

Anna Maria Świdwińska-Gajewska
Sławomir Czerczak

NANOCZĄSTKI DITLENKU TYTANU – DOPUSZCZALNE POZIOMY NARAŻENIA ZAWODOWEGO

TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES: OCCUPATIONAL EXPOSURE LIMITS

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

STRESZCZENIE

Ditlenek tytanu (TiO_2) jest produkowany w Polsce jako substancja wielkotonażowa. Wykorzystywany jest przede wszystkim jako pigment do farb i lakierów, tworzyw sztucznych oraz papieru, ale także jako dodatek do żywności i farmaceutyków. Coraz szersze zastosowanie znajdują nanocząstki TiO_2 – głównie w kosmetykach, tkaninach i tworzywach sztucznych – jako bloker promieniowania ultrafioletowego. Zwiększa się tym samym ryzyko narażenia pracowników na nanocząstki ditlenku tytanu w środowisku pracy. Ze względu na brak odpowiednich metod pomiarowych oraz wyodrębnionej frakcji nanoobjektów, dla których mogą być opracowywane normatywy higieniczne, nie ustalono najwyższych dopuszczalnych stężeń w powietrzu środowiska pracy dla cząstek < 100 nm, które w głównej mierze są odpowiedzialne za potencjalnie szkodliwe działanie ditlenku tytanu. Eksperti Narodowego Instytutu Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (National Institute for Occupational Safety and Health – NIOSH) zaproponowali dopuszczalny poziom narażenia dla nanocząstek ditlenku tytanu w wysokości $0,3 \text{ mg/m}^3$, a eksperci Organizacji Rozwoju Nowych Energii i Technologii Przemysłowych (New Energy and Industrial Technology Development Organization – NEDO) – $0,6 \text{ mg/m}^3$. Autorzy niniejszego opracowania na podstawie dostępnych danych i w oparciu o obowiązujące metody wyznaczania wartości normatywów higienicznych w Polsce oszacowali, że wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) w powietrzu środowiska pracy dla nanocząstek TiO_2 może wynosić $0,3 \text{ mg/m}^3$. Med. Pr. 2014;65(3):407–418

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

ABSTRACT

Titanium dioxide (TiO_2) is produced in Poland as a high production volume chemical (HPVC). It is used mainly as a pigment for paints and coatings, plastics, paper, and also as additives to food and pharmaceuticals. Titanium dioxide nanoparticles are increasingly applied in cosmetics, textiles and plastics as the ultraviolet light blocker. This contributes to a growing occupational exposure to TiO_2 nanoparticles. Nanoparticles are potentially responsible for the most adverse effects of titanium dioxide. Due to the absence of separate fraction of nanoobjects and appropriate measurement methods the maximum admissible concentrations (MAC) for particles < 100 nm and nano- TiO_2 cannot be established. In the world there are 2 proposals of occupational exposure levels for titanium dioxide nanoparticles: 0.3 mg/m^3 , proposed by the National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), and 0.6 mg/m^3 , proposed by experts of the New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO). The authors of this article, based on the available data and existing methods for hygiene standards binding in Poland, concluded that the MAC value of 0.3 mg/m^3 for nanoparticles TiO_2 in the workplace air can be accepted. Med Pr 2014;65(3):407–418

Key words: titanium dioxide, nanoobjects, nanoparticles, occupational exposure, maximum admissible concentration

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Anna Maria Świdwińska-Gajewska, Zakład Bezpieczeństwa Chemicznego, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8, 91-348 Łódź, e-mail: answid@imp.lodz.pl
Nadesłano: 16 kwietnia 2014, zatwierdzono: 9 lipca 2014

WSTĘP

Ditlenek tytanu (TiO_2) nie znajduje się w wykazach substancji stwarzających zagrożenie, zamieszczonych w załączniku VI do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 127/2008 z dnia 16 grud-

nia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (1). Jednak istnieją doniesienia na temat negatywnych skutków zdrowotnych nanocząstek TiO_2 , zaobserwowanych

w badaniach na zwierzętach. Nanoobjekty ditlenku tytanu mogą docierać (drogą oddechową lub pokarmową) do płuc, wątroby i śledziony, ale wykrywano je także w mózgu narażanych zwierząt (2,3). Istnieje prawdopodobieństwo, że będą powodować wahania parametrów biochemicznych oraz zmiany ekspresji genów, mogące prowadzić do uszkodzenia wątroby, nerek, mięśnia sercowego, a także narządów płciowych (4,5).

W wyniku przewlekłego narażenia drogą inhalacyjną na działanie nanocząstek ditlenku tytanu występują przede wszystkim objawy stanu zapalnego, które mogą powodować zmiany zwłóknieniowe i proliferacyjne (6,7). Istnieją również badania potwierdzające negatywny wpływ nanocząstek TiO_2 na rozwój płodu i funkcje układu rozrodczego u zwierząt (8).

Nanocząstki ditlenku tytanu mogą przechodzić przez barierę krew-łożysko i wpływać na rozwój płodowy potomstwa u myszy (zmiany w nerwie węchowym i ośrodkowym układzie nerwowym, zmiany neurobehawioralne) (9–14). Prenatalne narażenie wywoływało ponadto uszkodzenia w funkcjonowaniu męskiego układu rozrodczego u potomstwa myszy (15). Nie wpływało natomiast na działanie żeńskiego układu rozrodczego u młodych z pokolenia F1 ani F2 (16). U samic narażanych na kontakt z nanocząstkami zaobserwowano gromadzenie się TiO_2 w jajnikach, zaburzenie gospodarki hormonów płciowych, a także istotne zmniejszenie wskaźników płodności (wskaźnik krycia, zapłodnień, żywych płodów i urodzeń) (17). U samców myszy nanocząstki TiO_2 pokonywały barierę krew-jądra, wywołując w tych ostatnich zmiany i zaburzenia w produkcji spermy (zmniejszenie liczby i ruchliwości plemników oraz zwiększenie liczby plemników o nieprawidłowej budowie) (5).

Nanocząstki TiO_2 działały genotoksycznie na komórki ssaków i ludzi, co było wzmacniane światłem z zakresu widzialnego i ultrafioletowego (UV-Vis) (18–20). Zaobserwowano także działanie rakotwórcze nanoditlenku tytanu, ale jedynie u szczurów narażanych inhalacyjnie (7). Badania epidemiologiczne pracowników narażonych na kontakt z ditlenkiem tytanu nie potwierdzają działania rakotwórczego tego związku. Brak jest dowodów wzrostu ryzyka wystąpienia raka płuca lub zgonu związanego z tą chorobą u osób zawodowo narażonych na pył TiO_2 (21). Wobec tak niepokojących danych dotyczących wpływu nanocząstek ditlenku tytanu na zwierzęta należy jednak uważniej obserwować i monitorować osoby pracujące w narażeniu na działanie tej postaci substancji. Celem niniejszego opracowania jest zaprezentowanie propozycji

dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla nanocząstek ditlenku tytanu na świecie oraz oszacowanie najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) w powietrzu środowiska pracy w oparciu o wyniki badań eksperymentalnych na zwierzętach.

