja (4 st)	Ja (2 st)	720 ^d	
Asien	Kina	5	Ja (4 st)	Ja (5 st)	~25-500 ^b	~0,6-10 ^b
Asien	Korea	1	Ja	Ja	2,4	10
Asien	Japan	5	Ja (3 st)	Ja (2 st)	600-1500	30-100
Asien	Indien	1	Ja	Ja		
Asien	Taiwan	1	Nej	Ja		

^a Produktionskapaciteten ökas inom kort till ca 10 ton/år

^b Produktionskapaciteten har räknats om eftersom den var angiven per dag

^c Uppgifterna för produktionskapacitet är ej kompletta då dessa saknades för en del tillverkare

^d Endast en tillverkare har angivit produktionskapacitet

5.2.1 Chemical vapour deposition

CVD är den vanligaste och mest använda tillverkningstekniken beroende på dess låga uppstartskostnad, höga utbyte, renhet samt att den med lätthet kan utökas. CVD baseras på termisk nedbrytning av gasformigt kolväte i närvaro av en metallkatalysator till exempel järn, kobolt, nickel eller ytterium. Kolinnehållande gaser såsom koldioxid, metan eller acetylen leds till en ugn för upphettning. Den upphettade gasen reagerar med metallkatalysatorn, som också fungerar som "tillväxtkärna". Även etylen, bensen eller xylen kan användas vid tillverkningen. Med CVD kan både MWCNT och SWCNT produceras, men kvaliteten är högre på MWCNT. En industriell variant av CVD är HiPCO och används för att massproducera kolnanorör. Kommersiellt tillgängligt råmaterial av kolnanorör kan innehålla stora mängder föroreningar; upptill 40% och dessa består av amorf kol, nanografitstrukturer samt kolinneslutna metallpartiklar från katalysatorn (Köhler et al., 2008).

5.2.2 Arc discharge

Arc discharge-tekniken var den teknik som användes då kolnanorören först upptäcktes (Iijima, 1991). Tekniken bygger på att man lägger ett tillräckligt högt spänningsfält över två grafitstavar – en anod och en katod – för att det ska bildas en stabil bågurladdning mellan stavarna. Kolnanorören växer på katoden medan anoden konsumeras. Avståndet mellan katod och anod hålls konstant genom att anodens position justeras. Hela processen sker i heliumgas. För att producera SWCNT dopas elektroderna med en liten mängd metallpartiklar som agerar katalysator (Thostenson et al., 2001; Journet et al., 1997; Shi et al., 2000). Diametern på kolnanorören som genereras bestäms av metallkatalysatorn (Shi et al., 2000; Popov 2004). Den exakta processen varierar med storlek och form på grafitstavarna, dopning m.m. Generellt genererar denna metod kolnanorör av hög kvalitet och har fördelen att det är en relativt billig metod, men har den stora nackdelen att mängden orenheter är hög (Donaldsson et al., 2006).

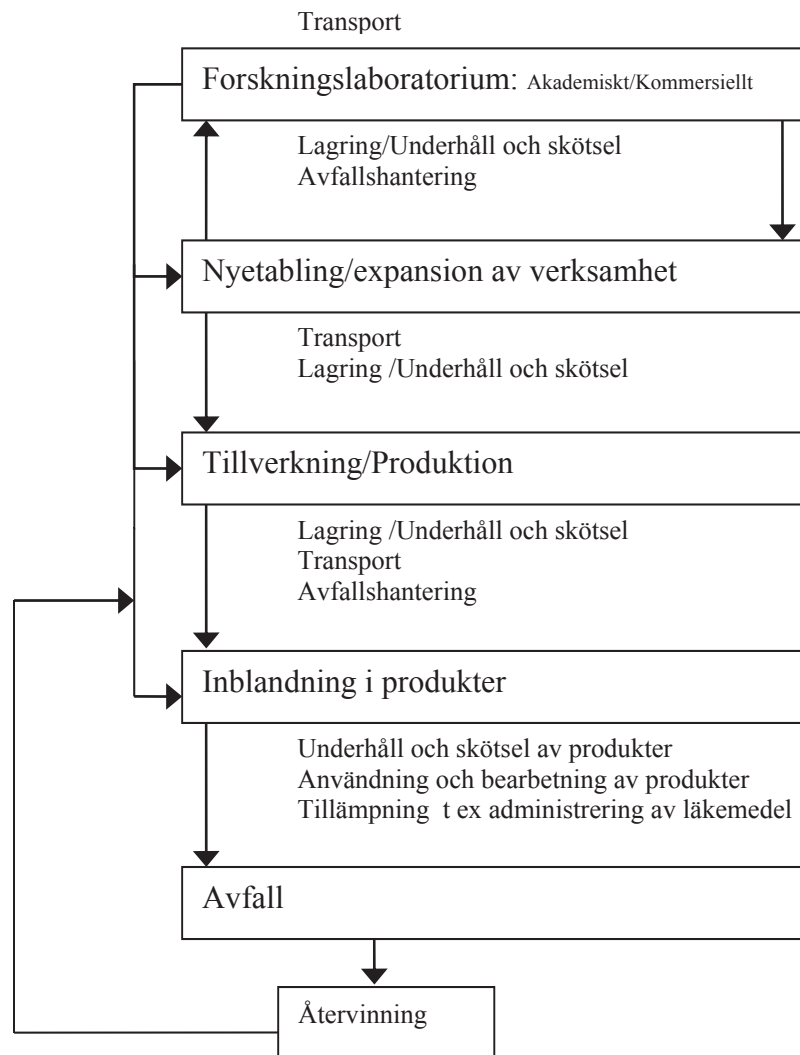
5.2.3 Laser ablation

Laser ablation är en teknik som introducerades för produktion av kolnanorör av Smalley och medarbetare (Guo et al., 1995a). Liksom arc discharge-tekniken användes tekniken till att börja med endast för att generera MWCNT, men har sedan upptäckten förfinats genom bl.a. införandet av katalyspartiklar (kobolt och nickelblandningar) och kan idag användas även för produktion av SWCNT (Guo et al., 1995b; Rinzler et al., 1998; Thostenson et al., 2001). Vid laser ablation hålls ett grafitmål vid 1200 °C i en kammare. Laserpulser av hög energi används för att förångas grafitmålet och kolnanorören växer på ett kylt mål i kammaren allteftersom det förångade kolet kondenserar. Allt sker i en atmosfär av en inert gas, ofta argon, vilken sakta flödar genom kammaren. Om målet består av ren grafit genereras MWCNT och för att producera SWCNT dopas grafiten med kobolt eller nickel (Thostenson et al., 2001; Dai et al., 2002). Diametern på de SWCNT kontrolleras av reaktionstemperaturen.

5.3 Förekomst i arbetsmiljön

Yrkesmässig exponering för kolnanorör kan i princip ske vid alla steg i dess livscykel, se figur 2. I dagsläget kan yrkesmässig exponering för kolnanorör förekomma vid tillverkning av råmaterial av kolnanorör, forsknings- och utvecklingsarbete på laboratorier, tillverkning och bearbetning av produkter innehållande kolnanorör samt troligtvis också vid återvinning och avfallshantering av dessa. Framtida användningsområden för kolnanorör till exempel inom sjukvården vid administrering av läkemedel

eller bilddiagnostik, kan också potentiellt ge yrkesmässig exponering för dem som tillverkar och administrerar detta (Kostarelos et al., 2009; Aschberger et al., 2010).

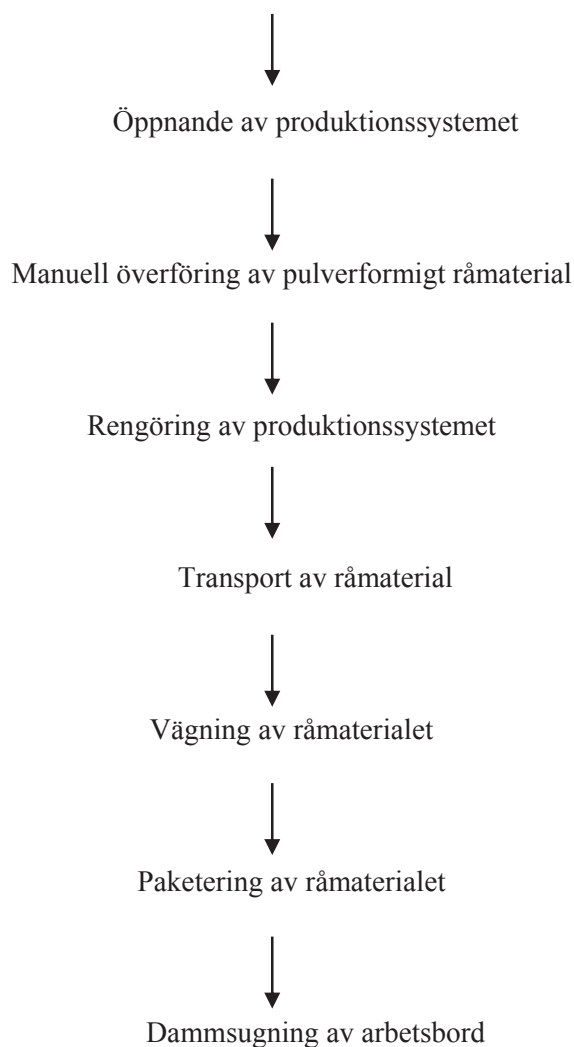


Figur 2. Potentiell livscykel för kolnanorör med angivna steg vid vilka yrkesmässig exponering kan ske.

5.3.1 Yrkesmässig exponering vid tillverkning av kolnanorör

Vid tillverkning av kolnanorör används vanligtvis slutna produktionssystem, och därför förväntas ingen yrkesmässig exponering för kolnanorör ske under själva syntetiseringsfasen vid kommersiell produktion, utan exponeringen sker troligtvis vid de efterföljande faserna (Aschberger et al., 2010). Under utvecklingsfasen av kolnanorör är det troligt att materialet produceras under strikt kontrollerade förhållanden och vanligtvis i väldigt små volymer (Aschberger et al. 2010). De olika arbetsmomenten för att tillverka kolnanorör beskrivs i figur 3. Flera tillverkningscykler kan göras varje arbetsdag, upptill 5 finns beskrivet i litteraturen (Lee et al., 2010).

Beredning av katalysator dvs. uppvägning och placering av denna i produktionssystemet



Figur 3. Arbetsmoment vid tillverkning av kolnanorör

Emission av kolnanorör och därmed exponering för kolnanorör kan ske när man öppnar huven till det slutna produktionskärlet (Lee et al., 2010). Även när man tar hand om det producerade kolnanorörpulvret genom t ex manuell överföring från produktionskärlet (Figur 4) kan exponering ske (Maynard et al., 2004; Aschberger et al., 2010). Det finns beskrivet att man innesluter produktionskärlet i någon form av renrumsinneslutning då man gör den manuella överföringen av råmaterialet (Maynard et al., 2004). Vidare kan hantering såsom vägning (Figur 5) och paketering av råmaterial också ge exponering för kolnanorör. De högsta exponeringarna sker troligtvis när man hanterar torrt, pulverformigt kolnanorörmaterial (Aschberger et al., 2010). Rengöring, städning och underhåll av utrustning och arbetsplatsen kan också ge exponering för kolnanorör (Helland et al. 2007; Köhler et al. 2008; Aschberger et al., 2010). Även avfallshantering av t ex material från ventilationssystem kan ge en potentiell exponering för kolnanorör (Köhler et al., 2008).



Figur 4. Manuell överföring av kolnanorör från produktionskärlet (med tillstånd av PA Schulte, National Institute for Occupational Safety and Health [NIOSH]).

5.3.2 Yrkesmässig exponering vid laboratoriearbete

Nedan kommer beskrivning av typiska arbetsmoment som råmaterial av kolnanorör genomgår och som kan orsaka yrkesmässig exponering. Råmaterialet måste renas och dessa reningsprocesser inkluderar arbetsmoment såsom vägning, sonikering med ultraljudsbad och kemisk behandling med syror. Även efterbehandlingar såsom blandning, skakning, torkning, paketering, dispersion (blandning av kolnanorör i vätska) och funktionalisering, som inkluderar flera steg av sonikering, görs (Helland et al., 2007; ENRHES, 2009; Aschberger et al., 2010; Methner et al., 2010). Det är vanligt att kolnanorör är i suspension för att lättare kunna administreras i experimentella modeller (Johnson et al., 2010). Andra arbetsmoment som görs på laboratorier kan t ex vara framställning av tunn kolnanorörfilm genom att spraya dispergerade kolnanorör på kiselplattor, som sedan upphettas under 10 min (Han et al., 2008; Lee et al., 2010). Sprejningen kan göras i någon form av skyddande inneslutning från vilken det sedan kan emitteras kolnanorör då skyddet öppnas (Lee et al., 2010).

Det finns studier som indikerar att laboratoriepersonal kan ha en ökad risk för exponering för kolnanorör speciellt för funktionaliserade (Johnson et al., 2010).



Figur 5. Vägning av MWCNT (med tillstånd av PA Schulte, NIOSH)

5.3.3 Yrkesmässig exponering vid bearbetning av produkter innehållande kolnanorör

I litteraturen finns än så länge endast beskrivet tillverkning av litiumjonbatterier innehållande kolnanorör (Köhler et al. 2008) och bearbetning av kolnanorör-innehållande kompositmaterial med såg respektive borr (Bello et al., 2009, 2010). Vid batteritillverkningen kan potentiell emission av kolnanorör till arbetsmiljön ske vid varje tillverkningssteg (mekanisk malning av kolnanorör, beredning av elektrodmaterial, montering av elektroder, upplindning av elektroder) tills dess litiumjoncellen är försluten. Andra potentiella källor för emission av kolnanorör kan vara avfall från produktionen eller kontaminerade ytor på arbetsplatsen (Köhler et al., 2008). Mekanisk bearbetning genom sågning eller borrar i kompositlaminat innehållande kolnanorör kan också frigöra kolnanorör. Än så länge är det endast visat att kluster av aggregerade kolnanorör emitteras och därmed ge luftburen exponering (Bello et al., 2009, 2010).

6. Möjligheter att mäta exponering i arbetsmiljön

6.1 Luftexponering

Traditionella yrkeshygieniska mätningar av partiklar i luft är baserade på om partiklarna är fibrösa eller ickefibrösa. Fibrösa partiklar mäts som antal per volymenhet (fiber/cm³), för ickefibrösa partiklar bestäms massa per volymenhet (mg/m³). För kolnanorör vet man i dagsläget inte vilken måttenhet vid luftmätningar som bäst korrelerar mot de toxikologiska effekterna (Savolainen et al., 2010). Nedan kommer en beskrivning av de exponeringsmätningar som har gjorts på arbetsplatser där kolnanorör tillverkades, hanterades och användes. För att bestämma den yrkesmässiga exponeringen för kolnanorör mätte man totaldamm, respirabelt damm, respirabel fiberkoncentration eller antal kolnanorör i luften.

6.1.2 Bestämning av totaldamm

För att provta kolnanorör användes "open-face" filterkassett med "mixed cellulose ester" (MCE) filter (Han et al., 2008; Lee et al., 2010) eller "methyl cellulose ester"-filter för metaller (Maynard et al., 2004). Både stationära provtagningar och personburna provtagningar i andningszonen gjordes för totaldamm. Koncentrationen av kolnanorör i luft bestämdes genom gravimetrisk analys. Inga detektionsgränser (limit of detection, LOD) finns rapporterade. I en studie bestämde man järn- och nickelinnehållet på filterna med induktivt kopplad-plasma masspektrometri (ICP-MS) som surrogat för kolnanorörmassa (Maynard et al., 2004). LOD för järn och nickel var 0,064 µg respektive 0,018 µg.

6.1.3 Bestämning av respirabelt damm

En studie har även gjort personburna provtagningar av både respirabelt damm och totaldamm, men provtagningsmetoderna är inte angivna (Takaya et al., 2010).

6.1.4 Bestämning av respirabel fiberkoncentration

Provtagning av respirabel fiberkoncentration gjordes genom att suga luft genom en filterkassett (utrustad med elektriskt ledande 50 mm mellanring) för asbest med MCE-filter (Bello et al., 2008, 2009, 2010). I dessa studier gjordes dels en bestämning av respirabel fiberkoncentration (längd > 5µm och längd-breddförhållande > 3:1) med faskontrastmikroskop enligt NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM) metod 7400 (LOD ~ 250 nm i diameter; Schulte et al., 2010), och dels en bestämning av respirabla kolnanorör med svepelektronmikroskop (SEM).

6.1.5 Bestämning av antal kolnanorör

Provtagning av antalet kolnanorör gjordes genom att suga luft genom en filterkassett (utrustad med elektriskt ledande 50 mm mellanring) för asbest med MCE-filter (Han et al., 2008). Filterna analyserades med transmissionselektronmikroskop (TEM) enligt NIOSH NMAM metod 7402 (Han et al., 2008). Metodens LOD var <0,01 fiber/cm³.

6.1.6 Karaktärisering med aerosolinstrument

Den yrkesmässiga exponeringen för kolnanorör har också karaktäriserats genom att mäta andra parametrar än massa eller antal respirabla fibrer. På arbetsplatser med förekomst av kolnanorör (tillverkare, laboratorier för forskning och utveckling) har man mätt antalskoncentration, storleksfördelning, ytarea, morfologi, storlek och kemisk sammansättning (Maynard et al., 2004; Bello et al., 2008, 2009, 2010; Yeganeh et al., 2008; Bello et al., 2009; Methner et al., 2010; Johnson et al., 2010; Lee et al. 2010). Mätningarna har vanligen gjorts stationärt, men i två studier provtogs även luft i andningszonen (Bello et al., 2009, 2010). I tabell 3 presenteras en sammanställning över de olika direktvisande aerosolinstrument som har använts för att kartlägga kolnanorör i luften på olika arbetsplatser.

6.2 Hudexponering

Hittills har potentiell hudexponering för kolnanorör mätts genom att använda kontaminationen på handskar som surrogat för reell hudkontamination (Maynard et al., 2004). Genom att ta ett par bomullshandskar över de vanliga skyddshandskarna, kunde den potentiella hudexponeringen bestämmas. Bomullsvantarna togs av direkt efter avslutad hantering av kolnanorör och placerades i en försluten plastpåse. Handskarna analyserades med ICP-MS och järn och nickel bestämdes som surrogat för kolnanorörmassa. Metodens detektiongräns var för järn och nickel 0,016 µg respektive 0,046 µg.

