

**REDE NACIONAL DE NANOTUBOS DE CARBONO
CNPq/MCT**

**Abordagens para um Trabalho Seguro
com Nanotubos de Carbono**

**CURITIBA
2008**

PREFÁCIO

Os estudos referentes à Toxicologia e Segurança no trabalho com nanomateriais, especificamente aqui, nanotubos de carbono, dependem essencialmente de financiamentos governamentais e atuação de Institutos Públicos de pesquisa e referenciamento. No Mundo inteiro, os resultados destes estudos só devem constituir uma base sólida para definição de procedimentos operacionais nos próximos anos. Até lá, a precaução é chave para se evitar acidentes e danos decorrentes da exposição à nanomateriais.

O presente documento procura de forma sucinta descrever o estágio atual do conhecimento sobre a segurança e toxicologia de nanotubos de carbono, ressaltando aspectos, nos quais, o comportamento de partículas microscópicas difere daquele de nanopartículas.

Foi estruturado na forma de perguntas e respostas, baseadas em monografia apresentada à Rede Nacional de Pesquisa em Nanotubos de Carbono – CNPq/MCT em outubro 2007, a qual pertence todos os direitos de reprodução e distribuição.

Daniel Alves de Melo
professor de Química da
Universidade Federal do Paraná
Brasil

ABREVIATURAS

ACGIH – American Conference of Industrial Hygienists

ASTM – American Society for Testing and Materials

CNTs – nanotubos de carbono

ISO - International Standards Organization

MWCNTs – nanotubos de pared múltiple

NIOSH – National Institute for Occupational and Safety Health

NP – nanopartícula

SWCNTs – nanotubos de carbono de pared simple

1. Nanomateriais levam realmente a riscos diferenciados em ambientes de trabalho? De que modo os trabalhadores podem estar expostos a nanomateriais na fabricação e uso dos mesmos?

Sim.

Tanto reações químicas quanto respostas biológicas se mostraram inesperadas qualitativamente em relação à partículas microscópicas.

Quando produzidos, os CNTs são uma matriz complexa de nanotubos, “nanoropes”, carbono não tubular e nanopartículas. A toxicidade pulmonar do material liberado durante a manufatura e manipulação depende da partição e arranjos destes componentes nas partículas suspensas.

A exposição dos trabalhadores deve ocorrer nas operações que levam a produção de aerossóis e dispersão de partículas no ar, principalmente. Incluem-se nestas, as operações de manutenção e limpeza.

A nanotecnologia trouxe, juntamente com suas descobertas, uma emergência que faz serem introduzidas no Mundo toneladas de Novos Materiais. Enquanto estes materiais são cotados por sua resistência, grande área superficial e reatividade, podem trazer um impacto negativo na saúde de trabalhadores e no meio-ambiente mesmo com conseqüências não intencionais. Só nos EUA cerca de 2 milhões de trabalhadores estão potencialmente expostos regularmente a estes novos materiais.

Nanomateriais tem um enorme potencial de penetração no organismo humano na forma de nanopartículas e aglomerados de nanopartículas. Baseado nos estudos com homens e animais, nanomateriais no ar podem ser inalados e depositados no trato respiratório passando a corrente sistêmica e deslocando-se para outros órgãos. Estudos em ratos mostraram que doses equivalentes em massa de partículas ultrafinas (menores que 100 nm) são mais potentes que partículas maiores de composição semelhante em inflamações pulmonares e tumores de pulmão. Entretanto, a toxicidade pode ser mitigada por características superficiais e outros fatores. Estudos de citotoxicidade e experimentos com animais mostraram que mudanças na composição química, estrutura das moléculas e propriedades superficiais de certos nanomateriais podem influenciar no potencial de toxicidade. Estudos em trabalhadores expostos a aerossóis finos e ultrafinos mostraram decrementos em funções pulmonares e sintomas de efeitos respiratórios; entretanto, existe a incerteza sobre o papel das partículas ultrafinas nestes sintomas. Nanopartículas com propriedades físicas e químicas semelhantes a partículas ultrafinas tem ainda que serem estudadas acerca de sua capacidade de causar riscos similares.

Potenciais Preocupações sobre a Saúde

O potencial das nanopartículas penetrarem o corpo é, entre vários fatores, um dos principais. Os nanomateriais têm o maior potencial de penetrar no corpo se estiverem na forma de nanopartículas, aglomerados de nanopartículas e partículas de materiais nanoestruturados dispersos no ar ou em contato com a pele. Baseado em estudos em humanos e animais os nanomateriais podem ser inalados e se depositam no trato respiratório podendo entrar na corrente sanguínea e se translocarem para outros órgãos. Estudos experimentais em ratos mostraram que doses equivalentes em massa de partículas

ultrafinas insolúveis (menores que 100 nm) são mais potentes do que grandes partículas de similar composição para causar inflamação pulmonar e tumores de pulmão nestes animais. Entretanto, a toxicidade pode ser mitigada pelas características da superfície e outros fatores.

Resultados dos estudos de culturas de células in vitro com materiais semelhantes são normalmente indicativos de respostas biológicas em animais. A citotoxicidade e estudos experimentais em animais têm mostrado que mudanças na composição química, estrutura das moléculas e propriedades superficiais de certos materiais podem influenciar seus potenciais de toxicidade. Estudos em trabalhadores expostos à aerossóis de partículas finas e ultrafinas têm mostrado decréscimos na função pulmonar e sintomas adversos respiratórios; entretanto, existe a incerteza sobre o papel das partículas ultrafinas, relativamente a outros contaminantes do ar, nestes ambientes.

O estudo de nanopartículas com características semelhantes às de partículas ultrafinas são necessários para se determinar se os riscos são similares aqueles de associações entre partículas finas e ultrafinas presentes nos ambientes ocupacionais.

2. De que maneiras os nanomateriais penetram o organismo durante a exposição?

CNTs podem atravessar as membranas biológicas passivamente e deslocar-se para qualquer compartimento orgânico. Isto pode ser significativo quando da exposição às misturas em aerossóis e resíduos de deposição em ambientes de trabalho.

Rotas de Exposição

A rota de exposição mais comum no ambiente de trabalho é a inalação. A deposição de nanopartículas no trato respiratório é determinada pela aerodinâmica da partícula ou diâmetro termodinâmico, dependendo do tamanho da partícula. Aglomerados de nanopartículas se depositam de acordo com o diâmetro do aglomerado e não com a constituição das partículas.

Nanopartículas discretas são depositadas nos pulmões em maior extensão do que partículas respiráveis; a deposição aumenta com o exercício (devido à razão da respiração e a mudança da respiração nasal para bucal) e entre pessoas com condições ou doenças pré-existentes. Baseado nestas informações, nanopartículas discretas podem entrar na corrente sanguínea através dos pulmões e serem deslocadas para outros órgãos.

A ingestão é outra rota através da qual as nanopartículas podem entrar no corpo. A ingestão pode ocorrer quando, sem intenção, as mãos são levadas a boca. Isto pode ocorrer com materiais convencionais e é razoável se assumir que também possa ocorrer com nanomateriais. A ingestão também pode acompanhar a inalação, uma vez que as partículas liberadas do trato respiratório pela ação dos cílios pulmonares podem ser ingeridas. Conhece-se pouco sobre os possíveis efeitos adversos da ingestão de nanopartículas.

Alguns estudos sugerem que as nanopartículas podem penetrar o corpo através da pele por exposição ocupacional. Estudos não publicados da Sociedade Real de Química e Academia Real de Engenheiros concluíram que nanopartículas de dióxido de titânio

usadas em bloqueadores solares, não penetram além da epiderme, entretanto, outro estudo indicou que partículas menores que 1.000 nm de diâmetro podem penetrar em amostras de pele mecanicamente flexionadas. Um estudo mais recente indicou que nanopartículas com propriedades fisicoquímicas variadas, penetraram a pele intacta de porcos. Estas nanopartículas eram quantum dots de diferentes tamanhos, formas e recobrimentos superficiais e penetraram o *stratum corneum* por difusão passiva e localizaram-se nas camadas epidérmica e dérmica de 8 a 24 horas. Isto sugere que a pele é uma rota potencial de exposição à nanopartículas em ambientes ocupacionais.

A importância de uma concentração em particular como uma medida da dose de exposição não é clara na literatura. Em muitos casos a resposta biológica parece estar relacionada mais a superfície total da partícula do que ao número de partículas. Entretanto, em alguns casos o número de partículas depositadas no sistema respiratório ou penetrando além do sistema respiratório pode ser importante.

Fatores que afetam a Exposição à Nanopartículas

Dentre os fatores que afetam a exposição a nanopartículas se incluem a quantidade do material usado e se este pode ser facilmente dispersado ou pode formar sprays ou gotas (no caso de suspensões). No caso de materiais formados no ar o tamanho da partícula ou gota determina se o material pode entrar no trato respiratório e onde ele deve se depositar. Partículas inaladas menores que 10 μm de diâmetro têm alguma probabilidade de penetrar e se depositar na região de troca de gases (alveolar) dos pulmões. Existe a probabilidade de pelo menos 50% de partículas menores que 4 μm em diâmetro alcançarem a região de trocas gasosas nos pulmões (Lippmann 1977; ICRP 1994; ISO 1995). As partículas que atingem esta região dos pulmões são consideradas respiráveis.

A fração de deposição em massa de nanopartículas é maior no trato respiratório humano do que para partículas respiráveis maiores. Acima de 50% das nanopartículas inaladas podem se depositar na região de trocas gasosas. Para partículas inaladas menores que aproximadamente 30 nm, uma crescente fração em massa se deposita nas partes superiores do trato respiratório (ICRP 1994).

Até o presente momento, existem informações insuficientes para se prever todas as situações e cenários ocupacionais que levam a exposição à nanomateriais. Entretanto, alguns fatores podem aumentar o potencial para exposição.

O Trabalho com Nanomateriais em Laboratórios

Os produtos feitos com nanomateriais tais como nanocompósitos e recobrimentos de superfícies, e materiais componentes de nanoestruturas, tais como circuitos integrados, não apresentam riscos aparentes durante a manipulação e uso. Entretanto, alguns dos processos (formulação e recobrimentos em nanoescala) usados na produção de nanomateriais podem levar a exposições. Os processos que geram nanomateriais em fase gasosa, ou em pós ou suspensões, soluções apresentam grande risco da dispersão de nanopartículas. A manutenção na produção de sistemas (incluindo a limpeza e descarte de materiais) pode resultar na exposição à nanopartículas.

As seguintes tarefas em ambientes de trabalho podem aumentar o risco de exposição à nanopartículas.