METODY PRZEGLĄDU

Przeglądu piśmiennictwa dokonano na podstawie baz internetowych naukowych czasopism recenzowanych. W przygotowaniu niniejszego opracowania wykorzystano prace dotyczące nanocząstek ditlenku tytanu, jego zastosowania i narażenia na jego działanie oraz istniejących propozycji dopuszczalnych poziomów narażenia na świecie. Szczególną uwagę zwrócono na wyniki badań na zwierzętach narażanych inhalacyjnie na nanocząstki ditlenku tytanu – wyniki te stanowią podstawę do oszacowania wartości normatywów higienicznych dla narażenia w środowisku pracy.

WYNIKI PRZEGLĄDU

Przeгляд piśmiennictwa podzielono na podrozdziały dotyczące: definicji nanomateriału, nanoobjektu i nanocząstki, zastosowania i narażenia zawodowego na ditlenek tytanu i jego nanocząstki, mechanizmu działania toksycznego, zależności efektu toksycznego od wielkości ekspozycji, dopuszczalnych poziomów narażenia na świecie oraz propozycji oszacowania wartości NDS dla nanocząstek TiO_2 w środowisku pracy w Polsce.

Definicja nanomateriału, nanoobjektu i nanocząstki

Zgodnie z zaleceniem Komisji Europejskiej z dnia 18 października 2011 r. (22) „nanomateriał” oznacza naturalny, powstały przypadkowo lub wytworzony materiał zawierający cząstki w stanie swobodnym lub w formie agregatu bądź aglomeratu, w którym co najmniej 50% lub więcej cząstek w liczbowym rozkładzie wielkości cząstek ma 1 lub więcej wymiarów w zakresie 1–100 nm. Od podanej wyżej definicji istnieją uwzględnione w zaleceniu odstępstwa:

- w określonych przypadkach, uzasadnionych względami ochrony środowiska, zdrowia, bezpieczeństwa lub konkurencyjności, zamiast wartości progowej liczbowego rozkładu wielkości cząstek wynoszącej 50% można przyjąć wartość z zakresu 1–50%;
- za nanomateriały należy także uznać fulereny, płatki grafenowe oraz jednościenne nanorurki węglowe o co najmniej 1 wymiarze poniżej 1 nm.

Na potrzeby zalecanej definicji objaśniono znaczenie zastosowanych zwrotów:

- „cząstka” oznacza drobinę materii o określonych granicach fizycznych;
- „aglomerat” to zbiór słabo powiązanych cząstek lub agregatów, w którym ostateczna wielkość powierzchni zewnętrznej jest zbliżona do sumy powierzchni poszczególnych składników;
- „agregat” oznacza cząstkę zawierającą silnie powiązane lub stopione cząstki.

Jeśli jest to technicznie możliwe i wymagane w danym systemie prawnym, zgodność z definicją można określać ilościowo na podstawie powierzchni właściwej przypadającej na objętość.

Materiał należy uznać za zgodny z definicją, jeżeli jego powierzchnia właściwa przypadająca na objętość jest większa niż 60 m²/cm³. Jednak materiał, który jest nanomateriałem ze względu na liczbowy rozkład wielkości cząstek, należy uznać za zgodny z definicją, nawet jeśli jego powierzchnia właściwa jest mniejsza niż 60 m²/cm³.

Zgodnie z terminami zaczerpniętymi ze specyfikacji technicznej (ISO/TS 27687:2008) nanoobiekt to materiał, którego 1, 2 lub 3 wymiary zewnętrzne są w nanoskali (w zakresie wymiarowym 1–100 nm), a nanocząstka oznacza nanoobiekt o 3 wymiarach w nanoskali (23). W przypadku nanomateriału ditlenku tytanu uwalniające się nanoobiekty przyjmują zazwyczaj formę nanocząstek.

Zastosowanie

Ze względu na to, że ditlenek tytanu ma właściwości absorbowania światła UV i jest transparentny dla światła widzialnego, często jest używany w kosmetykach, tkaninach i tworzywach sztucznych jako bloker promieniowania ultrafioletowego. Szczególnie wysoką skuteczność wykazuje w tej dziedzinie TiO₂ w formie nanocząstek. Obecnie nanocząstki TiO₂ są szeroko stosowane z uwagi na ich dużą stabilność oraz właściwości antykorozyjne i fotokatalityczne (24). Mogą być używane w fotokatalizie półprzewodnikowej w oczyszczalniach ścieków, a także jako materiał fotoaktywny w nanokrystalicznych ogniwach słonecznych (25,26).

Nanomateriał TiO₂ wykorzystuje się do produkcji powłok o właściwościach samoczyszczących i antymglowych (pokrycia tynków, szyby, lusterka samochodowe, tkaniny) (27). W medycynie nanocząstki TiO₂ można stosować w obrazowaniu i terapeutycznie jako potencjalny fotouczulacz w terapii fotodynamicznej (photodynamic therapy – PDT) (26). W przypadku kosme-

tologii natomiast trwają badania nad tą substancją jako środkiem na trądzik, atopowe zapalenie skóry i inne dermatologiczne schorzenia (28). O popularności nanocząstek ditlenku tytanu może decydować również fakt, że wykazują one także właściwości przeciwbakteryjne w świetle UV (27,29).

Narażenie zawodowe

Na ditlenek tytanu drogą inhalacyjną oraz przez kontakt ze skórą narażeni są pracownicy w wielu gałęziach przemysłu, głównie przy produkcji tego związku i formułacji produktów na jego bazie. Szczególną uwagę należy zwrócić na coraz szersze zastosowanie formy nanomateriałowej jako skutecznego absorbera promieniowania UV – i to nie tylko w preparatach kosmetycznych, ale również w wyrobach włókienniczych – a także jako składnik nanokompozytów na bazie polimerów organicznych, z których podczas degradacji pod wpływem promieni UV może się uwalniać TiO₂ (30). Wielkość narażenia na ditlenek tytanu na stanowiskach pracy mierzona w 2 zakładach produkujących nano-TiO₂ w Korei (Seul) mieściła się w granicach 0,1–4,99 mg/m³ (stężenie grawimetryczne). Stężenie ilościowe cząstek i aglomeratów z zakresu 15–710 nm w czasie trwania reakcji wynosiło ok. 11 400–46 000 cząstek/cm³, a po zakończeniu reakcji wartość ta obniżała się do 14 000 cząstek/cm³ (31).

Brak jest danych dotyczących skutków zdrowotnych u osób pracujących w narażeniu na kontakt z nanocząstkami ditlenku tytanu, jednak negatywne następstwa narażenia przewlekłego obserwowano wśród pracowników ekspozowanych inhalacyjnie na aerozol TiO₂ (bez uwzględnienia wielkości cząstek), m.in. u malarzy natryskujących farby, pracowników zakładów papierniczych lub produkujących ditlenek tytanu. Objawy mogą obejmować zmiany w płucach, takie jak proteinoza pęcherzyków płucnych, zmiany zapalne, zwłóknienia, a nawet pylice i nowotwory. Jednak z uwagi na często łączne narażenie trudno stwierdzić, jaki udział w pojawieniu się powyższych zmian miał ditlenek tytanu (32–35).

