

## Samenvatting proefschrift

### Humane gezondheidsrisico's van blootstelling aan koolstofnanobuisjes - Gelijke tred houden met innovatie

*Eelco Kuijpers<sup>1</sup>*

#### **Inleiding**

Koolstofnanobuisjes (CNT's) zijn holle structuren van één (enkelwandige CNT; SWCNT) of meerdere (dubbelwandige of meerwandige CNT; DWCNT, MWCNT) opgerolde grafeenstructuren, die de samenleving nieuwe mogelijk-

heden biedt om materialen effectief sterker, lichter, beter elektrisch geleidend en flexibeler te maken. Hoewel CNT's al in verschillende sectoren en producten worden toegepast (o.a. in de auto-industrie, elektronica, energieproductie, transport en opslag, sensoren, olie en gas, sportartikelen,

<sup>1</sup> Promotie instituut: Utrecht Universiteit, TNO; promotiedatum: 30 oktober 2018

bouw en textiel), wordt er door onderzoekers groeiende bezorgdheid geuit over de humane gezondheidsrisico's geassocieerd met blootstelling aan verschillende soorten CNT's. Met de verwachte verdere toename van het gebruik van CNT's worden werknemers en consumenten meer blootgesteld aan CNT's als geen maatregelen worden genomen om de blootstelling te reduceren.

Onzekerheid over de (beroeps)risico's van blootstelling aan CNT's heeft geleid tot conservatieve risicobeoordelingen om de veiligheid van werknemers te waarborgen. Echter, een meer onderbouwde risicobeoordeling is nodig om te profiteren van het volledige potentieel van CNT's. In de eerste blootstellingsstudies voor CNT's werd gebruik gemaakt van directe meetinstrumenten (DRI's) en op filter gebaseerde gravimetrische methoden, die niet gevoelig en selectief blijken te zijn voor het detecteren van CNT's. Onlangs zijn drie meer selectieve methoden toegepast voor de beoordeling van CNT-blootstelling, maar een alomvattende benadering die zich richt op persoonlijke blootstellingsmetingen ontbreekt. Bovendien is er met een groeiende CNT-markt en de toegenomen toepassing van CNT's in producten behoefte aan meer inzicht in blootstellingsdeterminanten en activiteiten die leiden tot een hogere blootstelling aan CNT's, gedurende de gehele levenscyclus van het product. Daarnaast zijn er met slechts een paar kleinschalige studies over de associatie tussen CNT-blootstelling en (vroeg) gezondheidseffecten voor werknemers, meer grootschalige cross-sectionele studies nodig.

Dit proefschrift beoogt;

- 1) een methode te ontwikkelen voor het meten van (MW)CNT-blootstelling op basis van het evalueren en optimaliseren van bestaande selectieve methoden,
- 2) determinanten en activiteiten van MWCNT-blootstelling identificeren gedurende de levenscyclus van het product, en
- 3) het verband evalueren tussen beroepsmatige blootstelling aan MWCNT's en vroege cardiovasculaire effecten in een cross-sectioneel epidemiologisch onderzoek.

## Methoden en resultaten

Het emissiepotentieel van nano-objecten en hun aggregaten en agglomeraten (NOAA) inclusief CNT's zijn systematisch beoordeeld voor de gehele levenscyclus van producten, op basis van beschikbare wetenschappelijke informatie. Tijdens de productie van nanomaterialen resulteerden gasfaseproductie methoden, die veelal worden gebruikt voor de productie van CNT's, in relatief hoge emissies. Voor activiteiten met bulk nanopoeiers, werden oogsten (voornamelijk van CNT's) en storten van poeder geïdentificeerd als activiteiten met het hoogste emissiepotentieel. Spuitactiviteiten resulteerden in de hoogste emissie voor vloeistoffen die NOAA bevatten. De meeste van de geïdentificeerde onderzoeken waren gericht op bewerking van producten met NOAA die veel voorkomen

tijdens de gebruikersfase en het einde van de elvenscyclus van een product. Deze studies voerden experimenten uit om het vrijkomen van primaire nanomaterialen uit een matrixpolymeer te bestuderen; één studie observeerde vrije agglomeraten van CNT's als gevolg van schuren. Bovendien werd geconcludeerd dat de emissie aanzienlijk kan verschillen door intrinsieke eigenschappen van het product, zoals de vorm van NOAA en de verwerkte hoeveelheid materiaal.