- O trabalho com nanomateriais em meio líquido sem proteção adequada (ex. luvas) aumenta o risco de exposição dérmica.
- O trabalho com nanomateriais em líquidos durante operações de transferência ou mistura ou onde alto grau de agitação está envolvido pode levar a formação de gotas respiráveis e inaláveis.
- A geração de nanopartículas em fase gasosa em sistemas com vazamento aumenta a chance da dispersão de aerossóis no ambiente de trabalho.
- A manipulação de pós nanoestruturados leva a possibilidade de formação de aerossóis;
- A manutenção de equipamentos e processos usados na fabricação ou geração de nanomateriais ou a limpeza de derramamentos ou materiais de descarte podem levar a exposições do pessoal encarregado destas tarefas;
- A limpeza de poeiras acumuladas em sistemas usados para capturar nanopartículas cria um risco para a inalação e exposição dérmica conjuntamente;
- A ruptura mecânica de materiais contendo nanopartículas leva a formação de aerossóis de nanomateriais.

Potencial para Exposição Ocupacional

Ainda existem poucas informações sobre a exposição no ar a nanopartículas propositalmente produzidas e não de forma incidental. Em geral, os processos que geram nanomateriais em fase gasosa ou usando pós ou suspensões/soluções/dispersões têm o maior risco relacionado com a liberação de nanopartículas no ar. Os processos de manutenção, incluindo a limpeza e descarte, resultam em exposição pela perturbação do material depositado.

Estudos de exposição à SWCNTs indicaram que embora o material bruto possa liberar partículas visíveis no ar quando manipulados, o tamanho da partícula do aglomerado pode ser de poucos milímetros de diâmetro e a liberação de partículas respiráveis e inaláveis ser pequena (tanto em massa como em concentração em número), comparada com a liberação de nanopós, que liberam níveis significativos de partículas respiráveis [Maynard et al. 2004]. Dispositivos contendo nanoestruturas, tais como circuitos integrados, colocam um risco mínimo de exposição à nanopartículas durante a manipulação. Entretanto, alguns dos processos usados em sua produção podem levar a exposições, como polimento ou exposição inadvertida a nanopartículas dispersas durante processo de produção ou manipulação. Da mesma forma, componentes macroscópicos formados de nanopartículas não apresentam risco de exposição ocupacional, entretanto, tais materiais podem ser processados de modo a formar nanopartículas (ex. corte, abrasões) ou processos de degradação que levem a liberação de nanopartículas, quando a exposição pode ocorrer por inalação, ingestão e/ou penetração dérmica.

3. Uma vez no organismo, até onde podem as partículas atingir e como interagem com os sistemas orgânicos?

Não deve haver limite para a penetração das nanopartículas. Entretanto dependendo do tempo e funcionalização da superfície as respostas biológicas alteram significativamente a cinética de deslocamento e eliminação.

Observações dos Estudos Epidemiológicos envolvendo Partículas Finas e Ultrafinas

Estudos epidemiológicos em trabalhadores expostos a aerossóis incluindo partículas finas e ultrafinas mostraram diminuição da função pulmonar, sintomas respiratórios adversos, doença obstrutiva pulmonar crônica e fibrose [Kreiss et al. 1997; Gardiner et al. 2001; Antonini 2003]. As implicações destes estudos com relação à exposição a nanopartículas sintéticas não está definida.

Estudos epidemiológicos na população em geral têm mostrado associações entre a poluição de particulados no ar e um aumento da morbidade e mortalidade por doenças respiratórias e cardiovasculares [Dockery et al. 1993; HEI 2000; Pope et al. 2002; Pope et al. 2004], embora não se saiba ainda o papel das partículas ultrafinas nestes processos. As associações nestes estudos foram baseadas na medida do número de partículas ou concentração em massa de partículas dentro de certas frações de tamanho. Em um estudo experimental com pacientes saudáveis e asmáticos expostos a nanopartículas de carbono no ar foram observadas mudanças na expressão da adesão de moléculas por leucócitos do sangue, o que pode estar relacionado com possíveis efeitos cardiovasculares da exposição a partículas ultrafinas (Frampton et al., 2006).

Hipóteses a partir dos Estudos Epidemiológicos com Animais

A literatura existente sobre partículas e fibras fornece uma base científica da qual se pode avaliar perigos potenciais de nanopartículas geradas em laboratórios. Sabemos dos estudos com humanos que uma proporção maior de nanopartículas inaladas irá se depositar no trato respiratório (tanto em repouso quanto em exercício) comparadas com partículas maiores [ICRP 1994; Jaques and Kim 2000; Daigle et al. 2003; Kim and Jaques 2004]. Sabe-se, de estudos com animais, que nanopartículas podem ser translocadas para outros órgãos no corpo embora não seja conhecido como isto pode ser influenciado pelas propriedades químicas e físicas das nanopartículas [Takenaka et al. 2001; Kreyling et al. 2002; Oberdörster et al. 2002, 2004; Semmler et al. 2004; Geiser et al. 2005]. Devido ao seu pequeno tamanho as nanopartículas podem atravessar membranas e interagir com estruturas subcelulares, tais como, mitocôndrias, onde podem causar danos oxidativos e influenciar funções de células em culturas [Möller et al. 2002, 2005; Li et al. 2003; Geiser et al. 2005]. Estudos em animais mostraram que nanopartículas são mais biologicamente ativas devido a área superficial por massa se comparadas com partículas maiores de mesma composição química [Oberdörster et al. 1992; 1994a,b; 2005a; Driscoll 1996; Lison et al. 1997; Brown et al. 2001; Duffin et al. 2002; Renwick et al. 2004; Barlow et al. 2005]. Enquanto esta atividade biológica aumentada de nanopartículas é um componente fundamental para a utilidade industrial, comercial, e médica das mesmas, as consequências da exposição não intencional de trabalhadores são incertas.

Os estudos com animais e estudos epidemiológicos com humanos têm levado a hipóteses de potenciais efeitos adversos à saúde por nanopartículas sintéticas. Estas

hipóteses são baseadas na literatura científica da exposição de animais e humanos à nanopartículas.

Esta literatura foi recentemente revisada [Donaldson et al. 2005; Maynard and Kuempel 2005; Oberdörster et al. 2005a, Donaldson et al. 2006; Kreyling et al. 2006].

Em geral, as partículas usadas em estudos mais antigos não caracterizaram as observações de modo a auxiliar novos estudos para a compreensão do efeito das propriedades das partículas na toxicologia [Oberdörster et al. 2005b; Thomas et al. 2006]. A exposição à nanopartículas sintéticas parece ter efeitos similares, química e fisicamente, na saúde, que as partículas ultrafinas bem caracterizadas. Estudos em roedores e humanos sustentam a hipótese que a exposição incidental a partículas ultrafinas representa um maior perigo respiratório que a mesma massa de partículas maiores de composição química similar.

Embora características fisicoquímicas de partículas ultrafinas existentes e sintéticas possam diferir substancialmente, os princípios toxicológicos e dosimétricos derivados de estudos de avaliação podem ser relevantes para se postular apreensões sobre a saúde para novas nanopartículas sintéticas. Os mecanismos biológicos de doenças relacionadas com partículas (ex. estresse oxidativo, inflamação e produção de citocinas, quimocinas e fatores de crescimento celular) [Mossman and Churg 1998; Castranova 2000, Donaldson and Tran 2002] parecem ser uma resposta consistente para partículas respiráveis incluindo nanopartículas [Donaldson et al. 1998; Donaldson and Stone 2003; Oberdörster et al. 2005]. Estudos toxicológicos têm mostrado que as propriedades químicas e físicas são importantes fatores que influenciam a toxicidade de partículas ultrafinas [Duffin et al. 2002; Kreyling et al. 2002; Oberdörster et al. 2002; Semmler et al. 2004].

A área superficial e atividade, o número de partículas, podem ser melhores estimadores de perigos potenciais que a massa. O maior perigo potencial pode estar relacionado ao maior número ou área superficial de nanopartículas comparado com aquele para partículas maiores de mesma concentração em massa [Oberdörster et al. 1992; Oberdörster et al. 1994a,b; Driscoll et al. 1996; Tran et al. 2000; Brown et al. 2001; Peters et al. 1997; Moshhammer and Neuberger 2003]. Esta hipótese é baseada primariamente nos efeitos respiratórios observados em estudos com roedores expostos a vários tipos de partículas finas e ultrafinas (ex. dióxido de titânio, negro de carvão, sulfato de bário, toner, cinzas de carvão, etc) e em estudos com humanos expostos a aerossóis de nanopartículas. Estes estudos indicam que para uma dada massa de partículas, relativamente insolúveis, as nanopartículas são mais tóxicas do que partículas maiores de composição química e propriedades superficiais similares. Estudos com partículas finas e ultrafinas têm mostrado que partículas com menores superfícies biologicamente reativas são menos tóxicas [Tran et al. 1999; Duffin et al. 2002]. Entretanto, mesmas partículas de toxicidade inerentemente baixa (ex. dióxido de titânio) causaram inflamações pulmonares, danos a tecidos e fibrose em doses compostas de partículas de grande área superficial [Oberdörster et al. 1992, 1994a,b; Tran et al. 1999, 2000].

Sinteticamente, as propriedades de nanomateriais podem ser modificadas. Por exemplo, um estudo recente mostrou que a citotoxicidade de fulerenos solúveis em água por ser reduzida de diversas ordens de magnitude pela modificação da estrutura das

moléculas de fulereno (ex. hidroxilação) [Sayes et al. 2004]. Estas modificações estruturais mostraram redução da citotoxicidade pela redução da geração de radicais de oxigênio, o que é um mecanismo provável pelo qual o dano as células e a morte ocorrem em culturas destas células. O aumento da funcionalização das paredes de SWCNTs também resultou em menor citotoxicidade a células em culturas [Sayes et al. 2005]. Os estudos de toxicidade utilizando quantum dots mostrou que o tipo do recobrimento das nanopartículas tem um efeito significativo na motilidade e viabilidade da célula [Hoshino et al. 2004; Shiohara et al. 2004; Lovric et al. 2005].

Diferenças na composição das fases nas estruturas nanocristalinas podem influenciar a citotoxicidade. Em um estudo recente, comparando dois tipos de nanopartículas de dióxido de titânio a anatase se mostrou mais citotóxica e produziu mais espécies reativas de oxigênio do que o rutilo com áreas superficiais similares (153 e 123 m²/g, respectivamente) [Sayes et al. 2006].

Nanopartículas como catalisadores de fibrinogênese de proteínas

O potencial das nanopartículas de causar fibrinogênese de proteínas é função da carga superficial, o que fornece aderência a proteína, e sua grande área superficial. Neste caso a ligação NP-proteína induz perturbações significativas estruturais e funcionais, um fator que pode ser importante para um entendimento mais geral das interações biológicas de nanopartículas.