Mechanizm działania toksycznego

W zależności od wielkości średnicy aerodynamicznej cząstek i ich aglomeratów narażenie drogą inhalacyjną może powodować powstawanie depozytów w układzie oddechowym. Do najczęstszych efektów zdrowotnych narażenia na ditlenek tytanu należy zapalenie płuc, które u gryzoni prowadzi do zmian genotoksycznych, proliferacji komórek oraz powstawania nowotworów. Najwięcej negatywnych skutków działania TiO₂

obserwowano jedynie u szczurów jako gatunku najbardziej wrażliwego na działanie związku. U myszy i chomików działanie ditlenku tytanu było słabsze. Wobec tak wyraźnych różnic międzygatunkowych obserwacje na zwierzętach, zwłaszcza dotyczące rakotwórczego działania ditlenku tytanu, należy traktować z dużą ostrożnością, zwłaszcza że działania rakotwórczego u ludzi nie potwierdzają badania epidemiologiczne.

Nowotwory indukowane ditlenkiem tytanu nie wydają się efektem właściwości samej substancji, lecz wtórnym efektem – następstwem przewlekłego stanu zapalnego płuc wywołanego retencją cząstek. Duża powierzchnia cząstek wpływa znacząco na mechanizm oczyszczania płuc. Im mniejsze cząstki i większa ich powierzchnia, tym wolniejszy klirens. Można domniemywać, że w przypadku nanocząstek ditlenku tytanu będzie zachodził mechanizm zaproponowany przez Pauluhna (36) dla cząstek słabo rozpuszczalnych: zakłada się, że początkowo powierzchnia cząstek wchodzi w interakcje z surfaktantem w rejonie pęcherzykowym. Oddziaływanie wolnych cząstek może powodować obniżenie ilości surfaktantu oraz ostre zmiany zapalne.

W warunkach narażenia przewlekłego fagocytoza cząstek przez makrofagi pęcherzykowe jest kluczowym czynnikiem determinującym odpowiedź organizmu na narażenie na nanocząstki. Wyższe dawki cząstek prowadzą do adaptacyjnego wzrostu puli fagocytów. Ogólna pula makrofagów pęcherzykowych stanowi objętość dystrybucji cząstek (volume of distribution – Vd). Publikacje porównawcze potwierdzają hipotezę, że częściowe wykorzystanie objętości Vd do 6% jest równoważne homeostatycznej pojemności pobierania cząstek (1 ml cząstek/g płuca) (37). Tak długo, jak ta skumulowana dawka płucna nie będzie przekroczona, nie obserwuje się żadnych negatywnych skutków w płucach w odpowiedzi na działanie cząstek, zatem to stężenie graniczne chroni przed stanem zapalnym indukowanym przez endogenne procesy adaptacyjne. Przekroczenie tego progu może spowodować zapalenie, proliferację, stres oksydacyjny, niekompletną fagocytozę cząstek oraz opóźnienie lub zahamowanie klirensu cząstek. U szczurów, u których osiągnięto skumulowaną dawkę graniczną, następuje zjawisko przeładowania płuc (36). Makrofagi pęcherzykowe w odpowiedzi na przeładowanie cząstkami generują utleniacze (reaktywne formy tlenu), które reagując z materiałem genetycznym, mogą być czynnikiem kancerogennym. Wtórna genotoksyczność, niespecyficzna chemicznie, jest również widoczna w przypadku innych trudno rozpuszczalnych pyłów o niskiej toksyczności.

Biorąc pod uwagę powyższy mechanizm działania cząstek słabo rozpuszczalnych, można przypuszczać, że inhalacyjne narażenie na nanocząstki ditlenku tytanu na poziomie niewywołującym stanu zapalnego nie powinno stwarzać ryzyka powstania nowotworu.

Zależność efektu toksycznego od wielkości ekspozycji oraz wielkości cząstek

Przeprowadzono badanie mające na celu sprawdzenie wpływu wielkości cząstek i aglomeratów TiO_2 na działanie toksyczne. Stwierdzono, że wielkości te wpływają na reakcje zapalne płuc, efekty cytotoksyczne oraz zmiany powstałe na skutek stresu oksydacyjnego. Nanocząstki zadeklarowanych wielkości ~5 nm, 10–30 nm lub ~50 nm (zmierzona mediana średnicy odpowiednio 10,6 nm, 18,5 nm lub 34,8 nm) podawano szczurom inhalacyjnie jako małe (small aggregates – SA) (< 100 nm) bądź duże aglomeraty (large aggregates – LA) (> 100 nm). Porównując efekty narażenia na aerozol dużych (LA) i małych aglomeratów (SA) – LA wywołuje ostrą odpowiedź zapalną, objawiającą się znaczącym (w porównaniu z grupą kontrolną) wzrostem liczby neutrofilów w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (broncho-alveolar lavage fluid – BALF), podczas gdy aerozol SA indukował znaczące zmiany oksydacyjne oraz cytotoksyczne.

Jeśli wziąć pod uwagę z kolei średnicę pojedynczych cząstek, otrzymane wyniki wskazują, że w porównaniu z kontrolą małe aglomeraty cząstek 5 nm wywołują znaczący wzrost cytotoksyczności (wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej (lactate dehydrogenase – LDH)), podczas gdy uszkodzenie oksydacyjne, mierzone wielkością stężenia 8-izoprostanu, było mniejsze w porównaniu z cząstkami 10–30 nm i 50 nm. Zarówno aerozole SA, jak i LA nanocząstek TiO_2 z zakresu 10–30 nm indukują większe efekty prozapalne w porównaniu z kontrolą. Autorzy sugerują, że najdrobniejsze cząstki (5 nm) penetrują łatwiej do komórek, stąd większa cytotoksyczność, natomiast cząstki z zakresu 10–30 nm mają największą zdolność depozycji w rejonie pęcherzyków płucnych, co indukuje procesy zapalne (38).

Zależność efektu toksycznego od wielkości ekspozycji jest trudna do oceny, biorąc pod uwagę różną strukturę bądź rodzaje wielkości cząstek, jednakże zależność taką przedstawiono w pracy Bermudeza (6), który przeprowadził 13-tygodniowe badania porównawcze nad toksycznością TiO_2 na 3 gatunkach zwierząt: szczurach CDF (F344)/Cr1BR, chomikach LVG (SYR) BR i myszach B3C3F1/Cr1BR. Zwierzęta przez 6 godz. dziennie, 5 dni

w tygodniu, przez 13 tygodni poddawano działaniu nanocząstek TiO₂ (80% anataz, 20% rutil) o wielkości 21 nm, w stężeniu: 0,5 mg/m³; 2,0 mg/m³ lub 10 mg/m³.

Zależnie od wielkości stężenia u wszystkich narażanych gatunków zwierząt zaobserwowano depozyty cząstek w płucach i lokalnych węzłach chłonnych, najmniej u chomików, jednak złogi cząstek zanikały w okresie poekspozycyjnym. U myszy i szczurów, na które oddziaływało najwyższe stężenie nanocząstek TiO₂ (10 mg/m³), zaobserwowano natomiast zwiększenie liczby makrofagów, neutrofilii i limfocytów oraz wzrost aktywności LDH i stężenia białka całkowitego w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych, co wskazuje na stan zapalny w płucach. Zmiany te były statystycznie istotne w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,05$). W tych grupach zwierząt wydłużył się również czas retencji. U szczurów wystąpiły ponadto zmiany proliferacyjne i zwłóknieniowe w płucach oraz kumulacja cząstek w tkance śródmiąższowej płuc.