6.3 Sammanfattning och diskussion

Karaktäristiskt för kolnanorörexponering är att massan är liten, men antalskoncentrationen av nanopartiklar är väldigt hög. Majoriteten av exponeringsmätningarna på olika arbetsplatser där kolnanorör tillverkas eller används har varit traditionella dammätningar. Vid dammätningar blir det en osäkerhet i resultatet eftersom man även kan provta andra partiklar (bristande specificitet). Även vid provtagning av respirabla fibrer får man en bristande specificitet då alla typer av fibrer provtas. Felet kan dock uppskattas genom karaktärisering av fibrerna med TEM/SEM/STEM. I två studier, i vilka man gjort exponeringsmätningar vid bearbetning av kompositmaterial innehållande kolnanorör, har man bestämt den respirabla fiberkoncentrationen med en metod (NIOSH NMAM 7400) som bara kan analysera respirabla fibrer som är i µm-storlek (Bello et al., 2009, 2010). Därmed kan inte enskilda kolnanorör eller agglomererade kolnanorör bestämmas. Man behöver enas om vilken mätmetodik som ska användas för att mäta yrkesmässig exponering för kolnanorör för att få tillförlig exponeringsdata. Hittills har olika mätmetoder använts, som har resulterat i exponeringsdata med olika enheter, vilket försvårar jämförelser. Exponeringsdata baserade på att respirabel fiberkoncentration eller antalet kolnanorör har bestämts med TEM/SEM/STEM-analys, t ex NIOSH NMAM metod 7402, bedöms vara mest relevant för kolnanorör, eftersom man då kan identifiera kolnanorören och på så vis säkerställa specificiteten. I dagsläget arbetar NIOSH med att validera om NIOSH NMAM metod 5040 för dieselpartiklar (analys av elementärt kol) kan användas även för att massbestämma kolnanorör, eftersom dessa är uppbyggda framför allt av kol (Methner et al., 2010a, 2010b). Provtagningen av kolnanorör skulle då göras med "open-face" filterkassetter med kvartsfilter (totaldamm bestämning) och sedan analyseras med termisk-optisk

analys med flamjonisationsdetektor (FID). Samtidig provtagning av "open-face" filterkassetter med MCE-filter (totaldamm bestämning) för TEM-analys (NIOSH NMAM 7402) skulle också behövas fortsättningsvis för att säkerställa specificiteten (Methner et al., 2010a).

Tabell 3. Sammanställning av de tekniker som använts för att karaktärisera luftburen kolnanorörexponering på arbetsplatser

Parameter	Tekniker	Mät- område	Detektionsgränser	Referenser
Antals- koncentration	Fast Mobility Particle Sizer (FMPS)	5,6-560 nm	Undre: ~100 partiklar/cm ³ vid 10 nm till ~ 10 partiklar/cm ³ vid 100 nm Övre: ~1000000 partiklar/cm ³	Bello et al., 2008, 2009, 2010
	Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS)	14-630 nm		Han et al., 2008; Yeganeh et al., 2008; Methner et al., 2010
	Aerodynamisk partikelräknare (APS)	0,5-20 µm	Övre: 10000 partiklar/cm ³	Bello et al., 2008, 2009, 2010; Han et al., 2008
	Kondensations-kärnräknare (CPC)	10-1000 nm	1-100000 partiklar/cm ³	Maynard et al., 2004; Bello et al., 2008, 2009; Methner et al., 2010; Johnson et al., 2010; Lee et al., 2010
	Kondensations-kärnräknare för ultrafina partiklar (UCPC)	14-500 nm >3 nm	0-100000 partiklar/cm ³	Lee et al., 2010
	Elektrisk lågtrycksimpaktor (ELPI)			Methner et al., 2010
	Optisk partikelräknare (OPC)		300-10000 nm	Övre: 70000 partiklar/cm ³
Storleks- fördelning	SMPS och differential rörlighet analys (DMA)	4-673 nm 14-673 nm 5-500 nm		Yeganeh et al., 2008; Han et al., 2008; Methner et al., 2010; Lee et al. 2010
	FMPS och APS			Bello et al., 2008, 2009, 2010
	UCPC	14-630 nm		Han et al., 2008
	Aersolspektrometer (Dust monitor)	0,25-32 µm		Lee et al., 2010
Ytarea Mass- koncentration	APS	0,5-20 µm		Han et al., 2008
	OPC	300-10000 nm		Maynard et al., 2004
	Aerosolfotometer (Dust Trak)	<2.5 µm	Övre: 100 mg/m ³	Yeganeh et al., 2008; Bello et al., 2009
	Aethalometer (mäter kimrök)			Han et al., 2008; Lee et al., 2010

Tabell 3. fortsättning

Parameter	Tekniker	Mät- område	Detektionsgränser	Referenser
Morfologi och storlek	Termoforetiskt filter (TP)	1- >100 nm		Bello et al., 2008, 2009, 2010; Methner et al., 2010; Johnson et al., 2010
	Elektrostatiskt filter (ESP)	1- >100 nm		Bello et al., 2008, 2009, 2010; Methner et al., 2010; Johnson et al., 2010
	Transmission elektronmikroskop (TEM)		Undre: 1 nm	Bello et al., 2008, 2009, 2010; Methner et al., 2010; Johnson et al., 2010
	Svepelektronmikroskop (SEM)			Maynard et al., 2004, Bello et al., 2008, 2009, 2010
	Sveptransmission elektronmikroskop (STEM)			Han et al., 2008
Kemisk sammansättning	Fotoelektrisk aerosolsensor (PAS)		Övre: 1000 ng/m ³	Yeganeh et al., 2008
	Energidispersiv röntgenanalys (EDX)			Han et al., 2008; Bello et al., 2009

7. Yrkesmässig exponeringsdata

I dagsläget finns det begränsat med yrkesmässig exponeringsdata för luftburna kolnanorör, se tabell 4. I ett par studier har luftmätningarna gjorts under vissa specifika arbetsmoment, t ex vid tillväxt av kolnanorör med CVD-teknik eller tömning av råmaterial från produktionskärl, och därför är provtagningstiden kort (0,5-1,5 h; Maynard et al., 2004; Bello et al., 2008). Luftprovtagning av totaldamm av kolnanorör har hittills gjorts på sju tillverkningsenheter, två förpackningsenheter och åtta laboratorier. Luftprovtagning av respirabel damm har gjorts på två förpackningsenheter. Respirabla fiberkoncentrationen har mätts på fyra laboratorier.

7.1 Masskoncentration

7.1.2 SWCNT

Endast en studie har undersökt yrkesmässig exponering för SWCNT (Maynard et al., 2004). På fyra amerikanska företag som tillverkade SWCNT gjordes personburen provtagning av totaldamm. Produktionskärnen placerades i renrumsinneslutningar och personburna mätningar gjordes under tiden (ca 30 min) som arbetaren tömde produktionskärlet. Halter av SWCNT uppmättes till mellan 0,7 och 53 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Det högsta toppvärdet från mätningar med direktvisande instrument (OPC) beräknades vara ca 1600 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ och uppmättes vid rengöring med dammsugare inuti renrumsinneslutningen (endast slangen var instucken i renrumsinneslutningen).

7.1.3 MWCNT

De flesta exponeringsmätningarna har hittills gjorts på arbetsplatser där man tillverkar och hanterar MWCNT. Flera mätningar visade totaldamhalter runt 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ eller lägre (Tabell 4). Den första exponeringsmätningen gjordes på tre forskningslaboratorier (Han et al., 2008). Här mättes före och efter installation av tekniskt arbetarskydd. Före installation bedömdes den personliga exponeringen variera mellan ej detekterbar (ND) och 332 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Efter installation av fläktar samt inkapsling uppmättes den personliga exponeringen till mellan ND och 31 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Även stationär provtagning gjordes med provtagaren placerad 3-4 m från arbetsstationen. Den stationära lufthalten var ND-435 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ före, respektive ND-39 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ efter installation av teknisk skyddsutrustning.

En annan studie gjorde exponeringsmätningar på 7 arbetsplatser som tillverkade eller hanterade MWCNT (Lee et al., 2010). Den uppmätta medelkoncentrationen av totaldamm bestämdes till 106 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ och 81 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ för personburna respektive stationärt tagna prover. Emission av nanopartiklar och fina partiklar skedde framför allt vid öppnandet av huven till tillväxtkammaren. Andra arbetsprocesser som kunde ge partikelemissioner var beredning av katalysator, sprejande, beredning av kolnanorör, dispersion med ultraljud, upphettning och öppnande av huv till vattenbad. Personburna mätningar av MWCNT gjordes på arbetare i två paketeringsenheter, varav en var manuell och en var automatiserad (Takaya et al., 2010). Den uppmätta bakgrundskoncentrationen av totaldamm var nästan densamma (240 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) i de två enheterna. De som arbetade med manuell paketering av kolnanorör var exponerade för luftkoncentrationer på 2390 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (totaldamm) och 390 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (respirabelt damm).

Vid den automatiserade paketeringsprocessen uppmättes halter på 290 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (totaldamm) och 80 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (respirabelt damm).

Från exponeringsdatan i tabell 4 är det möjligt att bedöma den personliga exponeringen för ett specifikt arbetsmoment eller exponeringssituation, se tabell 5. Arbetsmomenten med högst exponering var manuell paketering och blandning i öppet kärl. Även mekanisk bearbetning med bandsåg gav en hög exponering, men troligtvis består majoriteten av de uppmätta partiklarna av andra komponenter i kompositmaterialet, t ex epoxi, kolfiber och aluminium.

7.2 Respirabel fiberkoncentration

Den respirabla fiberkoncentrationen bestämdes vid mekanisk bearbetning av kompositmaterial innehållande kolnanorör till 1,6 fiber/ cm^3 vid sågning och 0,7-1,0 fiber/ cm^3 vid borrar (Bello et al., 2009; 2010).

7.3 Antal kolnanorör

På ett forskningslaboratorium gjordes personburna mätningar av respirabel fiberhalt vid tillverkning av kolnanorör (CVD-teknik) samt vid den efterföljande hanteringen av kolnanorörmaterialet, men inga enskilda fibrer eller fiberknippen i nanostorlek kunde detekteras vid analys (Bello et al., 2008). I en tidigare beskriven studie där man mätte den personliga exponeringen före, respektive efter, installation av teknisk skyddsutrustning uppmättes halter på 194 fiber/ cm^3 (före) och 0,02 fiber/ cm^3 (efter; Han et al., 2008). Vid mekanisk bearbetning genom sågning eller borrar i kolnanorörinnehållande kompositmaterial kunde inga enskilda, eller buntar av kolnanorör bestämmas (Bello et al., 2009, 2010).

Tabell 4. Exponeringsdata från arbetsplatser där man tillverkat och hanterat kolnanorör samt vid mekanisk bearbetning av kompositmaterial innehållande kolnanorör

Arbetsplats	Arbetsmoment	Typ av kolnanorör	Provtagning	Antal prover	Provtagnings- ningstid (h)	Damm- fraktion	Lufthalt		Provtagnings- metod	Referens
							Mass konc., µg/m ³ median (range)	Antal CNT, #/cm ³ median (range)		
4 tillverknings- enheter	Tömning av kolnanorör från produktionskärl	SWCNT	Person- buren	4	0,5	Total	23 (0,7-53)	N/A	Open-face filter- kassett ^a med metyl cellulose ester filter (25 mm)	Maynard et al., 2004
1 forsknings- laboratorium	Tillverkning	kolnanorör	Person- buren	1	1,5		N/A	ND	Filterkassett för asbest med MCE- filter (25 mm) ^{b,c}	Bello et al., 2008
1 forskningsenhet (med 3 laboratorier)	Tillverkning, blandning, malning, vägning, sprejning	MWCNT	Person- buren Stationär	8 10	4-6	Total	ND (ND-332) 37 (ND-435)	0,005 (ND-194) ND (ND-173)	Filterkassett med MCE- filter (35 mm) ^c	Han et al., 2008
1 forsknings- laboratorium	Mekanisk bearbetning av kolnanorör- komposit (sågning)	kolnanorör	Stationär	4			N/A	ND	Filterkassett för asbest med MCE- filter (25 mm) ^{b,c}	Bello et al., 2009
3 tillverknings- enheter 4 forsknings- laboratorium	Tillverkning, hantering	MWCNT	Person- buren Stationär		3-6,8	Total	106 (7,8-321) 81 (12,6-187) medel	N/A	Open-face filterkassett med MCE-filter (37 mm) ^b	Lee et al., 2010
2 förpacknings- enheter	Paketering	MWCNT	Person- buren	2 2		Total Respirabel	1340 (290-2390) 235 (80-390) medel	N/A	Provtagare PM _{4,0}	Takaya M et al., 2010

N/A: Ej tillgänglig; prov ej taget; ND: Ej detekterbart;

^aTillverkad av ledande material

^bMCE- mixed cellulose ester

^cUtrustad med elektriskt ledande 50 mm mellannring

Tabell 5. Olika arbetsmoment och personliga exponeringsnivåer för kolnanorör (maxhalter presenteras)

Exponeringssituation/Arbetsmoment	Personlig exponering för totaldamm ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Referenser
Tömning av produktionskär!	53	Maynard et al., 2004
Tillverkning	9,9	
Malning	ND ^a	Han et al., 2008
Sprejning med kolnanorör-innehållande lösning	ND	
	193	
Blandning	31	
	332	
Manual paketering	ND	
Automatiserad paketering	2390	Takaya et al., 2010
Mekanisk bearbetning (bandsåg)	290	
	2400	Bello et al., 2009

^aND = Ej detekterbar

7.4 Karaktärisering

7.4.1 Antalskoncentration och storleksfördelning

7.4.1.1 Tillverkningsenheter

Vid öppnandet av huven till tillväxtkammaren efter tillverkning av kolnanorör uppmättes halter av partiklar på 11 039 partiklar/cm³ (geometriskt medelvärde). Partiklarna hade en diameter på ca 20 respektive 50 nm (Lee et al., 2010). En annan studie visade ventilationens betydelse vid öppnandet av tillväxtkammaren, då man uppmätte 300 partiklar/cm³ med ventilation respektive 42 400 partiklar/cm³ utan ventilation (Methner et al., 2010). Även vid rengöring inuti renrumsinneslutningar som användes vid tömning av produktionskärlet uppmättes höga partikelkoncentrationer, upptill ~760 000 partiklar/cm³ (Maynard et al., 2004). Det finns också en studie som inte kunde påvisa några förhöjda halter av nanopartiklar varken vid tillverkning av kolnanorör eller vid hantering av dessa (Bello et al., 2008).

7.4.1.2 Forskningslaboratorier

Vid blandning av kolnanorörmaterial uppmättes koncentrationer på > 12 000 partiklar/cm³ med ett storleksområde mellan 14-630 nm (Han et al., 2008). Hantering av kolnanorör och fullerener i ett kommersiellt laboratorium resulterade i kortvarigt förhöjd antalskoncentration (Yeganeh et al., 2008). Vägning och funktionalisering av kolnanorör samt sonikering av kolnanorörinnehållande vatten ledde också till ökat antal partiklar i luften, upp till 2 776 partiklar/cm³ (Johnson et al., 2010). Vägning av kolnanorör utan ventilation samt sonikering av råmaterial av kolnanorör gav antalskoncentrationer upp till 1 580 respektive 2 800 partiklar/cm³ (Methner et al., 2010). Vid mekanisk bearbetning av kolnanorörkompositmaterial uppmättes de högsta halterna av partiklar (Bello et al., 2009, 2010). Antal uppmätta partiklar stationärt (10 cm ifrån källan) respektive i andningszonen vid sågning var 294 000 respektive 153 000 partiklar/cm³. Vid stationär provtagning nära källan (10 cm ifrån källan) vid borrning med hög respektive låg hastighet i kolnanorörinnehållande kompositmaterial uppmättes 11 000 000 respektive 3 900 000 partiklar/cm³ (maxvärden) Motsvarande partikelhalter i andningszonen var 1 300 000 (hög hastighet) och 2 900 000 (låg hastighet) partiklar/cm³. Storleksfördelningarna var polydispersiva vid sågning med maxima vid 12, 20, 230 ± 20 nm och 1 ± 0,1 µm (Bello et al. 2009).

7.4.2 Partikelmorfologi

Analys av filterprover insamlade vid tillverkning av SWCNT indikerade att partiklarna verkade ha en kompakt struktur (Maynard et al., 2004). Vid analys av MWCNT fann man en skiftande form, dvs. de förekommer både som enstaka kolnanorör, multipla strukturer (agglomererade) och ihopklumpade (Han et al., 2008). Man observerade även en maximal fiberlängd på 1,5 µm i denna studie. Filterprover från en tillverkningsenhet visade på avsaknad av kolnanorör (Bello et al., 2008). Även filterprover från ett laboratorium där man vägt och sonikerat råmaterial av MWCNT saknade typiska kolnanorörstrukturer (Johnson et al., 2010). Vid mekanisk bearbetning av kompositmaterial innehållande kolnanorör, fann man då man sågade varken enskilda kolnanorör, knippen av dessa, eller kolnanorör som var fästa på större partiklar (Bello et al., 2009). Vid borrning i samma material fann man däremot att kluster av kolnanoröraggregat emitterades (Bello et al., 2010). Storleken på dessa kolnanoröraggregat var i det respirabla storleksområdet (några µm).

7.5 Hudexponering

Vid tillverkning och hantering av kolnanorör, kan kolnanorör deponeras på huden om man inte har skyddskläder (Lam et al., 2006). Det finns ingen litteraturdata för hudupptag av kolnanorör (Crosera et al., 2006). Hittills har en studie undersökt den potentiella hudexponeringen för kolnanorör genom att analysera skyddshandskarna (Maynard et al., 2004). Depositionen av kolnanorör bestämdes till 0,2-6 mg/hand. I de flesta fall syntes kontaminationen på handskarna i slutet av provtagningsperioden, se figur 6. Den mesta kontaminationen av kolnanorör var inuti handen, på handflata och fingrar. Utifrån denna studie skulle hudexponeringen maximalt bli 12 mg/person (båda händerna) om man inte använde skyddshandskar. Genom att använda skyddshandskar kan det eventuella hudupptaget via händerna reduceras med 90% (ENHRES, 2009; Aschberger et al., 2010). Den maximala dagliga hudexponeringen bedömdes vara 14,3 µg/cm³ och dag (ENRHES, 2009) respektive 1,2 mg/person (Aschberger et al., 2010). Kolnanorör som tillverkades med HiPCO-tekniken gav högre grad av kontamination på handskar (Maynard et al., 2004). Oskyddade hudområden skulle också kunna bli exponerade beroende på att större klumpar av kolnanorör kan blir luftburna och stanna i luften under längre perioder (Maynard et al., 2004). Dessa klumpar kan deponeras på ytor, hud och skyddskläder. Hudexponeringen kan minimeras om man använder skyddshandskar i kombination med annan personlig skyddsutrustning såsom skyddskläder och andningsskydd.



