

# Synteettisten nanomateriaalien ympäristövaikutukset: Kokeellisen tutkimuksen nykytila

**Markus Sillanpää, Eija Schultz ja Meri Tuominen**



# Synteettisten nanomateriaalien ympäristövaikutukset: Kokeellisen tutkimuksen nykytila

**Markus Sillanpää, Eija Schultz ja Meri Tuominen**



SUOMEN YMPÄRISTÖKESKUKSEN RAPORTTEJA 47 | 2014

Suomen ympäristökeskus

Kulutuksen ja tuotannon keskus

Taitto: Markus Sillanpää

Julkaisu on saatavana internetistä: [www.syke.fi/julkaisut](http://www.syke.fi/julkaisut) | [helda.helsinki.fi/syke](http://helda.helsinki.fi/syke)

ISBN 978-952-11-4419-6 (PDF)

ISSN 1796-1726 (verkkojulk.)

## ESIPUHE

Nanoteknologia hyödyntää aineen nanorakenteiden uusia ja muokattavia ominaisuuksia mitä erilaisimmissa sovelluksissa. Nanomateriaaleja käytetään muun muassa pintakäsittelyaineissa, aurinkopaneeleissa, kevyissä ja samalla lujissa komposiittimateriaaleissa, tekstiileissä, mittalaitteissa ja elektroniikka-komponenteissa. Teollisen tuotannon ja käytön voimakas kasvu johtaa väistämättä nanomateriaalien tahattomaan vapautumiseen ympäristöön. Toistaiseksi on raportoitu antibakteeristen hopeahiukkasten vapautuvan tekstiileistä pesujen aikana, hopea- ja titaanidioksidishiukkasten irtoavan maalipinnoista sadevesien mukana ja dieselin lisäaineena käytettävän ceriumdioksidishiukkasten pääsevän autojen pakokaasujen mukana ilmakehään. Hiljattain päivitetystä kansallisesta kemikaaliohjelmasta on nostettu esiin tiedontarve erilaisten nanomateriaalien mahdollisista terveys- ja ympäristöriskeistä.

Tämä kirjallisuusselvitys on laadittu ympäristöministeriön (YM) ja Suomen ympäristökeskuksen (SYKE) rahoittamassa hankkeessa. Selvityksen keskipisteessä ovat synteettisten nanomateriaalien ympäristövaikutukset, mutta niiden ohella käsitellään myös nanomateriaalien muuhun ympäristötutkimukseen liittyviä teemoja: aineiden vapautumista ympäristöön, mittaustekniikoita sekä mittaamiseen ja analysoimiseen liittyviä haasteita sekä nanomateriaalien ympäristökohtaloa. Tarkastelun kohteeksi valittiin ominaisuuksiltaan kuusi erilaista nanomateriaalia tai nanomateriaaliryhmää: sinkkioksidi, titaanidioksidi, hopea, hiilipohjaiset aineet, nanoselluloosa ja kvanttipisteet. OECD:n koordinoimaan nanomateriaalien turvallisuuteen keskittyvään testausohjelmaan on valittu tuotantomäärien ja potentiaalisten haittavaikutusten perusteella yhteensä 13 nanomateriaalia, joista viisi on valittu tarkastelun kohteeksi tähän kirjallisuusselvitykseen. Lisäksi tarkasteluun valittiin nanoselluloosa, joka on Suomen kannalta mielenkiintoinen aine. Kirjallisuusselvityksen ulkopuolelle on jätetty aerosolishiukkaset ja maaperäasioita on käsitelty rajoitetusti tarkastelun keskittyessä vesiympäristöön.

Laaja kirjallisuushaku tehtiin SYKEN kirjaston informaattikon kanssa huhtikuussa 2013. Kirjallisuushaku rajattiin vuoden 2008 aikana ja sen jälkeen julkaistuihin tieteellisiin artikkeleihin. Haussa löydettiin yhteensä noin 5200 artikkelia. Kirjallisuudesta on pyritty läpikäymään aiheen kannalta kaikkein keskeisimmät ja metodiikaltaan luotettavimmat tieteelliset julkaisut, joista valittiin yhteensä 162 artikkelia. Julkaisumäärä osoittaa kansainvälisen tutkimuksen olevan melko vilkasta, mutta erityisesti vanhempien julkaisujen suhteen on kriittisesti arvioitava tulosten luotettavuus nykytiedon valossa.

Kirjallisuusselvityksen sisällöstä on käyty kaksi palautekeskustelua YM:n edustajien Pirkko Kivelän (hankkeen valvoja) ja Ulla-Riitta Soverin kanssa. Haluamme kiittää heitä arvokkaista kommentteista, tuesta ja osoittamastaan kiinnostuksesta kirjallisuusselvitystä kohtaan.

Helsingissä 19.12.2014

Markus Sillanpää, Eija Schultz ja Meri Tuominen  
Suomen ympäristökeskus SYKE



## SISÄLLYS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. Tausta .....</b>  | <b>7</b>  |
| <b>2. Nanomateriaalin määritelmä, lainsäädäntö ja tietopankit.....</b>  | <b>8</b>  |
| <b>3. Nanomateriaalien ominaisuuksia ja sovelluksia.....</b>            | <b>11</b> |
| <b>4. Synteettisten nanomateriaalien vapautuminen ympäristöön .....</b> | <b>15</b> |
| <b>5. Nanomateriaalien mittaaminen.....</b>                             | <b>18</b> |
| 5.1. Näytteen esikäsittely .....  | 18        |
| 5.2. Näytteen fraktiointi kokoluokkiin .....                            | 18        |
| 5.2.1 Suodatus ja sentrifugointi .....                                  | 18        |
| 5.2.2 On-line fraktiointimenetelmät .....                               | 19        |
| 5.3 Mittaustekniikat .....  | 19        |
| <b>6. Nanomateriaalien ympäristökohtalo .....</b>                       | <b>23</b> |
| <b>7. Ympäristövaaran arviointi .....</b>                               | <b>25</b> |
| 7.1 Yleistä vaaran ja riskien arvioinnista.....                         | 25        |
| 7.2 Sinkkioksidi .....  | 26        |
| 7.3 Titaanidioksidi .....   | 27        |
| 7.4 Hiiliyhdisteet .....  | 32        |
| 7.4.1 Fullereenit.....  | 32        |
| 7.4.2 Hiilinanoputket .....   | 33        |
| 7.5 Nanoselluloosa .....  | 35        |
| 7.6 Kvanttipisteet.....   | 35        |
| 7.7 Hopea.....  | 37        |
| <b>8. Keskeisimmät tietoaукot ja kehityskohteet .....</b>               | <b>41</b> |
| <b>Liite 1. ....</b>  | <b>48</b> |
| <b>Liite 2. ....</b>  | <b>50</b> |
| <b>Liite 3. ....</b>  | <b>51</b> |
| <b>Lähteet .....</b>  | <b>43</b> |
| <b>Kuvailulehdet.....</b>   | <b>55</b> |





# 1. Tausta

Nanomateriaalien käyttö on jo yleistä monissa kuluttajatuotteissa ja teollisuuden sovelluksissa. Niiden turvallisuuden ja ympäristövaikutusten arvioinnissa on vielä paljon epäselvää. Turvallisuusarviointia ja vaaran tunnistamista on tehty kemikaalitestaukseen vakiintuneilla menetelmillä. Näiden menetelmien soveltuvuus nanomateriaalien testaukseen ei ole kaikilta osin yksiselitteinen. Esimerkiksi annos-vaste-riippuvuuden osoittamiseen käytetyn pitoisuusyksikön ohella muut tekijät kuten hiukkaskoko, pinta-ala tai muoto voivat muuttaa merkittävästi materiaalin ominaisuuksia, ja ne tulisi ottaa huomioon.

Nanomateriaalien ympäristövaikutusten arvioimisessa on paljon tietoaukkoja, jotka rajoittavat riskinarvioinnin tekemistä. Altistumisarviointia varten olisi kyettävä luotettavasti mittaamaan tai laskemaan, kuinka paljon nanomateriaaleja vapautuu ympäristöön valmistuksen ja käytön aikana, sekä mitä niille tapahtuu jätteenkäsittelyn aikana, kaatopaikoilla tai vedenpuhdistamoissa. Tietoa puuttuu myös siitä, kuinka paljon nanomateriaaleja oikeastaan on kuluttajatuotteissa. Lisäksi nanomateriaalien määrän ja ominaisuuksien mittaamistekniikoita tuotteista ja ympäristönäytteistä tulisi kehittää. Haittavaikutusten tutkimuksissa olisi käytettävä riittävän hyvin karakterisoituja materiaaleja, tutkittava pitkäaikaisvaikutuksia ja ympäristön kannalta todenmukaisia annoksia ja olosuhteita. Vaikka lopullisten johtopäätösten tekoon nanomateriaalien ympäristövaikutuksista ei vielä ole edellytyksiä, on tietoa kertynyt jo huomattava määrä.

Tämä katsaus on yhteenveto uusimmista synteettisten nanomateriaalien ympäristövaikutusten tutkimustuloksista. Tässä keskitytään muutamiin eniten käytettyihin ja tutkittuihin ryhmiin, metallit ja metallioksidit (titaanidioksidi, sinkkioksidi, hopea), hiilipohjaiset nanomateriaalit (fullereenit, hiilinanoputket), nanoselluloosa ja kvanttipisteet. Aerosolihiukkaset on suljettu pois tästä katsauksesta.

## 2. Nanomateriaalin määritelmä, lainsäädäntö ja tietopankit

Euroopan komission vuonna 2011 laatimassa suosituksessa nanomateriaali määritellään seuraavasti: ”Nanomateriaali tarkoittaa luonnollista materiaalia, sivutuotemateriaalia tai valmistettua materiaalia, joka sisältää hiukkasia joko vapaina, agglomeroituneina tai aggregoituneina ja jonka hiukkasista vähintään 50 prosenttia lukumääräperusteisen kokojakauman mukaisesti on kooltaan 1–100 nm tai jonka ulkomitoista yksi tai useampi on 1–100 nm. Erityistapauksissa ja jos ympäristöön, terveyteen, turvallisuuteen tai kilpailukykyyn liittyvät huolenaiheet sen oikeuttavat, lukumääräperusteisen kokojakauman 50 prosentin kynnsarvo voidaan korvata 1–50 prosentin kynnsarvolla.” (Komission suositus 2011/696/EU, EUVL L 275, 20.10.2011)

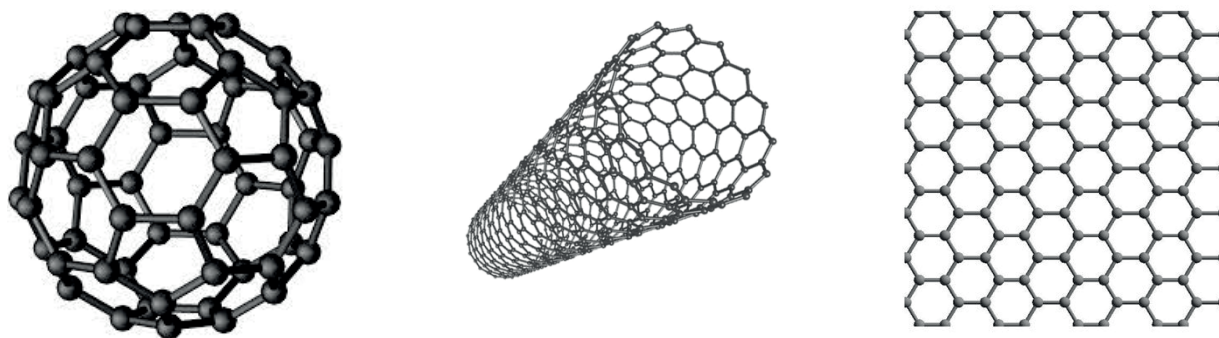
Yleisessä määritelmässä on useita keskeisiä asioita, joihin kannattaa kiinnittää huomiota. Se perustuu puhtaasti aineen kokoon riippumatta sen alkuperästä, mikä siis poikkeaa tältä osin esimerkiksi kosmetiikkatuotteille ja elintarviketeollisuudessa sovellettavasta määritelmästä. Yleinen määritelmä käsittää sekä luontaisesti esiintyvät, synteettisesti valmistetut että tahattomasti syntyneet nanomateriaalit, ja monissa tapauksissa näiden erottelu toisistaan on mittausten avulla vaikeaa, ellei jopa mahdotonta. Elintarvikkeita koskeva asetus (EU 1169/2011) ja Kosmetiikka-asetus (EY 1223/2009) kattavat vain synteettiset nanomateriaalit, minkä lisäksi kosmetiikka-asetus koskee vain liukenemattomia tai biologisesti pysyviä nanomateriaaleja. Edellä mainitut nanomateriaalien määritelmiin liittyvät alkuperäistekstit on koottu liitteeseen 1.