Należy podkreślić, że gatunkiem najmniej wrażliwym na działanie nanocząstek ditlenku tytanu był chomik – obserwowano u niego tylko niektóre ww. objawy narażenia, ale po czasie rekonwalescencji także i one ustępowały. Najbardziej wrażliwym gatunkiem zwierząt był szczur, u którego jako jedynego wystąpiły zmiany proliferacyjne i zwłóknieniowe w płucach. Biorąc pod uwagę mechanizm działania TiO₂, jako efekt krytyczny można przyjąć stan zapalny prowadzący do innych zmian (zwłóknieniowych i proliferacyjnych) w płucach. Najwyższy poziom bez obserwowanego działania toksycznego (no-observed-adverse-effect level – NOAEL) dla tego efektu stanowi stężenie 2 mg/m³.

Wartości normatywów higienicznych dla frakcji wdychalnej i respirabilnej ditlenku tytanu

Obowiązujące bądź zalecane wartości normatywów higienicznych na świecie dla ditlenku tytanu przedstawiono w tabeli 1. (21,39–43). W Polsce dla tego związku obowiązują następujące normatywy higieniczne:

- pyły ditlenku tytanu zawierające wolną krystaliczną krzemionkę poniżej 2% i niezawierające azbestu [13463-67-7] – frakcja wdychalna – NDS: 10 mg/m³,
- tytan [7440-32-6] i jego związki – w przeliczeniu na Ti – NDS: 10 mg/m³; NDSCh (najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe): 30 mg/m³.

Najwyższą wartość dopuszczalną dla ditlenku tytanu – 15 mg/m³ – zaproponowali eksperci Administracji Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (Occupational Safety and Health Administration – OSHA). W większości

Tabela 1. Normatywy higieniczne dla ditlenku tytanu w środowisku pracy (21,39–43)

Table 1. Occupational hygiene standards for titanium dioxide (21,39–43)

Państwo Country	NDS [mg/m ³]	TWA [mg/m ³]	Oznaczenie Symbol
Australia / Australia	10 (a)		
Austria / Austria	6		
Czechy / Czech Republic	10		
Dania / Denmark	6 (b)		
Finlandia / Finland	10		
Francja / France	10		
Grecja / Greece	10		
Hiszpania / Spain	10		
Holandia / The Netherlands	10 (a)	5 (c)	
Irlandia / Ireland	10 (a)	4 (c)	
Niemcy / Germany	– (a)		3A
Norwegia / Norway	5		
Polska / Poland	10 (a,d)		
Portugalia / Portugal	10		
Szwajcaria / Switzerland	3		
Szwecja / Sweden	5 (e)		
Wielka Brytania / United Kingdom	10 (a)	4 (c)	
Włochy / Italy	10		
Unia Europejska / European Union	–		
Stany Zjednoczone / United States			
ACGIH	10		A4
OSHA	15 (e)		
NIOSH	2,4 (f)	0,3 (g)	Ca

NDS – najwyższe dopuszczalne stężenie / maximum admissible concentration, TWA – średnia ważona czasem / time-weighted average.

a – frakcja wdychalna / inhalable fraction, b – jako Ti / as Ti, c – frakcja respirabilna / respirable fraction, d – frakcja niezawierająca azbestu i zawierająca < 2% krzemionki krystalicznej / fraction containing no asbestos and containing < 2% of crystalline silica, e – pył całkowity / total dust, f – dla cząstek drobnych / for fine fraction, g – dla cząstek ultradrobnych zawierających nanocząstki projektowane / for ultrafine fraction including engineered nanoscale.

3A – kancerogen kategorii 3, podejrzewa się, że substancja może działać rakotwórczo / carcinogen of category 3, substance suspected to be carcinogenic, A4 – substancja nieklasyfikowana jako rakotwórcza dla ludzi / substance not classifiable as to its carcinogenicity to humans, Ca – potencjalny kancerogen zawodowy / potential occupational carcinogen.

– nie ustalono wartości normatywu higienicznego / no hygienic standard value.

krajów europejskich obowiązuje stężenie 10 mg/m³ jako wartość dopuszczalna dla frakcji wdychalnej pyłu. Podobnie zaproponowali eksperci Amerykańskiego Stowarzyszenia Higienistów Przemysłowych (American Conference of Governmental Industrial

Hygienists – ACGIH). Niektóre państwa przyjęły dodatkowo normatyw dla frakcji respirabilnej w zakresie 4–5 mg/m³. Odmienne podejście ma Niemiecka Wspólnota Badawcza (Deutsche Forschungsgemeinschaft – DFG), która oznakowała ditlenek tytanu jako kancerogen kategorii 3A (podejrzewa się, że substancja może działać rakotwórczo) bez ustanawiania wartości MAK. Ze względu na możliwe działanie rakotwórcze ditlenku tytanu Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer – IARC) zaliczyła TiO₂ do grupy 2B, czyli substancji przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi. W Narodowym Instytucie Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (National Institute for Occupational Safety and Health – NIOSH) oznakowano TiO₂ symbolem Ca jako potencjalny kancerogen zawodowy. Natomiast ACGIH zaliczyła ditlenek tytanu do grupy A4 – substancji nieklasyfikowanych jako rakotwórcze dla ludzi.

Co ciekawe, w 2013 r. ACGIH umieściła ditlenek tytanu w „Zawiadomieniu o planowanych zmianach” (Notice of Intended Change – NIC) – dla frakcji respirabilnej ditlenku tytanu zaproponowano progową wartość graniczną – średnią ważoną czasem (threshold limit value – time weighted average – TLV-TWA) na poziomie 1 mg/m³ i oznaczono symbolem A3 jako substancję o potwierdzonym działaniu rakotwórczym na zwierzęta i nieznanym działaniu na człowieka. W 2014 r. jednak zrezygnowano z tej propozycji i wycofano ditlenek tytanu z listy NIC, a umieszczono go na liście „Under Study” – substancji, które będą ponownie rozpatrywane (44).

Wartości normatywów higienicznych dla frakcji nanocząstek ditlenku tytanu

Dopuszczalne poziomy narażenia dla nanocząstek ditlenku tytanu zaproponowane przez światowe grupy ekspertów przedstawiono w tabeli 2.

Potencjalne działanie rakotwórcze TiO₂ (szczególnie frakcji cząstek ultradrobnych) wzięli pod uwagę eksperci NIOSH, rekomendując 2 wartości stężeń dla ditlenku tytanu w zależności od wielkości cząstek: 2,4 mg/m³ (dla cząstek drobnych (fine)) oraz 0,3 mg/m³ (dla cząstek ultradrobnych (ultrafine)) (42). Drobne i ultradrobne cząstki ditlenku tytanu, jak również inne słabo rozpuszczalne cząstki o niskiej toksyczności, wykazują niekorzystne działanie na płuca u szczurów, prowadzą m.in. do przewlekłego zapalenia płuc i nowotworów, zależnie od dawki wyrażonej w postaci pola powierzchni cząstek. Zatem rozróżnienie wartości rekomendowanych poziomów dopuszczalnych wyrażonych w jednostkach masowych

Tabela 2. Proponowane dopuszczalne poziomy narażenia w środowisku pracy dla nanocząstek TiO₂ (42,51,53,54)
Table 2. Proposed occupational exposure limits for TiO₂ nanoparticles (42,51,53,54)

Grupa ekspertów Experts group	Rodzaj normatywu Kind of norm	Wartość normatywu Value of norm
NIOSH	REL	0,3 mg/m ³
NEDO	OEL(PL)	0,6 mg/m ³
RIVM	NRV	40 000 cząstek/cm ³
AGS	OEL	< 0,5 mg/m ³

NIOSH – jak w tabeli 1 / as in Table 1, NEDO – Organizacja Rozwoju Nowych Energii i Technologii Przemysłowych w Japonii / New Energy and Industrial Technology Development Organization in Japan, RIVM – Krajowy Instytut Zdrowia Publicznego i Środowiska w Holandii / National Institute for Public Health and the Environment in the Netherlands, AGS – Komisja ds. Substancji Niebezpiecznych w Niemczech / Committee on Hazardous Substances in Germany.