A observação da fibrinogênese, que é um tipo especial de fenômeno de agregação relevante para proteínas amilóides, leva a possibilidade que nanopartículas possam desempenhar um papel no crescente risco de amiloidose e outras doenças relacionadas a defeitos funcionais de proteínas. Os autores indicam que maiores pesquisas são necessárias sobre o potencial de NPs para acelerar a fibrinogênese. Uma das mais importantes mensagens deste trabalho para os químicos é que quando as NPs penetram o mundo biológico se tornam materiais muito diferentes. O pequeno tamanho das NPs cria o potencial de acesso a muitos compartimentos biológicos, onde encontram uma grande variedade de ligações com biomoléculas. A natureza dos recobrimentos das superfícies define tudo que importa sobre as NP no organismo: carga superficial, estabilidade contra a agregação e tamanho hidrodinâmico. Estas associações não específicas não são fixas no tempo e na verdade este estudo mostra que em horas uma proteína amilóide em particular, sofreu diversos eventos de adsorção e dessorção. Uma questão se coloca, se as interações biológicas de NPs dependem da sua composição, em maior grau. Certamente a natureza da superfície irá controlar quais biomoléculas irão interagir com as NPs. Experimentos usando NPs hidrofóbicos, tais como SWNTs, indicaram que estes sistemas se ligam com proteínas através de aminoácidos neutros. A forma da partícula deve também desempenhar um papel; partículas anisotrópicas como SWNTs têm estruturas próprias para encapsular biomoléculas anisotrópicas como o DNA.

De forma interessante o tamanho da partícula pode ser de menor importância do que a composição ou caráter da superfície para definir como se dá a ligação de NPs com biomoléculas. Um estudo de desnaturação de proteínas em NPs de ouro de vários tamanhos encontrou pouca diferença entre NP-proteínas e a solução com diâmetros até 15 nm pelo menos. Tais observações são corroboradas por Linse et al. que encontraram

ser a fibrinogênese induzida por NP-proteínas dependente mais do caráter hidrofóbico da superfície que do tamanho da partícula. Modelos computacionais serão essenciais para prever a natureza das interações biológicas, mas ainda há um bom caminho a se percorrer.

De forma interessante as superfícies de nanopartículas induzem a nucleação de estruturas inorgânicas, mas nestes casos as nanopartículas são incorporadas no meio do produto final. Por este processo biológico as superfícies de nanopartículas não são permanentemente fixadas as fibrilas, e em princípio, as superfícies de nanopartículas funcionam como catalisadores convencionais agindo muitas vezes na fibrinogênese.

Referências específicas

1. Linse S, Cabaleiro-Lago C, Xue W-F, Lynch I, Lindman S, Thulin E, Radford SE, Dawson KA (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104:8691–8696.
2. Subcommittee E56.01 (2006) *E2456-06 Standard Terminology Relating to Nanotechnology* (ASTM Int, West Conshohocken, PA).
3. Alivisatos AP (1996) *Science* 271:933–937.
4. Kamat PV (2002) *J Phys Chem B* 106:7729–7744.
5. Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Ruzinski WE (2001) *J Controlled Release* 70:1–20.
6. Cedervall T, Lynch I, Lindman S, Berggard T, Thulin E, Nilsson H, Dawson KA, Linse S (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104:2050–2055.
7. Matsuura K, Saito T, Okazaki T, Ohshima S, Yumura M, Iijima S (2006) *Chem Phys Lett* 429:497–502.
8. Karajanagi SS, Vertegel AA, Kane RS, Dordick JS (2004) *Langmuir* 20:11594–11599.
9. Baker SE, Cai W, Lasseter TL, Weidkamp KP, Hamers RJ (2002) *Nano Lett* 2:1413–1417.
10. Teichroeb JH, Forrest JA, Ngai V, Jones LW (2006) *Eur Phys J E* 21:19–24.
11. Lu JR, Su TJ, Thirtle PN, Thomas RK, Rennie AR, Cubitt R (1998) *J Colloid Interface Sci* 206:212–223.
12. Jap BK, Zulauf M, Scheybani T, Hefti A, Baumeister W, Aebi U, Engel A (1992) *Ultramicroscopy* 46:45–84.
13. Canale C, Torrasa S, Rispoli P, Relini A, Rolandi R, Bucciantini M, Stefani M, Gliozzi A (2006) *Biophys J* 91:4575–4588.
14. Pellenc D, Berry H, Gallet O (2006) *J Colloid Interface Sci* 298:132–144.
15. Nielsen L, Khurana R, Coats A, Frokjaer S, Brange J, Vyas S, Uversky VN, Fink AL (2001) *Biochemistry* 40:6036–6046.
16. Johnson CJ, Dujardin E, Davis SA, Murphy CJ, Mann S (2002) *J Mater Chem* 12:1765–1770.
17. Gejyo F, Yamada T, Odani S, Nakagawa Y, Arakawa M, Kunitomo T, Kataoka H, Suzuki M, Hirasawa Y, Shirahama T, et al. (1985) *Biochem Biophys Res Commun* 129:701–706.
18. Nelson R, Eisenberg D (2006) *Curr Opin Struct Biol* 16:260–265.
19. Kogan MJ, Bastus NG, Amigo R, Grillo-Bosch D, Araya E, Turiel A, Labarta A, Giralte E, Puntès VF (2006) *Nano Lett* 6:110–115.
20. Cox DL, Lashuel H, Lee KYC, Singh RRP (2005) *MRS Bull* 30:452–457.
21. Cui ZR, Lockman PR, Atwood CS, Hsu CH, Gupte A, Allen DD, Mumper RJ (2005) *Eur J Pharm Biopharm* 59:263–272.
22. Ji X, Naistat D, Li C, Orbullesco J, Leblanc RM (2006) *Colloids Surf B* 50:104–111.
23. Heegaard PMH, Pedersen HG, Flink J, Boas U (2004) *FEBS Lett* 577:127–133.
24. Pai AS, Rubinstein I, Onyuksei H (2006) *Peptides* 27:2858–2866.
25. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (2007) *The Appropriateness of the Risk Assessment Methodology in Accordance with the Technical Guidance Documents for New and Existing Substances for Assessing the Risks of Nanomaterials* (Eur Commission, Brussels).
26. Nanotechnology Environment Health Working Group (2006) *Environmental, Health, and Safety Research Needs for Engineered Nanoscale Materials* (Natl Sci Technol Council, Washington, DC).

27. Maynard AD, Aitken RJ, Butz T, Colvin V, Donaldson K, Oberdorster G, Philbert MA, Ryan J, Seaton A, Stone V, *et al.* (2006) *Nature* 444:267–269.
28. Jansen R, Dzwolak W, Winter R (2005) *Biophys J* 88:1344–1353.

4. Estas interações criam efeitos adversos agudos ou crônicos?

Sim.

Os mecanismos e a quantificação dos efeitos não estão elucidados, mas a diversidade de recobrimentos possíveis de CNTs deixa em aberto a magnitude dos efeitos quer agudos ou crônicos. Muitos efeitos já foram evidenciados:

Nanopartículas demonstraram aumentar a razão do aumento da fibrogênese de proteínas pela diminuição do tempo de nucleação. A fibrinogênese de proteínas, por sua vez, está envolvida em doenças como Alzheimer, Creutzfeld-Jacob e doenças amilóides relacionadas com a diálise.

Partículas ultrafinas induzem efeitos inflamatórios *in vivo* e *in vitro*. A expressão de genes pró-inflamatórios requer a ativação de fatores específicos de transcrição através de processos envolvendo Ca^{2+} e espécies reativas de oxigênio. A descoberta destes mecanismos com certeza irá esclarecer a variação de efeitos relatados na literatura atual.

MWCNTs administrados pela traquéia a ratos mostraram inflamação e fibrose. Estes permaneceram nos pulmões após 60 dias na menor dose administrada. Após dois meses foram caracterizados granulomas ricos em colágeno.

Análises pelo teste de Western blot mostraram que SWCNTs podem induzir baixa na expressão de proteínas associadas com adesão como laminina, fibronectina, caderina. Estes resultados sugerem que SWCNTs podem contribuir para a apoptose de células.

O comportamento de desorção de pireno, fenentreno e naftaleno de SWCNTs, MWCNTs e fulerenos foi examinado. O espaço de adsorção de CNTs foi a superfície cilíndrica externa e não espaços intersticiais devido as impurezas e espaços restritos (0,335 nm) dos MWCNTs. Histerese de desorção foi observada para fulerenos, mas não em CNTs. Alta capacidade de adsorção e adsorção reversível de PAHs em CNTs implica liberação de PAHs se PAHs-CNTs são inalados por animais e humanos, levando a alto risco à saúde.

Camundongos expostos a SWCNTs (10 e 40 $\mu\text{g}/\text{camundongo}$), tiveram danos ao DNA acompanhado por mudanças na glutatona aórtica mitocondrial e níveis de carbonilas em proteínas. Isto levou a estimular a progressão da arteriosclerose em camundongos transgênicos Apo^{-/-}.

A exposição pulmonar a nanotubos de carbono induziu modificações oxidativas no tecido aórtico ApoE-1 de camundongos, o que é um modelo para a arteriosclerose.

A avaliação histológica do tamanho da lesão nas artérias braquiocéfálicas confirmou que a exposição a SWCNTs acelerou a progressão da arteriosclerose. A composição da placa era similar, entretanto.

Pequenas doses de SWCNTs purificados e dispersos são capazes de grande distribuição nos pulmões onde se incorporam no interstício alveolar e produzem resposta fibrótica. SWCNTs ricos em ferro induzem elevado estresse oxidativo.

CNTs podem ter comportamento simultâneo de nanofibras e fibras convencionais o que faz com que o paradigma da toxicologia de fibras, baseado em fibras minerais e vítreas sintéticas deva ser reavaliado. A literatura disponível traz evidências de propriedades tóxicas não usuais. Em particular CNT parecem estimular o crescimento de células mesenquimais e formação de granulomas e fibrogênese.

SWCNTs podem se acoplar eletricamente com neurônios.

CNTs funcionalizados por amônio se associaram ao DNA por interações eletrostáticas. Através destas interações penetraram células de mamíferos. A expressão dos genes alcançou níveis 10 vezes maiores do que com o DNA somente. O deslocamento de SWCNTs através de células cancerosas foi demonstrado com monitoramento com radioisótopos. Híbridos de SWCNT-RNA foram formados através de mecanismos não-específicos.

5. Quais são os métodos mais adequados para a medição e controle das exposições a nanopartículas em ambientes de trabalho?

No momento não há uma técnica única de monitoramento que atenda a quantificação de partículas por tamanho e área superficial, distinguindo partículas sintéticas e geradas por processos antropogênicos ou naturais.

Avaliação da Exposição e Caracterização

Até que uma maior quantidade de informações seja disponibilizada sobre os mecanismos relativos à toxicologia de nanopartículas é incerto qual técnica de medida deve ser usada para se monitorar exposições em ambientes de trabalho. As pesquisas atuais indicam que a massa e a composição química total é de menor importância do que o tamanho da partícula, forma, área superficial e atividade da superfície em nanomateriais. Muitas das técnicas disponíveis para se medir nanoaerossóis variam em complexidade, mas podem fornecer informações úteis para a avaliação de exposições ocupacionais com respeito ao tamanho da partícula, massa, área superficial, concentração em número, composição e superfície. Infelizmente, poucas destas técnicas são prontamente aplicáveis em rotinas de medições de exposições. Independentemente da metrologia ou método de medida usado para a avaliação da exposição à nanoaerossóis é crítico que medidas de fundo sejam feitas antes do início do processo de geração de nanopartículas. Sempre que possível, a amostragem pessoal é preferida para se ter uma melhor representatividade da exposição individual do trabalhador.