Toisena seikkana määritelmässä tuodaan esiin hiukkasten esiintymisen kannalta keskeisiä termejä. Nanohiukkanen voi olla tuotteessa sellaisenaan, eli hiukkasen koko ei oleellisesti muutu tuotteen valmistuksen aikana. Monissa tapauksissa nanohiukkaset kuitenkin esiintyvät lukuisten hiukkasten muodostamina klustereina, ns. agglomeraatteina tai aggregaateina (tässä yhteydessä termeillä ei viitata kivilajiin eikä sähkövoimakoneeseen). Agglomeraateissa hiukkasten väliset sidokset ovat heikkoja (esim. van der Waals) ja siksi agglomeraatit voivat hajota ympäröivien olosuhteiden muuttuessa. Sen sijaan aggregaatit kestävät paljon paremmin olosuhteiden muutoksia, sillä hiukkaset ovat tavallisesti kiinnittyneet toisiinsa kovalenttisin sidoksien. Lisäksi yhtä monta hiukkasta sisältävän aggregaatin pinta-ala on pienempi kuin agglomeraatin, jonka pinta-ala vastaa sen muodostamien nanohiukkasten yhteenlaskettua pinta-alaa.

Kolmantena seikkana määritelmässä mainitaan lukumääräperusteinen kokojakauma. Lähes poikkeuksetta valmistettujen hiukkasten koko vaihtelee jossain määrin, ja siksi kokoa on syytä tarkastella kokojakauman avulla. Ideaalitapauksessa hiukkaspopulaation kokojakauma on kapea ja yksihuippuinen. Kokojakaumassa voi esiintyä myös kaksi tai useampi huippu. Yleinen määritelmä perustuu hiukkasten kokojakaumaan niiden lukumäärän suhteen, mikä tarkoittaa kuvaajaa, jossa x-akselilla esitetään hiukkasen halkaisija ja y-akselilla hiukkasten lukumäärä. Hiukkaspopulaation kokojakauma voidaan lukumäärän sijaan esittää myös hiukkaspopulaation massan, pinta-alan ja valonsirontaan perustuvan arvon avulla. Hiukkaspopulaation esittämisessä lukumäärän avulla korostuu pienten hiukkasten osuus, kun taas massan ja erityisesti valon sirontaan perusteella esitetyissä kokojakaumissa painottuu isoimpien hiukkasten osuus (liite 2). Mittausmenetelmän valinta vaikuttaa keskeisesti siihen, minkä ominaisuuden suhteen kokojakauman on alun perin esitettävä. Periaatteessa eri kokojakaumiin perustuvat hiukkaskokojakaumat ovat muunnettavissa toisikseen matemaattisin menetelmin. Muunnosten yhteydessä on muistettava, että mittauksen aikana voimakkaat signaalit ovat saattaneet peittää tai kokonaan kadottaa heikommat. Esimerkiksi valonsirontaan perustuvissa mittauksissa isojen hiukkasten signaali on niin voimakas, ettei pieniä hiukkasia välttämättä havaita vaikka niitä lukumääräisesti olisi selvästi enemmän. Tästä johtuen viitattaessa hiukkaskokoon tai hiukkaskokojakaumaan on erityisen tärkeää tuoda esiin millaisiin mittauksiin tulokset perustuvat.

Neljäntenä seikkana määritelmässä rajataan nanomateriaalin koko siten, että ainakin yhden ulkomitoista tulee olla 1–100 nm, ns. nanoskaala. Alarajalla halutaan tarkastelusta sulkea pois yksittäiset molekyylit. Poikkeuksena tähän määritelmään ovat fullereenit, joilla on yksiselitteinen kemiallinen rakenne ja joi-

den halkaisija voi olla alle 1 nm (esim.  $C_{60}$ ). Hiukkasten nanomateriaaleille tyypilliset ominaisuudet esiintyvät tavallisesti, kun niiden koko on alle 30 nm, mutta määritelmän yläraja on asetettu selvästi korkeammaksi turvallisuusperiaatteiden vuoksi. Toisaalta on muistettava, että agglomeroituneiden hiukkasten nanokoossa esiintyvät ominaisuudet voivat säilyä niiden muodostamissa isoissa hiukkasissa.



Kuva 1. Esimerkki hiukkasmaisesta (fullereeni), kuitumaisesta (moniseinäinen hiilinanoputki) ja tasomaisesta (grafeeni) nanomateriaalista.

Nanomateriaalit voivat olla hiukkasmaisia, kuitumaisia tai tasomaisia (kuva 1). Määritelmän mukaan nanohiukkasten kaikki kolme fyysistä ulottuvuutta ovat nanoskaalalla. Nanohiukkaset eivät ole aina pallomaisia, vaikkakin niiden kokoa kuvataan (projisoidun) halkaisijan avulla. Sen sijaan kuitumaisilla nanomateriaaleilla yksi ja tasomaisilla kaksi ulottuvuutta ylittää ylärajaksi asetetun 100 nm.

Komissiossa tullaan arvioimaan voimassa olevan yleisen nanomateriaalimääritelmän tarkoituksenmukaisuutta vuoden 2014 aikana. Euroopan Unionissa nanomateriaalien turvallisuutta ja riskinarviointia käsittelevät tiedekomitea (SCENIHR), kuluttajien turvallisuutta käsittelevä tiedekomitea (SCCS), Euroopan elintarviketurvallisuusviranomainen (EFSA) ja Euroopan lääkevirasto (EMA). (Komission tiedonanto, EU 572/2012, 3.10.2012.). Heinäkuussa 2013 astui voimaan asetus, jonka mukaan kosmetiikkatuotteissa esiintyvät nanomateriaalit on ilmoitettava pakkausmerkinnöissä (Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus (EY) N:o 1223/2009).

Nanomateriaalien tuoterekisterin perustamista on selvitetty EU-tasolla (Wijnhoven, 2010). Parlamentti esitti komissiolle avoimen rekisterin laatimista. Ehdotus on ollut lausunnolla keväällä 2014 ja raportin piti ilmestyä syksyllä 2014. Päätös tehtäen vuonna 2015. Tarvetta on perusteltu mm. viranomaisten tietotarpeilla ja tuoteturvallisuudella kuluttajia ajatellen. Jos eurooppalainen rekisteri perustetaan, olisi erittäin tärkeätä, että tallennettu tieto on jatkokäyttäjien kannalta hyödyllistä, kattavaa ja ajantasaista. Materiaalivirtojen ja ympäristöpitoisuuksien laskemista ja mallintamista varten tarvittaisiin tietoa nanomateriaalien valmistus- ja käyttömääristä ja jakautumisesta eri tuoteryhmiin. Ympäristöriskien arviointi ilman näitä tietoja jää puutteelliseksi.

Mahdollisen EU:n rekisterin ohella eri maissa on tehty kansallisia ratkaisuja. Ranska on päättänyt perustaa kansallisen tuoterekisterin. Tammikuussa 2013 annettu säädös koskee tuottajia, maahantuojia ja jakelijoita, jotka käsittelevät yli 100 g/v ja tuotteita, joista voi vapautua nanohiukkasia normaalin käytön tai kulumisen takia. Rekisteröinti on päivitettävä vuosittain. Belgia on ilmoittanut perustavansa vuoden 2015 alusta alkaen vastaavan rekisterin, johon kuuluvat nanomateriaalit ja niitä sisältävät aineet. Vuodesta 2016 alkaen rekisteriin kuuluvat myös esineet ja tuotteet, joissa on nanomateriaaleja poikkeuksena mm. kosmetiikka, biosidit, lääkkeet ja muut jo muuten nanomateriaalien osalta säännellyt tuotteet. Tanskassa rekisteristä annettu säädös astui voimaan kesäkuussa 2014 (BEK 644, 2014). Rekisteriin on ilmoitettava tiedot kuluttajille myytävistä nanomateriaaleja sisältävistä tuotteista, jos tuotteesta voi irrota nanomateriaalia normaalin käytön ja kulumisen vuoksi tai jos nanomateriaalista voi irrota haitallista ainetta, joka on karsinogeeni, mutageeni tai lisääntymishäiriöitä aiheuttava. Poikkeuksia ovat esim. lääkkeet, lääkintäkojeet, elintarvikkeet ja pestisidit.

Erilaiset kuluttajajärjestöt ovat perustaneet vapaa-ehtoisia tuoterekistereitä. Esimerkiksi USA:ssa on kerätty tuotetietoja nanomateriaaleja sisältävistä tuotteista vuodesta 2005 lähtien Project on Emerging Nanotechnologies -projektin ylläpitämään tietokantaan. Vuoden 2013 lokakuussa oli tiedot saatavilla 1628 tuotteesta [<http://www.nanotechproject.org/cpi/about/analysis> Woodrow Wilson database, Project on Emerging Nanotechnologies. Consumer Products Inventory (29.8.2014)]. Tässä rekisterissä ei ole tietoa, kuinka paljon nanomateriaalia tuotteissa on käytetty. Euroopassa on esimerkiksi kuluttajajärjestöjen (ANEC/ BEUC) ylläpitämä tuoteluettelo [<http://www.beuc.org/safety/nanotechnology> (29.8.2014)] ja saksalaisen BUNT- järjestön ylläpitämä tietokanta [[http://www.bund.net/themen\\_und\\_projekte/nanotechnologie/nanoproduktdatenbank/](http://www.bund.net/themen_und_projekte/nanotechnologie/nanoproduktdatenbank/) (29.8.2014)], joista kuluttajat saavat tietoa tuotteista, joissa on käytetty nanomateriaaleja. Tuoterekisterien lisäksi nanomateriaaleista on tutkimus- ja kehitystarkoituksiin tietokantoja, joita voidaan tulevaisuudessa käyttää myös turvallisuuden arviointiin mallinnuksen avulla (Pannerselvam ja Choi, 2014).

Euroopan komission yhteinen tutkimuslaitos (The Joint Research Centre, JRC) ylläpitää tietokantaa (NANOhub; <http://www.nanohub.eu>), johon on koottu tutkimustuloksia ja menetelmätietoja eri tutkimusprojekteista. Tietokantaan viedään tietoja mm. EU-rahoitteisista turvallisuutta ja riskinarviointia koskevista tutkimusprojekteista (ENPRA, NANOGENOTOX, NANOMMUNE, NANOPOLYTOX, NANOTEST), sekä OECD:n nanomateriaaleja koskevista tutkimuksista (WPMN, Sponsorship programme for testing of a set of representative nanomaterials) (Wijnhoven 2010).