REL – rekomendowany poziom dopuszczalny / recommended exposure level, OEL(PL) – dopuszczalny poziom narażenia zawodowego ograniczony czasowo / occupational exposure limit (period limited), NRV – poziom referencyjny dla nanomateriałów / nano reference values, OEL – dopuszczalny poziom narażenia w środowisku pracy / occupational exposure limit.

jest związane z tym, iż ultradrobne cząstki mają większą powierzchnię niż cząstki drobne.

Ekspersi NIOSH przeprowadzili wnikliwą analizę dostępnych badań na temat skutków narażenia na TiO₂ dla układu oddechowego. Wyniki 2-letniego badania inhalacyjnego na szczurach wykazały istotny statystycznie wzrost przypadków nowotworów płuca (gruczolakoraki) u zwierząt narażanych na frakcję ultrafine (> 100 nm) TiO₂ w stężeniu 10 mg/m³ (7).

W badaniach epidemiologicznych nie stwierdzono zależności między narażeniem na ditlenek tytanu (ani dla frakcji wdychalnej, ani dla frakcji respirabilnej) a występowaniem nowotworów płuc u narażonych pracowników (45–50). Zdaniem ekspertów NIOSH ditlenek tytanu nie jest bezpośrednim kancerogenem, ale działa poprzez wtórny mechanizm genotoksyczny, związany z wielkością cząstek i ich polem powierzchni. Na podstawie badań eksperymentalnych oraz ilościowej oceny ryzyka uznano, iż jedynie nanocząstki TiO₂ (frakcja ultrafine) działają rakotwórczo. Rekomendowane wartości poziomów narażenia w środowisku pracy mają utrzymać dodatkowe ryzyko nowotworu płuc poniżej wartości 1/1000. Zatem dodatkowe ryzyko wystąpienia nowotworu płuc u ludzi narażonych przez 45 lat na kontakt z nanocząstkami TiO₂ w stężeniu 0,3 mg/m³ wynosi 0,001. Warto podkreślić, iż oszacowana krytyczna dawka cząstek TiO₂ w płucach człowieka wyrażona polem powierzchni cząstek wynosi 93,5 m² na płuco dla obu badanych frakcji (cząstek drobnych i nanocząstek).

Organizacja Rozwoju Nowych Energii i Technologii Przemysłowych w Japonii (New Energy and Industrial Technology Development Organization – NEDO) przeprowadziła ocenę ryzyka wytwarzanych nanomateriałów m.in. ditlenku tytanu (51). W projekcie prowadzonym przez ekspertów pod kierunkiem Junko Nakanishiego oszacowano normatyw dla nanocząstek TiO₂. Jako podstawę szacowania przyjęto 13-tygodniowe badanie inhalacyjne na szczurach poddawanych działaniu cząstek TiO₂ (śr.: 21 nm; specyficzne pole powierzchni: 73 m²/g) w stężeniu: 0,5 mg/m³; 2 mg/m³ lub 10 mg/m³ (6). Jako efekt krytyczny uznano zmiany zapalne w płucach, które wystąpiły u zwierząt poddanych działaniu najwyższego stężenia związku. Jako NOAEL uznano stężenie 2 mg/m³.

Ekstrapolację wartości NOAEL_R dla zwierząt na wartość NOAEL_H dla człowieka wykonano według wzoru:

$$NOAEL_H = NOAEL_R \times \frac{(RMV_R \times T_R \times DF_R) / BW_R}{(RMV_H \times T_H \times DF_H) / BW_H} \quad [1]$$

gdzie:

RMV – objętość oddechowa na minutę [m³/min],

T – czas całodennej ekspozycji [min/dz.],

DF – frakcja depozytowa (z zastosowaniem modelowania

MPPD – multiple-path particle dosimetry),

BW – masa ciała [kg].

$$NOAEL_H = 1,82 \text{ mg/m}^3 \quad [2]$$

Współczynnik uwzględniający zróżnicowanie międzygatunkowe = 3:

$$OEL (PL) = 1,82 \text{ mg/m}^3 / 3 = 0,6 \text{ mg/m}^3 \quad [3]$$

gdzie:

OEL – occupational exposure limit – dopuszczalny poziom narażenia zawodowego,

PL – period limited – poziom ograniczony czasowo do 15 lat.

Propozycję OEL organizacji NEDO oznaczono symbolem PL, co oznacza, że wartość ta jest ograniczona do 15 lat przy założeniu, że w ciągu 10 lat ukażą się nowe dane dotyczące toksyczności nanocząstek ditlenku tytanu, jak również bardziej odpowiednie metody pomiarowe lub sposoby wyznaczania dawek.

Krajowy Instytut Zdrowia Publicznego i Środowiska w Holandii (National Institute for Public Health and the Environment – RIVM) opracował wartości referencyjne

dla nanomateriałów (nano reference values – NRV) w celu zapewnienia tymczasowych wartości granicznych w sytuacjach, gdy nie są dostępne odpowiednie wartości normatywów higienicznych OEL ani DNEL (pochodnych poziomów niepowodujących zmian – derived no-effect levels). Wartości referencyjne dla nanomateriałów (NRV) są wyrażone jako wartości odpowiadające średniej ważonej stężenia dla 8-godzinnego czasu pracy oraz jako wartości chwilowe odpowiadające średniej ważonej stężenia dla 15-minutowego czasu pracy. Poziom ostrzegawczy określają NRV: gdy są przekroczone wartości referencyjne, należy zastosować wszystkie technicznie możliwe środki kontroli ryzyka, zmierzające do zmniejszenia narażenia (52). Poszczególne klasy zagrożenia zostały scharakteryzowane w następujący sposób (53):

1. Sztwyne nanowłókna, trwałe w środowisku, dla których nie można wykluczyć wystąpienia efektów podobnych do działania azbestu, np. SWCNT (jednościenne nanorurki węglowe), MWCNT (wielościennie nanorurki węglowe) lub włókna tlenków metali, o możliwym działaniu podobnym do działania azbestu.
- 2a. Ziarnisty nanomateriał (niewłóknisty), trwały w środowisku, o gęstości > 6000 kg/m³, np. cząstki Ag, Au, CeO₂, COO, Fe, Fe_xO_y, La, Pb, Sb₂O₅ lub SnO₂.
- 2b. Ziarniste nanomateriały i nanowłókna, trwały w środowisku, o gęstości < 6000 kg/m³, dla których efekty działania podobne do azbestu mogą być wykluczone, np. cząstki Al₂O₃, SiO₂, TiO₂, ZnO, CaCO₃, sadza, C₆₀, dendrymery, polistyren lub nanowłókna.
3. Ziarnisty nanomateriał, nietrwały w środowisku lub rozpuszczalny w wodzie (rozpuszczalność > 100 mg/l), np. NaCl, cząstki lipidów, mąki, sacharozy.