A decisão sobre o uso de respiradores deve ser baseada no julgamento profissional que leve em consideração a quantidade de informações toxicológicas disponíveis, dados de medidas de exposição, frequência e semelhança com a exposição do trabalhador. As evidências preliminares mostram que para a média dos filtros dos respiradores não há desvio da teoria clássica de fibras para partículas pelo menos até 2,5 nm em diâmetro. Esta evidência ainda necessita de confirmação, mas enquanto isto, os respiradores certificados existentes parecem ser úteis para a proteção, desde que escolhidos no contexto de um programa de segurança da proteção respiratória.

As propriedades físicas e químicas únicas de nanomateriais, o crescente aumento da nanotecnologia nos ambientes de trabalho, a escassez de informações sobre efeitos na saúde e biológicos associados a exposição a nanopartículas, a escassez de informações sobre efeitos de saúde ocupacionais de incidentes com nanopartículas, todos, levam a necessidade premente de supervisões médicas acerca do perigo da nanotecnologia. Todos os locais de trabalho onde se manipule nanomateriais ou outros aspectos da

nanotecnologia deveriam considerar a criação de programas de saúde ocupacional específicos.

Monitoramento de Exposições em Ambientes de Trabalho

Os estudos sobre a exposição à nanopartículas em ambientes de trabalho seguem paralelamente aos estudos toxicológicos. Embora os métodos e equipamentos utilizados nos estudos de higiene industrial sejam importantes em uma abordagem inicial, novos equipamentos são necessários, assim como novas técnicas, visando os comportamentos diferenciados de nanopartículas. Muitas técnicas clássicas são disponíveis, mas dificilmente adaptáveis a rotinas para monitoramento de nanoaerossóis.

Um fator crítico na determinação de nanoaerossóis é o ruído de fundo. Graças à dispersão das nanopartículas, os estudos têm mostrado que fontes geradoras de nanopartículas distantes interferem na medida em que os equipamentos não distinguem nanopartículas de materiais sintéticos de outras.

As variantes nas características superficiais de nanopartículas são muitas e é difícil se correlacionar efeitos biológicos com parâmetros de massa, com o uso de amostradores de aerossóis por frações em tamanho. Desta forma, amostradores gravimétricos devem ser utilizados com novas técnicas de localização dos mesmos e com maior número de coletores do que tradicionalmente.

A amostragem em tempo real ainda não é tecnologicamente desenvolvida para atender os requerimentos da amostragem de nanoaerossóis. O custo, número reduzido de canais, uso de fontes radioativas, limitam ainda sua utilização, dada a importância da amostragem perto do rosto do trabalhador envolvido.

Equipamentos para medidas de área superficial com respeito a aerossóis ainda exigem coleta de quantidades grandes de partículas e são influenciados pela porosidade da partícula e características da adsorção. Além disto, como a eficiência da medida varia bastante com o tamanho das partículas e o interesse de medidas reais requer dados do conjunto de partículas de vários tamanhos; a tecnologia deverá evoluir mais até que o monitoramento de nanoaerossóis dispersos em ambientes de trabalho seja possível e de uso rotineiro.

Medidas de concentrações em número de partículas.

Concentrações em número de partículas tem sido associadas com efeitos da poluição do ar em alguns estudos com humanos [Timonen et al. 2004; Ruckerl et al. 2005], enquanto em estudos toxicológicos com nanopartículas, a área superficial de partículas tem se mostrado um parâmetro mais adequado do que o número de partículas, massa, ou concentrações em volume [Oberdörster and Yu 1990; Tran et al. 1999; Duffin et al. 2002].

A concentração em número de partículas pode ser medida de forma relativamente fácil. Entretanto, não existem equipamentos comerciais sensíveis a caracterização de partículas nanométricas. Uma alternativa usada é fazer medidas em paralelo com contadores de partículas óticos analisando os resultados diferencialmente. A seletividade entre nanopartículas sintéticas e geradas como subprodutos de outros processos,

entretanto, não é alcançada. Uma vantagem existe da possibilidade da construção de contadores de partículas portáteis o que permite a avaliação espacial dentro do ambiente.

Estratégias atuais para amostragem de nanoaerossóis

Atualmente não há uma técnica única para se fazer amostragens de nanoaerossóis. Deve-se usar uma abordagem múltipla incorporando diferentes técnicas. Brouwer et al. [2004] recomendaram uma medidada de todas as características do aerossol acessíveis tecnicamente. A distribuição estatística das partículas no aerossol (ex. lognormal, bimodal, etc) é chave para se correlacionar com qualquer efeito biológico de interesse ocupacional, visto que a distribuição é influenciada pelas fontes de geração de nanopartículas, localização destas e natureza dos processos geradores.

A distribuição estatística permite avaliar a quantidade de partículas inaláveis e respiráveis o que se correlaciona com o risco de doenças cardiovasculares e respiratórias.

6. Uma alta deposição de nanopartículas nos pulmões afeta a limpeza e o movimento destas para células, tecidos e vasos sanguíneos?

Isto depende de impurezas, recobrimentos e funcionalização dos CNTs. Independentemente, nanopartículas e agregados de nanopartículas possuem alta fração respirável em aerossóis, o que por si só já cria uma condição de risco para pessoas com problemas respiratórios e deprimidas imunologicamente.

7. Podem as nanopartículas chegar a vários órgãos uma vez que estejam na corrente sanguínea?

Sim. Os resultados atuais mostram, entretanto, a forte dependência da pureza e funcionalização. Estes mesmos estudos mostraram ser o fígado o órgão mais atingido pela acumulação de nanopartículas pelo deslocamento destas.

8. As nanopartículas causam efeitos adversos à saúde se penetram a pele?

Não há indicações significativas experimentais em relação à exposição dérmica, mas os estudos ainda são limitados a CNTs purificados.

9. Nanopartículas agregadas possibilitam estruturas mais potentes em fluidos biológicos?

Existe, de forma comprovada, a adsorção e desorção de proteínas na superfície de CNTs com alterações das mesmas, que podem induzir a nucleação de fibrilas. Outros efeitos são possíveis onde CNTs ajam como catalizadores convecionais.

10. Como se precaver de possíveis efeitos mais graves, em função do exposto nas questões anteriores?

Não há indicação de que um programa de boas práticas de trabalho aliado ao uso de EPIs recomendados no texto não possa evitar ou pelo reduzir em muito, efeitos danosos à saúde. A questão da contaminação cruzada e ambiental parece ser mais problemática. Os controles de engenharia atuais capturam nanopartículas, mas, não evitam a sua propagação e dispersão para outros ambientes externos. Um esforço no desenvolvimento de novas tecnologias é necessário.

Procedimentos para Controle de Exposições

Roupas protetoras e equipamentos individuais são itens criticamente importantes para trabalhadores expostos à condições perigosas.

A ASTM iniciou um programa com duração prevista de 4 anos para definir roupas e equipamentos de proteção individual recomendados para as exposições a nanopartículas. Entretanto, este programa não atinge de forma específica partículas abaixo de 10 nm.

Dada a limitada informação disponível sobre os riscos à saúde associados à exposição ocupacional à nanopartículas sintéticas, as práticas de trabalho e controles de engenharia devem se ater as características específicas de onde a exposição acontece. Para a maioria dos processos e tarefas, os controles de engenharia usados tradicionalmente são adequados para reduzir a exposição à nanoaerossóis [Ratherman 1996; Burton 1997]. Programas gerenciais são efetivos para minimizar as exposições desde que fundamentados pelas informações existentes sobre características próprias de nanoaerossóis.

Controles de Engenharia

Em geral, as técnicas que incluem isolamento da fonte geradora de partículas e o operador são efetivas para capturar as nanopartículas em aerossóis [ACGIH 2001], [Seinfeld and Pandis 1998; Hinds 1999].

A incorporação de boas práticas de trabalho como parte de programas de gerenciamento, pode ajudar a minimizar a exposição ocupacional. Alguns exemplos são: limpeza das áreas a cada mudança de turno ou de pessoal, utilizando aspiradores à vácuo com filtros de alta eficiência ou métodos de limpeza úmida; não usar escovação a seco ou ar para limpeza de superfícies; limpar evitando-se o contato com os resíduos; descartes feitos segundo procedimentos padronizados; evitar a estocagem e consumo de alimentos e bebidas onde nanomateriais sejam manipulados; equipamentos que facilitem a lavagem de mãos e rosto a cada saída do local de trabalho; equipamentos que facilitem a limpeza pessoal e troca de roupas evitando contaminações cruzadas.

Roupas de Proteção Individual

Atualmente, nenhuma diretriz é disponível para a escolha de roupas de proteção e outros equipamentos para prevenção da exposição dérmica a nanopartículas. Uma pesquisa publicada mostrou serem as eficiências de penetração para 8 tecidos diferentes contra partículas de 0,477 μm , entre 0,0% a 31%, com uma média de 12% [Shalevet al. 2000]. A eficiência de penetração de nanopartículas não tem sido estudada de forma mais ampla.

Entretanto, mesmo para pós em macroescala é reconhecido que equipamentos de proteção dérmica (i.e. luvas, aventais e outros itens) tem limitada eficiência para reduzir ou controlar exposições dérmicas [Schneider et al. 2000].

Respiradores

O uso de respiradores é sempre requerido quando os controles de engenharia e administrativos não asseguram mais que os níveis de um contaminante fiquem abaixo de um limite regulatório. Não existem atualmente limites específicos de exposição para nanopartículas, embora existam para partículas maiores de composição química similar. As evidências atuais indicam que nanopartículas são mais reativas biologicamente que partículas maiores de composição similar e por isto representam um maior risco na inalação. Isto deve sempre ser considerado na escolha de respiradores na exposição a nanomateriais.

Diversas classes de respiradores existem que podem fornecer diferentes níveis de proteção. Na medida em que dados de toxicidade para nanomateriais em indivíduos se tornem disponíveis, espera-se que revisões sejam feitas nas recomendações para a proteção respiratória. Quando for necessária a proteção respiratória deve-se implementar um programa que inclua os seguintes elementos:

(1) avaliação da habilidade do trabalhador realizar as tarefas utilizando um respirador;

(2) treinamento regular de pessoal;

(3) monitoramento ambiental periódico;

(4) testes de adaptação dos respiradores;

(5) manutenção, inspeção, limpeza e estocagem dos respiradores. Também é importante que a escolha do respirador seja feita por uma pessoa que conheça o ambiente de trabalho e suas limitações associadas a cada tipo de respirador.