Uusien materiaalien tutkiminen ja kehittäminen on kallista ja aikaa vievää. Lukuisia tietokantoja on perustettu helpottamaan tutkimusta ja mallinnusta eri tarkoituksiin esim. ISA-TAB-Nano, caNanoLab, Nanomaterial registry (Pannerselvam ja Choi, 2014). Nanomateriaalien turvallisuustutkimus QSAR-mallinnuksen (QSAR, quantitative structure activity relationship) avulla voi hyödyntää näitä tietokantoja. Valtavan tietomäärän takia QSAR-mallinnus saattaa olla avainasemassa nanomateriaalien haitallisuuden luokittelussa ja nanomateriaalien käyttöä koskevassa päätöksenteossa (Cohen ym. 2013).

### 3. Nanomateriaalien ominaisuuksia ja sovelluksia

#### ZnO

Sinkkioksidin nanohiukkasia käytetään useissa eri tuotteissa kuten muoveissa, keramiikassa, lasissa, kumissa, palonestoaineissa, maaleissa ja puolijohteissa. Sitä käytetään myös useissa elektroniikkasovelluksissa, kemiallisissa sensoreissa ja aurinkopaneeleissa. Tärkeimpiä kaupallisia sovelluksia ovat aurinkovoiteet ja kosmetiikkatuotteet, joissa hyödynnetään hiukkasten ominaisuutta suodattaa ja heijastaa UV-säteilyä (Ju-Nam ja Lead, 2008, Ma ym. 2013). Nanosinkkioksidi on tehokas fotokatalyytti, mitä hyödynnetään mm. desinfiointiaineissa ja lääketieteen sovelluksissa. Nanosinkkioksidin optiset ominaisuudet eri aallonpituuksilla riippuvat hiukkaskoosta ja näitä ominaisuuksia hyödynnetään elektroniikkalaitteissa. Sinkkioksidin ympäristövaikutusten kannalta on tärkeä muistaa, että sinkkioksidin nanohiukkaset ovat niukasti veteen liukenevia ja niistä vapautuu sinkki-ioneja.

#### TiO<sub>2</sub>

Titaanidioksidi on monipuolinen ja kemiallisesti pysyvä yhdiste. Sinkkioksidista poiketen titaanidioksidihiuksiset eivät vapauta titaani-ioneja veteen. Titaanidioksidia käytetään useimmiten valkoisena pigmenttinä sen korkean taitekertoimen takia. Titaanidioksidia esiintyy luonnossa useissa mineraaleissa, ja yleisimmät kidemuodot ovat anataasi, rutiili ja brookiitti. Nanotitaanidioksidin eri muotojen pysyvyys riippuu hiukkasten koosta (Fujishima ym. 2008).

Nanotitaanidioksidi on eräs käytetyimmistä nanomateriaaleista. Sitä käytetään muun muassa kosmetiikassa, aurinkovoiteissa, hammastahnoissa, maaleissa, lakoissa, papereissa ja vedenpuhdistamisessa (Robichaud ym. 2009). Anataasi on titaanidioksidin muodoista fotokatalyyttisin. Titaanidioksidin fotokatalyyttiset ominaisuudet aktivoituvat UV-valossa ja titaanidioksidia on käytetty jäteveden ja pohjaveden puhdistuksessa (Yu-Nam ja Lead, 2008). Fotokatalyyttiseen hapettumiseen liittyy useita aktiivisia hapetusmekanismeja, ja siksi titaanidioksidilla on ylivoimainen kyky hapettaa orgaanisia ja polymeerisiä materiaaleja ja tappaa mikrobeja. Nämä reaktiot tapahtuvat fotokatalyyttisen titaanidioksidin pinnalla tai lähellä pintaa (Fujishima ym. 2008). Tätä ominaisuutta hyödynnetään monissa sovelluksissa kuten itse puhdistuvissa ikkunalaseissa, auton sivupeileissä, kosteiden tilojen kaakeleissa sekä saniteettikalusteissa, ilman- ja vedenpuhdistimissa ja katto- ja seinäpinnoitteissa (Hannuksela, 2006). Aurinkovoiteissa on käytetty titaanidioksidia suoja-aineena, koska titaanidioksidi ei päästä UVA- ja UVB-säteilyä läpi. Valmistajat ovat viime vuosina siirtyneet nanokokoisen titaanidioksidin käyttöön, koska nanokokoisena titaanidioksidi on läpinäkyvä eikä jätä ihon pinnalle valkoista kerrosta (Newman ym. 2009).

#### Hiiliyhdisteet

Hiilinanoputket ovat grafeenista muodostuneita putkirakenteita, jotka voivat olla yksi- tai useampiseinäisiä. Yksiseinäisten (single-wall nanotubes, SWNT) läpimitta on tyypillisesti 0,8–2 nm ja moniseinäisten (multiwall, MWNT) 5–20 nm. Moniseinäisten putkien läpimitta voi joskus ylittää 100 nm. Hiilinanoputkien pituus vaihtelee alle 100 nm:stä jopa useisiin senttimetreihin (de Volder ym. 2013). Putken halkaisijaa ja pituutta muuttamalla saadaan tuotettua lukematon määrä eri rakenteita, joissa vaihtelevat fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet (pituus, pituuden suhde halkaisijaan, atomirakenne, epäpuhtaudet, epäsäännöllisyys ja funktionaalisuus, sähkönjohtavuus, vetolujuus, joustavuus) (Jackson ym. 2013). Hiilinanoputkia voidaan käyttää komposiittien lujitteina, funktionaalisina pintamateriaaleina ja energian varastointiin elektronisissa laitteissa, ympäristötekniikassa vedenpuhdistukseen sekä biotekniikassa ja lääketieteessä sensoreiden valmistukseen, kuvantamiseen, annostelutekniikoihin (de Volder ym. 2013).

Fullereenit ovat hiiliatomeista koostuvia pallomaisia molekyyliä (esim. C<sub>60</sub>, C<sub>70</sub>, C<sub>82</sub>). Fullereenimolekyylit ovat hiilidosten johdosta kestäviä ja kimmoisista säilyttäen muotonsa kovassakin paineessa. Ne johtavat sähköä hyvin, toimivat katalyyttinä, antibakteerisina aineina ja antioksidantteina. Fullereenit liukenevat joihinkin orgaanisiin liuottimiin, kuten tolueniiniin, mutta veteen ne liukenevat huonosti muodostaen suuria aggregaatteja. Vesiliukoisuutta voidaan lisätä kapseloimalla fullereeni liukoiseen poly-

meeriin tai muokkaamalla kemiallisesti molekyylin pintarakennetta hydrofiilisillä ryhmillä. Pintamateriaalia voidaan muokata epäorgaanisilla tai orgaanisilla aineilla. Myös molekyylin sisään voidaan vangita toisia aineita, jolloin fullereeni toimii kuljettimena tai varastona.

### **Nanoselluloosa**

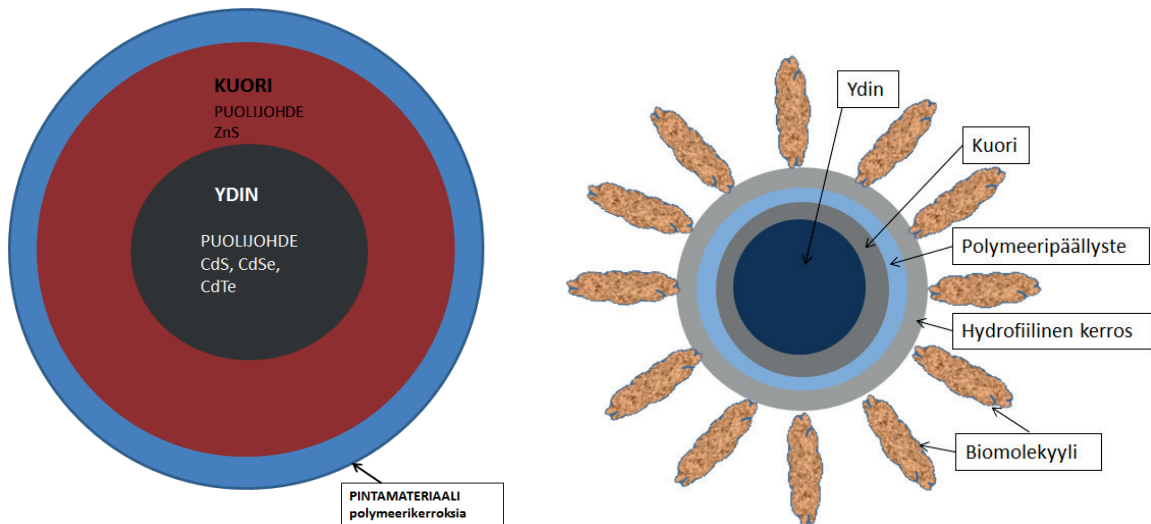
Selluloosa on pitkäketjuinen  $\beta$ -D-glukoosimolekyyleistä koostuva polysakkaridi, joka on rakenneaineena useimpien kasvien soluseinissä. Nanoselluloosat (yksi ulkomitta alle 100 nm) jaetaan tavallisesti kolmeen päätyyppiin valmistustavan tai lähtöaineen mukaan. Nimitykset vaihtelevat eri lähteissä, mutta nanofibrilloidiksi (CNF) tai mikrofibrilloidiksi selluloosaksi (MFC) nimitetään nanoselluloosa, joka valmistetaan puusta peräisin olevasta selluloosakuidusta. Se on halkaisijaltaan yleensä 5–60 nm ja pituudeltaan useita mikrometrejä. Nanokiteinen selluloosa (NCC tai NCN) valmistetaan happohydrolyysillä eri lähteistä peräisin olevasta selluloosasta ja sen pituus voi vaihdella lähtöaineesta riippuen 100 nm useisiin mikrometreihin ja halkaisija 5–10 nm, kun puuvilla tai puu on lähtöaineena, tai 5–60 nm, kun lähtöaineena on levä, bakteeri tai eräät vaippaeläimet. NCC on hyvin heterogeeninen ryhmä ja eri nanoselluloosien ominaisuudet vaihtelevat suuresti hydrolyysissä käytetyn hapon vaikutuksesta. Bakteeni(nano)selluloosa (BNC tai BC) on bakteerien syntetisoimaa varsin puhdasta selluloosaa, jonka halkaisija on 20–100 nm ja joka muodostaa verkkorakenteita (Klemm ym. 2011, Kangas, 2012).

Nanoselluloosan mahdollisia käyttökohteita ovat erilaiset komposiittimateriaalit, joihin nanoselluloosa tuo uusia ominaisuuksia. Se lisää perinteiseen selluun sekä märkä- että kuivalujuutta, toimii apuaineena rasvankestävissä papereissa ja yleensä paperin lujiteaineena. Paperisissa ja kartonkisissa pakkausmateriaaleissa ajatuksena on saavuttaa kevyempiä ja vahvempia materiaaleja vähemmällä selluloosamäärällä ja saada näin tuotteista halvempia. Lujiteaineena se voisi toimia myös luonnonkumin seassa tai lateksi-maaleissa ja selluloosa-asetaatissa. Nanoselluloosan odotetaan myös sopivan elintarvikekäyttöön, kosmetiikkatuotteisiin, lääkeaineiden apuaineeksi ja biolääketieteen sovelluksissa esimerkiksi kudosten korvaajina tai kudosten kasvatuksessa tukirakenteena (Klemm ym. 2011; Mustonen, 2012).