Propozycje wartości referencyjnych NRV dla poszczególnych klas zagrożenia:

1. 0,01 włókien/cm³.
- 2a. 20 000 cząstek/cm³.
- 2b. 40 000 cząstek/cm³.
3. Obowiązujące wartości OEL dla innych frakcji substancji (nienanocząstek).

Nanocząstki ditlenku tytanu jako nanomateriał ziarnisty lub nanowłókna, trwały w środowisku, o gęstości < 6000 kg/m³ spełniają kryteria klasy 2b zagrożenia, dla którego zaproponowano wartość referencyjną: 40 000 cząstek/cm³.

Można rozważyć wprowadzenie wartości odniesienia zaproponowanych przez RIVM. Należy jednak zauważyć, że wartości te są podane w jednostkach liczbowych cząstek, co wymaga opracowania i zatwierdzenia odpowiednich metod pomiarowych.

Komisja ds. Substancji Niebezpiecznych w Niemczech (Ausschuss für Gefahrstoffe – AGS) oszacowała ryzyko zdrowotne ekspozycji na nanomateriały na podstawie właściwości toksykologicznych, formy, struktury, a także dostępności biologicznej (54). Nanomateriały podzielono na 4 klasy:

1. Nanomateriały rozpuszczalne (np. krzemionka bezpostaciowa).
2. Nanomateriały o słabej dostępności biologicznej o specyficznych właściwościach toksykologicznych (same nanomateriały bądź ich formy w skali mikro działają szkodliwie, np. Au, Ag, ZnO).
3. Nanomateriały o słabej dostępności biologicznej bez specyficznych właściwości toksykologicznych (nie wykazują specyficznego dla substancji szkodliwego działania, określane dawniej jako substancje obojętne, np. sadza techniczna, TiO_2 , Al_2O_3).
4. Włókniste nanomateriały o słabej dostępności biologicznej (nanowłókna bądź nanorurki, np. nanorurki węglowe).

Ditlenek tytanu zgodnie z powyższą klasyfikacją znajduje się w kategorii „nanomateriały o słabej dostępności biologicznej bez specyficznych właściwości toksykologicznych”, dla której ustalono kryterium przy szacowaniu dopuszczalnych poziomów w środowisku pracy: wartość OEL nie powinna przekroczyć $0,5 \text{ mg/m}^3$ (przy gęstości $2,5 \text{ g/cm}^3$).

Propozycja oszacowania wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla frakcji nanoobjektów

W Polsce nie ma ustanowionych normatywnych higienicznych dla substancji w formie nanoobjektów (nanocząstek, nanowłókien). Obecnie najwyższe dopuszczalne stężenia ustala się dla następujących frakcji aerozoli (43):

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

Nie wyodrębniono frakcji obejmującej jedynie cząstki z zakresu 1–100 nm. Do frakcji respirabilnej zalicza się cząstki, których mediana średnicy aerody-

namicznej wynosi $4 \mu\text{m}$ (55). Zatem frakcja ta obejmuje nanocząstki, jak również cząstki drobne (39), które jak w przypadku ditlenku tytanu różnią się istotnie działaniem biologicznym.

Biorąc pod uwagę zalecaną przez Komisję Europejską definicję nanomateriału oraz specyfikację techniczną (ISO/TS 27687:2008), w celu ustalenia wartości normatywów higienicznych można przyjęc następującą definicję frakcji nanoobjektów obejmujących zarówno nanocząstki, jak i inne obiekty występujące w nanoskali (nanowłókna, nanorurki, nanopłytki) (23) – frakcja substancji zawierająca cząstki w stanie swobodnym lub w formie agregatu bądź aglomeratu, w którym co najmniej 50% lub więcej cząstek w liczbowym rozkładzie wielkości cząstek ma 1 lub więcej wymiarów w zakresie 1–100 nm, bądź frakcja, której powierzchnia właściwa przypadająca na objętość jest większa niż $60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$.

Najwyższe dopuszczalne stężenie dla frakcji nanoobjektów TiO_2 wyliczono na podstawie wyników 13-tygodniowego eksperymentu na gryzoniach (szczurach, myszach, chomikach), przeprowadzonego przez grupę badaczy pod kierunkiem Bermudeza (6). Jako efekt krytyczny przyjęto stan zapalny płuc u szczurów (gatunku najbardziej wrażliwego na działanie nanocząstek ditlenku tytanu) – NOAEL: 2 mg/m^3 .

Najwyższe dopuszczalne stężenie dla nanocząstek obliczono zgodnie ze wzorem:

$$NDS = \frac{NOAEL}{A \times B \times C \times D \times E} =$$

$$= \frac{2 \text{ mg/m}^3}{2 \times 1 \times 2 \times 1 \times 2} = 0,25 \approx 0,3 \text{ mg/m}^3 \quad [4]$$

gdzie:

A–E – współczynniki niepewności:

A = 2 – związany z wrażliwością osobniczą człowieka,

B = 1 – związany z różnicami międzygatunkowymi (szczur jest bardzo wrażliwy na działanie nanocząstek substancji drogą inhalacyjną),

C = 2 – przejście z badań krótkoterminowych do przewlekłych,

D = 1 – w przypadku zastosowania NOAEL,

E = 2 – współczynnik modyfikacyjny (ze względu na potencjalne działanie rakotwórcze).

WNIOSKI

Biorąc pod uwagę powyższe założenia, można zaproponować NDS dla nanocząstek ditlenku tytanu w wysokości $0,3 \text{ mg/m}^3$. Nie jest to jednak oficjalna propozycja normatywów higienicznych, a jedynie punkt wyjścia

dalszej dyskusji na temat problematyki szacowania ryzyka dla nanomateriałów. Należy podkreślić, iż zaproponowane NDS dla nanocząstek TiO₂ uwzględnia zasady ustalania NDS obowiązujące obecnie w Polsce.

Aby określić NDS dla substancji chemicznych, ustala się graniczne poziomy narażenia – NOAEL lub LOAEL (lowest-observed-adverse-effect level – najniższy poziom działania toksycznego) – na podstawie badań na zwierzętach doświadczalnych, jeśli wyniki badań epidemiologicznych bądź obserwacji lekarskich grup osób narażanych na czynniki chemiczne nie są dostępne. Aby wyliczyć wartości normatywów, bierze się także pod uwagę współczynniki niepewności uwzględniające: różnice wrażliwości osobniczej człowieka, różnice międzygatunkowe oraz różnice wynikające z drogi podania, związane z przejściem z badań krótkoterminowych do badań przewlekłych i ze stosowaniem wartości LOAEL zamiast wartości NOAEL, a także współczynnik modyfikacyjny, dotyczący oceny przez eksperta kompletności danych i potencjalnych skutków odległych.

Do tej pory nie było konieczności wyznaczania wartości poziomów dopuszczalnych dla substancji występujących w postaci nanocząstek, nanowłókien lub nanopłytek, zatem nie opracowano szczegółowych zasad szacowania wartości normatywów dla tych materiałów. Większe cząstki ditlenku tytanu nie są uznawane za niebezpieczne dla zdrowia człowieka, ale u zwierząt nano-TiO₂ wywołały stan zapalny, mogący prowadzić do zmian zwłóknieniowych i proliferacyjnych w płucach. Wykazano również, że nanoditlenek tytanu działał genotoksycznie na komórki ssaków i ludzi.