Figur 6. Skyddshandskar kontaminerade med mycket fint kolnanorördamm (med tillstånd av A Maynard, NIOSH; Baron et al., 2003)

7.6 Sammanfattning och diskussion

Ett begränsat antal exponeringsmätningar har hittills gjorts på arbetsplatser där man tillverkar och använder kolnanorör. Både stationära och personburna mätningar i andningszonen har gjorts. Nivån på exponeringen beror framförallt på arbetsmoment och på hur effektivt det tekniska arbetarskyddet är. Högst yrkesmässig exponering för kolnanorör har uppmätts då man hanterar torrt kolnanorörmaterial. Det är viktigt att notera att den yrkesmässiga exponeringen för kolnanorör var högre på vissa arbetsplatser eftersom det saknades tekniskt arbetarskydd och dessa hade också sämre yrkeshygien. För att kunna göra riskbedömningar för kolnanorör behövs exponeringsdata från personburna mätningar där man bestämmer koncentrationen i andningszonen, dels under hela arbetsdagen (8 h) och dels vid fler arbetsmoment/exponeringssituationer.

Mätdata tyder på att tillverkning av kolnanorör med HiPCO ger högre luftkoncentrationer och högre grad av kontaminering på handskar (Maynard et al. 2004). Detta kan bero på att HiPCO-tillverkat kolnanorörmaterial är porösare och har lägre densitet jämfört med andra tekniker som beskrivs ge kompaktare kolnanorör. Två studier visade även betydelsen av att installera och använda tekniskt arbetarskydd för att minska exponeringen vid hantering och paketering av kolnanorör (Han et al., 2008; Takaya et al., 2010). Tekniskt arbetarskydd kan reducera exponeringen med 90 % (Han et al., 2008).

Enligt WHO så är den minsta längden för en fiber definierad som 5 μm (WHO 1997). I en studie uppmättes den maximala fiberlängden till 1,5 μm , vilket då inte kan betraktas som fiber enligt WHO. Vid mekanisk bearbetning av kolnanorörinnehållande kompositmaterial uppmättes ganska höga respirabla fiberkoncentrationer jämfört med det hygieniska gränsvärdet för asbest (0,1 fiber/ cm^3). Det som mättes i dessa två studier är olika typer av respirabla fiberstrukturer från kompositmaterialet. Dessa fibrer kan bestå till exempel av kolfiberepoxi och aluminium, vilka fanns i materialet. Vidare kunde man inte detektera någon form av kolnanorörstrukturer, vilket kan bero på att dessa var inkapslade i expo-plast. Kanske är det så att kolnanorör som är inblandade i olika material inte emitteras som enskilda kolnanorör utan antingen bildar större aggregat eller finns inbäddade i större partiklar och fibrer. Dock har Bello et al. (2010) visat att det finns potential för att kolnanorör frisätts vid borrning.

8. Toxikokinetik

8.1 Upptag och distribution

Det finns tre viktiga vägar som kolnanorör skulle kunna ta sig in i kroppen: genom inandning, upptag via hud samt upptag via mag-tarmkanalen. I framtida medicinska tillämpningar kan nanopartiklar komma att injiceras i blodomloppet. I experimentella studier av hur kolnanorör beter sig i kroppen har man gett kolnanorör till försöksdjur genom inhalation, instillation i luftstrupen (kolnanorör i en liten vätskevolym), intravenös injektion eller injektion i bukhålan.

Vattenlösliga kolnanorör som injiceras i bukhålan går ut i blodet och når snabbt enskilda organ och det samma gäller för sådana som injiceras intravenöst (Deng et al., 2007; Singh et al., 2006; Wang et al., 2008; Guo et al., 2007).

Efter sondmatning av försöksdjur med kolnanorör har man i vissa fall inte lyckats påvisa upptag från magtarmkanalen till blodet (Deng et al., 2007; Kolosnjaj-Tabi et al., 2010). Två andra studier visar däremot på ett faktiskt upptag eller på systemiska effekter som pekar på upptag från mag-tarmkanalen. I den ena studien fann man att SWCNT efter sondmatning tagits upp i tarmceller och att de även återfanns i flera inre organ, inklusive hjärnan (Yang et al., 2010). I denna studie använde man särskilt korta kolnanorör med en längd på 50-300 nm. Hur relevanta kolnanorör med denna längd är för industriella tillämpningar är oklart. Man har även sett genotoxiska (DNA-skadande) effekter på celler i levern hos råttor efter sondmatning med kolnanorör, vilket antyder att kolnanorören i denna studie kan ha gått över från tarmen till blodet (Folkmann et al., 2009).

Injektion av MWCNT i blodbanan hos försöksdjur leder till att kolnanorören snabbt sprider sig till de större organen som lever, mjälte och njurar. (Georgin et al., 2009; Yang et al., 2007; Keren et al., 2008; Kang et al., 2009; McDevitt et al., 2007; Cherukuri et al., 2006). Radioaktivt inmärkta SWCNT som bar hydroxylgrupper (-OH grupper) på ytan togs liksom kolnanorör utan funktionalisering upp i lever och njure, men ackumulerades även i magen och tarmarna (Wang et al., 2008). I vissa fall har man även upptäckt kolnanorör i urin och avföring (Georgin et al., 2009), samt i benvävnad (McDevitt et al., 2007). Liknande distributionsmönster sågs efter injektion av kolnanorör i bukhålan (Guo et al., 2007; Wang et al., 2008; McDevitt et al., 2007). Andra ytmodifieringar av kolnanorör leder till annorlunda distribution. Polyetylen glykol (PEG) gör t.ex. att SWCNT stannar i upp till 90 dagar i vissa organ (Yang et al., 2008a; Liu et al., 2008), medan åter andra molekyllära modifieringar leder till snabb utsöndring inom några timmar (Singh et al., 2006).

Inhalerade kolnanorör stannar antingen kvar i lungorna länge eller transporteras ut ur luftvägarna via makrofager och flimmerhårens rörelser. Som tidigare nämnts har man inte kunnat påvisa att kolnanorör går över från luftvägarna och ut i blodet (Deng et al., 2007). Däremot har man i vissa fall observerat att MWCNT har passerat över till lungsäcken och angränsande lungvävnad samt transporterats med makrofager till lokala lymfknutor (Mercer et al. 2010) (Porter et al., 2010; Ryman-Rasmussen et al., 2009a; Elgrabli et al., 2008).

Informationen om hur kolnanorör beter sig efter att de tagit sig in i mag-tarmkanalen är begränsad. När möss sondmatades med SWCNT av olika längder observerades partiklarna endast i magen, tunntarmen, tjocktarmen och avföringen, och inga negativa effekter sågs (Deng et al., 2007). I kontrast till detta fann man i en annan studie att SWCNT som getts till möss genom sondmatning togs upp av tarmcellerna och återfanns i celler i inre organ, inklusive hjärnan (Yang et al., 2010). Oxidativa DNA-skador upptäcktes i lever och lunga hos råttor som sondmatats med kolnanorör, vilket ytterligare indikerar att passage av kolnanorör från magtarmkanalen till cirkulationen är möjlig (Folkmann et al., 2009).

Huden är kroppens primära skydd mot främmande substanser och har olika genomsläpplighet för olika substanser beroende på deras fysiska och kemiska egenskaper. Man har hittills inte kunnat påvisa att kolnanorör passerar från huden till blodet. MWCNT som injicerats in under huden (subkutant) däremot togs upp i blodet och återfanns i hjärta, lever, mjälte, lunga, njure och i subkutan bindväv (Jia et al., 2009).

8.3 Biotransformation

Kolnanorör brukar beskrivas som motståndskraftiga mot biologiska modifieringar vilket man sett efter exponering av försöksdjur (Deng et al., 2007; Yang et al., 2008b). Man har dock observerat fysiskt och kemiskt förändrade MWCNT i lungorna hos försöksdjur och kolnanorör som i blodet bundit till sig plasmaproteiner (Elgrabli et al., 2008; Cherukuri et al., 2006). I *in vitro* system har man dessutom sett att kolnanorör kan binda till sig komplementfaktorer från plasma och serum vilket skulle kunna förklara vissa av de biologiska effekter man ser (Hamad et al., 2008; Salvador-Morales et al., 2006). Utöver detta har man funnit att funktionaliserade kolnanorör kan defunktionaliseras i levern (Yang et al., 2009) samt sett att enzymatisk nedbrytning av kolnanorör som funktionaliserats med antikroppar kan ske i vita blodkroppar (neutrofila granulocyter) (Kagan et al., 2010). Liknande enzymatisk nedbrytning har observerats av kolnanorör i cellfria system med peroxidaser som aktivt enzym (Allen et al., 2008).

8.4 Utsöndring och eliminering

Kolnanorör kan elimineras från luftvägarna genom att de tas upp av makrofager och drivs ut genom cilierörelser. Cirka 16 % av de instillerade MWCNT fanns kvar i lungorna hos råttor efter 6 månader enligt en studie (Elgrabli et al., 2008). I en annan studie fann man att 81 % av de instillerade MWCNT fanns kvar efter 60 dagar (Muller et al., 2005). Om en organism exponeras för kolnanorör via födan kommer kolnanorören enligt studier sannolikt passera genom magtarmkanalen och ut med avföringen (Deng et al., 2007). Studier har visat att vissa typer av kolnanorör kan elimineras genom njurarna eller avföringen (Georgin et al., 2009; Lacerda et al., 2008b; McDevitt et al., 2007; Kolosnjaj-Tabi et al., 2010). Storlek och ytkemi påverkar hastigheten med vilken kolnanorören utsöndras, och halveringstiden i blod varierar mycket mellan olika sorters kolnanorör, se tabell 6 (Lacerda et al., 2008a; Wang et al., 2008; Yang et al., 2008a; Liu et al., 2008; Guo et al., 2007; Kang et al., 2009; Singh et al., 2006; Yang et al., 2007; Cherukuri et al., 2006).

Tabell 6. Halveringstider för kolnanorör i blod (i.v. = intravenöst, i.p.=intraperitonealt, PEG = polyetylenglykol, DTPA= dietylenetriamine pentaacetic acid).

Kolnanorör	Funktionalisering	Halveringstid	Administration	Art	Referens
MWCNT	-	3 h	i.v.	Mus	Lacerda et al. 2008a
MWCNT	glucosamin	5.5 h	i.p.	Mus	Guo et al. 2007
SWCNT	Hydroxyl	50 min	i.v.	Mus	Wang et al. 2008
SWCNT	Pluronic F108	1 h	i.v.	Kanin	Cherukuri et al. 2006
SWCNT	DTPA	3-3.5 h	i.v.	Mus	Singh et al. 2006
SWCNT	chitosan	3-4 h	i.v.	Mus	Kang et al. 2009
SWCNT	PEG	15 h	i.v.	Mus	Liu et al. 2008
SWCNT	PEG	15.4 h	i.v.	Mus	Yang et al. 2008

9. Toxiska mekanismer

Det finns olika teorier kring varför och hur kolnanorör orsakar toxiska effekter, se detaljer nedan. En vanlig tolkning är att kolnanorör på grund av vissa fysiska och kemiska egenskaper kan orsaka oxidativ stress. Oxidativ stress innebär att cellerna utsätts för påfrestningar från fria radikaler, speciellt reaktiva syreradikaler. Utöver detta kan kolnanorör orsaka frustrerad fagocytos hos makrofager samt genotoxiska effekter. De olika mekanismerna är i viss mån beroende av varandra då frustrerad fagocytos kan leda till inflammation som i sin tur kan leda till oxidativ stress. För den som önskar ytterligare information om vilka mekanismer som ligger bakom toxiciteten hos kolnanorör i cell- och djurförsök rekommenderas Johnston et al. (2010).

9.1 Oxidativ stress

Orsaken till den oxidativa stressen som orsakas av kolnanorör debatteras ännu. Många studier hänför dock toxiciteten till föroreningar som följer med kolnanorören efter tillverkningsprocessen (Shvedova et al., 2003). Exempel på sådana föroreningar är nickel, järn och kobolt. Toxiska effekter som oxidativ stress skulle alltså kunna bero på föroreningar och inte på kolnanorören i sig.

9.1.2 Oxidativ stress kan leda till DNA- och proteinskador

Reaktiva syreradikaler kan orsaka skador på DNA i form av mutationer som får konsekvenser för celldelningen. DNA-skador av denna typ har bl.a. observerats hos makrofager behandlade med kolnanorör (Migliore et al., 2010). Oxidativa DNA-skador hittades i levern och lungorna hos råttor som sondmatats med kolnanorör (Folkmann et al., 2009). Liknande observationer gjordes i hjärtmuskelceller efter att kolnanorör instillerats (sprutats ned) i lungorna hos möss (Li et al., 2007b). Applicering av kolnanorör på huden hos möss gav upphov till oxidativ stress och modifiering av proteiner i hudcellerna som följd (Murray et al., 2009). Man har sett att kolnanorör kan orsaka genotoxiska effekter som kromosomfel och s.k. mikrokärnor genom direkt påverkan på DNA vid celldelningen (Sargent et al 2009).

9.2 Frustrerad fagocytos

Makrofager är en typ av vita blodkroppar i vårt medfödda immunförsvar som har till uppgift att äta upp (fagocytera), innesluta och förstöra främmande föremål i kroppen. Det kan vara bakterier eller små icke-biologiska partiklar som t.ex. kolnanorör. Om kolnanorören är för långa och styva kan inte makrofager ta upp och förstöra dem, utan försöker konstant att bryta ner dem. Detta fenomen kallas "frustrerad fagocytos" (Brown et al., 2007). I slutändan kan det leda till att makrofagen genomgår apoptos, d.v.s. programmerad celledöd.

9.2.1 Frustrerad fagocytos kan leda till inflammation och oxidativ stress

Frustrerad fagocytos kan resultera i en ökad produktion av inflammatoriska proteiner hos makrofagerna. Dessa inflammatoriska proteiner gör i sin tur att andra vita blodkroppar lockas till vävnaden vilka kan producera ämnen som leder till oxidativ stress (Johnston et al. 2010). Om en inflammation uppstår finns risken för bildning av granulom vilket är en långvarig ansamling av fagocyterande inflammatoriska celler. Vissa resultat tyder på att längre och tjockare kolnanorör skulle kunna orsaka större effekter än kortare och smalare rör med avseende på bl.a. DNA-skador och granulombildning, både *in vivo* och *in vitro* (Poland et al., 2008; Yamashita et al., 2010).

10. Effekter på celler och djurförsök

I många fall är det svårt att jämföra resultaten från olika studier. Det råder till exempel ingen enighet om hur man ska rapportera doseringen av kolnanorör. Vissa menar att det konventionella antalet milligram per kilo (mg/kg) kroppsvikt inte är tillräckligt informativt, utan att man måste ta hänsyn till ytstorleken hos kolnanorören och ange den yta man doserat. En annan aspekt är att man inte alltid uppger de fysikaliska och kemiska egenskaperna hos de kolnanorör man använt. Diameter, längd, ytarea/viktenhet och renhetsgraden är karakteristika som skulle kunna vara avgörande för om en viss typ av kolnanorör är toxisk eller inte. Hur försöksdjuren exponerats för kolnanorören är också viktigt. Experimentell luftvägs-exponering kan därför ge upphov till olika resultat. Instillation innebär att en liten droppe som innehåller kolnanorör släpps ner i luftstrupen hos djuren och därefter får kolnanorören sprida sig. Vid inhalation gör man en aerosol av kolnanorören som djuren får andas in. Antingen exponeras hela djuret, bara huvudet eller bara nosen. De olika metoderna har olika för- och nackdelar. Deponeringsmönstret, dvs. hur kolnanorören sprids i luftvägarna, skiljer sig mellan metoderna och kan därför ge upphov till olika resultat (Li et al., 2007a). Sådana effekter kan avspeglats i den efterföljande toxiska utvärderingen i studien. I de följande styckena redovisas och sammanfattas ett urval av de mest relevanta djur- och cellstudierna som återfunnits i systematiska litteratursökningar i vetenskapliga medicinska och toxikologiska databaser. Relevansbedömningen innebär bl.a. annat att studiens syfte ska vara att undersöka toxiska effekter, att kontroller gjorts i tillräcklig grad, att man karakteriserat partiklarna tillräckligt, samt att dokumenten är granskade enligt peer-review modellen.

10.1 Dödlighet

Vilken dos av kolnanorör som kan betecknas som dödlig är okänt eftersom det inte finns några studier där man försökt bestämma den lägsta dödliga dosen. För möss har man sett att en instillerad dos på 0,5 mg SWCNT i luftvägarna orsakade dödsfall för 5 av 9 djur (Lam et al., 2004). En oral dos på 1 000 mg kolnanorör/kg kroppsvikt orsakade inte några dödsfall hos behandlade möss, således ligger den dödliga dosen över detta värde enligt artikelförfattarna (Lam et al., 2004; Kolosnjaj-Tabi et al., 2010).

10.2 Kardiovaskulära effekter

Djurförsök har visat att kolnanorör kan påverka hjärta och blodkärl efter att de doserats via luftvägarna. Effekterna innefattar ökat uttryck av stress-relaterade gener och gener som är inblandade i att rekrytera immunceller samt ökning av markörer för oxidativ stress. De senare ökade i såväl lunga, aorta som hjärtvävnad (Erdely et al., 2009; Li et al., 2007b). Andra effekter är negativ påverkan på blodtrycksreglering i artärerna samt reducerat blodflöde till kranskärlen och degeneration av hjärtvävnad (Legramante et al., 2009; Tong et al., 2009). Effekter på hjärta-kärl berodde troligen inte på att kolnanorören gick över från luftvägarna, utan på indirekta effekter för vilka den exakta mekanismen är okänd. Det har dock föreslagits att en ökad produktion av cytokiner som induceras av kolnanorören kan vara en orsak till att man ser systemiska effekter. (Erdely et al. 2009).