### **Kvanttipisteet**

Kun nanohiukkasen koko on tarpeeksi pieni (< 20 nm) muuttuvat sen kemialliset, optiset ja magneettiset ominaisuudet dramaattisesti. Tunnetuimmat kvanttipisteet ovat tiiviisti pakattuja puolijohdemetalleja sisältäviä hiukkasia, mutta myös puolijohteista ja hiiliyhdisteistä tai pelkästään hiiliyhdisteistä koostuvia kvanttipisteitä on valmistettu. Kvanttipisteet muodostuvat yleensä ytimestä, kuoresta, ja pintamateriaaleista. Pintamateriaaleilla lisätään funktionaalisia ryhmiä ja muutetaan liukoisuutta, biologista soveltuvuutta tai muuta ominaisuutta (Pelley, 2009; Domingos, 2011). (kuva 2)

Puolijohteista valmistettujen kvanttipisteiden ytimestä on useimmiten metallikompleksikiteitä kuten kadmiumsulfidia (CdS), kadmiumselenidiä (CdSe), kadmiumtelluridia (CdTe), sinkkisulfidia (ZnS) ja sinkkiselenidiä (ZnSe) (Zhang ym. 2013). Kuorimateriaali on tavallisesti toisesta puolijohteesta valmistettu kerros. Tyypillisen kvanttipisteiden koko on 2–10 nm (Pelley, 2009). Kvanttipisteet ovat heterogeeninen ryhmä nanohiukkasia ja sovelluskohteita on monilla aloilla, esimerkiksi elektroniikassa, erilaiset kuvantamissovellukset lääketieteen ja biologian tutkimuksissa sekä lääketieteen sovellukset diagnostiikassa ja lääkeaineiden annostelutekniikoissa. Sovellusalasta riippuen käytetään hyödyksi kvanttipisteiden eri ominaisuuksia kuten sähkönjohtavuutta, fluoresenssia ja luminesenssia. Pintamateriaaleilla voidaan ominaisuuksia säädellä lähes rajattomasti.



Kuva 2. Kvanttipisteiden rakenteita.

## Hopea

Nanohopea voidaan syntetisoida useilla tavoilla (kemiallinen, fysikaalinen, fotokemiallinen tai biologinen synteesi; Tran ym. 2013). Hiukkasten pysyvyyttä edistää pinnoite, joka voi olla esimerkiksi PVP:tä (polyvinyyli pyrrolidoni), sitraattia tai silikaa. Hopean antibakteeriset vaikutukset ovat olleet tiedossa jo vuosisatojen ajan. Bakteereja ja sieniä tappavan vaikutuksensa takia nanohopeaa käytetään monissa kuluttajatuotteissa kuten esimerkiksi muoveissa, saippuoissa, voiteissa, tekstiileissä, sidetarvikkeissa, maaleissa ja vedenpuhdistukseen tarkoitetuissa tuotteissa (Shaw ja Handy, 2011; Tran ym. 2013). Tuotteissa nanohopea on liuoksessa kolloidinmuodossa tai kiinteässä muodossa esimerkiksi tekstiileissä tai suodattimissa. Periaatteena on viedä nanohopea tuotteeseen hopean ”varastoksi”, josta irtoaa hopeaioneja tasaisesti pitkän ajan kuluessa. Tärkeitä nanohopean sovellusaloja on myös puhtaan juomaveden valmistamisessa, ilmanpuhdistuksessa sekä pohjavesien ja jätevesien desinfiointissa. Hygienian parantamista tavoitellaan myös nanohopealla pinnoitetuilla lääkintätarvikkeilla (haavanhoitotarvikkeet, katetrit), ruokapakkauksilla ja nanohopeaa sisältävillä maaleilla (Tran ym. 2013).

## Tuotantomäärät

Tarkkoja tietoja markkinoilla olevien nanomateriaalien määristä ei ole yleisesti saatavilla. EU:n komission tiedonannossa (EU 572/2012, 3.10.2012) vuotuisen kokonaismäärän arvioidaan olevan maailmanlaajuisesti 11 miljoonaa tonnia. Tästä määrästä noin 85 % on nokimustaa ja 12 % synteettistä amorfista piidioksidia (taulukko 1). Teollisuudelle tehdyssä kyselytutkimuksessa arvioitiin sekä tuotantomääriä/käyttömääriä että eri nanomateriaalien jakautumista tuoteryhmiin (taulukko 1; Piccinno ym. 2012). Komission tiedonannon ja kyselytutkimuksen tulokset eroavat silikan kohdalla huomattavasti. Edellisen mukaan silikaa käytettäisiin 1,5 miljoonaa tonnia ja jälkimmäisen mukaan korkeintaan 100 000 tonnia. Tuotantotietojen keruuta ja vertailua häiritsee mm. se, että nanomateriaalien määritelmästä on erilaisia käsityksiä. Toisaalta tuotantokapasiteettiin perustuvat arviot poikkeavat todellisista tuotantomääristä Piccinno ym. 2012). Materiaalivirtojen laskemista, altistumisen arviointia ja mallinnusta varten tarvittaisiin mahdollisimman oikeata tietoa sekä käyttömääristä että siitä mihin tuotteisiin kutakin ainetta käytetään.

Taulukko 1. Synteettisten nanomateriaalien tuotanto- tai käyttömääriä.

| Nanomateriaali                    | Tuotanto maailmanlaajuisesti<br>tonnia/vuosi <sup>a</sup> | Tuotanto/käyttömäärä<br>maailmanlaajuisesti,<br>tonnia/vuosi <sup>b</sup> |
|-----------------------------------|---|---|
| <b>Nokimusta (carbon black)</b>   | 9,6 milj  | –   |
| <b>SiO<sub>2</sub></b>            | 1,5 milj.   | 10001 – 100 000   |
| <b>Al-oksidi</b>                  | 200 000   | 11 – 100  |
| <b>Ba-titanaatti</b>              | 15 000  | –   |
| <b>TiO<sub>2</sub></b>            | 10 000  | 101 – 10 000  |
| <b>CeO<sub>2</sub></b>            | 10 000  | 101 – 1 000   |
| <b>ZnO</b>                        | 8 000   | 101 – 1 000   |
| <b>Hiilinanoputket ja -kuidut</b> | useita satoja   | 11 - 1000   |
| <b>Fullereenit</b>                | –   | < 10  |
| <b>Ag</b>                         | 20  | < 10 000  |
| <b>Kvanttipisteet</b>             | –   | < 11  |

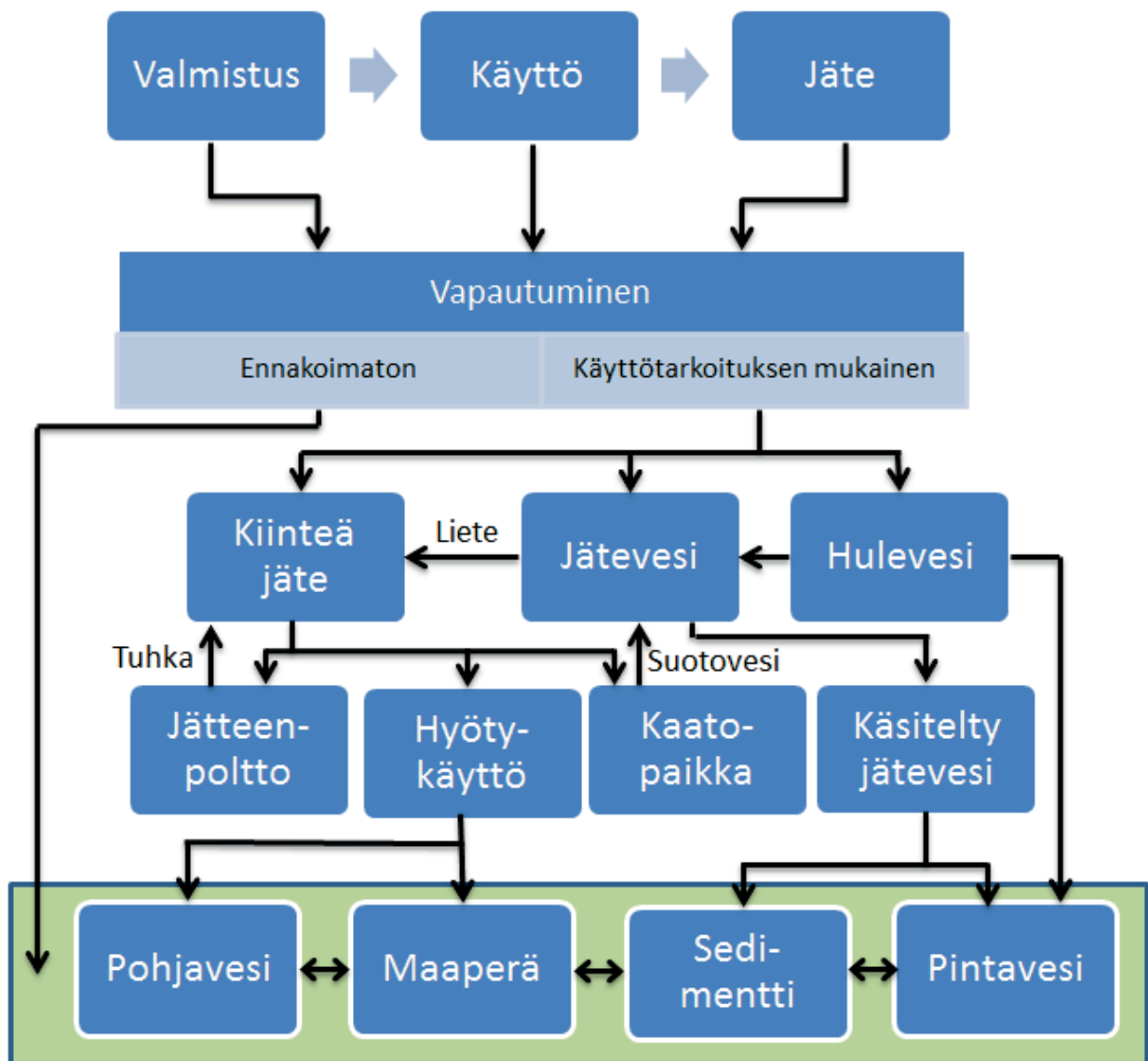
<sup>a</sup>Tiedot koottu lähteestä EU (2012).

<sup>b</sup>Tiedot perustuvat Piccinno ym. (2012) tekemään kyselytutkimukseen, jossa arviot koskevat vuotta 2010.