Muitos estudos foram realizados sobre partículas maiores e gases/vapores. Por exemplo, o exército americano avaliou fatores de proteção de máscaras utilizando esferas de látex poliestireno de 0,72 μm com vapores, tais como, hexafluoreto de enxofre e acetato de isoamila [Gardner et al, 2004].

Os testes realizados pelo NIOSH para a certificação de respiradores usam distribuições polidispersas de partículas de NaCl com um diâmetro médio de 0,075 \pm 0,020 μm e um desvio padrão geométrico de menos que 1,86 para respiradores classe N. Para respiradores classes R e P, usa-se uma distribuição de partículas polidispersas de ftalato de dioctila com diâmetro médio de 0,185 \pm 0,020 μm e com desvio padrão geométrico de menos que 1,60.

Para a distribuição lognormal do aerossol de NaCl, usado no teste de certificação, uma ampla faixa de tamanhos de partículas (ex. 95% de partículas entre 22 nm-259 nm) é usada. Certifica-se eficiências de 95%, 99% e 99,97%. Todas as partículas que penetram através dos filtros são medidas simultaneamente utilizando um fotômetro de espalhamento de luz. Segundo a teoria de filtração de fibras, partículas maiores que 0,3 μm são coletadas mais eficientemente por impactação, interceptação e deposição gravitacional, enquanto que partículas menores que 0,3 μm são coletadas mais eficientemente por difusão ou atração eletrostática (Hinds, 1999). A penetração de

partículas de 0,3 μm representa o pior caso porque estas são consideradas as mais penetrantes [Stevens and Moyer 1989, TSI 2005; NIOSH 1996]. Entretanto, o tamanho de partícula mais penetrante para um dado respirador pode variar baseado no tipo de meio filtrante usado e a condição do respirador. Por exemplo, o tamanho de partícula mais penetrante para respiradores N95 contendo meios eletrostáticos está na faixa de 50-100 nm [Martin and Moyer, 2000; Richardson et al, 2005] a 30-70 nm [Balazy et al, 2006]. De acordo com a teoria da filtração, abaixo do tamanho de maior penetração a eficiência da filtração aumenta com o decréscimo do tamanho da partícula. Este comportamento continua até que as partículas sejam tão pequenas que se comportem como vapores de moléculas. Quando as partículas se aproximam de tamanhos moleculares podem estar sujeitas a teoria da reflexão térmica quando as partículas literalmente saltam pelos filtros. Como resultado, a penetração irá aumentar. O tamanho exato em que isto ocorre não tem sido descrito na literatura. Entretanto, um estudo recente de Heim et al; (2005), não encontrou desvio detectável da teoria clássica da filtração para partículas até 2,5 nm em diâmetro.

Referências específicas sobre penetração de nanopartículas em meios filtrantes.

1. Alonso, M., Y. Kousaka, T. Hashimoto, and N. Hashimoto, 1997, Penetration of nanometer-sized aerosol particle through wire screen and laminar flow tube, *Aerosol Science and Technology*, Vol. 27, pp. 471-480.
2. Balazy, A., A. Podgorsky and L. Gradon, 2004. EAC Proceeding Vol. II, S967-S968.
3. Chen, D.-R., D.Y.H. Pui, D. Hummes, H. Fissan, F.R. Quant and G.J. Sem, 1998, Design and evaluation of a nanometer aerosol differential mobility analyzer (NanoDMA). *Journal of Aerosol Science*, Vol. 29, No. 5/6, pp. 497-509.
4. Hinds, W. C., 1999. *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*. John Wiley & Sons, New York.
5. Ichitsubo, H., T. Hashimoto, M. Alonso, and Y. Kousaka, 1996, Penetration of ultrafine particles and ion clusters through wire screen, *Aerosol Science and Technology*, Vol. 24, pp. 119-127.
6. Japuntich, D.A., 1991. Particle clogging of fibrous filters, Ph.D. Thesis, Loughborough University of Technology, Loughborough, U.K.
7. Japuntich, D.A., L. Franklin, D.Y.H. Pui, T. Kuehn and S.C. Kim, 2005, Air filtration testing the TSI 8160 automated filter tester for solid and liquid 15 aerosol of 15 to 400 nm diameter, Second International Symposium on Nanotechnology and Occupational Health, Minneapolis, MN.
8. Scheibel, H.G. and J. Porstendorfer, 1983. Generation of Monodisperse Agand NaCl-Aerosol with Particle Diameter Between 2 and 300 nm. *Journal of Aerosol Science*, Vol. 14, No. 2, pp. 113-126.
9. Wang, H.-C., and G. Kasper, 1991, Filtration efficiency of nanometer-size aerosol particles, *Journal of Aerosol Science*, Vol 22, pp. 31-41.

Um estudo financiado pelo NIOSH feito pela Universidade de Minnesota estudou a eficiência de filtros de respiradores para partículas na faixa de 3-100 nm. Neste estudo a penetração das nanopartículas seguiu o comportamento esperado pela teoria clássica até

3 nm (Pui & Kim, 2006). Nenhuma evidência de reflexão térmica foi encontrada. Baseado nisso, os atuais respiradores devem conferir proteção respiratória e exposição à nanopartículas até pelo menos 3 nm.

Equipamentos de Proteção Individual

Rotineiramente são usados EPIs como aventais descartáveis de laboratório de Tyvek™, óculos de proteção, luvas de látex, e máscaras semifaciais de elastômeros, equipadas com filtro para vapores orgânicos P100.

Em geral a medida direta usada na avaliação de risco não distingue entre partículas existentes na atmosfera do ambiente, daquelas geradas pelo processo de manufatura das nanopartículas. A exceção é quando a razão da produção de nanopartículas é muito alto, podendo ser estimada pelos equipamentos de medição direta.

Após análise foi constatado que dois processos elevaram razoavelmente a concentração de nanopartículas no ar: mistura em um recipiente e corte sob lubrificação.

O transporte pelo ar e através de superfícies de roupas e solas de sapato foi constatado como algo significativo.

Um aspecto crítico na caracterização da exposição usando a concentração em número de partículas é a seletividade. Nanopartículas são onipresentes em muitos locais de trabalho vindas de fontes como combustão, emissões de veículos e infiltração do ar externo. Os contadores de partículas normalmente são insensíveis a fonte e composição da partícula. Em um estudo de exposição a aerossóis durante o empacotamento de negro de fumo, um pesquisador encontrou picos de contagem associados a emissões de guindastes e queimadores de gás nas vizinhanças mais do que aos processos relacionados com a investigação.

A avaliação descrita aqui foi elaborada para determinar a magnitude das emissões de nanofibras de carbono que se evadem durante vários processos de manipulação.

As medições foram feitas sempre a pequenas distâncias das fontes, não servindo como avaliação da zona respiratória.

Apesar das limitações, pode ser concluído que o potencial para a emissão de nanomateriais existe durante vários processos.

Primeiro, transferindo-se nanofibras de carbono para um recipiente de mistura houve um pequeno aumento na concentração no ar tanto em número como em massa de partículas de tamanho maior que 500 nm sugerindo alguma dispersão de agregados de nanofibras.

Segundo, a utilização de cortes com lubrificação resultou em um aumento de concentração em número de partículas maiores que 400 nm conjuntamente com o aumento da concentração em massa.

Diretrizes para o Trabalho com Nanomateriais Sintéticos

Nanomateriais sintéticos são diversos em suas naturezas físicas, químicas e biológicas. Os processos usados em pesquisas, desenvolvimento de materiais, produção e uso ou introdução de nanomateriais são extremamente variados. Até que maiores informações sobre os efeitos e mecanismos das exposições a nanomateriais estejam disponíveis, medidas de cautela e prevenção são necessárias. As recomendações a seguir

têm por objetivo ajudar na avaliação de perigos e reduzir as exposições em ambientes de trabalho. A base das recomendações é o trabalho desenvolvido pela UK Royal Society e Royal Academie of Engineers [The Royal Society and The Royal Academy of Engineering 2004].

Medidas Preventivas

Dada a quantidade limitada de informações sobre os riscos associados com a exposição ocupacional de nanopartículas é prudente se tomar medidas para minimizar as exposições. Exemplos de boas práticas incluem: a limpeza de áreas de trabalho com aspiração por filtros de alta eficiência, limpezas de superfícies com elementos úmidos, evitar ao máximo o consumo de bebidas e alimentos em ambientes de trabalho com nanopartículas, e equipamentos que facilitem a limpeza de mãos, rosto e roupas quando da troca de paramentação.

Nenhuma regra disponível existe para seleção de roupas e outros equipamentos relativamente à prevenção e exposição dérmica a nanoaerossóis. Entretanto, alguns padrões de roupas incorporam testes com nanopartículas e por isto tem indicação de uso. Para a maioria das tarefas e processos os controles da exposição podem ser os mesmos utilizados para a redução da exposição a aerossóis em geral. Os respiradores podem ser necessários. As rotinas de segurança administrativas não se mostram eficientes no caso de nanopartículas. Atualmente não existem limites ocupacionais para nanopartículas especificamente, embora existam para partículas maiores de composição similar. A decisão do uso de proteção respiratória deve ser baseada no julgamento profissional que leve em consideração a informação de toxicidade, dados de exposição, frequência e semelhança da exposição do trabalhador.

Evidências preliminares mostram que não há desvios da teoria clássica de meios de filtração de fibras para partículas até 2,5 nm de diâmetro.

A implementação de programas de gerenciamento de risco em ambientes de trabalho é efetiva na minimização de exposições ambientais. Alguns elementos devem ser incluídos nestes programas:

1. Educação dos trabalhadores na manipulação apropriada de nanomateriais (boas práticas de trabalho).
2. Controles de engenharia para isolar o trabalhador da fonte geradora de nanopartículas, ventilação com filtros de alta eficiência. Estabelecimento de procedimentos escritos para a instalação dos controles onde possa haver exposição à nanopartículas.
3. Uso de boas práticas de trabalho para minimizar a exposição a nanomateriais. Por exemplo, a limpeza de áreas de trabalho com aspiradores dotados de filtros de alta eficiência e equipamentos para limpeza de mãos, rostos e roupas protetoras quando da troca por roupas comuns, proibição do consumo de alimentos e bebidas nos locais de manipulação de nanomateriais.
4. Indicações no chão de áreas não-críticas, semi-críticas e críticas.
5. Desenvolvimento de procedimentos para a seleção de equipamentos de proteção individual.

6. o desenvolvimento de procedimentos para a determinação da necessidade e seleção de equipamentos de proteção individual (roupas, luvas, respiradores, etc). Uso de aventais descartáveis de laboratório durante todo o processo laboratorial e sua retirada quando houver afastamento do laboratório, mesmo por pequeno espaço de tempo. Os aventais podem ser reusados durante tempo determinado para sua troca. Embora não existam diretrizes ainda para a prevenção da exposição dérmica a nanomateriais, alguns tecidos incorporam testes com nanopartículas e, portanto, servem como indicativo de efetividade na proteção. Luvas de látex devem ser trocadas por luvas de borracha nitrílica.