10.3 Effekter på lever och mjälte

Om kolnanorör går över i blodet kommer de att nå levern och mjälten. Toxiska effekter för rena icke-funktionaliserade MWCNT på levern innefattar ökade nivåer av inflammatoriska celler, ökningsmarkörer och av död levervävnad (Ji et al., 2009; Zhang et al., 2010).

Effekterna var koncentrationsberoende, vilket innebär att låga doser inte var toxiska. För levern såg man negativa effekter hos möss efter dosering i bukhålan av 250 mg/kg MWCNT, med inflammation och fibros i levern. Dock är dosen, 250 mg/kg, relativt hög jämfört med andra studier. MWCNT som funktionaliserats med PEG hade mycket mindre effekter, vilket antyder att toxiciteten är beroende av hur kolnanorörets yta ser ut (Zhang et al., 2010). Efter oral exponering fann man oxidativa DNA-skador i levern hos råttor (Folkmann et al., 2009). Mjälten är ett av de organ där injicerade kolnanorör tas upp mest, men de toxiska effekterna man hittills sett i djurstudier är begränsade, med en övergående ökning i mjältens vikt (Deng et al., 2009; Schipper et al., 2008).

10.4 Effekter på luftvägarna

Effekten av kolnanorör på luftvägarna hos försöksdjur har studerats med hjälp av instillation och inhalation av kolnanorör. Efter inhalation av MWCNT har man observerat öknings av inflammatoriska celler och öknings av skademarkörer (Ellinger-Ziegelbauer and Pauluhn, 2009). I en annan inhalationsstudie såg man att MWCNTs kunde passera genom lungan till dess ytterhölje, pleuran (lungsäcken), när man behandlade möss med 30 mg/m³ under en sex timmar lång exponering. Samtidigt observerade man pleural fibros, vilket betyder att bindväven i den yttre delen av lungan ökar (Ryman-Rasmussen et al., 2009a). Liknande observationer har gjorts efter att MWCNTs instillerats i luftvägarna hos möss. Där fann man också kolnanorör i pleuran. Penetrationen av lungbarriärerna var dosberoende, och ökade vartefter att djuren behandlats med 10-80 µg kolnanorör per djur (Mercer et al., 2010). Fibros och kolnanorör som vandrat över i pleuran efter behandling med MWCNTs har observerats i andra studier också (Porter et al., 2010). Förekomst av granulom har rapporterats i flera luftvägsstudier, både efter inhalation och instillation av SWCNT eller MWCNT (Muller et al., 2005; Mercer et al., 2010; Ma-Hock et al., 2009; Chou et al., 2008; Lam et al., 2004). En studie jämförde effekten av instillation och inhalation och kom fram till att inhalation orsakade värre effekter än instillation (Shvedova et al., 2008b). Denna jämförelse är intressant då de flesta studier använder instillation för att studera exponering för kolnanorör och inhalation är en mer relevant modell.

I två studier på odlade lungeepitelceller har en forskargrupp visat att MWCNT och SWCNT kan påverka genomsläppligheten (permeabiliteten) mellan cellerna. Detta betyder att den barriär som epitelcellerna utgör mot främmande ämnen skulle kunna skadas och att skadliga ämnen kan ta sig in mellan dem och nå andra delar av lungvävnaden. Ökad permeabilitet sågs bara för långa kolnanorör (5-9 µm för MWCNT och 0.5-100 µm SWCNT), medan korta kolnanorör inte hade någon effekt. Ifall samma sak kan ske hos levande djur är inte känt, men man har sett att asbest kan orsaka liknande effekter i cellodling (Rotoli et al., 2009; Rotoli et al., 2008).

10.4.1 Samexponering i luftvägarna

Det finns tecken på att kolnanorör kan förvärra olika allergiska tillstånd i luftvägarna. Försöksdjur som haft inducerad astma eller allergi och samexponerats med kolnanorör har i flera fall uppvisat ett förvärrat allergiskt tillstånd. Tillstånden förvärrades oavsett om djuren exponerats för SWCNT eller MWCNT (Nygaard et al., 2009; Inoue et al., 2009; Inoue et al., 2010; Ryman-Rasmussen et al., 2009b). Samexponering i luftvägarna hos möss för kolnanorör och därefter bakterier ledde till förvärrad inflammation och långsammare fagocytos av bakterierna (Shvedova et al., 2008a).

10.5 Irritation

Om kolnanorör ger upphov till irritationer är inte klarlagt. I en studie av ögonirritation och kolnanorör, s.k. Draize-test, påvisades ingen irritation i ögonen på kaniner efter 72 h (Huczko and Lange, 2001), medan man i en annan studie observerade övergående rodnad i ögonen (Kishore et al., 2009). Det finns ett behov av forskning inom detta område.

10.6 Nervsystemet

Effekter av kolnanorör på nervsystemet har studerats genom cellodling och hos försöksdjur som exponerats genom injektion i hjärnan eller genom sondmatning. I vissa fall såg man inga negativa effekter av kolnanorör på nervsystemet, bl.a. efter direkt injektion (Bardi et al., 2009; Gaillard et al., 2009; Yang et al., 2010) medan man i andra sett störningar i elektrisk aktivitet hos nervceller och effekter på cellöverlevnad (Xu et al., 2009; Belyanskaya et al., 2009). Ultrastrukturella studier med transmissions-elektronmikroskopi på nervceller i hjärnan efter sondmatning, visade på att kolnanorören främst återfanns i lysosomer och till viss del i mitokondrier (Yang et al., 2010).

10.7 Hud

I dagsläget är det okänt om kolnanorör kan penetrera hornlagret i huden och ta sig längre in. Inflammation i överhuden och läderhuden samt ökad bindvävsproduktion har observerats efter att kolnanorör applicerats på huden hos försöksdjur. Orsaken till denna typ av skador tros vara en ökning av reaktiva syreradikaler, s.k. oxidativ stress (Murray et al., 2009). Studier på odlade celler har visat att kolnanorör kan inducera celldöd, inflammatoriska proteiner och oxidativ stress (Shvedova et al., 2003). Resultat som motsäger dessa negativa effekter finns också, där man inte funnit några effekter vare sig på försöksdjur eller på odlade celler (Huczko and Lange, 2001; Kishore et al., 2009).

10.8 Reproduktion

Kunskapen om kolnanorörs effekter på reproduktion är mycket begränsad. Upprepad intravenös injektion med vattenlösliga MWCNT ledde till upptag i testiklarna samt tillfälligt minskad fertilitet hos hanmöss (Bai et al., 2010). Kolnanorör kan påverka embryoutvecklingen hos zebrafiskar. MWCNT orsakar defekter vid låga koncentrationer och celldöd, embryonal-död, fördröjd kläckning och felaktig ryggmäragsutveckling vid höga koncentrationer (Asharani et al., 2008). Låga koncentrationer av MWCNT orsakade inga effekter på embryon i en annan studie. Däremot påverkades överlevnaden hos deras avkomma i sin tur, anledningen till detta är inte känd. (Cheng et al., 2009).

10.9 Genotoxiska effekter

De genetiska effekterna av kolnanorör har främst undersökts genom studier på odlade celler. I flera fall där man studerat genetiska effekter har man funnit s.k. mikrokärnor, brott i dubbelsträngat DNA, kromosomfel, mutationer och aktivering av enzymer som reparerar DNA. Sådana effekter har setts för både MWCNT och SWCNT och orsaken är inte klarlagd, men vissa spekulerar i att det kan vara förorenande metaller i kolnanorören som är orsaken eller att kolnanorören har samma dimension som cytoskelettet i cellen och därför kan påverka kromosomseparation under celldelningen. (Cveticanin et al., 2010; Zhu et al., 2007; Ochoa-Olmos et al., 2009; Migliore et al., 2010; Sargent et al., 2009; Patlolla et al., 2010;

Lindberg et al., 2009; Jacobsen et al., 2008). Vissa studier visade inte på någon genotoxicitet alls, vilket skulle kunna bero på typen av kolnanorör som använts (SWCNT), men också på renheten och hur väl partiklarna var separerade från varandra i lösning (Kisin et al., 2007; Zeni et al., 2008).

10.10 Carcinogena effekter

Bildande av mesoteliom eller granulom efter att MWCNTs i bukhålan har påvisats i några studier (Poland et al., 2008; Takagi et al., 2008; Sakamoto et al., 2009). Sådana fynd antyder att kolnanorör skulle kunna uppvisa samma fibereffekter som asbest i händelse av att kolnanorör kommer i kontakt med mesotelet, det vävnadsskikt som täcker utsidan av kroppens organ. Fynden av mesoteliom i bukhålan har ifrågasatts i vissa studier, där man endast fann granulom (Varga and Szendi, 2010). I en av studierna där man fann mesoteliom användes möss som var mutanter för p53, ett protein som styr celldelningen, och därför mer benägna att utveckla cancer (Takagi et al., 2008). En långtidsstudie under två års tid efter en enkel dosering av MWCNT påvisade heller ingen förekomst av cancer efter injektion med kolnanorör i bukhålan. Forskarna påtalade att studien bör tolkas med försiktighet eftersom frånvaro av reaktion inte betyder att kolnanorör inte kan ge upphov till cancer. En möjlig förklaring var att kolnanorören var för korta (ca 0,7 µm) för att ha någon cancerogen effekt (Muller et al., 2009).

10.11 Korttids- och långtidseffekter efter upprepade exponering (upp till 90 dagar)

Det finns få långtidsstudier på hur kolnanorör påverkar djur och celler vid upprepade exponering. De flesta studier har gjorts på en enkelexponering varefter man studerat försöksdjur under olika lång tid, den längsta hittills är två år. För upprepade exponering har man studerat försöksdjur upp till tre månader. Råttor fick inhalera MWCNT på doser mellan 0,1-6 mg/m³ i 6h dagligen, 5 dagar i veckan under 13 veckor. Man fann inga effekter vid 0,1 mg/m³ men progressiva effekter som inflammation och epitelskador vid 0,4-6 mg/m³ (Pauluhn, 2010). I en liknande studie där råttor fick andas in aerosoliserade MWCNT vid 65 tillfällen under en tremånadersperiod utvecklade de granulom och uppvisade inflammation i luftvägarna. Räkningar om dosen till mg/kg kroppsvikt finner man att LOEL (Lowest observable effect level) inträffar redan vid 0,23 mg/kg kroppsvikt för hanråttor och 0,3 mg/kg för honråttor. Störst effekter fann man vid 0,5-2,5 mg/m³, men eftersom man fann effekter redan för 0,1 mg/m³ kunde man inte bestämma någon NOEL (no observable effect level). På grund av relevant metodik och de låga upprepade doser som gett effekt är denna studie betydelsefull för riskbedömningen av kolnanorör (Ma-Hock et al., 2009). När möss exponerades upprepade gånger under 7-14 dagar genom inhalation av liknande doser MWCNT, observerades inga effekter på lungorna. Däremot fann man en hämning av det systemiska immunförsvaret (Mitchell et al., 2007).

10.12 Sammanfattning och diskussion

I flera studier har man sett tydliga samband mellan dosering av kolnanorör och de biologiska effekter som uppstår. Tabellerna 7-11 sammanfattar sambanden mellan given dos till försöksdjur eller cellodlingar och de observerade effekterna. Ett urval av representativa studier har gjorts utifrån uppgifter som hittats i systematiska litteratursökningar. Vissa studier på djur och celler som inte tagits med finns dock beskrivna i ett dokument som

sammanställs åt Nordiska Expertgruppen för kriteriedokumentation om kemiska hälsorisker, ett dokument som är en vidareutveckling av denna rapport. Man har i ett antal studier observerat att luftvägsexponering för kolnanorör kan leda till bildande av granulom, fibros och övergång av kolnanorör till lungsäcken. Detta sker redan vid så låga koncentrationer i luft som 0,1 mg/m³. Progressiv fibros uppstår vid 0,25 mg/kg kroppsvikt SWCNT vid upprepad exponering av möss t.ex., för MWCNT har man sett mild granulomatös inflammation i luftvägarna hos råttor vid upprepad exponering för totalt 0,23-0,3 mg/kg kroppsvikt. Ökad dosering leder i de flesta studier till förvärrade tillstånd, se tabell 7 och 8 för vidare effekter.

Vad gäller hudexponering ser man på försöksdjur effekter vid 4,7 mg/kg kroppsvikt eller 0,6 mg/kg efter subkutan injektion av SWCNT respektive MWCNT. För yttlig hudexponering för SWCNT föreligger ett dos-respons samband, se tabell 9.

Kolnanorör har hittills inte visats orsaka cancerformen mesoteliom i lungsäcken hos försöksdjur. Däremot uppstod mesoteliom efter injektion i bukhålan hos möss och i pungen hos råttor. Effekterna uppstod vid doser på 111-121 mg/kg kroppsvikt hos möss och 1 mg/kg kroppsvikt hos råttor. Mesoteliom kan uppstå hos människa efter exponering för asbest. Både kolnanorör och asbestfibrer uppvisar liknande egenskaper: de har ett längdbreddförhållande större än 3:1, vissa asbestfibrer har liknande diameter som MWCNT (ca 40 nm).. De skiljer sig däremot vad gäller sin kemi och struktur. Båda materialen kan betraktas som biopersistenta, även om det inte är helt klarlagt i vilken mån kolnanorör kan brytas ned. Kolnanorör har en tendens att bilda aggregat i form av nystan eller repliknande strukturer och är på grund av sina inneboende vattenavvisande egenskaper svåra att lösa i vätskor utan att använda t.ex. detergenter.

Tabell 7. Effekter efter luftvägsexponering för SWCNT

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecken	Exponeringsväg	Exponerings-tid	Effekter	Referens
5 µg (5 mg/m ³)	0,25	Mus	12	0,8-1,2 nm	100-1000 nm	Omodifierade, 17,7% Fe-innehåll	Inhalation	5 h/dag i 4 dagar	Ökning av inflammatoriska celler och proteiner, progressiv fibros	Shvedova et al. 2008b
5 µg	0,25	Mus	12	0,8-1,2 nm	100-1000 nm	Omodifierade, 17,7% Fe-innehåll	Instillation	1 dos	Ökat antal inflammatoriska celler, ökning av inflammatoriska proteiner	Shvedova et al. 2008b
10 µg	0,3	Mus	4-6	-	-	Väl separerade	Instillation	1 dos	Övergående inflammatorisk respons, inga granulom observerade. Ökning av bindvävens tjocklek.	Mercer et al. 2008
10 µg	0,5	Mus	12	0,8-1,2 nm	100-1000 nm	Omodifierade, 17,7% Fe-innehåll	Instillation	1 dos	Ökat antal inflammatoriska celler, ökning av inflammatoriska proteiner	Shvedova et al. 2008b
10µg	0,5	Mus	6	1-4 nm	1-3 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos + bakterier/10 dagar	Ökning av inflammatoriska celler	Shvedova et al. 2008a
10µg	0,5	Mus	6	1-4 nm	1-3 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos /10 dagar	Ökning av inflammatoriska celler	Shvedova et al. 2008a
20 µg	1	Mus	12	0,8-1,2 nm	100-1000 nm	Omodifierade, 17,7% Fe-innehåll	Instillation	1 dos	Ökat antal inflammatoriska celler, ökning av inflammatoriska proteiner	Shvedova et al. 2008b
40 µg	1,3	Mus	4	-	Nystan om 25-150 nm	Behandlade med syra eller ej	Aspiration	1 dos	Ökat antal inflammatoriska celler, ökning av inflammatoriska proteiner	Saxena et al. 2007
40 µg	1,6	Mus	4-8	1-2 nm	100-2000 nm	Omodifierade, lösta i PBS	Instillation	1 dos	Efter 30 dagar orsakades inflammation och granulom	Mutlu et al. 2010
40 µg	1,6	Mus	4-8	1-2 nm	100-2000 nm	Omodifierade, lösta i Pluronic	Instillation	1 dos	Väl separerade CNTs, orsakade inga effekter. Utsöndring via makrofager	Mutlu et al. 2010
40µg	2	Mus	6	1-4 nm	1-3 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos + bakterier/10 dagar	Ökning av inflammatoriska celler, synergistisk ökning av kollagen efter CNT+ bakterieexponering, försämrad fagocytos av bakterier	Shvedova et al. 2008a

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecken	Exponeringsväg	Exponeringstid	Effekter	Referens
40µg	2	Mus	6	1-4 nm	1-3 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos/10 dagar	Ökning av inflammatoriska celler, ökning av kollagen	Shvedova et al. 2008a
0,1 mg	3,3	Mus	5	-	-	Höga halter metallföroreningar	Instillation	1 dos	Lättare inflammation och granulom hos djur behandlade med förorenade CNT	Lam et al. 2004
-	4	Mus	8	2-20 nm	100 nm - flera µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Behandling med CNT och 33 µg/kg LPS ledde till förvärrad lunginflammation. Proinflammatoriska proteiner ökade i blodet.	Inoue et al. 2008
0,5 mg	16,5	Mus	5	-	-	Höga halter metallföroreningar	Instillation	1 dos	Svårare inflammation och granulom, mortalitet 5/9 i en grupp	Lam et al. 2004
0,5 mg	-	Mus	-	-	-	-	Instillation	1 dos	Aktivering av makrofager, förekomst av granulom, oxidativ stress	Chou et al. 2008
50 µg × 7	1,6 × 7	Mus	12-13	0,8-2 nm	100 nm -15 µm	-	Instillation	1 dos	Kolnanorör förvärrade allergisk respons hos mössen. T-hjälpar kemo- och cytokiner ökade	Inoue et al. 2010

Tabell 8. Effekter efter luftvägsexponering för MWCNT.