## 4. Synteettisten nanomateriaalien vapautuminen ympäristöön

Tiedeyhteisö on yksimielinen siitä, että synteettisiä nanomateriaaleja voi vapautua ympäristöön niiden tai niitä hyödyntävien tuotteiden valmistuksen, käytön ja jätevaiheen aikana. Toistaiseksi on vain muutamia julkaisuja, joissa on tutkittu nanomateriaalien vapautumista todellisissa olosuhteissa, sillä tutkimusta rajoittaa soveltuvien mittaustekniikoiden puute (Nowack ym. 2012). Kuvassa 3 on esitetty synteettisten nanomateriaalien todennäköisiä kulkureittejä ympäristöön. Ennakoimaton vapautuminen tarkoittaa poikkeuksellisia tilanteita (esim. onnettomuudet), jotka ovat kestoaltaan lyhyitä ja vaikutuksiltaan tavallisesti paikallisia, mutta päästöt kohdistuvat suoraan ympäristöön ja voivat olla kuormituksen merkittäviä. Käyttötarkoituksen mukainen vapautuminen voi olla seurausta esimerkiksi pintakäsittelyaineiden ja materiaalien kulumisesta, kosmetiikkatuotteiden käytöstä, liikennepäästöistä ja erilaisista



Kuva 3. Kaaviokuva synteettisten nanomateriaalien todennäköisistä kulkureiteistä ympäristöön.

kuluttajatuotteista. Taulukkoon 2 on koottu tutkimuksia, joissa synteettisten nanomateriaalien on osoitettu vapautuvan ympäristöön. Ääritapauksena voidaan mainita nanohiukkasten käyttö maaperän tai pohjaveden puhdistuksessa (Li ym. 2006; Kurniawan ym. 2012), jossa varauksettomia rautananohiukkasia vapautetaan ympäristöön esimerkiksi orgaanisten yhdisteiden saastuttamien pohjavesien puhdistamiseksi. Tarkoituksen mukaisessa käytössä synteettiset nanomateriaalit päätyvät pääosin kiinteiden jätteiden mukana jätteenkäsittelylaitoksille tai viemärien kautta jätevedenpuhdistamoille. Hulevesien mukana aineet kulkeutuvat joko jätevedenpuhdistamoille tai suoraan pintavesiin. Joissakin tutkimuksissa on osoitettu, että puhdistamoilla käsittely poistaa ainakin 95 % tulevan jäteveden sisältämistä nanohiukkasista (Duester ym. 2014). Jätevedenpuhdistamojen liete tavallisesti mädätetään tai kompostoidaan ja sitä voidaan käyttää peltoviljelyssä lannoitteena. Muuta kiinteää jätettä voidaan käyttää viherrakentamisessa tai se voi päätyä jätteenpolttolaitokseen tai kaatopaikalle. Jätteenpolttolaitoksilla syntyvä tuhka ja kaatopaikoilla muodostuva suotovesi voivat sisältää tuotteissa olleita synteettisiä nanomateriaaleja. Kuvassa 3 on esityksen ulkopuolelle jätetty ilmakehän kautta vesiin ja maaperään laskeutuvat nanomateriaalit sekä jätevaiheessa kierrätys, johon liittyy muun muassa materiaalivirtojen mahdollinen kontaminaatio.

Nanomateriaalien ympäristökohtalon ja -vaikutusten tutkiminen on valtaosin keskittynyt nanomateriaaleihin sellaisenaan (puhdasaineina). Se, mitä todellisuudessa vapautuu tuotteista ympäristöön, voi poiketa ominaisuuksiltaan ja vaikutuksiltaan. Tuotteesta vapautunut nanomateriaali voi olla kiinnittyneenä matriisiin, muuntunut fysikaalisesti tai kemiallisesti valmistuksen tai käytön aikana. Lisäksi vapautuneet nanomateriaalit voivat muuntua ympäristössä kuten on kuvattu kappaleessa 6 (Nowack ym. 2012).

Taulukko 2. Synteettisten nanohiukkasten vapautuminen tuotteista.

| Nanomateriaali         | Tuote              | Vapautunut muoto  | Reitti ympäristöön                     | Huomioita  | Viite                    |
|------------------------|--------------------|---|--|--|--------------------------|
| <b>TiO<sub>2</sub></b> | Maalit             | Vapautuu ainakin kokoluokassa 20-300 nm                                   | Maaperään ja hulevesiin                | Tutkimuksessa ei pystytä osoittamaan onko vapautunut titaani ollut alun perin synteettisistä TiO <sub>2</sub> -nanohiukkasista | Kaegi ym. 2008           |
| <b>Ag</b>              | Maalit             | Kiinnittyneinä orgaanisiin aineisiin, AgNP todennäköisesti kem. muuntunut | Maaperään ja hulevesiin                | Tutkimuksessa arvioitiin kolmasosan AgNP:sta vapautuneen vuoden aikana   | Kaegi ym. 2010           |
| <b>Ag</b>              | Tekstiilit         | Hiukkasina (10-500 nm) ja ioneina   | Pesuvesiin, viemäriin                  | Vapautumismäärin ja nopeuksiin vaikuttavat valmistusprosessit ja pesuolosuhteet  | Benn ja Westerhoff, 2008 |
| <b>Ag</b>              | Elintarvikepakkaus | Tutkimuksessa tarkasteltiin hopean kokonaispitoisuutta                    | Ruokiin ja pesuvesiin                  | Pitoisuudet selvästi alle EU:n liuenneelle hopealle asetettujen raja-arvojen   | Echegoyen ja Nerin, 2014 |
| <b>CeO<sub>2</sub></b> | Polttoaineet       | Aerosolihiukkasina  | Ilmakehään, suodattimiin ja hulevesiin | Cerium mittattiin liikenneympäristöstä kerätyistä PM <sub>10</sub> -näytteistä   | Park ym. 2008            |

Taulukko 3. Yhteenveto tutkimuksista, joissa mitaamalla on arvioitu ympäristössä esiintyviä synteettisten nanohiukkasten pitoisuuksia (tiedot koottu artikkelista Gottschalk ym. 2013).

| Artikkeli                  | Näyte               | ENM                                  | Koko (nm)      | Tekniikka        |
|----------------------------|---------------------|--------------------------------------|----------------|------------------|
| <b>Kiser ym. 2009</b>      | Jätevesi + liete    | TiO <sub>2</sub>                     | 0-700          | ICP-OES, SEM/EDX |
| <b>Farré ym. 2010</b>      | Jätevesi            | C <sub>60</sub>                      | 0-450          | HPLC-MS/MS/MS    |
| <b>Johnson ym. 2011a</b>   | Jätevesi            | Ag                                   | 20-450         | ICP-MS           |
| <b>Johnson ym. 2011b</b>   | Jätevesi<br>+ liete | TiO <sub>2</sub><br>TiO <sub>2</sub> | 0-450<br>0-200 | ICP-MS<br>ICP-MS |
| <b>Neal ym. 2011</b>       | Jokivesi            | TiO <sub>2</sub>                     | 0-450          | ICP-MS           |
| <b>Westerhoff ym. 2011</b> | Jätevesi            | TiO <sub>2</sub>                     | 0-900          | TEM/EDX, ICP-    |
| <b>Sanchis ym. 2011</b>    | Ilma                | C <sub>60</sub>                      | 0-700          | HPLC-MS/MS/MS    |
| <b>Mitrano ym. 2012</b>    | Jätevesi            | Ag                                   | 0-450          | ICP-MS           |
| <b>Khosravi ym. 2012</b>   | Jätevesi + liete    | TiO <sub>2</sub>                     | 0-220          | ICP-MS           |
| <b>Majedi ym. 2012</b>     | Jätevesi            | ZnO                                  | 0-100          | TEM/EDX, UV-Vis  |

Taulukossa 3 esitetyt tutkimukset perustuvat kirjallisuushakuun, joka oli tehty vuoden 2013 alussa. Alkuperäisten hakutulosten joukosta on jätetty pois tutkimus, jossa määritettiin Lontoossa ja Newcastlessa aerosolihiukkasten CeO<sub>2</sub>-pitoisuuksia ennen ja jälkeen lisäaineen käyttöönottoa dieselpolttoaineessa (Park ym. 2008). Tutkimus jätettiin pois, sillä tässä raportissa aerosolitutkimukset jätettiin tarkastelun ulkopuolelle. Mainitun tutkimuksen lisäksi nanokokoluokan ulkoilman aerosolihiukkaspitoisuuksista on raportoitu lukuisissa julkaisuissa, joissa nanohiukkasten sijaan on tavallisesti käytetty termiä ”ultrafine particles”, eikä Gottschalk ym. (2013) tekemä kirjallisuushaku ole ilmeisesti löytänyt kyseisiä julkaisuja. Joka tapauksessa taulukkoon kootut tutkimukset käsittelevät hiukkaspitoisuuksia esitetyissä kokoluokissa. Tässä yhteydessä taulukon tarkoituksena on erityisesti osoittaa, miten puutteellinen käsitys tällä hetkellä vallitsee synteettisten nanohiukkasten esiintyvyydestä ympäristössä. Gottschalk ym. (2013) esittivät yhteenvetona myös tutkimuksissa mitattuja pitoisuuksia, mutta niitä ei toisteta tässä, sillä itse asiassa pitoisuudet kuvaavat synteettisten nanohiukkasten ja luonnon taustan yhteenlaskettua pitoisuutta. Yhdisteestä riippuen luonnon taustalla saattaa olla hyvinkin merkittävä osuus kokonaispitoisuudesta. Esimerkiksi fullereeneja tiedetään syntyvän maastopalojen yhteydessä ja metalleja esiintyy myös luontaisesti nanokokoluokassa.

## 5. Nanomateriaalien mittaaminen

### 5.1. Näytteen esikäsittely

Esikäsittelymenetelmän valinta riippuu näytematriisista, tutkittavasta materiaalista, mitattavasta ominaisuudesta ja valitusta mittaustekniikasta. Näytteenkäsittelyn eri vaiheissa on käytettävä astioita, jotka eivät adsorboi tutkittavia nanomateriaaleja. Näytteenesikäsittely tulisi olla mahdollisimman vähäinen ennen fysikaalisten mittausten suorittamista. Esimerkiksi yleisesti käytetty luonnonvesinäytteiden kestävänti happopisäyksellä lisää metallisten nanohiukkasten agglomeroitumista ja liukenemista.

Sonikoinnin avulla pystytään tietyissä tapauksissa hajottamaan näytteen agglomeroituneet hiukkaset lähemmäksi niiden primääristä hiukkaskokoa. Välittömästi sonikoinnin jälkeen näyte voidaan suodattaa, jolloin näytteestä pystytään poistamaan selkeästi nanokokoluokkaa isommat hiukkaset. Ennen kemiallisia analyysejä näytteestä tulisi vielä erottaa liuennut aines hiukkasmateriaalista esimerkiksi sentrifugisuodatuksen avulla. Lisäksi on huomioitava, että osa nanohiukkasista saattaa esiintyä sonikoinnista huolimatta homogeenisinä tai heterogeenisinä agglomeraatteina/aggregaateina. Edellä esitetty erottelu jakaa näytteen kolmeen kokofraktioon: liuennut, nanokokoinen ja karkeampi aines. Kemiallisia analyysejä varten näytefraktiot voidaan kestäväidä laboratorion yleisen käytännön mukaan. Fraktioimaton näyte tulisi määrittää massasulkeumaa varten, jotta voidaan arvioida suodatuksen ja muun näytteen käsittelyn mahdollisesti aiheuttama poikkeama tulokseen. Säilytyksen suhteen yleisohjeena voidaan pitää, että näytettä tulee säilyttää viileässä, valolta suojatussa paikassa.

Monissa tutkimuksissa on keskitytty vapaisiin nanohiukkasiin ja suspendoituihin hiukkasiin. Pintoihin kiinnittyneet nanohiukkaset on huomioitava esim. maaperä- ja sedimenttinäytteissä, joiden kohdalla nanohiukkaset tulee uuttaa tai irrottaa kiintoaineesta ennen analyysejä esimerkiksi sonikoinnin ja disperioaineen lisäyksen (esim. natrium pyrofosfaatti tai sitraatti) avulla (Hassellöv ym. 2008). Nanomateriaalista riippuen luonnon taustapitoisuudet erityisesti maaperä- ja sedimenttinäytteissä saattavat olla hyvin korkeita suhteessa synteettisiin nanohiukkaspitoisuuksiin. Edellä esitettyjä esikäsittelymenetelmiä on kehitetty luonnossa esiintyville kolloidihiuksille, mutta ne soveltuvat myös synteettisten nanohiukkasten analytiikkaan.