Om een blootstellingsmeetmethode te ontwikkelen voor de detectie en kwantificatie van (MW)CNT's op de werkplek, werd een veldstudie uitgevoerd waarin drie relatief meer selectieve analysemethoden werden geëvalueerd en geoptimaliseerd. Er werd geconcludeerd dat koolstofanalyse met het totaal elementaire koolstof thermische behandelingsfase 2 en 3 (EC2 en EC3) een goede kwantitatieve schatting is van de blootstelling aan (MW)CNT. Deze koolstofanalyses moeten worden gecombineerd met scanning-elektronenmicroscopie/energiedispersieve röntgenspectroscopie (SEM/EDX) voor achtergrondcorrectie van EC2, aangezien roet ook in deze fractie aanwezig is. De derde geëvalueerde methode, inductief gekoppelde plasmamassaspectrometrie (ICP-MS), bleek niet selectief genoeg te zijn voor CNT-blootstelling, vanwege de aanwezige metalen gebruikt als katalysator voor de productie van CNT's op de werkplek. Deze evaluatie van analysemethoden was onderdeel van een onderzoek naar beroepsmatige blootstelling en mogelijke gezondheidseffecten bij een commerciële MWCNT-productiefaciliteit, waarvan een deel ook wordt beschreven in dit proefschrift.

De persoonlijke blootstelling aan MWCNT's van werknemer in deze productiefaciliteit werd beoordeeld, zoals methodologisch eerder voorgesteld in dit proefschrift. Tijdens de productie en verwerking van deze materialen zijn de resultaten van werknemers gekoppeld aan specifieke activiteiten. Resultaten m.b.v. SEM/EDX toonden alleen grote agglomeraten (200 nm - 100 µm) met gebundelde MWCNT's waaraan metalen waren bevestigd. Persoonlijke blootstellingsniveaus voor elementaire koolstof (EC) van werknemers in het productiegebied waren vergelijkbaar tijdens een periode met volledige productie (N = 23, geometrisch gemiddelde [GM] 41 µg/m<sup>3</sup>) en een periode met alleen activiteiten waarbij MWCNT's werden gebruiken (N = 19; 43 µg/m<sup>3</sup>). Het blootstellingsniveau was aanzienlijk lager voor werknemers in de onderzoeksafdeling (R & D) (N = 11; 5 µg/m<sup>3</sup>) en het kantoor (N = 5; 7 µg/m<sup>3</sup>). Poeder storten, onderhoud van de reactor, poederconditionering (alleen in het productiegebied) en werken met het poeder van MWCNT's (R&D gebied) zijn geassocieerd met hogere blootstellingsniveaus.

Twaalf verschillende experimenten werden uitgevoerd om de deeltjesconcentraties te evalueren tijdens mechanisch zagen en boren in autobumpers die MWCNT en organisch pigment (OP) bevatten. Het effect van algemene ventilatie en machine-instellingen op deeltjesconcentraties werd be-

studeerd. Tijdens de experimenten werden geen vrij voor- komende bewust toegevoegde nanodeeltjes (MWCNT's of OP) waargenomen en werden enkel deels gesmolten koolstofrijke deeltjes geïdentificeerd met SEM/EDX voor de zaagexperimenten. Significante effecten op verhoogde deeltjesconcentraties (geometrisch gemiddelde ratio [GMR]) werden waargenomen in de nabijheid van de activiteit (NF) en/of verder van de activiteit vandaan (FF) voor een hogere zaagsnelheid (NF: 58,73, FF: 22,07) en voor autobumpers die MWCNT's bevatten in vergelijking met autobumpers met OP (FF: 0,45). De deeltjesgrootteverdelingen waren significant verhoogd met een hogere zaagsnelheid (NF: 1,15, FF: 1,08) en daalden met het gebruik van algemene ventilatie (FF: 0,86) en voor autobumpers die MWCNT's bevatten in vergelijking met autobumpers met OP (FF: 0,92).

De associatie tussen beroepsmatige blootstelling aan MWCNT's (zoals eerder besproken in dit proefschrift) en 12 cardiovasculaire biomarkers werd bestudeerd bij werknemers in dezelfde productiefaciliteit. Deze biomarker metingen werden herhaald voor een subpopulatie van hoog blootgestelde werknemers na 5 maanden. Een significante stijgende trend in de GMR's van endotheel schade marker intercellulaire adhesiemolecuul-1 (ICAM-1) werd waargenomen bij verhoogde blootstelling aan MWCNT's in beide meetperioden (GMR = 1,40 en GMR = 1,37, respectievelijk). Andere cardiovasculaire markers waren niet significant geassocieerd met blootstelling aan MWCNT. Deze indicatie van endotheel activatie werd verder ondersteund door verhoogde ontstekingswaarden bij deze werknemers, die eerder werd gerapporteerd en beschreven in de bijlage van dit proefschrift. Bovendien werden vroege effecten op de longgezondheid en het immuunsysteem waargenomen in deze studie en werden geassocieerd met blootstelling aan MWCNT's.