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecken	Exponeringsväg	Exponeringstid	Effekter	Referens
1 µg	0,005	Råtta	6	20-50 nm	0,5-2 µm	Dispergerade med BSA	Instillation	1 dos	Signifikant ökning av fagocyto 1 och 7 dagar efter exponering	Elgrabi et al. 2008
-	0,04	Råtta	-	60 nm	1,5 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Inga effekter efter 6 månader	Kobayashi et al. 2010
10 µg	0,05	Råtta	6	20-50 nm	0,5-2 µm	Dispergerade med BSA	Instillation	1 dos	Signifikant ökning av fagocyto 1-90 dagar efter exponering	Elgrabi et al. 2008
0,3 mg/m ³	0,2	Mus	6	10-20 nm	5-15 µm	Omodifierade	Inhalation	6 h/dag	Upprepad inhalation 7-14 dagar. Kolnanorör i lungmakrofager, ingen ökning av vita blodkroppar. Systemisk immunosuppression	Mitchell et al. 2007
-	0,2	Råtta	-	60 nm	1,5 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Observationer 1 dag - 6 månader efter dosering. Inga effekter	Kobayashi et al. 2010
1 mg/m ³	0,2	Mus	10	10-50 nm	1-10 µm	-	Inhalation	En 6 h exponering	Observation 1-14 dagar. Inga effekter	Ryman-Rasmussen et al. 2009a
0,1 mg/m ³ (46,8 µg/djur)	0,23-0,3	Råtta	10	5-15 nm	0,1 -10 µm	9,6% AIO	Inhalation	6h/dag vid 65 tillfällen under 90 dagar	Mild granulomatös inflammation. Inga systemiska effekter. (LOEC)	Ma-Hock et al. 2009
1 mg/m ³	0,5	Mus	6	10-20 nm	5-15 µm	Omodifierade	Inhalation	6 h/dag	Upprepad inhalation 7-14 dagar. Kolnanorör i lungmakrofager, ingen ökning av vita blodkroppar. Systemisk immunosuppression	Mitchell et al. 2007
10 µg	0,5	Mus	6-8	49 nm	3,9 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos	Observation 1-56 dagar. CNTs som penetrerat alveolärt epitel	Mercer et al. 2010
100 µg	0,5	Råtta	6	20-50 nm	0,5-2 µm	Dispergerade med BSA	Instillation	1 dos	Ökning av inflammatoriska celler efter 7 och 180 dagar, signifikant fagocyto 1-180 dagar	Elgrabi et al. 2008
20 µg	0,9	Mus	6-8	49 nm	3,9 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos	Observation 1-56 dagar. Granulomatösa sår, CNT som penetrerat alveolärt epitel	Mercer et al. 2010
-	1	Råtta	-	40-60 nm	0,5-500 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Mild inflammation	Liu et al. 2008

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecknen	Exponeringsväg	Exponerings-tid	Effekter	Referens
-	1	Råtta	-	60 nm	1,5 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Observationer 1 dag - 6 månader efter dosering. Övergående inflammation. MWCNT i makrofager. Smärre granulom	Kobayashi et al. 2010
0,5 mg/m ³ (243 µg/djur)	1,2-1,6	Råtta	10	5-15 nm	0,1 -10 µm	9,6% AIO	Inhalation	6h/dag vid 65 tillfällena under 90 dagar	Granulomatös inflammation, inflammation, lipoproteinos. Inga systemiska effekter	Ma-Hock et al. 2009
0,05 mg	1,6	Mus	5-6	50 nm	10 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Inflammation i bronkerna, skador på alveolerna, immunsvar	Li et al. 2007a
40 µg	1,8	Mus	7-8	49 nm	3,9 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos	Observation 1-56 dagar. Granulomatösa sår, CNT som penetrerat alveolärt epitel	Mercer et al. 2010
0,5 mg	2,2	Råtta	4-6	9,7 nm	5,9 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Inga patologiska fynd, 81% av dosen kvar efter 60 dagar	Muller et al. 2005
0,5 mg	2,2	Råtta	4-6	11,3 nm	0,7 µm	Malda	Instillation	1 dos	Ökning av TNF-alfa och lösligt typ I kollagen, 36% a dosen kvar efter 60 dagar	Muller et al. 2005
0,07 mg	2,3	Mus	5-6	50 nm	10 µm	Omodifierade	Inhalation	-	Upprepad inhalation under 8 dagar. Proliferation och tjockleksökning av alveolerna	Li et al. 2007a
5 mg/m ³	2,7	Mus	6	10-20 nm	5-15 µm	Omodifierade	Inhalation	6 h/dag	Upprepad inhalation 7-14 dagar. Kolnanorör i lungmakrofager, ingen ökning av vita blodkroppar. Systemisk immunosuppression	Mitchell et al. 2007
80 µg	3,6	Mus	6-8	49 nm	3,9 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Svår inflammation, kolnanorör kvar efter 3 mån	Liu et al. 2008
-	4	Mus	8	2-20 nm	100 nm - flera µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Observation 1-56 dagar. Granulomatösa sår, CNT som penetrerat alveolärt epitel	Mercer et al. 2010
									Behandling med CNT och 33 µg/kg LPS ledde till förvärrad lunginflammation. Proinflammatoriska proteiner ökade i blodet.	Inoue et al. 2008

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecken	Exponeringsväg	Exponeringstid	Effekter	Referens
30 mg/m ³	4	Mus	10	10-50 nm	1-10 µm	-	Inhalation	En 6 h exponering	Observation 1-14 dagar. Fokal subpleural fibros, inflammation	Ryman-Rasmussen et al. 2009a
100 mg/m ³	4, trakeobronkialt	Mus	40	10-30/30-50 nm	0,5-40 µm	Omodifierade, 5% Ni	Inhalation	En 6 h exponering	Luftvägsfibros efter 14 dagar hos möss som samexponerats för ovalbumin, men inte för möss som bara fått CNTs.	Ryman-Rasmussen et al. 2009b
0,14 mg	4,6	Mus	5-6	50 nm	10 µm	Omodifierade	Inhalation	-	Upprepad inhalation under 16 dagar. Proliferation och tjockleksökning av alveolerna	Li et al. 2007a
-	5	Råtta	-	40-60 nm	0,5-500 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Svår inflammation, kolnanorör kvar efter 3 mån	Liu et al. 2008
2,5 mg/m ³ (1170 µg/djur)	5,7-7,5	Råtta	10	5-15 nm	0,1 -10 µm	9,6% AIO	Inhalation	6h/dag vid 65 tillfällen under 90 dagar	Granulomatös inflammation, inflammation, lipoproteinos. Inga systemiska effekter	Ma-Hock et al. 2009
-	7	Råtta	-	40-60 nm	0,5-500 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Svår inflammation, kolnanorör kvar efter 3 mån	Liu et al. 2008
0,21 mg	7	Mus	5-6	50 nm	10 µm	Omodifierade	Inhalation	-	Upprepad inhalation under 24 dagar. Proliferation och tjockleksökning av alveolerna	Li et al. 2007a
2 mg	8,9	Råtta	4-6	9,7 nm	5,9 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Granulom, alveolit, fibros och andra patologiska förändringar efter 2 månader	Muller et al. 2005
2 mg	8,9	Råtta	4-6	11,3 nm	0,7 µm	Malda	Instillation	1 dos	Granulom, alveolit, fibros och andra patologiska förändringar efter 2 månader, TNF-alfa	Muller et al. 2005
100 mg/m ³	12, alveolärt	Mus	40	10-30/30-50 nm	0,5-40 µm	Omodifierade, 5% Ni	Inhalation	En 6 h exponering	Luftvägsfibros efter 14 dagar hos möss som samexponerats för ovalbumin, men inte för möss som bara fått CNTs.	Ryman-Rasmussen et al. 2009b
5 mg	22,2	Råtta	4-6	9,7 nm	5,9 µm	Omodifierade	Instillation	1 dos	Granulom, alveolit, fibros och andra patologiska förändringar efter 2 månader	Muller et al. 2005

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecken	Exponeringsväg	Exponeringstid	Effekter	Referens
5 mg	22,2	Råtta	4-6	11,3 nm	0,7 µm	Malda	Instillation	1 dos	Granulom, alveolit, fibros och andra patologiska förändringar efter 2 månader, TNF-alfa	Muller et al. 2005
20	-	Mus	4	49 nm	3,86 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos	Inflammatorisk respons, viss inflammation i pleura, fibros	Porter et al 2010
40	-	Mus	4	49 nm	3,86 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos	Inflammatorisk respons, fibros	Porter et al 2010
80	-	Mus	4	49 nm	3,86 µm	Omodifierade	Aspiration	1 dos	Inflammatorisk respons, viss inflammation i pleura, fibros. Kolnanorör i pleura	Porter et al 2010
10	-	Mus	4	49 nm	3,86 µm	Omodifierade	Aspiration	-	Inflammatorisk respons	Porter et al 2010
0,1 mg/m ³	-	Råtta	50	10 nm	200-300 nm	-	Inhalation	6 h/dagx5 dagar i 13 veckor	Inga effekter (NOEL)	Pauluhn 2010
0,4 mg/m ³	-	Råtta	50	10 nm	200-300 nm	-	Inhalation	6 h/dagx5 dagar i 13 veckor	Skador på epitel, ökning av inflammatoriska celler	Pauluhn 2010
1,5 mg/m ³	-	Råtta	50	10 nm	200-300 nm	-	Inhalation	6 h/dagx5 dagar i 13 veckor	Skador på epitel, ökning av inflammatoriska celler, translokation av CNT till lymfnoder	Pauluhn 2010
6 mg/m ³	-	Råtta	50	10 nm	200-300 nm	-	Inhalation	6 h/dagx5 dagar i 13 veckor	Ökning av inflammatoriska celler, granulomatösa effekter, ökning av bronkoalveolär hyperplasi, transport av CNT till lymfnoder	Pauluhn 2010
11 mg/m ³	-	Råtta	-	10-16 nm	-	0,53% Co	Inhalation	1x6h, 3 mån postexponering	Dosberoende ökning av inflammatoriska celler och cytotoxiska markörer, ökad kollagenproduktion i BAL	Ellinger-Ziegelbauer & Pauluhn 2009
241 mg/m ³	-	Råtta	-	10-16 nm	-	0,53% Co	Inhalation	1x6h, 3 mån postexponering	Dosberoende ökning av inflammatoriska celler och cytotoxiska markörer, ökad kollagenproduktion i BAL	Ellinger-Ziegelbauer & Pauluhn 2009
11 mg/m ³	-	Råtta	-	10-16 nm	-	0,12% Co	Inhalation	1x6h, 3 mån postexponering	Dosberoende ökning av inflammatoriska celler och cytotoxiska markörer, ökad kollagenhalt i BAL	Ellinger-Ziegelbauer & Pauluhn 2009

Tabell 9. Effekter efter hudexponering för MWCNT och SWCNT.

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecken	Exponeringsväg	Exponeringstid	Effekter	Referens	Typ
0,5 mg	-	Kanin	-	-	-	Dimension: 901 nm	Dermalt	4 h	Inga	Kishore et al. 2009	MWCNT
0,5 mg	-	Kanin	-	-	-	Dimension 554 nm	Dermalt	4 h	Inga	Kishore et al. 2009	MWCNT
0,1 mg	0,6	Råtta	-	20-50 nm	220 nm	Omodifierade	Subkutan	1-4 veckor	Lättare inflammation, inga neutrofiler, ingen nekros	Sato et al. 2005	MWCNT
0,1 mg	0,6	Råtta	-	20-50 nm	825 nm	Omodifierade	Subkutan	1-4 veckor	Inflammation, inga neutrofiler, ingen nekros	Sato et al. 2005	MWCNT
40 µg	2,35	Mus	3	-	-	30% järn	Dermal	1 dos/dag, 5 dagar	Inga observerade effekter	Murray et al. 2009	SWCNT
80 µg	4,7	Mus	3	-	-	30% järn	Dermal	1 dos/dag, 5 dagar	Fler celler i epidermis, oxidativa skador	Murray et al. 2009	SWCNT
160 µg	9,4	Mus	3	-	-	30% järn	Dermal	1 dos/dag, 5 dagar	Fler celler i epidermis, förjockning av huden, kollagenproduktion, oxidativa skador	Murray et al. 2009	SWCNT

Tabell 10. Kardiovaskulära effekter efter exponering för MWCNT och SWCNT.

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecken	Exponeringsväg	Exponeringstid	Effekter	Referens	Typ
-	0,064	Råtta	8-10	0,9-1,7 nm	<1µm	-	Sondmatning	1 dos, 24 h	Förändrade nukleotider i DNA i lungor och lever	Folkmann et al. 2009	SWCNT
10 µg	0,3	Mus	-	-	-	Ofunktionaliserade	Intratracheal	1 dos	Inga signifikanta effekter	Tong et al. 2009	SWCNT
10 µg	0,4	Mus	-	0,7-1,5 nm	1 µm	-	Faryngal instillation	1 dos, 60 dagar	Skador på mitokondrie-DNA i aorta	Li et al. 2007b	SWCNT
-	0,64	Råtta	8-10	0,9-1,7 nm	<1µm	-	Sondmatning	1 dos, 24 h	Förändrade nukleotider i DNA i lungor och lever	Folkmann et al. 2009	SWCNT
-	1	Råtta	8	1,2-1,6 nm	2-5 nm (sic!)	-	Intratracheal	2 doser under 4 veckor	Ändrad baroreflex, påverkan på autonom kardiovaskulär kontroll	Legramante et al. 2009	SWCNT
40 µg	1,3	Mus	-	-	-	Ofunktionaliserade	Intratracheal	1 dos	Ökning av kreatinkinas, hjärtfiberdegeneration	Tong et al. 2009	SWCNT
40 µg	1,3	Mus	-	-	-	Syra-funktionaliserade	Intratracheal	1 dos	Signifikant storleksökning på infarkter, kreatinkinas, hjärtfiberdegeneration	Tong et al. 2009	SWCNT
10 µg	1,3	Mus	-	-	-	Syra-funktionaliserade	Intratracheal	1 dos	Inga signifikanta effekter	Tong et al. 2009	SWCNT
40 µg	1,4	Mus	-	0,7-1,5 nm	1 µm	-	Faryngal instillation	1 dos, 60 dagar	Skador på mitokondrie-DNA i aorta	Li et al. 2007b	SWCNT
40 µg	1,5	Mus	-	0,8-1,2 nm	0,1-1 µm	8,8 wt% järn	Faryngal aspiration	4 h	Lokal och systemisk effekt på inflammatoriska parametrar	Ederly et al. 2009	SWCNT
40 µg	1,5	Mus	-	80 nm	10-20 µm	0,2% wt% järn	Faryngal aspiration	4 h	Lokal och systemisk effekt på inflammatoriska parametrar	Ederly et al. 2009	MWCNT
20 µg x 4	2,8	Mus	-	0,7-1,5 nm	1 µm	-	Faryngal instillation	4 doser under 8 veckor	Ateroskleros ökade hos ApoE ^{-/-} transgena möss. Plackbildning i aorta, mtDNA-skador	Li et al. 2007b	SWCNT

Tabell 11. Carcinogena effekter efter exponering för MWCNT eller SWCNT.

Absolut dos	Dos (mg/kg)	Djur	Antal	Diameter	Längd	Kännetecken	Exponeringsväg	Exponeringstid	Effekter	Referens	Typ
-	1	Råttor	7	70-110 nm	2 µm	Omodifierade	Intraskrotalt	1 dos, 1 år	Mesoteliom, 6/7 djur dog	Sakamoto et al. 2009	MWCNT
0,5 mg	2-2,5	Råttor	5	11,3 nm	0,7 µm	Malda	Intratrachealt	1 dos, 3 dagar	Inflammation, neutrofiler och makrofager	Muller et al. 2008	MWCNT
50 µg	2,7	Mus	3-6	15 nm	1-5 µm	Korta	Intraperitonealt	1 dos, 7 dagar	icke signifikant inflammation, inga granulom	Poland et al. 2008	MWCNT
50 µg	2,7	Mus	3-6	10,4 nm	5-20 µm	Korta	Intraperitonealt	1 dos, 7 dagar	icke signifikant inflammation, 1 granulom hos 1 djur	Poland et al. 2008	MWCNT
50 µg	2,7	Mus	3-6	85 nm	13 µm	Långa	Intraperitonealt	1 dos, 7 dagar	signifikant inflammation, granulom i bukhalans mesoteli	Poland et al. 2008	MWCNT
50 µg	2,7	Mus	3-6	165 nm	56 µm	Långa	Intraperitonealt	1 dos, 7 dagar	signifikant inflammation, granulom i bukhalans mesoteli	Poland et al. 2008	MWCNT
2 mg	5,6-7,1	Råttor	50	11,3 nm	0,7 µm	Omodifierade	Intraperitonealt	1 dos, 2 år	Inga	Muller et al. 2009	MWCNT
2 mg	5,6-7,1	Råttor	50	11,3 nm	0,7 µm	Strukturella defekter	Intraperitonealt	1 dos, 2 år	Inga	Muller et al. 2009	MWCNT
2 mg	8-10	Råttor	5	11,3 nm	0,7 µm	Malda	Intratrachealt	1 dos, 3 dagar	Inflammation, neutrofiler och makrofager. Induktion av mikrokarvor i pneumocyter	Muller et al. 2008	MWCNT
5 mg	20-25	Råttor	5	11,3 nm	0,7 µm	Malda	Intratrachealt	1 dos, 3 dagar	Inflammation, neutrofiler och makrofager	Muller et al. 2008	MWCNT
20 mg	55-71	Råttor	50	11,3 nm	0,7 µm	Strukturella defekter	Intraperitonealt	1 dos, 2 år	Inga	Muller et al. 2009	MWCNT
20 mg	55-71	Råttor	50	11,3 nm	0,7 µm	Omodifierade	Intraperitonealt	1 dos, 2 år	Inga	Muller et al. 2009	MWCNT
3 mg	111-121	Mus	19	100 nm	5 µm	Omodifierade	Intraperitonealt	1 dos, 180 dagar	Mesoteliom, 14/16 djur dog	Takagi et al. 2008	MWCNT

11. Effekter hos människa

Effekterna hos människor efter exponering för kolnanorör är mer eller mindre okända. I en studie testades om kolnanorör gav upphov till hudirritation hos frivilliga försökspersoner, men inga effekter observerades (Huczko and Lange, 2001). Denna studie har brister på grund av att man applicerade en sotblandning med högt innehåll av ospecificerade kolnanorör. Koncentrationen av kolnanorör i sotet angavs heller inte. I en studie på avlidna patienter som deltagit i saneringsarbetet vid Ground Zero efter terrorattackerna den elfte september 2001 fann man kolnanorör i deras lungor. Dock finns ingen korrelation mellan fynd av kolnanorör och dödsorsak (Wu et al. 2010). Det finns stora kunskapsluckor vad gäller effekter av kolnanorör på människor. Den ökande användningen av kolnanorör i industriella tillämpningar gör sådana undersökningar angelägna, se vidare resonemang under stycket "Framtida forskningsbehov".