Fullereenianalytiikassa tutkittavat aineet erotetaan näytematriisista käyttäen suodatusta, neste-nesteuuttoa (LLE) tai kiinteäfaasiuuttoa (SPE) (Pycke ym. 2012). Suodatuksessa oletetaan, että fullereenit esiintyvät yksinomaan hiukkasfraktiossa ja näyte liuotetaan suodattimelta esimerkiksi tolueenilla (Farré ym. 2010). LLE, esimerkiksi tolueeni-vesi-uutto, toistetaan tavallisesti muutama kerta samalle näytteelle, jotta voidaan varmistaa riittävä näytesaanto. Hapettuneet ja hydroksyloituneet fullereenit eivät siirry orgaaniseen faasiin. Kiinteäfaasiuutossa on käytetty erilaisia C<sub>18</sub>-patruunoita ja näytemolekyylit on eluoitu poolittomilla liuottimilla. Raportoidut SPE:n saantoprosentit fullereeneille ovat tavallisesti pienempiä kuin LLE:n (Pycke ym. 2012).

### 5.2 Näytteen fraktiointi kokoluokkiin

#### 5.2.1 Suodatus ja sentrifugointi

Näytteessä olevat isot hiukkaset häiritsevät erityisesti fysikaalisia mittauksia mutta myös kemiallisia analyysejä. Perinteisiä menetelmiä isojen hiukkasten poistamiseksi näytteestä on sedimentoituminen, suodatus (esim. Geranio ym. 2009) ja sentrifugointi (esim. Kaegi ym. 2008). Sedimentoitumista ja sentrifugointia voidaan käyttää hiukkasille (hiukkasen halkaisija > 1 µm), joihin gravitaatio vaikuttaa diffuusiota voimakkaammin. Hiukkasten laskeutumisenopeuteen vaikuttavat niiden tilavuus, muoto sekä hiukkasen ja dispersioivan väliaineen välinen tiheysero. Siten laskeutumisenopeuteen perustuvat menetelmät soveltuvat hyvin raskaiden materiaalien erottamiseen (esim. mineraalihiukkaset). Sedimentoituminen ja sentrifugointi ovat hellävaraisia esierotustekniikoita, mutta sedimentoituvat hiukkaset voivat laskeutuessaan huuhtoa näytteessä olevat pienemmät hiukkaset mukanaan.

Suodatuksessa käytetään tavallisesti suodattimia, joiden huokoskoko on suurempi kuin 0,1 µm. Suodatuksen aikana huokoskoko pienemmät nanohiukkaset voivat diffuusion tai sähköstaattisten vetovoimien johdosta tarttua suodattimeen. Lisäksi nanohiukkaset voivat kulkea suodattimen läpi nestettä hitaammin muodostaen ns. konsentraatiopolarisoinnin suodattimessa, mikä saattaa lisätä hiukkasten agglomeroitumista. Edellä esitettyjen ilmiöiden vuoksi perinteisen suodatuksen ja valitun suodatinmateriaalin soveltuvuus on arvioitava erilaisille nanomateriaaleille ja näytteille erikseen. Konsentraatiopolarisoinnin välttämiseksi on kehitetty poikittaisvirtaussuodatus eli tangentiaalinen suodatus, jossa näyte ohjataan kulkemaan useita kertoja suodatinkalvon päällä. Huokoskoko pienemmät hiukkaset läpäisevät kalvon. Määrittämällä analyytin pitoisuus ennen suodatusta ja suodattimen läpi kulkeneesta liuksesta pystytään arvioimaan huokoskoko pienempien ja isompien hiukkasten osuus alkuperäisessä näytteessä. Poikittaisvirtaussuodatus on optimoitava erilaisille hiukkasmateriaaleille, sillä suodatinmateriaalin ja olosuhteiden on havaittu vaikuttavan merkittävästi fraktiointitulokseen ja saantoon (Guo ym. 2000; Larsson ym. 2002).

### 5.2.2 On-line fraktiointimenetelmät

**Kenttävirtausfraktiointi** (FFF) on kromatografiaa muistuttava erotusmenetelmä, jossa näytettä kuljetettava eluentti virtaa kapean erotuskentän läpi. Nanohiukkastutkimuksessa erityistä huomiota on saanut epäsymmetrinen virtauskenttävirtausfraktiointi (AsFFFF), koska sillä pystytään fraktioimaan laajalla hiukkaskokoalueella (1–1000 nm). AsFFFF erottaa nanohiukkaset ohuessa kanavassa niiden diffuusionopeuksien mukaan. Erotus perustuu horisontaalisen virtauksen ja sitä kohtisuoraan kulkevan poikkivirtauksen yhteysvaikutukseen (Kammer ym. 2005). Kriittisimmät tekijät AsFFFF-menetelmän optimoinnissa ovat eluentin koostumus ja fraktiointikanavan membraanin valinta. Sopivissa olosuhteissa hiukkaset kulkevat fraktiointikanavassa membraanin lähellä agglomeroitumatta tai adsorboitumatta membraanin pintaan. Koska poikkivirtauksen vaikutus vähenee hiukkaskoon mukana, fraktiointikanavasta eluoituvat aluksi pienimmät hiukkaset.

**Kokoerottelukromatografiassa** (SEC; engl. size exclusion chromatography) hiukkaset kuljetetaan nestefaasissa huokoista pakkausmateriaalia sisältävän kolonnin läpi. Erottelu perustuu hiukkasten hydrodynaamiseen halkaisijaan. Jokaisella SEC-kolonnilla on tietty toiminnallinen erotusalue. Aluksi kolonnista eluoituvat isoimmat hiukkaset, sillä ne eivät kokonsa puolesta pysty kulkeutumaan huokosten sisään ja siten niiden kulkureitti kolonnissa on huomattavasti lyhyempi. SEC:iä on käytetty mm. hiilinanoputkien erottelussa (Duesberg ym. 1998) ja liuenneiden metallien määrittämiseen ympäristönäytteistä (Jackson ym. 2005).

**Hydrodynaamisessa kromatografiassa** (HDC) näyte kulkee läpi ohuiden kapillaarien tai leveämmän, pakatun kapillaarin. Pienimpien hiukkasten kulkema reitti on pisin ja siksi isoimmat hiukkaset eluoituvat ensimmäisinä. Vaikkakin HDC:n erotustehokkuus on varsin heikko, sen toiminta-alue on erittäin laaja. Williams ym. (2002) ovat soveltaneet HDC:tä nanohiukkasten fraktioinnissa.

Edellä esitettyihin on-line fraktiointimenetelmiin voidaan kytkeä samanaikaisesti useampiakin detektoreita mittaamaan erilaisia hiukkasten ominaisuuksia (mm. UV-Vis, DLS ja sp-ICP-MS).

## 5.3 Mittaustekniikat

Nanomateriaaleilla on useita mitattavia ominaisuuksia: massapitoisuus, lukumääräpitoisuus, koko (halkaisija), muoto (esim. aspektisuhde), pintavaraus, pinta-ala ja erilaiset kokojakaumat. Koska mainittujen ominaisuuksien määrittäminen edellyttää useiden mittalaitteiden käyttöä, puhtaidenkin nanomateriaalien huolellinen karakterisointi vaatii aikaa, rahaa ja ammattitaitoa. Nanomateriaalien ympäristötutkimuksessa mittaamiseen liittyvät haasteet voidaan jakaa kolmeen tasoon: nanomateriaalien ominaisuuksien mittaaminen puhdasaineista (esim. suspensio tai jauhe), testiolosuhteissa ja ympäristössä (ilma, vesi, maa) (taulukko 4).

Nanomateriaalien ominaisuuksia erilaisissa näytematriiseissa on mitattu lukuisilla erilaisilla laitteilla. Mittaustekniikan valintaan vaikuttavat muun muassa nanomateriaalin kemiallinen koostumus, tutkittava

ominaisuus, näytematriisi ja menetelmän detektoriraja niin pitoisuuden kuin hiukkaskoon suhteen. Mittaustekniikoista on julkaistu useita yhteenvetoja (Farré ym. 2009; Hassellöv ym. 2008; Tiede ym. 2008, 2009; Wigginton ym. 2007), joista on koottu taulukko 5. Menetelmät voidaan karkeasti jakaa optisiin, mikroskooppisiin ja kemiallisiin mittausten menetelmiin. Seuraavaksi tarkastellaan muutamia hiljattain käyttöön otettuja mittaustekniikoita, jotka on kehitetty tai jotka soveltuvat erityisen hyvin nanohiukkasten mittaamiseen nestemäisistä näytematriiseista:

**Nanohiukkasten jäljitysanalyysi** -laite (Nanoparticle tracking analysis): Nanohiukkasten koon ja kokojakauman määrittäminen perustuu laser-valolla valaistujen hiukkasten Brownin liikkeen jäljittämiseen optisen mikroskoopin ja siihen kytketyn videokameran avulla. Hiukkasten liikeradat analysoidaan tietokoneohjelman avulla ja hiukkasen diffuusionopeus voidaan muuttaa Stokes-Einsteinin yhtälöllä hiukkasen keskimääräiseksi halkaisijaksi. Hiukkasten diffuusionopeuteen vaikuttavat nesteen viskositeetti, lämpötila ja hiukkasen koko. Mittauksessa voidaan arvioida karkeasti näytteessä olevien hiukkasten kokonaislukumäärää. Laitteella pystytään mittaamaan nesteessä olevia hiukkasia, joiden halkaisija on noin 20–1000 nm ja lukumääräpitoisuus noin  $10^6$ – $10^9$ /ml. Mittausalueisiin vaikuttavat jonkin verran mitattavien hiukkasten taitekerroin, valitun laservalon aallonpituus, mikroskoopin suurennusteho ja kameran kennon herkkyys. Näytteessä olevat isot hiukkaset (<1000 nm) häiritsevät mittausta.

**Malvern Archimedes.** Nestemäinen näyte ohjataan mikrofluidista kanavaa pitkin sähkömekaaniselle mikrosensorille, jossa äärimmäisen pieni ja herkkä anturi värähtelee tietyllä taajuudella. Näytevirtauksen mukana kulkeutuvat hiukkaset muuttavat värähtelyn taajuutta, joka todennetaan mittaamalla anturin kärkeen kohdistettua laservaloa fotodiodidetektorilla. Laitteella voidaan mitata hiukkasten lukumäärää, massaa ja kokojakaamaa. Mittauksen edellytyksenä on, että hiukkasten lukumääräpitoisuus näytteessä on  $10^4$ – $10^9$ /ml ja halkaisija 50–5000 nm. Näin ollen laitteella ei pystytä mittaamaan pienimpiä nanohiukkasia, mutta sen mittausalue lukumääräpitoisuuden suhteen soveltuu hyvin hiukkasten mittaamiseen luonnonvesistä (<http://www.malvern.com/en/products/product-range/archimedes/>).