Nie można także pominąć badań potwierdzających negatywny wpływ nanocząstek TiO₂ na rozwój płodu oraz na funkcje układu rozrodczego u zwierząt. Niezwykle mało jest w literaturze opisów obserwacji działania nanocząstek TiO₂ na ludzi, jednak nie można wykluczyć ich szkodliwego działania na pracowników. Wobec rozpowszechniania się nanotechnologii i wzrastającej liczby osób pracujących z nanomateriałami konieczne jest podejmowanie działań zmierzających do zwiększenia kontroli ryzyka związanego z narażeniem na działanie nanoobjektów. Obecnie obowiązujące normatywy dla frakcji wdychalnej ditlenku tytanu nie chronią w pełni pracowników przed szkodliwym działaniem nanocząstek TiO₂.

PIŚMIENNICTWO

1. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 127/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. DzUrz UE L 353 z 31 grudnia 2008 r., s. 1
2. Cho W.S., Kang B.C., Lee J.K., Jeong J., Che J.H., Seok S.H.: Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxidenanoparticles after repeated oral administration. *Part. Fibre Toxicol.* 2013;10:9, <http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-10-9>
3. Li Y., Li J., Yin J., Li W., Kang C., Huang Q. i wsp.: Systematic influence induced by 3 nm titanium dioxide following intratracheal instillation of mice. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2010;10(12):8544–8549, <http://dx.doi.org/10.1166/jnn.2010.2690>
4. Wang J., Zhou G., Chen C., Yu H., Wang T., Ma Y. i wsp.: Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol. Lett.* 2007;168(2):176–185, <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.12.001>
5. Gao G., Ze Y., Zhao X., Sang X., Zheng L., Ze X. i wsp.: Titanium dioxide nanoparticle-induced testicular damage, spermatogenesis suppression, and gene expression alterations in male mice. *J. Hazard Mater.* 2013;258–259: 133–143, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.04.046>
6. Bermudez E., Mangum J.B., Wong B.A., Asgharian B., Hext P.M., Warheit D.B. i wsp.: Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol. Sci.* 2004; 77(2):347–357, <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfh019>
7. Heinrich U., Fuhst R., Rittinghausen S., Creutzenberg O., Bellmann B., Koch W. i wsp.: Chronic inhalation exposure of Wistar rats and two different strains of mice to diesel-engine exhaust, carbon black, and titanium dioxide. *Inhal. Toxicol.* 1995;7(4):533–556, <http://dx.doi.org/10.3109/08958379509015211>
8. Sun J., Zhang Q., Wang Z., Yan B.: Effects of nanotoxicity on female reproductivity and fetal development in animal models. *Int. J. Mol. Sci.* 2013;14:9319–9337, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms14059319>
9. Yamashita K., Yoshioka Y., Higashisaka K., Mimura K., Morishita Y., Nozaki M. i wsp.: Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nature Nanotechnol.* 2011;6(5):321–328, <http://dx.doi.org/10.1038/nnano.2011.41>
10. Shimizu M., Tainaka H., Oba T., Mizuo K., Umezawa M., Takeda K.: Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. *Part. Fiber Toxicol.* 2009;6:20, <http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-6-20>

1. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 127/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasy-

11. Takahashi Y., Shinkai Y., Mizuo K., Oshio S., Takeda K.: Prenatal exposure to titanium dioxide nanoparticles increases dopamine levels in the prefrontal cortex and neostriatum of mice. *J. Toxicol. Sci.* 2010;35(5):749–756, <http://dx.doi.org/10.2131/jts.35.749>
12. Umezawa M., Tainaka H., Kawashima N., Shimizu M., Takeda K.: Effect of fetal exposure to titanium dioxide nanoparticle on brain development – Brain region information. *J. Toxicol. Sci.* 2012;37(6):1247–1252, <http://dx.doi.org/10.2131/jts.37.1247>
13. Jackson P., Halappanavar S., Hougaard K.S., Williams A., Madsen A.M., Lamson J.S. i wsp.: Maternal inhalation of surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan) in C57BL/6 mice: Effects in prenatally exposed offspring on hepatic DNA damage and gene expression. *Nanotoxicology* 2013;7(1):85–96, <http://dx.doi.org/10.3109/17435390.2011.633715>
14. Hougaard K.S., Jackson P., Jensen K.A., Sloth J.J., Löschner K., Larsen E.H. i wsp.: Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice. Part. *Fibre Toxicol.* 2010;7:16, <http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-7-16>
15. Takeda K., Suzuki K.I., Ishihara A., Kubo-Irie M., Fujimoto R., Tabata M. i wsp.: Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems. *J. Health Sci.* 2009;55(1):95–102, <http://dx.doi.org/10.1248/jhs.55.95>
16. Boisen A.M., Shipley T., Jackson P., Hougaard K.S., Wallin H., Yauk C.L. i wsp.: NanoTiO₂ (UV-Titan) does not induce ESTR mutations in the germline of prenatally exposed female mice. Part. *Fibre Toxicol.* 2012;9:19, <http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-9-19>
17. Gao G., Ze Y., Li B., Zhao X., Zhang T., Sheng L. i wsp.: Ovarian dysfunction and gene-expressed characteristics of female mice caused by long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles. *J. Hazard. Mater.* 2012;243:19–27, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.049>
18. Hamzeh M., Sunahara G.I.: *In vitro* cytotoxicity and genotoxicity studies of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in Chinese hamster lung fibroblast cells. *Toxicol. Vitro* 2013;27(2):864–873, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2012.12.018>
19. Saquib Q., Al-Khedhairi A.A., Siddiqui M.A., Abou-Tarboush F.M., Azam A., Musarrat J.: Titanium dioxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in human amnion epithelial (WISH) cells. *Toxicol. Vitro* 2012;26(2):351–361, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2011.12.011>
20. Kang S.J., Lee Y.J., Kim B.M., Choi Y.J., Chung H.W.: Cytotoxicity and genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in UVA-irradiated normal peripheral blood lymphocytes. *Drug Chem. Toxicol.* 2011;34(3):277–284, <http://dx.doi.org/10.3109/01480545.2010.546800>
21. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. Carbon Black, Titanium Dioxide, and Talc. Lyon 2010;93:193–276
22. Zalecenie komisji z dnia 18 października 2011 r. dotyczące definicji nanomateriału. *DzUrz UE L* 275/38
23. Jankowska E.: Nanoobiekty w środowisku pracy. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2011;4(70):7–20
24. Rathod R.C., Umare S.S., Didolkar V.K., Shambharkar B.H., Patil A.P.: Production and characterization of PANI/TiO₂ nanocomposites: Anticorrosive application on 316LN SS. *Trans. Indian Inst. Metals* 2013;66(2):97–104, <http://dx.doi.org/10.1007/s12666-012-0231-9>
25. Ni M., Leung M.K.H., Leung D.Y.C., Sumathy K.: A review and recent developments in photocatalytic water-splitting using TiO₂ for hydrogen production. *Renew. Sust. Energy Rev.* 2007;11:401–425, <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2005.01.009>
26. Szaciłowski K., Macyk W., Drzewiecka-Matuszek A., Brindell M., Stochel G.: Bioinorganic photochemistry: Frontiers and mechanisms. *Chem. Rev.* 2005;105(6):2647–2694, <http://dx.doi.org/10.1021/cr030707e>
27. Montazer M., Seifollahzadeh S.: Enhanced self-cleaning, antibacterial and UV protection properties of nano TiO₂ treated textile through enzymatic pretreatment. *Photochem. Photobiol.* 2011;87(4):877–883, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00917.x>
28. Wiesenthal A., Hunter L., Wang S., Wickliffe J., Wilkerson M.: Nanoparticles: small and mighty. *Int. J. Dermatol.* 2011;50(3):247–254, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4632.2010.04815.x>
29. Shi H., Magaye R., Castranova V., Zhao J.: Titanium dioxide nanoparticles: A review of current toxicological data. Part. *Fibre Toxicol.* 2013;10:15, <http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-10-15>
30. Reijnders L.: The release of TiO₂ and SiO₂ nanoparticles from nanocomposites. *Polym. Degrad. Stab.* 2009;94(5):873–876, <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2009.02.005>
31. Lee J.H., Kwon M., Ji J.H., Kang C.S., Ahn K.H., Han J.H. i wsp.: Exposure assessment of workplaces manufacturing nanosized TiO₂ and silver. *Inhal. Toxicol.* 2011;23(4):226–236, <http://dx.doi.org/10.3109/08958378.2011.562567>
32. Moran C.A., Mullick F.G., Ishak K.G., Johnson F.B., Hummer W.B.: Identification of titanium in human tissues: Probable role in pathologic processes. *Hum. Pathol.* 1991;22(5):450–454, [http://dx.doi.org/10.1016/0046-8177\(91\)90130-H](http://dx.doi.org/10.1016/0046-8177(91)90130-H)