7. Atualmente não existem índices específicos de exposição à nanomateriais, embora existam limites para partículas maiores de composição similar assim como para muitos solventes e epóxidos utilizados para produção de nanopartículas. As evidências preliminares sugerem que os respiradores com certificado N95-NIOSH sejam adequados para a proteção contra a inalação de nanopartículas.

8. a avaliação local dos perigos gerados por nanomateriais deve ser baseada nos dados de propriedades físicas e químicas disponíveis e nos dados de efeitos toxicológicos e de saúde.

9. a avaliação local das exposições potenciais dos trabalhadores deve ser realizada para se determinar o grau de risco.

10. a avaliação sistemática das exposições para se assegurar que as medidas de controle estão funcionando adequadamente.

A avaliação dos aerossóis gerados pela agitação mecânica de soluções/suspensões de SWCNTs mostrou que podem ser formadas partículas finas no ar. A manipulação entretanto, mostrou gerar concentrações menores que 53 microg/m^3 e os depósitos em luvas foram de 0,2 a 6 mg por luva.

Durante a abrasão por laser de femtosegundos o tamanho das partículas é de ordem nanométrica e, portanto inaláveis, o que leva a potenciais riscos a saúde humana. A área superficial das partículas mostrou ser real o risco comparado aos dados da literatura sobre nanopartículas. Por abrasão com laser a concentração local das nanopartículas se elevou em mais de 200 vezes o em relação ao ruído de fundo. Os autores mostraram que o risco diminui com aumento do fluxo de ar no ambiente de trabalho.

Avaliação da Ventilação

Experimentos em um laboratório dotado de capela onde um operador misturou nanofibras com acetona por 30 minutos inicialmente e depois com resina epoxi. O trabalhador retirou as nanofibras de um pacote dentro da capela e pesou, na capela, adicionando à solução de acetona. Após 30 minutos a resina líquida foi adicionada.

Os resultados das medidas indicaram que a ventilação capturou as partículas com o uso de menores quantidades de produtos (*Page 8 Health Hazard Evaluation Report No. 2005-0291-3025-NIOSH*).

Segurança ao Fogo e Explosão

Perigos Potenciais de Segurança

Muito pouco se sabe sobre os perigos colocados pelos nanomateriais sintéticos. Pelas indicações da literatura pode-se assumir que sejam maiores pelos potenciais efeitos catalíticos das superfícies elevadas (HSE, 2004). O decréscimo do tamanho da partícula de materiais combustíveis pode reduzir a energia mínima de ignição e aumentar a razão do potencial de combustão e a taxa de combustão levando a que materiais relativamente inertes se tornem altamente combustíveis. Dispersões de nanomateriais combustíveis no ar representam um risco maior do que dispersões de partículas maiores de composição similar. Alguns nanomateriais são desenhados para gerar calor através da progressão de reações em nanoescala. Tais materiais representam um perigo de fogo único de nanomateriais sintéticos. No caso de metais, o risco de explosão aumenta significativamente. Por exemplo, termitas de Al/MoO₃ sofrem ignição 300 vezes mais rápido do que o correspondente material em escala micrométrica [Granier and Pantoya 2004].

Partículas de diâmetro nanométrico e materiais porosos nanoestruturados têm sido usados há anos como catalisadores efetivos para reações de gases e líquidos. Dependendo da composição e estrutura alguns materiais podem iniciar reações e aumentar o potencial de fogo e explosão que de outra maneira não poderiam ser antecipados pela sua composição química somente [Pritchard 2004].

11. Especificamente nas Universidades, dadas as culturas organizacionais presentes, há possibilidades maiores de contaminação?

Sim.

É preciso se criar segregações de espaços e tarefas conforme o treinamento e responsabilidades individuais. De forma preventiva, até que regulamentações e diretrizes sejam estabelecidas, o trabalho com CNTs deve ser realizado ou em ambientes de acesso restrito ou com controle de acesso, quando houver manipulação dos mesmos. Este tipo de cultura organizacional não é rotina ainda, mas deve ser incentivada de forma ampla.

12. Como relatado, nanomateriais são produzidos por fenômenos naturais, inclusive nanotubos de carbono. Baseado nas teorias de evolução genética, por que os humanos e animais não possuem mecanismos específicos ativos para eliminação destes do organismo?

A exposição à nanomateriais e nanopartículas nunca se deu de forma contínua. Esteve sempre associada a eventos isolados envolvendo combustão ou erupções vulcânicas. A realidade atual é inédita neste sentido e a prevenção e cautela devem ser consideradas em todo trabalho com nanomateriais.

13. Quais são os riscos ambientais de nanomateriais, especificamente, nanotubos de carbono?

As questões ambientais têm sido analisadas em menor grau do que as questões toxicológicas. Alguns dados, entretanto, se destacam por apresentar valores significativos para dois importantes parâmetros incluídos em modelos matemáticos de quantificação de riscos ambientais: persistência e expansão geográfica (modelo de Reiqvam).

Persistência de Nanotubos em Águas de Rios.

O crescente interesse nos CNTs leva a questões envolvendo o impacto ambiental na produção em escala industrial. A alta hidrofobicidade e tendência dos nanotubos de se agregarem diminuem a possibilidade da contaminação de cursos de águas. Entretanto, experimentos conduzidos no Instituto de Tecnologia da Geórgia indicam que a matéria orgânica natural presente nos rios pode ajudar a dispersão dos CNTs [Hyung *et al.*, *Environ. Sci. Technol.* (2007) **41**, 179]. Estudos anteriores haviam mostrado que os CNTs são estabilizados em fase aquosa por surfactantes e polímeros. Hoon Hyung *et al.* verificaram isto com MWCNTs como suspensões aquosas tanto em soluções sintéticas contendo matéria orgânica natural modelar quanto em águas naturais superficiais com grande quantidade de matéria orgânica natural. Foram usados MWNTs produzidos por deposição química de vapor com pureza maior que 90% (diâmetro médio de 140 nm, comprimento médio de 7 μ m). Diferentes quantidades de MWNTs foram adicionadas a água ultrapura contendo 1% de sulfato de dodecila, matéria orgânica comercialmente preparada e água de determinado rio próximo (Suwannee). Cada amostra foi agitada vigorosamente por uma hora e deixada descansar por 4 dias, após o que foram filtradas. Na solução contendo água pura o sobrenadante ficou transparente em poucas horas. Nas soluções restantes alguma coloração permaneceu por mais de um mês, indicando que alguns nanotubos permaneceram em suspensão. A microscopia eletrônica de transmissão confirmou que a maior parte dos MWNTs nas soluções não continham matéria orgânica e estavam suspensos como nanotubos individuais e não em clusters. Isto sugere que a dispersão de MWNTs em cursos de águas é possível e que mais uma forma de transporte deve ser considerada.

Em compartimentos ambientais CNTs podem ser biodisponíveis para organismos e suas propriedades sugerem uma acumulação ao longo da cadeia alimentar de alta persistência.

D. magna ingeriram nanotubos através de um comportamento típico de alimentação e utilizaram o recobrimento de lisofosfatidilcolina como fonte de alimento. Também modificaram a solubilidade de nanotubos através da digestão do recobrimento lipídico, mostrando que as propriedades de nanotubos em águas pode ser alterada por organismos aquáticos.

Particulados extraídos de uma seção única de gelo de 10.000 anos exibiu características de partículas contemporâneas finas incluindo algumas misturas de microcristais e matéria carbonácea. De particular significado foi a presença de nanotubos de carbono e nanocristais de fulereno refletindo produtos de combustão similares aos contemporâneos.

MWCNTs foram prontamente dispersados como suspensão pela matéria orgânica natural permanecendo estáveis por mais de um mês.

Agregados comerciais de nanotubos de carbono de parede múltipla variando de 1 a 2 micrômetros em diâmetro com terminos fechados indicaram citotoxicidade e alta correlação entre concentração e toxicidade para nanotubos de carbono relativamente a asbestos e negro de carvão. Estes agregados mostraram ser idênticos na estrutura a agregados dispersos naturalmente em ambientes onde haja combustão.

14. Como proceder a limpeza e descarte de resíduos do trabalho com nanomateriais?

Limpeza e Descarte de Nanomateriais

Nenhuma guia específica é disponível, atualmente, para a limpeza de derrames de nanomateriais ou superfícies contaminadas. Maiores informações são necessárias. É prudente, entretanto, utilizar estratégias de boas práticas disponíveis. Abordagens padrões para limpeza de pós e líquidos incluem aspiradores a vácuo com filtros de alta eficiência, limpeza úmida de pós, materiais absorventes. Métodos de limpeza úmidos utilizando sabões ou óleos são preferidos.

Os tecidos de limpeza devem ser descartados de forma apropriada. A secagem e reutilização podem resultar em dispersão de partículas. O uso de tecidos de microfibras úmidas ou eletrostáticas pode ser efetivo para a limpeza de superfícies com mínima dispersão no ar.

Métodos energéticos de limpeza, como varrição à seco ou com uso de compressores de ar, devem ser evitados ou somente usados com precauções que as partículas sejam filtradas com meios de alta eficiência. A troca dos filtros dos equipamentos de limpeza exige precauções adicionais.

Os seguintes fatores devem ser considerados. Forças de atração podem dificultar a retirada de partículas de superfícies por aspiradores à vácuo. A carga eletrostática das partículas leva-as a atrair superfícies de carga oposta e repelir superfícies de mesma carga. Uma ferramenta ou escova carregada pode repelir as partículas tornando difícil a captura do aerossol ou dispersando o mesmo. A esfregação vigorosa com escovas de limpadores à vácuo ou mesmo a fricção de grandes fluxos de materiais no ar sobre superfícies pode gerar cargas. Os limpadores recomendados para limpeza de toners de copiadoras possuem características de neutralização eletrostática para evitar a geração de cargas.

No desenvolvimento de procedimentos para a limpeza de nanomateriais de superfícies contaminadas, deve-se dar importância a exposição potencial durante a mesma.