Taulukossa 4. Synteettisten nanomateriaalien mittaamiseen liittyvät vaikeudet erityyppisissä näytteissä.

|                          | Puhdasaine                  | Testiolosuhte              | Ympäristö                 |
|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Kemiallinen koostumus    | (Osin) tunnetaan            | Tunnetaan                  | Osin tunnetaan            |
| Tausta                   | Vähäinen tausta             | Taustaan voidaan vaikuttaa | Usein erittäin merkittävä |
| Pitoisuus                | Mukautettavissa             | Osin mukautettavissa       | Erittäin pieni pitoisuus  |
| Matriisi                 | Mahdollisimman homogeeninen | Neste tai kiinteä aine     | Kompleksinen              |
| Systeemi                 | Stabiili                    | Stabiili / dynaaminen      | Dynaaminen                |
| Soveltuvat mittalaitteet | ~30-40                      | ~15-20                     | ~5-10                     |

Taulukko 5. Nanohiukkasten mittaamiseen soveltuvia tekniikoita ja niiden ominaisuuksia.<sup>a</sup>

|                                | Laite/tekniikka    | Kokoalue (nm)                            | LOD     | Y/P <sup>b</sup> | Vaikutus näytteeseen <sup>c</sup> |
|--------------------------------|--------------------|--|---------|------------------|-----------------------------------|
| <b>Fysikaalinen ominaisuus</b> |                    |  |         |                  |                                   |
| Halkaisija                     | AFM                | 0,5 – >1000                              | ppb-ppm | Y                | M                                 |
|                                | DLS                | 1 – >1000                                | ppm     | P                | XS                                |
|                                | EM                 | 1 – >1000                                | ppb-ppm | Y                | M-L                               |
|                                | NTA                | 10 – 1000                                | ppb     | Y                | S                                 |
|                                | SLS                | 50 – >1000                               | ppm     | P                | XS                                |
| Tilavuus                       | Sed-FFF            | 50 – 1000                                |         | P                | S                                 |
| Pinta-ala                      | BET                | 1 – >1000                                | Jauhe   | P                | L                                 |
|                                | EM                 | 1 – >1000                                | ppb-ppm | Y                | M-L                               |
|                                | AFM                | 1 – >1000                                | ppb-ppm | Y                | M                                 |
| Massa                          | ICP-MS             | –  | ppt-ppb | P                |                                   |
|                                | LC-ESMS            | –  |         | P                |                                   |
| Pintavaraus                    | Zeta-potentiaali   | 1 – 10000                                |         | P                | XS                                |
| Kiderakenne                    | XRD                | 0,5 – >1000                              | Jauhe   | P                | L                                 |
|                                | TEM-XRD (SAED)     | 1 – >1000                                |         | Y                | L                                 |
| Muoto                          | EM                 | 1 – >1000                                | ppb-ppm | S                | M-L                               |
| <b>Kemiallinen koostumus</b>   |                    |  |         |                  |                                   |
| Alkuaineikoostumus             | FFF-ICP-MS         |  | ppt-ppb | P                |                                   |
|                                | ICP-MS             |  | ppt-ppb | P                |                                   |
|                                | ICP-OES            |  | ppb     | P                |                                   |
|                                | TEM-EDX            |  | ppb-ppm | Y                |                                   |
|                                | Fullereeni/CNT     | HPLC                                     |         | ppb-ppm          | P                                 |
|                                | IR                 |  | ppt-ppb | P                |                                   |
|                                | MS                 |  | ppb-ppm | P                |                                   |
|                                | NMR                |  | ppm     | P                |                                   |
|                                | UV-vis             |  |         | P                |                                   |
|                                | TOC                | Kem. hapettuminen korkeassa lämpötilassa |         |                  | P                                 |
| <b>Muita ominaisuuksia</b>     |                    |  |         |                  |                                   |
| Hydrofobisuus                  | Neste-nesteuutto   |  |         | P                | S                                 |
| Kokoerottelu                   | FFF                | 1 – 1000                                 |         | P                | S                                 |
|                                | Mikrosuodatus      | 100 – >1000                              |         | P                | S-M                               |
|                                | SEC                | 0,5 – 10                                 |         | P                | M                                 |
|                                | Sed-FFF            | 50-1000                                  |         | P                | S                                 |
|                                | Sentrifugisuodatus | 10 – >1000                               |         | P                | S                                 |
|                                | Ultrasuodatus      | 1 – 30                                   |         | P                | M                                 |
| Liukenemisnopeus               | Dialyysi           | 0,5 – 100                                |         | P                | S                                 |
|                                | Voltametri         |  |         | P                |                                   |
|                                | UV-vis             |  | ppb-ppm | P                | XS                                |

<sup>a</sup> Lähteet: Farré ym. (2009), Hassellöv ym. (2008), Tiede ym. (2008, 2009) ja Wigginton ym. (2007).

<sup>b</sup> Menetelmä perustuu yksittäisen hiukkasen (Y) tai hiukkaspopulaation (P) määrittämiseen.

<sup>c</sup> Menetelmän vaikutus näytteen koostumukseen: XS=vähäinen, S=pieni, M=kohtalainen ja L=suuri.

**Single particle inductively coupled plasma mass spectrometer (sp-ICP-MS).** ICP-MS -laitteisto tarjoaa mielenkiintoisen lähestymistavan mitata nanohiukkasten kemiallista koostumusta, kokoa ja kokojakaamaa. Laite on yleisessä käytössä monissa kemian alan laboratorioissa, eikä tässä liene tarvetta esitellä tekniikan mittausperiaatetta. Laite soveltuu sellaisenaan nanohiukkasten mittaamiseen, mutta tavallisesta mittauksesta poiketen analyysit tehdään reaaliaikaisessa toimintatilassa (integrointiaika vain noin millisekunti) ja hiukkasten lukumäärän tulee olla näytteessä riittävän alhainen (200–2000 hiukkasta minuutissa detektorille). Kalibroimalla sp-ICP-MS nanohiukkasia käyttäen yksittäisistä mittaustuloksista voidaan johtaa näytteessä esiintyvän tutkittavan alkuaineen hiukkaspopulaation lukumäärä- ja massa-kokojakaama.

**MacroIMS Macroion Mobility Spectrometer.** Mittaustekniikka perustuu alun perin aerosolimittaukseen kehitettyyn laitteeseen (SMPS, DMPS), johon on kytketty nanosähkösumutusionisointiyksikkö (nanoESI) muuttamaan nestemäinen näyte aerosoliksi. Sumutuksessa muodostuneet monivarautuneet hiukkaset saadaan röntgensäteilytyksen avulla +1-varautuneiksi, minkä jälkeen näytevirta ohjataan sähkökentän läpi. Sähkökentän jännitettä muuttamalla saadaan eroteltua tietyn massa/varaus -suhteen omaavat hiukkaset, jotka ohjataan ylikylläisen höyryn läpi detektorille. Höyryn kondensoitumisen johdosta yksittäiset hiukkaset pystytään laskemaan kohdistamalla laservalo näytevirtaan ja mittaamalla havaitut muutokset valodetektorilla. Tulokset yhdistämällä pystytään määrittämään näytteessä olevien hiukkasten lukumääräkokojakauma. Laitteen mittausalueeksi on ilmoitettu 2,5–150 nm.



## 6. Nanomateriaalien ympäristökohtalo

Nanohiukkasten kulkeutumiseen, biosaatavuuteen ja käyttäytymiseen ympäristössä vaikuttavat materiaalin fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksien lisäksi ympäristön olosuhteet. Keskeisiä tarkastelun kohteita tässä yhteydessä ovat nanohiukkasten agglomeroituminen, sedimentoituminen, liukeneminen ja muuntuminen:

**Aggregoituminen** tarkoittaa hiukkasten tarttumista toisiinsa, mikä pienentää hiukkasten lukumäärää ja yhteenlaskettua pinta-alaa sekä kasvattaa hiukkasten keskimääräistä kokoa. Aggregoituminen voi olla homogeenista, jolloin samaa nanomateriaalia olevat hiukkaset tarttuvat toisiinsa tai heterogeenista, jolloin toisiinsa tarttuvat hiukkaset ovat koostumukseltaan erilaisia. Hiukkaset voivat myös adsorboitua erilaisiin pintoihin (esim. eliöihin ja maaperähiukkasiin). Aggregoituminen on keskeinen ilmiö arvioitaessa hiukkasten ympäristökohtaloa, sillä se vaikuttaa hiukkasten reaktiivisuuteen, biosaatavuuteen ja toksisuuteen. Valmistettaessa nanohiukkasdispersioita hiukkaskoko pyritään stabiloimaan sähköisten varausten tai steerisen suojan avulla. Nanohiukkasten aggregoitumiseen vesissä vaikuttavat veden pH, ionipitoisuus ja koostumus sekä orgaaninen aines. Hiukkasten pintavaraus on riippuvainen liuoksen pH:sta ja nollavarauspisteensä lähellä hiukkaset tarttuvat toisiinsa hanakasti, sillä repulsiiviset voimat ovat vähäisiä ja vastakkaiset varaukset vetävät toisiaan puoleensa. Suolan lisäys voi lisätä veteen dispersoitujen nanohiukkasten stabilisuutta vahvistamalla hiukkasten ympärillä olevaa sähköistä kaksoiskerrosta ja lisäämällä näin ollen hiukkasten välisiä repulsiivisia voimia. Vahvemmissa suolaliuoksissa hiukkaset alkavat agglomeroitua. Synteettisten TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten on raportoitu agglomeroituvan voimakkaasti murtovesissä, kun taas vastaavat hiukkaset voivat pysyä stabiileina järvivesissä (Sillanpää ym. 2011). Ionien varausluku on myös merkittävä tekijä ja näin ollen monivarautuneita kationeja käytetään esimerkiksi vedenpuhdistuksessa saostuskemikaaleina. Steerisesti stabiloitujen hiukkasten kohdalla pH:n ja ionien vaikutus on oleellisesti vähäisempi. Veteen liuenut orgaaninen aines (natural organic matter, NOM) koostuu erilaisista isoista orgaanista yhdisteistä ja tästä johtuvan heterogeenisyyden takia NOM voi lisätä tai vähentää hiukkasten välistä vuorovaikutusta.

**Sedimentoituminen** on seurausta aggregoitumisesta, sillä hiukkaskoon kasvaessa gravitaation merkitys vahvistuu. Sedimentoitumisnopeus riippuu hiukkasen tilavuudesta ja muodosta sekä dispersoivan väliaineen tiheydestä. Sedimentoitumisnopeus vaikuttaa erityisesti nanohiukkasten leviämiseen ympäristöön. Erittäin voimakkaasti aggregoituvat hiukkaset laskeutuvat lähelle päästölähdettä, jossa ne todennäköisesti esiintyvät huomattavasti korkeammassa pitoisuudessa kuin laajemmalle leviävät nanohiukkaset. Sedimentoituneet hiukkaset voivat myöhemmin resuspendoitua. Jätevedenpuhdistamojen on raportoitu poistavan ainakin 95 % jäteveden sisältämistä synteettisistä nanohiukkasista (Duester ym. 2014).

**Liukoisuuden** avulla voidaan arvioida nanohiukkasten pysyvyyttä. Metallia sisältävien nanohiukkasten kohdalla liukeneminen tarkoittaa ionien vapautumista hiukkasesta (esim. hopea tai ZnO). Metallien liukoisuuden tiedetään kasvavan happamuuden lisääntyessä. Lisäksi hapen määrän on osoitettu vaikuttavan esimerkiksi hopean liukenemiseen hiukkasista. Puhtaat fullereenit ovat erittäin niukkaliukoisia veteen (esim. C<sub>60</sub> 1,3x10<sup>-11</sup> ja C<sub>70</sub> 1,3x10<sup>-10</sup> µg/l 25 °C:ssa; Heymann 1996). Sekoittamalla fullereenijauhetta veteen fullereenimolekyylit hydrofobisina yhdisteinä tarttuvat toisiinsa muodostaen hiukkasia. Nanohiukkasten kohdalla liukenemista ei pidä sekoittaa hiukkasten dispersoituvuuteen, jossa hiukkaset sekoittuvat nesteeseen muodostaen ns. hydrosolin.