33. Keller C.A., Frost A., Cagle P.T., Abraham J.L.: Pulmonary alveolar proteinosis in a painter with elevated pulmonary concentrations of titanium. *Chest* 1995;108(1): 277–280, <http://dx.doi.org/10.1378/chest.108.1.277>
34. Yamadori I., Ohsumi S., Taguchi K.: Titanium dioxide deposition and adenocarcinoma of the lung. *Acta Pathol. Jpn.* 1986;36(5):783–790
35. Praveen Kumar A.S., Chandramohan R., Suri Subrahmanyam D.K., Dutta T.K.: Adenocarcinoma lung in a painter. *J. Cancer Res. Ther.* 2011;7(3):358–360, <http://dx.doi.org/10.4103/0973-1482.87012>
36. Pauluhn J.: Poorly soluble particulates: Searching for a unifying denominator of nanoparticles and fine particles for DNEL estimation. *Toxicology* 2011;279:176–188, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2010.10.009>
37. Morrow P.E.: Possible mechanism to explain dust overloading of the lungs. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1988;10: 369–384, [http://dx.doi.org/10.1016/0272-0590\(88\)90284-9](http://dx.doi.org/10.1016/0272-0590(88)90284-9)
38. Noël A., Charbonneau M., Cloutier Y., Tardif R., Truchon G.: Rat pulmonary responses to inhaled nano-TiO₂: Effect of primary particle size and agglomeration state. *Part. Fibre Toxicol.* 2013;10(1):48, <http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-10-48>
39. Criteria document for the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits (SCOEL), titanium dioxide. Doniesienie końcowe. European Commission Joint Research Centre, Institute for Health and Consumer Protection; wrzesień 2012 [cytowany 20 marca 2014]. Adres: <https://circabc.europa.eu/sd/a/754172f2-0df3-41ec-beb4-9ee952e67bd0/JRC%20Titanium%20dioxide%20CD%20Sept%202012.pdf>
40. Deutsche Forschungsgemeinschaft: List of MAK and BAT Values, 2013. Bonn: Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area; lipiec 2013 [cytowany 20 marca 2014], doniesienie nr 49, <http://dx.doi.org/10.1002/9783527675128.oth1>
41. American Conference of Governmental Industrial Hygienists Guide to Occupational Exposure Values. ACGIH, Cincinnati, Ohio 2013
42. Occupational exposure to titanium dioxide. Current Intelligence Bulletin 63. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, 2011 [cytowany 20 marca 2014]. Adres: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2011-160/pdfs/2011-160.pdf>
43. Rozporządzenie Ministra Pracy i Polityki Społecznej z dnia 6 czerwca 2014 roku w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU z 2014 r., poz. 817
44. 2014 TLVs and BEIs substances and agents listing. American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio 2014 [cytowany 20 marca 2014]. Adres: <http://www.acgih.org/resources/press/TLV2014list.htm>
45. Chen J.L., Fayerweather W.E.: Epidemiologic study of workers exposed to titanium dioxide. *J. Occup. Med.* 1988;30(12):937–942, <http://dx.doi.org/10.1097/00043764-198812000-00011>
46. Fryzek J.P., Chadda B., Marano D., White K., Schweitzer S., McLaughlin J.K. i wsp.: A cohort mortality study among titanium dioxide manufacturing workers in the United States. *J. Occ. Environ. Med.* 2003;45(4):400–409
47. Boffetta P., Gaborieau V., Nadon L., Parent M.-E., Weiderpass E., Siemiatycki J.: Exposure to titanium dioxide and risk of lung cancer in a population-based study from Montreal. *Scand. J. Work Environ. Health* 2001;27(7):227–232, <http://dx.doi.org/10.5271/sjweh.609>
48. Boffetta P., Soutar A., Cherrie J.W., Granath F., Andersen A., Anttila A. i wsp.: Mortality among workers employed in the titanium dioxide production industry in Europe. *Cancer Causes Control* 2004;15(7):697–706, <http://dx.doi.org/10.1023/B:CACO.0000036188.23970.22>
49. Ramanakumar A.V., Parent M.E., Latreille B., Siemiatycki J.: Risk of lung cancer following exposure to carbon black, titanium dioxide and talc: Results from two case-control studies in Montreal. *Int. J. Cancer* 2008;122(1):183–189, <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.23021>
50. Ramanakumar A.V., Parent M.E., Menzies D., Siemiatycki J.: Risk of lung cancer following nonmalignant respiratory conditions: Evidence from two case-control studies in Montreal, Canada. *Lung Cancer* 2006;53(1):5–12, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lungcan.2006.04.007>
51. Risk Assessment of Manufactured Nanomaterials – Titanium Dioxide (TiO₂); Final Report issued on July 22, 2011, Executive Summary; NEDO Project (P06041) „Research and Development of Nanoparticle Characterization Methods” [cytowany 20 marca 2014]. Adres: http://www.aist-riss.jp/main/modules/product/nano_rad.html
52. Working safely with engineered nanomaterials and nanoproducts: A guide for employers and employees. Version 4.2, August 2012 [cytowany 20 marca 2014]. Adres: http://www.tappinano.org/pdf/J771_NanoWork-SafetyGuidance.pdf
53. van Broekhuizen P., van Broekhuizen F., Cornelissen R., Reijnders L.: Workplace exposure to nanoparticles and the application of provisional nanoreference values in times of uncertain risks. *J. Nanopart. Res.* 2012;14:770, <http://dx.doi.org/10.1007/s11051-012-0770-3>

54. Committee on Hazardous Substances: The announcements on hazardous substances, manufactured nanomaterials, announcement 527; maj 2013 [cytowany 20 marca 2014]. Adres: http://www.baua.de/en/Topics-from-A-to-Z/Hazardous-Substances/TRGS/pdf/Announcement-527.pdf?__blob=publicationFile&v=3
55. Więcek E.: Kryteria zdrowotne pobierania próbek aerozoli w środowisku pracy. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2011;2(68):5–21