12. Hygieniska gränsvärden

Hittills har två tillverkare av MWCNT (Bayer, Nanocyl) föreslagit egna gränsvärden för sina produkter, se tabell 12 (Schulte et al., 2010). NIOSH har föreslagit ett hygieniskt gränsvärde för MWCNT på $7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Schulte et al., 2010). Även ett riktvärde (benchmark limit) för kolnanorör baserat på antalet fibrer per volymenhet har föreslagits, $0,01 \text{ fiber}/\text{cm}^3$ (IFA, 2009). Detta riktvärde är inte baserat på observerade hälsoeffekter, därför kan en hälsorisk för arbetare fortfarande existera trots att värdet följs.

Tabell 12. Föreslagna gränsvärden för kolnanorör

Typ av kolnanorör	Hygieniskt gränsvärde (nivågränsvärde)	Referenser
MWCNT	$2.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$	Nanocyl, 2009
MWCNT	$50 \mu\text{g}/\text{m}^3$	Bayer, 2010
MWCNT	$7 \mu\text{g}/\text{m}^3$	Schulte et al., 2010
kolnanorör	$0,01 \text{ fiber}/\text{cm}^3$ ^a	Institute for Occupational Safety and Health of the German Social Accident Insurance (IFA), 2009

^aRiktvärde; ej hälsobaserat

13. Tekniskt arbetarskydd och personlig skyddsutrustning

Nedan kommer en sammanställning av de råd och riktlinjer som olika nationella organisationer, t ex NIOSH, Health and Safety Executive (HSE) och IFA, har för arbete med kolnanorör/nanopartiklar. Försiktighetsprincipen bör råda då man arbetar med kolnanorör/nanopartiklar tills man vet mer om deras toxicitet och tills man har satt hygieniska gränsvärden (HSE, 2009). Om användning av kolnanorör inte kan undvikas, så bör en hög nivå av eliminationsåtgärder användas så att den yrkesmässiga exponeringen reduceras till lägsta möjliga nivå.

Luftburna nanopartiklar uppför sig som gasmolekyler, därför bör etablerat tekniskt arbetarskydd för gaser också fungera för att skydda arbetare mot att exponeras för nanopartiklar. Traditionellt när det gäller att begränsa och kontrollera olika typer av luftföroreningar genom eliminationsåtgärder så går man stegvis tillväga, se tabell 13. Detta ska också användas vid exponering för luftburna nanopartiklar (Schulte et al., 2008; NIOSH, 2009).

Tabell 13. Rangordning av eliminationsåtgärder då det gäller att begränsa och kontrollera luftföroreningar av nanopartiklar baserad på traditionell yrkeshygien

Kontrollmetod/Eliminationsåtgärd	Process, utrustning, eller arbetsuppgift
1. Elimination	Förändra sammansättning för att eliminera risken
2. Substitution	Utbyte av ämne med hög risk till låg risk
3. Tekniskt arbetarskydd	Isolering/inkapsling, ventilation (process, allmän)
4. Administrativa åtgärder	Hanterings- och skyddsinstruktioner, rätt arbetssätt, träning, utbildning, skiftplanering, medicinska kontroller, regelbunden städning/rengöring, märkning av produkter innehållande nanomaterial, säkerhetsdatablad för nanomaterial
5. Personlig skyddsutrustning	Andningsskydd, skyddsklädsel, skyddshandskar, skyddsglasögon, hörselskydd

Vidare är det viktigt, då det gäller riskhantering för kolnanorör, att begränsa antalet arbetare som potentiellt exponeras för kolnanorör och minimera (HSE, 2009):

- nivå och varaktigheten på exponeringen (genom träning och hanteringsinstruktioner)
- de använda mängderna
- kolnanorörhanteringen

Man ska också, om det är möjligt, låta kolnanorörmaterialet vara vått eller fuktigt för att minska risken att det ska bli luftburet.

13.1 Control banding

”Control banding” har sitt ursprung i läkemedelsindustrin och är ett användbart verktyg för att göra exponeringsbedömningar på arbetsplatser. Control bandning bygger på att nödvändig åtgärdsnivå rekommenderas för en viss exponeringsnivå för en substans i en given riskgrupp (baserat på riskfraser från säkerhetsdatablad och hantering). Control banding har potential att vara ett användbart koncept för arbetsplatser som hanterar nanomaterial (Maynard et al., 2007; Schulte et al., 2008).

13.2 Tekniskt arbetarskydd

För att begränsa arbetarens exponering för kolnanorör är det viktigaste att undvika fria nanopartiklar i luften (Nanosafe, 2008). För de flesta arbetsprocesser och hanteringsmoment kan emission av kolnanorör till luften sannolikt kontrolleras genom olika typer av tekniskt arbetarskydd (inkapslingar, dragskåp, dragbänkar, punktutsug etc.; Methner et al. 2010b). En rekommendation är att man kapslar in alla processer där man använder nanopartiklar och att dessa inkapslingar är konstruerade för att passa gasformiga ämnen. En annan rekommendation är att tekniskt arbetarskydd som är effektivt mot damm generellt också är lämpligt för elimination av nanopartiklar och ultrafina partiklar (IFA, 2009). Enligt NIOSH bör konventionellt tekniskt arbetarskydd, så som utrustning för inkapsling av emissionskällor samt processventilation, vara tillräckligt effektiv för att även fånga luftburna nanopartiklar (2009). Nuvarande kunskap tyder på att användning av HEPA-filter i ventilationsystemen troligtvis fångar nanopartiklar effektivt (Hinds, 1999), däremot gör cykloner inte det. I samband med exponeringsmätningar på arbetsplatser där kolnanorör tillverkades och hanterades rapporterades det att etablerat konventionellt tekniskt arbetarskydd verkade vara effektivt (Han et al., (2008; Yeganeh et al., 2008). Om man inte kan innesluta en process där man använder nanopartiklar, ska man använda lokal processventilation, t ex punktutsug med partikelfilter (t ex HEPA) tillsammans med omfattande personlig skyddsutrustning (andningsskydd, skyddshandskar, skyddskläder, skyddsskor; Nanosafe, 2008; Methner, 2008).

13.3 Personlig skyddsutrustning

Användning av personlig skyddsutrustning såsom andningsskydd, skyddshandskar och skyddsklädsel är det sista steget av tidigare beskrivna eliminationsåtgärder och är den sista nivån bland de åtgärder som bör vidtas för att skydda arbetare från skadliga effekter av kolnanorör (Schulte et al., 2008). Då det för kolnanorör/nanopartiklar inte finns tillräckliga kunskaper om hälsoeffekter och begränsat med data för att bedöma hur effektivt den yrkesmässiga exponeringen kan kontrolleras, kan personlig skyddsutrustning behöva användas.

13.3.1 Andningsskydd

Fläktassisterade andningsskydd ger bäst skydd och är mest komfortabla (Nanosafe, 2008). Även halvmask med partikelfilter klass FFP3 kan användas (Nanosafe, 2008). Andningsskydd ska endast användas tillsammans med annat tekniskt arbetarskydd. HSE rekommenderar andningsskydd med en skyddsfaktor på 40 eller högre, samt att alla anställda som använder andningsskydd måste ha genomgått utbildning och ett tillpassningstest.

13.3.2 Skyddshandskar

Engångshandskar av nitril verkar vara speciellt lämpliga för arbete med nanopartiklar (Nanosafe, 2008). Uppmärksamhet måste riktas mot handskarna så att dessa har adekvat mekanisk stabilitet för att förhindra hudkontakt (IFA, 2009). Sättet på vilka handskarna sätts på och tas av, liksom deras överlapp med skyddskläderna är mer relevant för möjlig hudexponering än handskmaterialets permeabilitet (IFA, 2009).

13.3.3 Skyddskläder

Skyddskläder ska förhindra hudexponering och dessa ska helst vara tillverkade i membranmaterial, eftersom vävda eller stickade tyger samt tyger i bomull eller ull ger sämre

skydd (IFA, 2009). Detta bekräftas av en färsk studie där man sett att nonwoven tyger av polypropylen eller polyeten (lufttätt material) skyddar mer effektivt mot nanopartiklar än bomullstyg (Golanski et al., 2009). Man vet i dagsläget inte hur effektivt skyddskläder förhindrar hudexponering för olika nanopartiklar (Schulte et al., 2008). Dock finns redan i vissa standarder för skyddsklädsel testmetoder eller resultat för nanometer-stora partiklar, och detta kan indikera hur effektiva skyddskläderna är (Schulte et al., 2008; ASTM, 2003).

13.4 Städning

Kolnanorör är stabila föreningar och har ingen naturlig nedbrytbarhet. Kolnanorör som emitterats till arbetsmiljön finns kvar där om man inte eliminerar dem genom städning och rengöring. Regelbunden städning och rengöring på arbetsplatsen är ett viktigt arbetsmoment vid tillverkning och användning av nanopartiklar (Nanosafe, 2008). Det är viktigt att man har lättstädade ytor där man hanterar nanopartiklar. Dammsugning verkar vara en effektiv rengöringsmetod, dock bör man för nanopartiklar tänka på risken för dammexplosion (kolnanorör har dock en låg risk för detta; Bouillard et al., 2009; Nanosafe, 2008). Vidare är det viktigt att man omedelbart städar upp ev. spill och läckage av nanopartiklar i arbetsmiljön. Adekvat personlig skyddsutrustning ska alltid användas vid städning och underhållsarbete.

13.5 Avfallshantering av kolnanorör

Enligt HSE (2009) ska avfall innehållande kolnanorör klassificeras och märkas som riskavfall. Kolnanoröravfallet ska förslutas noggrant i dubbla lager av polyetenpåsar. Detta bör göras i dragskåp med HEPA-filter eller genom att använda processventilation t ex punktutsug med HEPA-filter. Förbränning av kolnanorörinnehållande avfall är att föredra då pyrolys över 500 °C oxiderar kolnanorören fullständigt.

13.6 Sammanfattning

Vid arbete med kolnanorör/nanopartiklar bör försiktighetsprincipen råda. Om man använder kolnanorör, så rekommenderas hög nivå av eliminationsåtgärder så att den yrkesmässiga exponeringen reduceras till lägsta möjliga nivå. Emission av kolnanorör till luften kan för de flesta arbetsprocesser och hanteringsmoment kontrolleras genom tekniskt arbetarskydd såsom inkapslingar, dragskåp, dragbänkar, punktutsug. Även personlig skyddsutrustning i form av andningsskydd, skyddshandskar och skyddsklädsel kan behöva användas då det i dagsläget finns begränsad möjlighet att mäta och därmed bedöma den yrkesmässiga exponeringen för kolnanorör.

14. Framtida forskningsbehov

Nedan ges en punktformig sammanfattning av det framtida forskningsbehovet inom området som har identifierats vid skrivande av rapporten.

- Det finns behov av en standardiserad mätmetodik för kvantifiering av den yrkesmässiga exponeringen för kolnanorör.
- Fler exponeringsmätningar måste göras på arbetsplatser där kolnanorör tillverkas, används och hanteras eller där produkter som innehåller kolnanorör bearbetas. Både fler personburna heldagsmätningar med provtagning i andningszonen måste göras, men även fler personburna exponeringsmätningar vid olika arbetsmoment/exponeringssituationer måste göras.
- Fler arbetsplatser där kolnanorör tillverkas, används och hanteras eller där produkter som innehåller kolnanorör bearbetas måste också karaktäriseras med hjälp av mätningar med direktvisande aerosolinstrument.
- Det finns ett behov av att personburen mätutrustning för att mäta andra parametrar än masskoncentration utvecklas.
- Riskbedömning för kolnanorör måste göras när tillförlitlig exponeringsdata för kolnanorör finns tillgänglig.
- En konsensus måste uppnås vad gäller dosmetrik och vilka parametrar som påverkar toxiciteten hos kolnanorör.
- Fler studier på reproduktionstoxikologi krävs.
- Biopersistensen hos kolnanorör behöver undersökas i högre grad, d.v.s. hur länge finns de kvar i kroppen efter exponering.
- Inhalations- eller instillationsstudier med upprepad dosering under längre tid än 90 dagar behövs för att kunna utvärdera långtidseffekterna av kolnanorör på ett sätt som avspeglar verklig exponering och dess effekter.
- Studier på om kolnanorör kan orsaka mesoteliom eller ej i luftvägarna.
- Toxicitet hos kompositmaterial innehållandes kolnanorör.
- Utveckling av biomarkörer för att utvärdera och detektera exponering för kolnanorör.

15. Referenser

- Allen BL, Kichambare PD, Gou P, Vlasova II, Kapralov AA, Konduru N, Kagan VE & Star A (2008) Biodegradation of Single-Walled Carbon Nanotubes through Enzymatic Catalysis. *Nano Letters* 8:3899-3903
- Aitken RJ, Chaudhry MQ, Boxall ABA, Hull M (2006) Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends. *Occup Med (Lond)* 56:300-306
- Arnold Ms, Green Aa, Hulvat Jf, Stupp Si & Hersam Mc (2006) Sorting carbon nanotubes by electronic structure using density differentiation. *Nature Nanotechnology* 1:60-65
- Aschberger K, Johnston HJ, Stone V, Aitken RJ, Hankin SM, Peters SAK, Tran CL, Christensen FM (2010) Review of carbon nanotubes toxicity and exposure-Appraisal of human health risk assessment based on open literature. *Crit Rev Toxicol* 40:759-790
- Asharani PV, Serina NGB, Nurmawati MH, Wu YL, Gong Z & Valiyaveetil S (2008) Impact of Multi-Walled Carbon Nanotubes on Aquatic Species. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 8:3603-3609
- ASTM International, ASTM Subcommittee F23.40: Standard Test Method for Resistance of Materials Used in Protective Clothing to Penetration by Bloodborne Pathogens Using Phi-X174 Bacteriophage Penetration as A Test System (ASTM F1671-03). [Standard] West Conshohocken, Pa.: ASTM International, 2003.
- Bai YH, Zhang Y, Zhang JP, Mu QX, Zhang WD, Butch ER, Snyder SE & Yan B (2010) Repeated administrations of carbon nanotubes in male mice cause reversible testis damage without affecting fertility. *Nature Nanotechnology* 5:683-689
- Bardi G, Tognini P, Ciofani G, Raffa V, Costa M & Pizzorusso T (2009) Pluronic-coated carbon nanotubes do not induce degeneration of cortical neurons in vivo and in vitro. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine* 5:96-104
- Barkauskas J, Stankeviciene I & Selskis A (2010) A novel purification method of carbon nanotubes by high-temperature treatment with tetrachloromethane. *Separation and Purification Technology* 71:331-336
- Baron PA, Maynard AD, Foley, M (2003) Evaluation of Aerosol Release during the Handling of Unrefined Single Walled Carbon Nanotube Material. National Institute of Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH, April, Report No. NIOSH DART-02-191 (<http://frictioncenter.engr.siu.edu/Media/NIOSH%20DART-02-191%20r1-1%20med%20res.pdf>)
- Bello D, Hart AJ, Ahn K, Hallock M, Yamamoto N, Garcia EJ, Ellenbecker MJ, Wardle BL (2008) Particle exposure levels during CVD growth and subsequent handling of vertically-aligned carbon nanotube films *Carbon* 46:974-977
- Bello D, Wardle BL, Yamamoto N, deVilloria RG, Garcia EJ, Hart AJ, Ahn K, Ellenbecker MJ, Hallock M (2009) Exposure to nanoscale particles and fibers during machining of hybrid advanced composites containing carbon nanotubes. *J Nanopart Res* 11:231-249
- Bello D, Wardle BL, Zhang J, Yamamoto N, Santeufemio C, Hallock M, Virji MA (2010) Characterization of exposures to nanoscale particles and fibers during solid core drilling of hybrid carbon nanotube advanced composites. *Int J Occup Environ Health* 16:434-450
- Belyanskaya L, Weigel S, Hirsch C, Tobler U, Krug HF & Wick P (2009) Effects of carbon nanotubes on primary neurons and glial cells. *Neurotoxicology* 30:702-711
- Bouillard J, Vignes A, Dufaud O, Perrin L, Thomas D (2009) Explosion risks from nanomaterials. *J Physics* 170:1-4
- Brown DM, Kinloch IA, Bangert U, Windle AH, Walter DM, Walker GS, Scotchford CA, Donaldson K & Stone V (2007) An in vitro study of the potential of carbon nanotubes and nanofibres to induce inflammatory mediators and frustrated phagocytosis. *Carbon* 45:1743-1756
- Bushnan B. Springer handbook of nanotechnology. Berlin, Heidelberg: Springer 2004.
- Cheng JP, Chan CM, Veca LM, Poon WL, Chan PK, Qu LW, Sun YP & Cheng SH (2009) Acute and long-term effects after single loading of functionalized multi-walled carbon nanotubes into zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicology and Applied Pharmacology* 235:216-225
- Cherukuri P, Gannon CJ, Leeuw TK, Schmidt HK, Smalley RE, Curley SA & Weisman RB (2006) Mammalian pharmacokinetics of carbon nanotubes using intrinsic near-infrared fluorescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:18882-18886