REFERÊNCIAS:

01. Castranova V. Potential toxicity of nanoparticles. 2004 Northwest Occupational Health Conference. Portland, OR, October 14, 2004.
02. Castranova V. Toxicity of ultrafine particles. NASA Scientific Group, Houston, TX, February 17, 2005.
03. Castranova V. Nanotechnology safety and health research in NIOSH. Korean Occupational Safety and Health Administration, Daejeon, South Korea, May 12, 2005.
04. Castranova V. Pulmonary response to exposure to carbon nanotubes. Korean Society of Toxicology, Seoul, South Korea, May 13, 2005.
05. Castranova V. Toxicity of ultrafine particles. University of Queensland, Brisbane, Australia, July 12, 2005.
06. Castranova V. Toxicity of ultrafine particles. University of Melbourne, Melbourne, Australia, July 14, 2005.
07. Castranova V. Toxicity of single-walled carbon nanotubes and other ultrafine particles. The Centre for Nanoscience and Nanotechnology, University of Melbourne, Melbourne, Australia, July 14, 2005.
08. Castranova V. General toxicological issues of potential concern with nanoparticles, as overview. Nanotechnology Building Block for Tomorrow's Advanced Technology, Perth, Australia, July 18, 2005.
09. Castranova V. Toxicity of ultrafine particles. Ian Wark Research Institute, University of South Australia, Adelaide, Australia, July 26, 2005.
10. Castranova V. Pulmonary toxicity of single walled carbon nanotubes and other ultrafine particles. Research School of Physical Sciences and Engineering, The Australian National University, Canberra, Australia, July 27, 2005.
11. Castranova V. Pulmonary toxicity of single walled carbon nanotubes. National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme. Sydney, Australia, July 29, 2005.
12. Gardner P, Richardson A, Rengasamy A. Efficiency of respirator filters against nano-aerosols under high flow conditions. 2nd International Symposium on Nanotechnology and Occupational Health, Minneapolis, MN, October 4–6, 2005.
13. Howard J. The NIOSH nanotechnology initiative: ensuring a safe and healthful workforce in a changing environment. OSHA Health Forum, Denver, CO, August 31, 2005.
14. King B, Gao P. A passive aerosol sampler for evaluation of personal protective ensembles. Advanced Personal Protective Equipment: Challenges in Protecting First Responders Conference, Blacksburg, VA, October 16–18, 2005.
15. Kuempel E. Assessing the health risks of nanomaterials in workers: current knowledge and research gaps. Meeting of the National Research Council, Board on Environmental Science and Toxicology, Woods Hole, MA, October 7, 2004.
16. Kuempel E. Nanomaterials: a risk to workers' health? OSHA/NIOSH Interagency Health Outcome Conference, Salt Lake City, UT, November 16, 2004.
17. Maynard A. Laboratory safety and disposal issues. Nanotoxicology Workshop, Gainesville, FL, November 3, 2004.
18. Maynard A. Working at the nanoscale: nanotechnology and potential health risks. CDC/Environmental & Occupational Health & Injury Prevention Coordination Center, Atlanta, GA, November 9, 2004.
19. Maynard A. Understanding the potential impact of nanotechnology on occupational health. University of Cincinnati, Cincinnati, OH, February 23, 2005.
20. Maynard A. Nanomaterials and occupational health. Establishing a healthy working environment. The World Environment Center International Environment Forum, New York, March 10, 2005.

21. Porter D. Toxicity of ultrafine particles. Nanotechnology: Occupational Safety and Health Perspectives. 21st Annual Kentucky Governor's Safety and Health Conference and Exposition, Louisville, KY, May 11, 2005.
22. Simeonova P. Nanoparticles-systemic and vascular effects. Nanotoxicology: Biomedical Aspects, Nanotoxicology 2006, Miami, FL, January 29–February 1, 2006.
23. Castranova V. Potential toxicity of nanoparticles. 2004 Northwest Occupational Health Conference. Portland, OR, October 14, 2004.
24. Castranova V. Toxicity of ultrafine particles. Ian Wark Research Institute, University of South Australia, Adelaide, Australia, July 26, 2005.
25. Castranova V. Pulmonary toxicity of single walled carbon nanotubes and other ultrafine particles. Research School of Physical Sciences and Engineering, The Australian National University, Canberra, Australia, July 27, 2005.
26. Castranova V. Pulmonary toxicity of single walled carbon nanotubes. National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme. Sydney, Australia, July 29, 2005.
27. Gardner P, Richardson A, Rengasamy A. Efficiency of respirator filters against nano-aerosols under high flow conditions. 2nd International Symposium on Nanotechnology and Occupational Health, Minneapolis, MN, October 4–6, 2005.
28. King B, Gao P. A passive aerosol sampler for evaluation of personal protective ensembles. Advanced Personal Protective Equipment: Challenges in Protecting First Responders Conference, Blacksburg, VA, October 16–18, 2005.
29. Kuempel E. Nanomaterials: a risk to workers' health? OSHA/NIOSH Interagency Health Outcome Conference, Salt Lake City, UT, November 16, 2004.
30. Maynard A. Understanding the potential impact of nanotechnology on occupational health. University of Cincinnati, Cincinnati, OH, February 23, 2005.
31. Maynard A. Nanomaterials and occupational health. Establishing a healthy working environment. The World Environment Center International Environment Forum, New York, March 10, 2005.
32. Shvedova A. Pulmonary toxicity of SWCNT (Single-walled carbon nanotubes). National Nanotechnology Infrastructure Network (NNIN) meeting. Nanosafe: A Workshop on Environmental Health and Safety in Nanotechnology Research, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, December 2, 2004.
33. Shvedova S. Pulmonary toxicity of carbon nanotubes. American Chemical Society, San Diego, CA, March 26–28, 2005.
34. Shvedova A. Pulmonary oxidative stress, inflammation, and fibrosis induced by single wall carbon nanotubes. 2nd International Symposium on Nanotechnology and Occupational Health, Minneapolis, MN, October 3–6, 2005.
35. Shvedova A. Pulmonary toxicity of carbon nanotubes. 8th International Conference on Mechanisms of Action of Inhaled Fibers, Particles, and Nanoparticles in Lung and Cardiovascular Diseases, Research Triangle Park, NC, October 25–28, 2005.
36. Simeonova P. Nanoparticles-systemic and vascular effects. Nanotoxicology: Biomedical Aspects, Nanotoxicology 2006, Miami, FL, January 29–February 1, 2006.
37. Castranova V. Toxicity of ultrafine particles. Ian Wark Research Institute, University of South Australia, Adelaide, Australia, July 26, 2005.
38. Castranova V. Pulmonary toxicity of single walled carbon nanotubes and other ultrafine particles. Research School of Physical Sciences and Engineering, The Australian National University, Canberra, Australia, July 27, 2005.
39. Gardner P, Richardson A, Rengasamy A. Efficiency of respirator filters against nano-aerosols under high flow conditions. 2nd International Symposium on Nanotechnology and Occupational Health, Minneapolis, MN, October 4–6, 2005.

40. Maynard A. Nanomaterials and occupational health. Establishing a healthy working environment. The World Environment Center International Environment Forum, New York, March 10, 2005.
41. Maynard A. Responsible nanotechnology and the working environment. National Research Council Review of the U.S. National Nanotechnology Initiative Meeting on Responsible Nanotechnology, Washington, DC, March 24, 2005.
42. Shvedova A. Pulmonary toxicity of SWCNT (Single-walled carbon nanotubes). National Nanotechnology Infrastructure Network (NNIN) meeting. Nanosafe: A Workshop on Environmental Health and Safety in Nanotechnology Research, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, December 2, 2004.
43. Shvedova S. Pulmonary toxicity of carbon nanotubes. American Chemical Society, San Diego, CA, March 26–28, 2005.
44. Shvedova A. Pulmonary oxidative stress, inflammation, and fibrosis induced by single wall carbon nanotubes. 2nd International Symposium on Nanotechnology and Occupational Health, Minneapolis, MN, October 3–6, 2005.
45. Shvedova A. Pulmonary toxicity of carbon nanotubes. 8th International Conference on Mechanisms of Action of Inhaled Fibers, Particles, and Nanoparticles in Lung and Cardiovascular Diseases, Research Triangle Park, NC, October 25–28, 2005.
46. Simeonova P. Nanoparticles-systemic and vascular effects. *Nanotoxicology: Biomedical Aspects, Nanotoxicology 2006*, Miami, FL, January 29–February 1, 2006.
47. Carbon Nanotubes: A Review of Their Properties in Relation to Pulmonary Toxicology and Workplace Safety, Donaldson K, Aitken R, Tran L, Stone V, Duffin R, Forrest G, Alexander A
48. Reviewing the Environmental and Human Health Knowledge Base of Carbon Nanotube, Helland A, Wick P, Koehler A, Schmid K, Som C
49. The biocompatibility of Carbon Nanotubes, Smart SK, Cassady AI, Lu GQ, Martin DJ
50. Heck DE, Kagan VE, Shvedova AA, Laskin JD [2005]. An Epigrammatic (abridged) recounting of the myriad tales of astonishing deeds and dire consequences pertaining to nitric oxide and reactive oxygen species in mitochondria with an ancillary missive concerning origin of apoptosis. *Toxicol* 208(2):259–271.
51. Shvedova A, Kisin E, Mercer R, Murray A, Johnson VJ, Potapovich A, Tyurina Y, Gorelic O, Arepalli S, Schwegler-Berry D, Antonini J, Evans DE, Ku B-K, Ramsey D, Maynard A, Kagan VE, Castranova V, Baron P [2005]. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single walled carbon nanotubes in mice. *Am J Physiol: Lung Cell Mol Physiol* 289:L698–L708.
52. Li ZJ, Chapman R, Hulerman T, Salmen R, Shvedova, A, Luster MI, Simeonova PP [2006]. Relationship of pulmonary exposure to multiple doses of single wall carbon nanotubes and atherosclerosis in APOE^{-/-} mouse model. *The Toxicologist* 90(1):A1555.
53. Aitken RJ, Creely KS, Tran CL [2004]. Nanoparticles: an occupational hygiene review. HSE Research Report 274, UK Health & Safety Executive, www.hse.gov.uk/research/rrhtm/rr274.htm.
54. Kim CS, Jaques PA [2004]. Analysis of total respiratory deposition of inhaled ultrafine particles in adult subjects at various breathing patterns. *Aerosol Sci Technol* 38:525–540.
55. 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. *Toxicol Sci* 77:126–134.
56. NIOSH [1994b]. Method 0600 (Issue 3): particulates not otherwise regulated, respirable: In: NIOSH manual of analytical methods. 4th ed. Schlecht PC, O'Connor PF, eds. Cincinnati, OH: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers Disease

- Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH) Publication 94–113; 1st Supplement Publication 96–135, 2nd Supplement Publication 98–119; 3rd Supplement 2003–154 [www.cdc.gov/niosh/nmam/].
57. NIOSH [1996]. NIOSH guide to the selection and use of particulate respirators certified under 42 CFR 84. Cincinnati, OH: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH) Publication No. 96–101.
 58. NIOSH [2003]. Filtration and air-cleaning systems to protect building environments. Cincinnati, OH: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH) Publication No. 2003–136.
 59. NIOSH [2004]. NIOSH respirator selection logic. Cincinnati, OH: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH) Publication No. 2005–100. www.cdc.gov/niosh/docs/2005-100/.
 60. NIOSH [2005a]. Procedure No. RCT-APR-STP-0057, 0058, 0059, Revision 1.1
 61. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, National Personal Protective Technology Laboratory, Pittsburgh, PA. <http://www.cdc.gov/niosh/npptl/stps/pdfs/.pdf>.
 62. NIOSH [2005b]. Procedure No. RCT-APR-STP-0051, 0052, 0053, 0054, 0055, 0056, Revision 1.1, Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, National Personal Protective Technology Laboratory, Pittsburgh, PA. <http://www.cdc.gov/niosh/npptl/stps/pdfs.pdf>
 63. Pui, David Y.H., and Kim, Seong Chan. Final Report NIOSH Contract No. 254-2005-M-11698, “Penetration of Nanoparticles through Respirator Filter Media”, April 2, 2006.
 64. Huckzko A, Lange H [2001]. Carbon nanotubes: experimental evidence for a null risk of skin irritation and allergy. *Fullerene Science and Technology* 9(2):247–250.
 65. Huckzko A, Lange H, Calko E, Grubeck-Jaworska H, Droszez P [2001]. Physiological testing of carbon nanotubes: are they asbestos-like? *Fullerene Science and Technology* 9(2):251–254.
 66. Keller A, Fierz M, Siegmann K, Siegmann HC, FilippovA [2001]. Surface science with nanosized particles in a carrier gas. *Journal of Vacuum Science and Technology a-Vacuum Surfaces and Films* 19(1):1–8.
 67. Lee KW, Liu BYH [1981]. Experimental study of aerosol filtration by fibrous filters. *Aerosol Sci Technol* 1(1):35–46.
 68. Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, Wang MY, Oberley T, Froines J, Nel A [2003]. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect* 111(4):455–460.
 69. Maynard AD [2002]. Experimental determination of ultrafine TiO₂ de-agglomeration in surrogate pulmonary surfactant—preliminary results. *Ann Occup Hyg* 46(Suppl 1):197–202.
 70. Nemmar A, Vanbilloen H, Hoylaerts MF, Hoet PHM, Verbruggen A, Nemery BS [2001]. Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster. *Am J Respir Crit Care Med* 164(9):1665–1668.
 71. Nichols G, Byard S, Bloxham MJ, Botterill J, Dawson NJ, Dennis A, Diart V, North NC, Sherwood JD [2002]. A review of the terms agglomerate and aggregate with a recommendation for nomenclature used in powder and particle characterization. *J Pharm Sci* 91(10):2103–2109.

72. NIOSH [1987]. NIOSH guide to industrial respiratory protection. Cincinnati, OH: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control, DHHS (NIOSH) Publication No. 87-116, Appendix B.
73. NRC [1994]. Science and judgement in risk assessment. Washington D.C.: National Academy Press.
74. Oberdörster E [2004]. Manufactured nanomaterials (Fullerenes, C60) induce oxidative stress in brain of juvenile largemouth bass. *Environ Health Perspect* 112(10):1058-1062.
75. Pui DYH, Chen D [2002]. Experimental and modeling studies of nanometer aerosol filtration. Sponsored by the Department of Energy Minneapolis MN, University of Minnesota, Particle Technology Laboratory. Grant No. DOEIDE-FG02-98ER1490.
76. Renwick LC, Donaldson K, Clouter A [2001]. Impairment of alveolar macrophage phagocytosis by ultrafine particles. *Toxicol Appl Pharmacol* 172(2):119-127.
77. Thomas K, Sayre P [2005]. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part 1: Evaluation the human health implications of exposure to nanoscale materials. *Toxicological Sciences* 87(2):316-321.
78. VanOsdell DW, Liu BYH, Rubow KL, Pui DYH [1990]. Experimental-study of submicrometer and ultrafine particle penetration and pressure-drop for high-efficiency filters. *Aerosol Sci Technol* 12(4):911-925.
79. Wang HC [1996]. Comparison of thermal rebound theory with penetration measurements of nanometer particles through wire screens. *Aerosol Sci Technol* 24(3):129-134.
80. Wang HC, Kasper G [1991]. Filtration efficiency of nanometer-size aerosol-particles. *J Aerosol Sci* 22(1):31-41.
81. A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. [*Crit Rev Toxicol*. 2006]
82. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. [*Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005]
83. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. [*Toxicol Sci*. 2004]
84. *Toxicol Sci*. 2006 Jul;92(1):5-22. Epub 2006 Feb 16. Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety.
85. Nanomaterials and lung toxicity: interactions with airways cells and relevance for occupational health risk assessment. [*Int J Immunopathol Pharmacol*. 2006]
86. Potential pulmonary effects of man-made organic fiber (MMOF) dusts. [*Crit Rev Toxicol*. 2001]
87. Synthetic vitreous fibers: a review of toxicology research and its impact on hazard classification. [*Crit Rev Toxicol*. 2001]
88. Nanomaterials and lung toxicity: interactions with airways cells and relevance for occupational health risk assessment. [*Int J Immunopathol Pharmacol*. 2006]
89. Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. [*Toxicol Sci*. 2006]
90. Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants. [*Toxicol Lett*. 2007]
91. Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. [*Toxicol Appl Pharmacol*. 2005]
92. Pulskamp K, Diabaté S, Krug HF. Forschungszentrum Karlsruhe, Institute of Toxicology and Genetics, Environmental Molecular Toxicology, Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen, Germany. PMID: 17141434 [PubMed - indexed for MEDLINE]
93. Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages: role of iron. [*Toxicol Lett*. 2006]

94. Importance of soluble metals and reactive oxygen species for cytokine release induced by mineral particles. [Toxicology. 2001]
95. Crit Rev Toxicol. 2006 Mar;36(3):189-217. A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. Lam CW, James JT, McCluskey R, Arepalli S, Hunter RL. JSC Toxicology Group, Space Life Sciences, NASA Johnson Space Center, Wyle Laboratories; and Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Texas Medical School, Houston, Texas 77058, USA. PMID: 16686422 [PubMed - indexed for MEDLINE]
96. NTP Toxicity Study Report on the atmospheric characterization, particle size, chemical composition, and workplace exposure assessment of cellulose insulation (CELLULOSEINS). [Toxic Rep Ser. 2006]
97. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. [Toxicol Sci. 2004]
98. Cytotoxicity assessment of some carbon nanotubes and related carbon nanoparticle aggregates and the implications for anthropogenic carbon nanotube aggregates in the environment. [Int J Environ Res Public Health. 2005]
99. Effects of concentrated ambient particles on normal and hypersecretory airways in rats. [Res Rep Health Eff Inst. 2004]
100. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. [Toxicol Sci. 2004]
101. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2005 Nov;289(5):L698-708. Epub 2005 Jun 10. Comment in: Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2005 Nov;289(5):L696-7.
102. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice. 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. Health Effects Laboratory Div., NIOSH, Morgantown, WV, USA. PMID: 15951334 [PubMed - indexed for MEDLINE]
103. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. [Toxicol Sci. 2004]
104. Pulmonary inflammation in rats after intratracheal instillation of quartz, amorphous SiO₂, carbon black, and coal dust and the influence of poly-2-vinylpyridine-N-oxide (PVNO). [Exp Toxicol Pathol. 2002]
105. Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages: role of iron. [Toxicol Lett. 2006]
106. Single-Walled Carbon Nanotube (SWCNT)-induced interstitial fibrosis in the lungs of rats is associated with increased levels of PDGF mRNA and the formation of unique intercellular carbon structures that bridge alveolar macrophages In Situ. [Part Fibre Toxicol. 2006]
107. A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. [Crit Rev Toxicol. 2006]
108. Inhal Toxicol. 2007 Jun;19(7):631-43. Testing Strategies to Establish the Safety of Nanomaterials: Conclusions of an ECETOC Workshop. Warheit DB, Borm PJ, Hennes C, Lademann J, DuPont, Haskell Laboratory. Newark, Delaware. USA. PMID: 17510836 [PubMed - in process]
109. J Toxicol Environ Health A. 2004 Jan 9;67(1):87-107. Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material. Maynard AD, Baron PA, Foley M, Shvedova AA, Kisin ER, Castranova V. National Institute for Occupational Safety and Health, 4676 Columbia Parkway, Cincinnati, OH 45226, USA. PMID: 14668113 [PubMed - indexed for MEDLINE]

110. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. [J Toxicol Environ Health A. 2003]
111. A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. [Crit Rev Toxicol. 2006]
112. Personal exposure to ultrafine particles in the workplace: exploring sampling techniques and strategies. [Ann Occup Hyg. 2004]
113. Effects of concentrated ambient particles on normal and hypersecretory airways in rats. [Res Rep Health Eff Inst. 2004]
114. Field evaluation of nanofilm detectors for measuring acidic particles in indoor and outdoor air. [Res Rep Health Eff Inst. 2004]
115. Crit Rev Toxicol. 2001 Nov;31(6):697-736. Potential pulmonary effects of man-made organic fiber (MMOF) dusts. Warheit DB, Hart GA, Hesterberg TW, Collins JJ, Dyer WM, Swaen GM, Castranova V, Soiefer AI, Kennedy GL. DuPont Haskell Lab. PMID: 11763480 [PubMed - indexed for MEDLINE]
116. Synthetic vitreous fibers: a review of toxicology research and its impact on hazard classification. [Crit Rev Toxicol. 2001]
117. NTP Toxicity Study Report on the atmospheric characterization, particle size, chemical composition, and workplace exposure assessment of cellulose insulation (CELLULOSEINS). [Toxic Rep Ser. 2006]
118. [Chemical and physical characteristics and toxicology of man-made mineral fibers] [Med Lav. 1999]
119. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2004 Sep-Oct;7(5):339-50. **Implications of chemical mixtures in public health practice.** de Rosa CT, El-Masri HA, Pohl H, Cibulas W, Mumtaz MM. Division of Toxicology, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services Atlanta, Georgia 30333, USA. PMID: 15371239 [PubMed - indexed for MEDLINE]
120. Future directions of environmental public health research: ATSDR's 2002-2010 agenda for six priority focus areas. [Int J Hyg Environ Health. 2002]
121. Man-made respirable-sized organic fibers: what do we know about their toxicological profiles? [Ind Health. 2001]
122. Chronic inhalation toxicity and carcinogenicity testing of respirable fibrous particles. Workshop report. [Regul Toxicol Pharmacol. 1996]
123. Personal exposure to ultrafine particles in the workplace: exploring sampling techniques and strategies. [Ann Occup Hyg. 2004]
124. A Dirichlet Tessellation-based sampling scheme for measuring whole-body exposure. [Ann Occup Hyg. 2002]
125. Free Radic Biol Med. 2006 Apr 1;40(7):1227-33. Epub 2005 Dec 9. **Reactivity of carbon nanotubes: free radical generation or scavenging activity?** Fenoglio I, Tomatis M, Lison D, Muller J, Fonseca A, Nagy JB, Fubini B. Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Fisica e Chimica dei Materiali, Interdepartmental Center G. Scansetti for Studies on Asbestos, Italy. PMID: 16545691 [PubMed - indexed for MEDLINE]
126. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. Lam CW, James JT, McCluskey R, Hunter RL. Space and Life Sciences, NASA Johnson Space Center, Houston, Texas 77058, USA. Chiu-wing. PMID: 14514958 [PubMed - indexed for MEDLINE]
127. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. [Toxicol Sci. 2004]
128. Sources, pathways, and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the Walkerton inquiry. [J Toxicol Environ Health A. 2002]