### **Reflectie, toekomstperspectieven en overwegingen**

Tot slot worden de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift samengevat en vergeleken met kennis uit ander onderzoek over blootstelling aan CNT's en gezondheidseffecten. Verder worden aanbevelingen besproken. Afhankelijk van de vorm(en) van CNT-blootstelling, resulteren andere meetbenaderingen tot de meest geldige kwantitatieve blootstellingsresultaten. Wanneer blootstelling aan vezels mag worden verwacht, is een combinatie van koolstofanalyses en SEM/EDX het meest selectief. Wanneer CNT's zijn ingebed in (meer bolvormige) matrixdeeltjes, biedt het gebruik van directe meetinstrumenten (DRI's) in plaats van koolstofanalyses waardevolle tijd specifieke gegevens in plaats van tijd geïntegreerde gegevens, die bijvoorbeeld kunnen worden gebruikt om bronnen van blootstelling eenvoudiger te identificeren.

In het algemeen is het bewijs voor mogelijke nadelige humane gezondheidseffecten geassocieerd met blootstelling aan verschillende soorten CNT's niet sterk genoeg voor

harde conclusies. Hoewel het internationale agentschap voor onderzoek naar kanker (IARC) concludeerde dat het mechanistische bewijs bij dieren relevant is voor mensen, is de informatie over reacties bij de mens beperkt tot enkele kleinschalige epidemiologische onderzoeken gericht op mogelijke vroege effecten van CNT's. De cross-sectionele studie in dit proefschrift draagt substantieel bij aan deze kennis met een geobserveerde endotheel activatie en een verhoogde ontstekingsreactie geassocieerd met blootstelling aan MWCNT's, en biedt een basis voor toekomstig epidemiologisch onderzoek naar CNT-blootstelling. Vanwege de heterogeniteit van CNT's en de relatief kleine onderzoekspopulaties blijft de risicobeoordeling echter een uitdaging.

Inmiddels zijn verschillende grenswaarden voor beroepsmatige blootstelling (OEL's) en aanbevolen blootstellingslimieten (REL's) voorgesteld, maar deze waarden zijn grotendeels gebaseerd op gezondheidseffecten voor asbest of op basis van subacute/subchronische dierstudies voor CNT's. Lopende onderzoeken naar chronisch blootgestelde dieren resulteren in meer gezondheid gerelateerde grenswaarden voor verschillende soorten CNT's, waardoor de onzekerheid in de risicobeoordeling zal afnemen. Aangezien effecten op de gezondheid van CNT's nog grotendeels onbekend zijn en om een veilig gebruik van CNT's te garanderen, moeten beheersmaatregelen worden overwogen volgens de hiërarchie van beheersmaatregelen om de blootstelling aan CNT's zo veel mogelijk te verminderen.

De volgende aanbevelingen worden besproken:

- 1) read-across en groepering,
  - 2) veilige innovatie,
  - 3) risicobeheer, en
  - 4) blootstellingsregistratie en epidemiologisch onderzoek.
- Read-across en groepering dragen bij aan een meer op gezondheid gebaseerde risicobeoordeling door optimaal gebruik te maken van bestaande gevaren- en blootstellingsgegevens. Tevens reduceert dit het aantal dierstudies voor nog niet onderzochte CNT's.
  - Rekening houden met veiligheid in een vroeg stadium, bij voorkeur voordat het product op de markt komt, wordt gedefinieerd als veilige innovatie. Het gebruik van minder gevaarlijke vormen van CNT's, die kunnen worden geïdentificeerd op basis van fysieke en chemische kenmerken van producten, moet worden gestimuleerd; dit vereist meer informatie-uitwisseling tussen regelgevers en innovators.
  - Omgaan met onzekerheid in de huidige risicobeoordeling en tegelijkertijd gelijke tred houden met snelle ontwikkeling vereist innovatie in risicobeheer. Zachte wetten (zachte regelgevende overeenkomsten) zijn gebaseerd op niet-bindende vereisten, en wanneer deze overeenkomsten conservatief genoeg zijn, helpt dit de samenleving om zich sneller aan het tempo van innovatie aan te passen.
  - Een verplichte Europese blootstellingsregistratie voor het toenemende aantal werknemers blootgesteld

aan CNT's wordt gadviseerd omdat de gevolgen voor de gezondheid nog grotendeels onbekend zijn. De met deze registratie verzamelde resultaten kunnen worden gebruikt voor zowel retrospectief onderzoek met behulp van reeds beschikbare gegevens over sterfte en ziekten van werknemers, als voor nieuw epidemiologisch onderzoek gericht op de identificatie van mogelijke vroege gezondheidseffecten.

Concluderend draagt dit proefschrift bij tot het veilig(er) gebruik van CNT's en biedt het wetenschappelijke kennis met betrekking tot

- 1) een uitgebreide methode voor blootstellingsbeoordeling voor MWCNT's,
- 2) de identificatie van activiteiten en blootstellingsdeterminanten die in aanzienlijke mate bijdragen aan blootstelling aan MWCNT gedurende de levenscyclus van het product en
- 3) de waarneming van een indicatie van endotheel activatie en een verhoogde ontstekingsreactie geassocieerd met blootstelling aan MWCNT.

*Email: eelco.kuipers@tno.nl*