- Chico L, Crespi Vh, Benedict Lx, Louie Sg & Cohen MI (1996) Pure carbon nanoscale devices: Nanotube heterojunctions. *Physical Review Letters* 76:971-974
- Chou C-C, Hsiao H-Y, Hong Q-S, Chen C-H, Peng Y-W, Chen H-W & Yang P-C (2008) Single-walled carbon nanotubes can induce pulmonary injury in mouse model. *Nano Letters* 8:437-445
- Crosera M, Bovenzi M, Maina G, Adami G, Zanette C, Florio C, Filon Larese F (2009) Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. *Int Arch Occup Environ Health* 82:1043-1055
- Cveticanin J, Joksic G, Leskovic A, Petrovic S, Sobot AV & Neskovic O (2010) Using carbon nanotubes to induce micronuclei and double strand breaks of the DNA in human cells. *Nanotechnology* 21
- Dai, H (2002). Carbon nanotubes: Synthesis, integration, and properties. *Acc Chem Res* 35:1035-1044
- Deng X, Jia G, Wang H, Sun H, Wang X, Yang S, Wang T & Liu Y (2007) Translocation and fate of multi-walled carbon nanotubes in vivo. *Carbon* 45:1419-1424
- Deng XY, Wu F, Liu Z, Luo M, Li L, Ni QS, Jiao Z, Wu MH & Liu YF (2009) The splenic toxicity of water soluble multi-walled carbon nanotubes in mice. *Carbon* 47:1421-1428
- Donaldson K, Aitken R, Tran L, Stone V, Duffin R, Forrest G & Alexander A (2006) Carbon nanotubes: A review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. *Toxicological Sciences* 92:5-22
- Donaldson K, Tran L, Jimenez LA, Duffin R, Newby DE, Mills N, MacNee W, Stone V (2005) Combustion-derived nanoparticles: A review of their toxicology following inhalation exposure. *Particle and Fibre Toxicology* 2:10
- Donaldson K, Murphy Fa, Duffin R & Poland Ca (2010) Asbestos, carbon nanotubes and the pleural mesothelium: a review of the hypothesis regarding the role of long fibre retention in the parietal pleura, inflammation and mesothelioma. *Particle and Fibre Toxicology* 7:5
- Elgrabli D, Floriani M, Abella-Gallart S, Meunier L, Gamez C, Delalain P, Rogerieux F, Boczkowski J & Lacroix G (2008) Biodistribution and clearance of instilled carbon nanotubes in rat lung. *Particle and Fibre Toxicology* 5
- Ellinger-Ziegelbauer H & Pauluhn J (2009) Pulmonary toxicity of multi-walled carbon nanotubes (Baytubes (R)) relative to alpha-quartz following a single 6 h inhalation exposure of rats and a 3 months post-exposure period. *Toxicology* 266:16-29
- ENRHES (2009) Engineered nanoparticles: review of health and environmental safety.
- Erdely A, Hulderman T, Salmen R, Liston A, Zeidler-Erdely PC, Schwegler-Berry D, Castranova V, Koyama S, Kim YA, Endo M & Simeonova PP (2009) Cross-Talk between Lung and Systemic Circulation during Carbon Nanotube Respiratory Exposure. Potential Biomarkers. *Nano Letters* 9:36-43
- Folkmann JK, Risom L, Jacobsen NR, Wallin H, Loft S & Moller P (2009) Oxidatively Damaged DNA in Rats Exposed by Oral Gavage to C-60 Fullerenes and Single-Walled Carbon Nanotubes. *Environmental Health Perspectives* 117:703-708
- Gaillard C, Cellot G, Li SP, Toma FM, Dumortier H, Spalluto G, Cacciari B, Prato M, Ballerini L & Bianco A (2009) Carbon Nanotubes Carrying Cell-Adhesion Peptides do not Interfere with Neuronal Functionality. *Advanced Materials* 21:2903-+
- Georgin D, Czarny B, Botquin M, Mayne-L'Hermite M, Pinault M, Bouchet-Fabre B, Carriere M, Poncy JL, Chau Q, Maximilien R, Dive V & Taran F (2009) Preparation of C-14-Labeled Multiwalled Carbon Nanotubes for Biodistribution Investigations. *Journal of the American Chemical Society* 131:14658-+
- Golanski L, Guiot A, Rouillon F, Pocachard J, Tardif F (2009) Experimental evaluation of personal protection devices against graphite nanoaerosols: fibrous filter media, masks, protective clothing, and gloves. *Hum Exp Toxicol* 28:353-9
- Gross P (1981) Consideration of the Aerodynamic Equivalent Diameter of Respirable Mineral Fibers. *American Industrial Hygiene Association Journal* 42:449-452
- Guo T, Nikolaev P, Rinzler Ag, Tomanek D, Colbert Dt & Smalley Re (1995a) Self-Assembly of Tubular Fullerenes. *Journal of Physical Chemistry* 99:10694-10697
- Guo T, Nikolaev P, Thess A, Colbert Dt & Smalley Re (1995b) Catalytic Growth of Single-Walled Nanotubes by Laser Vaporization. *Chemical Physics Letters* 243:49-54
- Guo JX, Zhang X, Li QN & Li WX (2007) Biodistribution of functionalized multiwall carbon nanotubes in mice. *Nuclear Medicine and Biology* 34:579-583

- Hamad I, Christy Hunter A, Rutt KJ, Liu Z, Dai H & Moein Moghimi S (2008) Complement activation by PEGylated single-walled carbon nanotubes is independent of C1q and alternative pathway turnover. *Mol Immunol* 45:3797-803
- Han JH, Lee EJ, Lee JH, So KP, Lee YH, Bae GN, Lee SB, Ji JH, Cho MH, Yu IJ (2008) Monitoring multiwalled carbon nanotube exposure in carbon nanotube research facility. *Inhal Toxicol* 20:741-49
- Harris Pjf (2004) Carbon nanotube composites. *International Materials Reviews* 49:31-43
- Helland A, Wick P, Koehler A, Schmid K, Som C (2007) Reviewing the environmental and human health knowledge base of carbon nanotubes. *Environ Health Perspect* 115:1125-31
- Hersam Mc (2008) Progress towards monodisperse single-walled carbon nanotubes. *Nature Nanotechnology* 3:387-394
- Hinds WC (1999) *Aerosol technology – Properties, behavior, and measurement of airborne particles*. 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., Canada
- Hirsch A & Vostrowsky O (2005) Functionalization of carbon nanotubes. *Functional Molecular Nanostructures* 245:193-237
- Hou Px, Xu St, Ying Z, Yang Qh, Liu C & Cheng Hm (2003) Hydrogen adsorption/desorption behavior of multi-walled carbon nanotubes with different diameters. *Carbon* 41:2471-2476
- HSE, Health and Safety Executive (2009) Risk management of carbon nanotubes
- Huang Xy, Mclean Rs & Zheng M (2005) High-resolution length sorting and purification of DNA-wrapped carbon nanotubes by size-exclusion chromatography. *Analytical Chemistry* 77:6225-6228
- Huczko A & Lange H (2001) Carbon nanotubes: Experimental evidence for a null risk of skin irritation and allergy. *Fullerene Science and Technology* 9:247-250
- Hussain F, Hojjati M, Okamoto M, Gorga RE (2006) Polymer-matrix nanocomposites, processing, manufacturing, and application. *J Compos Mater* 40:1511
- IFA (2009) Criteria for assessment of the effectiveness of protective measures. <http://www.dguv.de/ifa/en/fac/nanopartikel/beurteilungsmasstaebe/index.jsp>. Accessed 3 September 2010
- Iijima S (1991) Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature* 354:56-58
- Inoue K, Koike E, Yanagisaw R, Hirano S, Nishikawa M & Takano H (2009) Effects of multi-walled carbon nanotubes on a murine allergic airway inflammation model. *Toxicology and Applied Pharmacology* 237:306-316
- Inoue K, Takano H, Koike E, Yanagisawa R, Sakurai M, Tasaka S, Ishizaka A & Shimada A (2008) Effects of Pulmonary Exposure to Carbon Nanotubes on Lung and Systemic Inflammation with Coagulatory Disturbance Induced by Lipopolysaccharide in Mice. *Experimental Biology and Medicine* 233:1583-159
- Inoue K, Yanagisawa R, Koike E, Nishikawa M & Takano H (2010) Repeated pulmonary exposure to single-walled carbon nanotubes exacerbates allergic inflammation of the airway: Possible role of oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 48:924-934
- iRAP, Innovative Research and Products, Inc (2011) Production and applications of carbon nanotubes, carbon nanofibers, fullerenes, graphene and nanodiamonds: A global technology survey and market analysis. ET-113, Stamford, CT, U.S.
- Jacobsen NR, Pojana G, White P, Møller P, Cohn CA, Korsholm KS, Vogel U, Marcomini A, Loft S & Wallin H (2008) Genotoxicity, cytotoxicity, and reactive oxygen species induced by single-walled carbon nanotubes and C(60) fullerenes in the FE1-Mutatrade markMouse lung epithelial cells. *Environmental And Molecular Mutagenesis* 49:476-487
- Ji ZF, Zhang DY, Li L, Shen XZ, Deng XY, Dong L, Wu MH & Liu YF (2009) The hepatotoxicity of multi-walled carbon nanotubes in mice. *Nanotechnology* 20
- Jia FM, Wu L, Meng J, Yang M, Kong H, Liu TJ & Xu HY (2009) Preparation, characterization and fluorescent imaging of multi-walled carbon nanotube-porphyrin conjugate. *Journal of Materials Chemistry* 19:8950-8957
- Johnston HJ, Hutchison GR, Christensen FM, Peters S, Hankin S, Aschberger K & Stone V (2010) A critical review of the biological mechanisms underlying the in vivo and in vitro toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics. *Nanotoxicology* 4:207-46
- Johnson DR, Methner MM, Kennedy AJ, Steevens JA (2010) Potential for occupational exposure to engineered carbon-based nanomaterial in environmental laboratory studies. *Environ Health Perspect* 118:49-54

- Jorio A, Saito R, Hafner Jh, Lieber Cm, Hunter M, McClure T, Dresselhaus G & Dresselhaus Ms (2001) Structural (n,m) determination of isolated single wall carbon nanotubes by resonant Raman scattering. *Nanonetwork Materials: Fullerenes, Nanotubes and Related Systems* 590:129-132
- Journet C, Maser Wk, Bernier P, Loiseau A, Delachapelle Ml, Lefrant S, Deniard P, Lee R & Fischer Je (1997) Large-scale production of single-walled carbon nanotubes by the electric-arc technique. *Nature* 388:756-758
- Kagan VE, Konduru NV, Feng WH, Allen BL, Conroy J, Volkov Y, Vlasova II, Belikova NA, Yanamala N, Kapralov A, Tyurina YY, Shi JW, Kisin ER, Murray AR, Franks J, Stolz D, Gou PP, Klein-Seetharaman J, Fadeel B, Star A & Shvedova AA (2010) Carbon nanotubes degraded by neutrophil myeloperoxidase induce less pulmonary inflammation. *Nature Nanotechnology* 5:354-359
- Kagan VE, Tyurina YY, Tyurin VA, Konduru NV, Potapovich AI, Osipov AN, Kisin ER, Schwegler-Berry D, Mercer R, Castranova V & Shvedova AA (2006) Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages: Role of iron. *Toxicology Letters* 165:88-100
- Kang B, Yu DC, Dai YD, Chang SQ, Chen D & Ding YT (2009) Biodistribution and accumulation of intravenously administered carbon nanotubes in mice probed by Raman spectroscopy and fluorescent labeling. *Carbon* 47:1189-1192
- Kemi, Kemikalieinspektionen (2009) Användningen av nanomaterial i Sverige 2008 - analys och prognos. PM1/09, Sundbyberg
- Keren S, Zavaleta C, Cheng Z, de la Zerda A, Gheysens O & Gambhir SS (2008) Noninvasive molecular imaging of small living subjects using Raman spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:5844-5849
- Kishore AS, Surekha P & Murthy PB (2009) Assessment of the dermal and ocular irritation potential of multi-walled carbon nanotubes by using in vitro and in vivo methods. *Toxicology Letters* 191:268-274
- Kisin ER, Murray AR, Keane MJ, Shi XC, Schwegler-Berry D, Gorelik O, Arepalli S, Castranova V, Wallace WE, Kagan VE & Shvedova AA (2007) Single-walled carbon nanotubes: Geno- and cytotoxic effects in lung fibroblast V79 cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part a-Current Issues* 70:2071-2079
- Kobayashi N, Naya M, Ema M, Endoh S, Maru J, Mizuno K & Nakanishi J (2010) Biological response and morphological assessment of individually dispersed multi-wall carbon nanotubes in the lung after intratracheal instillation in rats. *Toxicology* 276:143-53
- Kolosnjaj-Tabi J, Hartman KB, Boudjemaa S, Ananta JS, Morgant G, Szwarc H, Wilson LJ & Moussa F (2010) In Vivo Behavior of Large Doses of Ultrashort and Full-Length Single-Walled Carbon Nanotubes after Oral and Intraperitoneal Administration to Swiss Mice. *ACS Nano* 4:1481-1492
- Kostarelos K, Bianco A, Prato M (2009) Promises, facts and challenges for carbon nanotubes in imaging and therapeutics. *Nat Nanotechnol* 4:627-33
- Kumar M, Ando Y (2010) Chemical vapor deposition of carbon nanotubes: a review on growth mechanism and mass production. *J Nanosci Nanotechnol* 10:3739-58
- Kymakis E, Alexandou I & Amaratunga Gaj (2002) Single-walled carbon nanotube-polymer composites: electrical, optical and structural investigation. *Synthetic Metals* 127:59-62
- Köhler AR, Som C, Helland A, Gottschalk F (2008) Studying the potential release of carbon nanotubes through the application life cycle. *J Cleaner Production* 16: 927-937
- Lacerda L, Herrero MA, Venner K, Bianco A, Prato M & Kostarelos K (2008a) Carbon-nanotube shape and individualization critical for renal excretion. *Small* 4:1130-1132
- Lacerda L, Soundararajan A, Singh R, Pastorin G, Al-Jamal KT, Turton J, Frederik P, Herrero MA, Bao SLA, Emfietzoglou D, Mather S, Phillips WT, Prato M, Bianco A, Goins B & Kostarelos K (2008b) Dynamic Imaging of functionalized multi-walled carbon nanotube systemic circulation and urinary excretion. *Advanced Materials* 20:225-+
- Lam CW, James JT, McCluskey R, Arepalli S, Hunter RL (2006) A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. *Crit Rev Toxicol* 36:189-217
- Lam CW, James JT, McCluskey R & Hunter RL (2004) Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicological Sciences* 77:126-134
- Lee JH, Lee SB, Bae GN, Jeon KS, Yoon JU, Ji JH, Sung JH, Lee BG, Lee JH, Yang JS, Kim HY, Kang CS, Yu IJ (2010) Exposure assessment of carbon nanotube manufacturing workplaces. *Inhal Toxicol* 22:369-81

- Lee Kg, Wi R, Imran M, Park Tj, Lee J, Lee Sy & Kim Dh (2010) Functionalization Effects of Single-Walled Carbon Nanotubes as Templates for the Synthesis of Silica Nanorods and Study of Growing Mechanism of Silica. *Acs Nano* 4:3933-3942
- Legramante JM, Valentini F, Magrini A, Palleschi G, Sacco S, Iavicoli I, Pallante M, Moscone D, Galante A, Bergamaschi E, Bergamaschi A & Pietroiusti A (2009) Cardiac autonomic regulation after lung exposure to carbon nanotubes. *Human & Experimental Toxicology* 28:369-375
- Li JG, Li WX, Xu JY, Cai XQ, Liu RL, Li YJ, Zhao QF & Li QN (2007a) Comparative study of pathological lesions induced by multiwalled carbon nanotubes in lungs of mice by intratracheal instillation and inhalation. *Environmental Toxicology* 22:415-421
- Li Z, Hulderman T, Salmen R, Chapman R, Leonard SS, Young SH, Shvedova A, Luster MI & Simeonova PP (2007b) Cardiovascular effects of pulmonary exposure to single-wall carbon nanotubes. *Environmental Health Perspectives* 115:377-382
- Lindberg HK, Falck GCM, Suhonen S, Vippola M, Vanhala E, Catalán J, Savolainen K & Norppa H (2009) Genotoxicity of nanomaterials: DNA damage and micronuclei induced by carbon nanotubes and graphite nanofibres in human bronchial epithelial cells in vitro. *Toxicology Letters* 186:166-173
- Lippmann M (1990) Effects of Fiber Characteristics on Lung Deposition, Retention, and Disease. *Environmental Health Perspectives* 88:311-317
- Liu Z, Davis C, Cai WB, He L, Chen XY & Dai HJ (2008) Circulation and long-term fate of functionalized, biocompatible single-walled carbon nanotubes in mice probed by Raman spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:1410-1415
- Liu J, Rinzler Ag, Dai HJ, Hafner Jh, Bradley Rk, Boul Pj, Lu A, Iverson T, Shelimov K, Huffman Cb, Rodriguez-Macias F, Shon Ys, Lee Tr, Colbert Dt & Smalley Re (1998) Fullerene pipes. *Science* 280:1253-1256
- Lu X & Chen Zf (2005) Curved Pi-conjugation, aromaticity, and the related chemistry of small fullerenes (< C-60) and single-walled carbon nanotubes. *Chemical Reviews* 105:3643-3696
- Mahar B, Laslau C, Yip R & Sun Y (2007) Development of carbon nanotube-based sensors - A review. *Ieee Sensors Journal* 7:266-284
- Ma-Hock L, Treumann S, Strauss V, Brill S, Luizi F, Mertler M, Wiench K, Gamer AO, van Ravenzwaay B & Landsiedel R (2009) Inhalation Toxicity of Multiwall Carbon Nanotubes in Rats Exposed for 3 Months. *Toxicological Sciences* 112:468-481
- Maynard AD, Baron PA, Foley M, Shvedova AA, Kisin ER, Castranova V (2004) Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material. *J Toxicol Environ Health A* 67:87-107
- Maynard Ad, Ku Bk, Emery M, Stolzenburg M & Mcmurry Ph (2007) Measuring particle size-dependent physicochemical structure in airborne single walled carbon nanotube agglomerates. *Journal of Nanoparticle Research* 9:85-92
- Maynard AD (2007) Nanotechnology: the next big thing, or much ado about nothing? *Ann Occup Hyg* 51:1-12
- McDevitt MR, Chattopadhyay D, Jaggi JS, Finn RD, Zanzonico PB, Villa C, Rey D, Mendenhall J, Batt CA, Njardarson JT & Scheinberg DA (2007) PET Imaging of Soluble Yttrium-86-Labeled Carbon Nanotubes in Mice. *Plos One* 2
- Mercer RR, Hubbs AF, Scabilloni JF, Wang LY, Battelli LA, Schwegler-Berry D, Castranova V & Porter DW (2010) Distribution and persistence of pleural penetrations by multi-walled carbon nanotubes. *Particle and Fibre Toxicology* 7:-
- Mercer Rr, Scabilloni J, Wang L, Kisin E, Murray Ar, Schwegler-Berry D, Shvedova Aa & Castranova V (2008) Alteration of deposition pattern and pulmonary response as a result of improved dispersion of aspirated single-walled carbon nanotubes in a mouse model. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 294:L87-L97
- Methner MM (2008) Engineering case reports. Effectiveness of local exhaust ventilation (LEV) in controlling engineered nanomaterial emissions during reactor cleanout operations. *J Occup Environ Hyg* 5:D63-9
- Methner M, Hodson L, Geraci C (2010a) Nanoparticle Emission Assessment Technique (NEAT) for the Identification and Measurement of Potential Inhalation Exposure to Engineered Nanomaterials – Part A. *J Occup Environ Hyg* 7:127-32

- Methner M, Hodson L, Dames A, Geraci C (2010b) Nanoparticle Emission Assessment Technique (NEAT) for the identification and measurement of potential inhalation exposure to engineered nanomaterials--Part B: Results from 12 field studies. *J Occup Environ Hyg* 7:163-76
- Migliore L, Saracino D, Bonelli A, Colognato R, D'Errico MR, Magrini A, Bergamaschi A & Bergamaschi E (2010) Carbon Nanotubes Induce Oxidative DNA Damage in RAW 264.7 Cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 51:294-303
- Mitchell LA, Gao J, Wal RV, Gigliotti A, Burchiel SW & McDonald JD (2007) Pulmonary and systemic immune response to inhaled multiwalled carbon nanotubes. *Toxicological Sciences* 100:203-214
- Muller J, Decordier I, Hoet PH, Lombaert N, Thomassen L, Huaux F, Lison D & Kirsch-Volders M (2008) Clastogenic and aneugenic effects of multi-wall carbon nanotubes in epithelial cells. *Carcinogenesis* 29:427-433
- Muller J, Delos M, Panin N, Rabolli V, Huaux F & Lison D (2009) Absence of Carcinogenic Response to Multiwall Carbon Nanotubes in a 2-Year Bioassay in the Peritoneal Cavity of the Rat. *Toxicological Sciences* 110:442-448
- Muller J, Huaux F, Moreau N, Misson P, Heilier JF, Delos M, Arras M, Fonseca A, Nagy JB & Lison D (2005) Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicology and Applied Pharmacology* 207:221-231
- Murray AR, Kisin E, Leonard SS, Young SH, Kommineni C, Kagan VE, Castranova V & Shvedova AA (2009) Oxidative stress and inflammatory response in dermal toxicity of single-walled carbon nanotubes. *Toxicology* 257:161-171
- Mutlu GM, Budinger GRS, Green AA, Urich D, Soberanes S, Chiarella SE, Alheid GF, McCrimmon DR, Szeleifer I & Hersam MC (2010) Biocompatible Nanoscale Dispersion of Single-Walled Carbon Nanotubes Minimizes in vivo Pulmonary Toxicity. *Nano Letters* 10:1664-1670
- Nanocyl. <http://www.nanocyl.com/> ; 2010-11-04
- Nanosafe (2008) Safe production and use of nanomaterials. European Strategy for Nanosafety
- National Institute for Occupational Safety and Health (2009) Approaches to safe nanotechnology: an information exchange with NIOSH
- Nygaard UC, Hansen JS, Samuelsen M, Alberg T, Marioara CD & Lovik M (2009) Single-Walled and Multi-Walled Carbon Nanotubes Promote Allergic Immune Responses in Mice. *Toxicological Sciences* 109:113-123
- Ochoa-Olmos OE, Montero-Montoya R, Serrano-Garcia L & Basiuk EV (2009) Genotoxic Properties of Nylon-6/MWNTs Nanohybrid. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 9:4727-4734
- Patlolla A, Patlolla B & Tchounwou P (2010) Evaluation of cell viability, DNA damage, and cell death in normal human dermal fibroblast cells induced by functionalized multiwalled carbon nanotube. *Molecular and Cellular Biochemistry* 338:225-232
- Pauluhn J (2010) Subchronic 13-Week Inhalation Exposure of Rats to Multiwalled Carbon Nanotubes: Toxic Effects Are Determined by Density of Agglomerate Structures, Not Fibrillar Structures. *Toxicological Sciences* 113:226-242
- Peigney A, Laurent C, Flahaut E, Bacsá Rr & Rousset A (2001) Specific surface area of carbon nanotubes and bundles of carbon nanotubes. *Carbon* 39:507-514
- Personlig kommunikation med Patrik Fernberg, Swerea Sicomp, oktober 2010
- Poland CA, Duffin R, Kinloch I, Maynard A, Wallace WAH, Seaton A, Stone V, Brown S, MacNee W & Donaldson K (2008) Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nature Nanotechnology* 3:423-428
- Popov Vn (2004) Carbon nanotubes: properties and application. *Materials Science & Engineering R-Reports* 43:61-102
- Porter DW, Hubbs AF, Mercer RR, Wu NQ, Wolfarth MG, Sriram K, Leonard S, Battelli L, Schwegler-Berry D, Friend S, Andrew M, Chen BT, Tsuruoka S, Endo M & Castranova V (2010) Mouse pulmonary dose- and time course-responses induced by exposure to multi-walled carbon nanotubes. *Toxicology* 269:136-147
- Rinzler Ag, Liu J, Dai H, Nikolaev P, Huffman Cb, Rodriguez-Macias Fj, Boul Pj, Lu Ah, Heymann D, Colbert Dt, Lee Rs, Fischer Je, Rao Am, Eklund Pc & Smalley Re (1998) Large-scale purification of single-wall carbon nanotubes: process, product, and characterization. *Applied Physics a-Materials Science & Processing* 67:29-37

- Rotoli BM, Bussolati O, Barilli A, Zanello PP, Bianchi MG, Magrini A, Pietroiusti A, Bergamaschi A & Bergamaschi E (2009) Airway barrier dysfunction induced by exposure to carbon nanotubes in vitro: which role for fiber length? *Human & Experimental Toxicology* 28:361-368
- Rotoli BM, Bussolati O, Bianchi MG, Barilli A, Balasubramanian C, Bellucci S & Bergamaschi E (2008) Non-functionalized multi-walled carbon nanotubes alter the paracellular permeability of human airway epithelial cells. *Toxicology Letters* 178:95-102
- Ruoff Rs, Tersoff J, Lorents Dc, Subramoney S & Chan B (1993) Radial Deformation of Carbon Nanotubes by Van-Der-Waals Forces. *Nature* 364:514-516
- Ryman-Rasmussen JP, Cesta MF, Brody AR, Shipley-Phillips JK, Everitt JL, Tewksbury EW, Moss OR, Wong BA, Dodd DE, Andersen ME & Bonner JC (2009a) Inhaled carbon nanotubes reach the subpleural tissue in mice. *Nature Nanotechnology* 4:747-751
- Ryman-Rasmussen JP, Tewksbury EW, Moss OR, Cesta MF, Wong BA & Bonner JC (2009b) Inhaled Multiwalled Carbon Nanotubes Potentiate Airway Fibrosis in Murine Allergic Asthma. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 40:349-358
- Sakamoto Y, Nakae D, Fukumori N, Tayama K, Maekawa A, Imai K, Hirose A, Nishimura T, Ohashi N & Ogata A (2009) Induction of mesothelioma by a single intrascrotal administration of multi-wall carbon nanotube in intact male Fischer 344 rats. *Journal of Toxicological Sciences* 34:65-76
- Salvador-Morales C, Flahaut E, Sim E, Sloan J, Green ML & Sim RB (2006) Complement activation and protein adsorption by carbon nanotubes. *Mol Immunol* 43:193-201
- Sargent LM, Shvedova AA, Hubbs AF, Salisbury JL, Benkovic SA, Kashon ML, Lowry DT, Murray AR, Kisin ER, Friend S, McKinstry KT, Battelli L & Reynolds SH (2009) Induction of Aneuploidy by Single-Walled Carbon Nanotubes. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 50:708-717
- Sass J, Musu T; Burns K, Illuminato I (2008) Nanomaterials: brief review of policy frameworks in the US and Europe and recommendations from an occupational and environmental perspective. *Eur J Oncol* 13:211-218
- Sato Y, Yokoyama A, Shibata K-i, Akimoto Y, Ogino S-i, Nodasaka Y, Kohgo T, Tamura K, Akasaka T, Uo M, Motomiya K, Jeyadevan B, Ishiguro M, Hatakeyama R, Watari F & Tohji K (2005) Influence of length on cytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes against human acute monocytic leukemia cell line THP-1 in vitro and subcutaneous tissue of rats in vivo. *Molecular Biosystems* 1:176-182
- Savolainen K, Pylkkanen L, Norppa H, et al (2010) Nanotechnologies, engineered nanomaterials and occupational health and safety - A review. *Safety science* 48:957-963
- Saxena RK, Williams W, McGee JK, Daniels MJ, Boykin E & Gilmour MI (2007) Enhanced in vitro and in vivo toxicity of poly-dispersed acid-functionalized single-wall carbon nanotubes. *Nanotoxicology* 1:291-300
- Sayes Cm, Liang F, Hudson JI, Mendez J, Guo Wh, Beach Jm, Moore Vc, Doyle Cd, West JI, Billups We, Ausman Kd & Colvin VI (2006) Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity in vitro. *Toxicology Letters* 161:135-142
- Schipper ML, Nakayama-Ratchford N, Davis CR, Kam NWS, Chu P, Liu Z, Sun XM, Dai HJ & Gambhir SS (2008) A pilot toxicology study of single-walled carbon nanotubes in a small sample of mice. *Nature Nanotechnology* 3:216-221
- Schneider T et al (2007) Evaluation and control of occupational health risks from nanoparticles. *TemaNord* 2007:581, Nordic Council of Ministers, Copenhagen
- Schulte P, Geraci C, Zumwalde R, Hoover M, Kuempel E (2008) Occupational Risk Management of Engineered Nanoparticles. *J Occup Environ Hyg* 5:239-249
- Schulte PA, Murashov V, Zumwalde R, Kuempel ED, Geraci CL (2010) Occupational exposure limits for nanomaterials: state of the art. *J Nanopart Res* 12:1971-1987
- Shi Zj, Lian Yf, Liao Fh, Zhou Xh, Gu Zn, Zhang Y, Iijima S, Li Hd, Yue Kt & Zhang Sl (2000) Large scale synthesis of single-wall carbon nanotubes by arc-discharge method. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 61:1031-1036
- Shvedova AA, Castranova V, Kisin ER, Schwegler-Berry D, Murray AR, Gandelsman VZ, Maynard A & Baron P (2003) Exposure to carbon nanotube material: Assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A* 66:1909-1926
- Shvedova AA, Fabisiak JP, Kisin ER, Murray AR, Roberts JR, Tyurina YY, Antonini JM, Feng WH, Kommineni C, Reynolds J, Barchowsky A, Castranova V & Kagan VE (2008a) Sequential exposure

- to carbon nanotubes and bacteria enhances pulmonary inflammation and infectivity. *American Journal Of Respiratory Cell And Molecular Biology* 38:579-590
- Shvedova Aa, Kisin Er, Mercer R, Murray Ar, Johnson Vj, Potapovich Ai, Tyurina Yy, Gorelik O, Arepalli S, Schwegler-Berry D, Hubbs Af, Antonini J, Evans De, Ku Bk, Ramsey D, Maynard A, Kagan Ve, Castranova V & Baron P (2005) Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 289:L698-L708
- Shvedova AA, Kisin E, Murray AR, Johnson VJ, Gorelik O, Arepalli S, Hubbs AF, Mercer RR, Keohavong P, Sussman N, Jin J, Yin J, Stone S, Chen BT, Deye G, Maynard A, Castranova V, Baron PA & Kagan VE (2008b) Inhalation vs. aspiration of single-walled carbon nanotubes in C57BL/6 mice: inflammation, fibrosis, oxidative stress, and mutagenesis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 295:L552-L565
- Singh R, Pantarotto D, Lacerda L, Pastorin G, Klumpp C, Prato M, Bianco A & Kostarelos K (2006) Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:3357-3362
- Takagi A, Hirose A, Nishimura T, Fukumori N, Ogata A, Ohashi N, Kitajima S & Kanno J (2008) Induction of mesothelioma in p53^{+/-} mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *Journal of Toxicological Sciences* 33:105-116
- Takaya M, Serita F, Ono-Ogasawara M, Shinohara Y, Saito H, Koda S (2010) [Airborne particles in a multi-wall carbon nanotube production plant: observation of particle emission and personal exposure 1: Measurement in the packing process]. *Sangyo Eiseigaku Zasshi* 52:182-8 [article in Japanese]
- Tanaka T, Jin H, Miyata Y, Fujii S, Suga H, Naitoh Y, Minari T, Miyadera T, Tsukagoshi K & Kataura H (2009a) Simple and Scalable Gel-Based Separation of Metallic and Semiconducting Carbon Nanotubes. *Nano Letters* 9:1497-1500
- Tanaka T, Urabe Y, Nishide D & Kataura H (2009b) Continuous Separation of Metallic and Semiconducting Carbon Nanotubes Using Agarose Gel. *Applied Physics Express* 2:-
- Thomas T, Bahadori T, Savage N, Thomas K (2009) Moving toward exposure and risk evaluation of nanomaterials: challenges and future directions. *Wiley interdisciplinary reviews-nanomedicine and nanotechnology* 1:426-433
- Thostenson ET, Ren ZF & Chou TW (2001) Advances in the science and technology of carbon nanotubes and their composites: a review. *Composites Science and Technology* 61:1899-1912
- Tong HY, McGee JK, Saxena RK, Kodavanti UP, Devlin RB & Gilmour MI (2009) Influence of acid functionalization on the cardiopulmonary toxicity of carbon nanotubes and carbon black particles in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 239:224-232
- Tu Xm, Manohar S, Jagota A & Zheng M (2009) DNA sequence motifs for structure-specific recognition and separation of carbon nanotubes. *Nature* 460:250-253
- Walters Da, Ericson Lm, Casavant Mj, Liu J, Colbert Dt, Smith Ka & Smalley Re (1999) Elastic strain of freely suspended single-wall carbon nanotube ropes. *Applied Physics Letters* 74:3803-3805
- Wang J, Deng XY, Yang ST, Wang HF, Zhao YL & Liu YF (2008) Rapid translocation and pharmacokinetics of hydroxylated single-walled carbon nanotubes in mice. *Nanotoxicology* 2:28-32
- Wang XS, Li QQ, Xie J, Jin Z, Wang JY, Li Y, Jiang KL & Fan SS (2009) Fabrication of Ultralong and Electrically Uniform Single-Walled Carbon Nanotubes on Clean Substrates. *Nano Letters* 9:3137-3141
- Wikipedia. http://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_nanotube; 2010-11-04.
- WHO (World Health Organization) 1997 Determination of airborne fibre number concentrations. A recommended method by phase-contrast microscopy (membrane filter method), Geneva
- WTEC (2007) Panel Report on International assessment of research and development of carbon nanotube manufacturing and applications, World Technology Center Inc., US
- Wu M, Gordon RE, Herbert R, Padilla M, Moline J, Mendelson D, Litle V, Travis WD & Gil J (2010) Case report: Lung disease in World Trade Center responders exposed to dust and smoke: carbon nanotubes found in the lungs of World Trade Center patients and dust samples. *Environ Health Perspect* 118:499-504
- Varga C & Szendi K (2010) Carbon Nanotubes Induce Granulomas but Not Mesotheliomas. *In Vivo* 24:153-156

- Xu HF, Bai J, Meng J, Hao W, Xu HY & Cao JM (2009) Multi-walled carbon nanotubes suppress potassium channel activities in PC12 cells. *Nanotechnology* 20:-
- Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, Morishita Y, Yoshida T, Fujimura M, Kayamuro H, Nabeshi H, Yamashita T, Nagano K, Abe Y, Kamada H, Kawai Y, Mayumi T, Yoshikawa T, Itoh N, Tsunoda S & Tsutsumi Y (2010) Carbon Nanotubes Elicit DNA Damage and Inflammatory Response Relative to Their Size and Shape. *Inflammation* 33:276-280
- Yang ST, Fernando KAS, Liu JH, Wang J, Sun HF, Liu YF, Chen M, Huang YP, Wang X, Wang HF & Sun YP (2008a) Covalently PEGylated carbon nanotubes with stealth character in vivo. *Small* 4:940-944
- Yang ST, Guo W, Lin Y, Deng XY, Wang HF, Sun HF, Liu YF, Wang X, Wang W, Chen M, Huang YP & Sun YP (2007) Biodistribution of pristine single-walled carbon nanotubes in vivo. *Journal of Physical Chemistry C* 111:17761-17764
- Yang ST, Wang HF, Mezziani MJ, Liu YF, Wang X & Sun YP (2009) Biodefunctionalization of Functionalized Single-Walled Carbon Nanotubes in Mice. *Biomacromolecules* 10:2009-2012
- Yang ST, Wang X, Jia G, Gu YQ, Wang TC, Nie HY, Ge CC, Wang HF & Liu YF (2008b) Long-term accumulation and low toxicity of single-walled carbon nanotubes in intravenously exposed mice. *Toxicology Letters* 181:182-189
- Yang Z, Zhang YG, Yang YLA, Sun L, Han D, Li H & Wang C (2010) Pharmacological and toxicological target organelles and safe use of single-walled carbon nanotubes as drug carriers in treating Alzheimer disease. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine* 6:427-441
- Ye Y, Ahn Cc, Witham C, Fultz B, Liu J, Rinzler Ag, Colbert D, Smith Ka & Smalley Re (1999) Hydrogen adsorption and cohesive energy of single-walled carbon nanotubes. *Applied Physics Letters* 74:2307-2309
- Yeganeh B, Kull CM, Hull MS, Marr LC (2008) Characterization of airborne particles during production of carbonaceous nanomaterials. *Environ Sci Technol* 42:4600-4606
- Yu Mf, Files Bs, Arepalli S & Ruoff Rs (2000) Tensile loading of ropes of single wall carbon nanotubes and their mechanical properties. *Physical Review Letters* 84:5552-5555
- Zeni O, Palumbo R, Bernini R, Zeni L, Sarti M & Scarfi MR (2008) Cytotoxicity investigation on cultured human blood cells treated with single-wall carbon nanotubes. *Sensors* 8:488-499
- Zhang DY, Deng XY, Ji ZF, Shen XZ, Dong L, Wu MH, Gu TY & Liu YF (2010) Long-term hepatotoxicity of polyethylene-glycol functionalized multi-walled carbon nanotubes in mice. *Nanotechnology* 21
- Zhang Mf, Yudasaka M, Koshio A & Iijima S (2002) Thermogravimetric analysis of single-wall carbon nanotubes ultrasonicated in monochlorobenzene. *Chemical Physics Letters* 364:420-426
- Zhu L, Chang DW, Dai LM & Hong YL (2007) DNA damage induced by multiwalled carbon nanotubes in mouse embryonic stem cells. *Nano Letters* 7:3592-3597

Arbetsmiljöverket
112 79 Stockholm
Besöksadress Lindhagensgatan 133
Telefon 08-730 97 00
Fax 08-730 19 67
E-post: publikationsservice@av.se
www.av.se

This publication can be download from
www.av.se/publikationer/rapporter/