**Kemiallinen muuntuminen** saattaa muuttaa nanohiukkasen hydrofiilisyyttä/hydrofobisuutta, reaktiivisuutta, biosaatavuutta ja toksisuutta. Aerobisissa olosuhteissa hopeananohiukkasten pinta hapettuu ja hiukkasista voi vapautua hopeaioneja, jotka voivat muodostaa kloridin kanssa inertin yhdisteen. Toisaalta anaerobisissa olosuhteissa hopeananohiukkasten on osoitettu sulfidoituvan johtaen erittäin inerttiin hopeasulfidiin. Puhtaiden fullereenien on osoitettu hapettuvat ympäristössä (Fortner ym. 2005), mutta mekanismia ei vielä tunneta tarkasti.

**Biologinen muuntuminen** on teoriassa mahdollista, mutta sitä ei ole toistaiseksi pystytty osoittamaan ympäristössä. Muuntumisen ohella siirtyminen ravinnon mukana ravintoketjussa ylöspäin on mahdollista kun saaliseläin tai kasvi on altistunut nanomateriaaleille. Vaikka monet nanomateriaalit eivät kulkeudukaan eläin- tai kasvisolujen sisään, tarttuvat ne helposti eliöiden pintaan ja voivat näin siirtyä eteenpäin (Li ym. 2013). Tämän ilmiön merkityksestä todellisissa ympäristöoloissa ei ole tarkempaa tietoa.

## 7. Ympäristövaaran arviointi

### 7.1 Yleistä vaaran ja riskien arvioinnista

Kemikaalien turvallisuutta arvioidaan REACH-asetuksen (EY N:o 1907/2006) mukaisilla menettelyillä. REACH-asetuksen tavoitteena on suojella ihmisten terveyttä ja ympäristöä kemikaalien aiheuttamilta riskeiltä. Riskiä arvioidaan aineiden vaaraominaisuuksien ja altistuspitoisuuksien perusteella. Vaaraominaisuudet voivat olla fysikaalis-kemiallisia (esim. räjähtävä, syttyvä) tai biologisia, jolloin ihmisten terveyteen tai ympäristöön voi kohdistua haittavaikutuksia. Vaaraominaisuuksia tutkitaan erilaisilla myrkyllisyystesteillä, joissa laboratorioissa vakio-olosuhteissa altistetaan koe-eliöitä (*in vivo*) tai koeyskiköitä (*in vitro*) tutkittavan aineen eri pitoisuuksille ja tehdään havainnot vaikutuksista tietyn ajan kuluessa. Kemikaalitestauksessa pyritään käyttämään OECD:n laatimia testiohjeita tai muita vakiintuneita menetelmiä. Laboratoriomenetelmillä tavoitellaan mahdollisimman luotettavaa ja häiriötöntä tietoa yksittäisen kemikaalin vaaraominaisuuksista. Testiolosuhteet on tarkkaan säädelty, eivätkä ne luonnollisesti vastaa alati muuttuvia ympäristöolosuhteita, mutta niillä saadaan tavallisesti riittävä varmuus potentiaalisesta riskistä edellyttäen että ympäristöpitoisuuksista on myös arvio (tai mieluummin mitattua tietoa) käytettävissä.

**VAARA + ALTISTUS = RISKI**

Nanomateriaalien testaamiseen voidaan periaatteessa käyttää samoja menetelmiä kuin tavanomaisten kemiakaalien testaamisessa, mutta pitoisuuksien määrittämiseen ja hiukkasten pysyvyyteen altistustilanteessa on kiinnitettävä erityistä huomiota. Tulosten vertailua varten tutkittavien hiukkasten ominaisuudet (pitoisuus, kokojakauma, pinta-ala, pintavaraukset jne; ks. luku 5) tulisi kuvata testitulosten yhteydessä mahdollisimman tarkasti. Varsinkin varhaisemmissa julkaisuissa on näiden suhteen paljon puutteita. Useimpien hiukkasten taipumus aggregoitumiseen testiolosuhteissa vaikeuttaa altistuspitoisuuden säilyttämistä haluttuna koko testin ajan. Testiolosuhteita joudutaan tämän vuoksi usein sopeuttamaan niin että aggregoituminen on vähäistä, mutta testieliöt voivat edelleen hyvin. Esimerkiksi vesiliuosten ionivahvuus ja pH sekä hiukkasten pitoisuus vaikuttavat merkittävästi hiukkasten aggregoitumiseen. Hiukkaspitoisuuksien analysointi altistuksen aikana ja etenkin pienten pitoisuuksien havaitseminen on vaikeata käytettävissä olevilla menetelmillä. Olosuhteet eivät laboratorioissa tietenkään ole samat kuin luonnossa, missä nanohiukkaset ovat vain yksi tekijä monien muuttujien ja eliöille stressiä aiheuttavien tekijöiden joukossa. Vedenlaatutekijöiden aiheuttamaa ongelmaa on pyritty tutkimaan käyttämällä testeissä luonnonvesinäytteitä, joihin on lisätty kyseiset aineet ja mahdollisesti säädelty ionivahvuus ja pH eliöille sopivaksi.

Useita avoimia kysymyksiä liittyy edelleen nanomateriaalien mahdolliseen myrkyllisyyteen ja ympäristöriskeihin. Ei tiedetä onko hiukkasten koko ratkaiseva tekijä ja onko vaikutusmekanismi liuenneella aineella erilainen kuin saman aineen nanokokoisella materiaalilla. Päästöistä ympäristöön, ympäristöpitoisuuksista, hiukkasten pysyvyydestä ja kulkeutumisesta on toistaiseksi hyvin vähän tietoa. Altistumisen ja ympäristöriskien arviointi on näin ollen vielä vaikeata. Ympäristössä eliöt altistuvat lukemattomille eri haitta-aineille samanaikaisesti eikä ole selvää, mikä merkitys teollisesti valmistetuilla nanomateriaaleilla tässä kokonaisuudessa lopulta tulee olemaan.

Seuraavissa luvuissa käsitellään tunnetuimpien nanomateriaalien myrkyllisyystutkimusten tuloksia yksityiskohtaisemmin. Jokaisen ryhmän lopussa on lyhyt yhteenveto.

## 7.2 Sinkkioksidi

Sinkkioksidin nanohiukkasilla on useita mahdollisia vaikutustapoja eliöihin. Sinkkiä voi liueta hiukkaskasista, jolloin vaikutukset ovat samoja kuin sinkki-ionien aiheuttamat. Nanohiukkaset voivat aiheuttaa happiradikaalien muodostumista, ne voivat muuttua valon vaikutuksesta haitallisiksi (foto-induced toxicity), tai hiukkaset voivat suoraan haitata biologisia toimintoja (Ma ym. 2013). Sinkki on tunnetusti välttämätön alkuaine eliöille mutta korkeina pitoisuuksina myrkyllinen.

Nanokokoinen sinkkioksidi estää **bakteerien** kasvua. Vertailtaessa eri metallioksidien, MgO, TiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CuO ja CeO, nanokokoisten aineiden vaikutuksia bakteereihin, oli sinkkioksidi tehokkain (Jones ym. 2008). Teho on joidenkin tutkimusten mukaan riippuvainen tutkitusta materiaalista, hiukkaskoosta, bakteerilajista ja käytetystä menetelmästä. Yleisesti ottaen tulokset ovat suuresti vaihtelevia, mutta ympäristössä esiintyvien tärkeiden hajottajabakteerien kasvun perusteella lasketut IC50-arvot (50 % inhibition aiheuttava pitoisuus) ovat olleet suurin piirtein 1 mg/l (Ma ym. 2013). Maaperän bakteeriyhteisöjen toiminnassa on myös havaittu pitkäaikaisissa kokeissa toiminnallisia häiriöitä kuten entsyymiaktiivisuuksien inhiboimista (Du ym. 2011) ja haitallisia muutoksia bakteeriyhteisön rakenteessa (Ge ym. 2011).

Sinkkioksidin nanohiukkasten vaikutuksia **viherväen** on tutkittu *Pseudokirchneriella subcapitata* -lajilla. Sinkkisuolalla ja ZnO-NP:lla olivat väen kasvun EC50-arvot keskenään samaa luokkaa kahdessa erillisessä tutkimuksessa. Aruoja ym. 2009 julkaisemassa tutkimuksessa 0,04 mg/l ja Franklin ym. (2007) julkaisemassa tutkimuksessa noin 0,06 mg/l. Johtopäätös näistä tuloksista on siis, että nanohiukkasten toksisuus johtuu sinkki-ionien liukenemisestä. Samanlaiseen johtopäätökseen on tultu muillakin eliöillä. Esimerkiksi *Daphnia magna* -**vesikirpun** akuutin 48 h testin aikana sinkki oli liennut ZnO hiukkasista lähes kokonaan ja se aiheutti suurimman osan toksisuudesta LC50-arvojen vaihdella 0,76 ja 1,32 mg Zn/l välillä (Wiench ym. 2009; Adam ym. 2014; Lopes ym. 2014). Kasvussa ja lisääntymisessä ei ollut eroja hiukkasille ja liuenneelle sinkille altistettujen eläinten välillä. Mielenkiintoista on, että syöntiaktiivisuus aleni pienten 30 nm hiukkasten läsnä ollessa verrattuna 80–100 nm, yli 200 nm kokoisiin hiukkasiin tai liuenneeseen sinkkiin (Lopes ym. 2014).

**Seeprakalojen** mädillä ja alkioidilla tehdyissä kokeissa on nanosinkkioksidilla havaittu monia haitallisia vaikutuksia kuten kuolevuutta, kuoriutumisen viivästyminen, epämuodostumia, DNA-vaurioita, muutoksia happiradikaaleihin liittyvissä entsyymiaktiivisuuksissa ja oksidatiivista stressiä (Zhu ym. 2009; Bai ym. 2010; Xiong ym. 2011; Zhao ym. 2013). Toisessa tutkimuksessa (Zhu ym. 2008) LC50-arvo oli 1,793 mg/l, kun toisessa kuolevuutta esiintyi vasta korkeissa pitoisuuksissa 50–100 mg/l (Bai ym. 2010). Jälkimmäisessä työssä osoitettiin, etteivät haittavaikutukset johtuneet pelkästään nanohiukkasista liuenneesta sinkistä. Korkeassa pitoisuudessa (50 mg/l) kasvatetuissa **karpeissa** todettiin samantapaisia muutoksia kuin seeprakaloissa, ja 30 päivän jälkeen tutkituissa kudoksenäytteissä nähtiin merkittäviä solumuutoksia. Muutoksia oli myös liuenneelle sinkille altistetuissa kaloissa, mutta niitä oli merkittävästi vähemmän. Karppien aivoihin kerääntyi sinkkiä nanomuotoiselle sinkkioksidille altistuneissa kaloissa, mutta tavanomaiselle sinkkioksidille altistuneissa ei näin käynyt (Hao ym. 2013).

Nanosinkkioksidin pitoisuuksista ympäristössä ei ole mittaustietoja, mutta mallinnetut pitoisuudet ovat huomattavasti pienempiä kuin vaikuttavat pitoisuudet edellä kuvatuissa laboratoriotesteissä. Mallintamalla laskettu pitoisuus (moodi) puhdistetussa jätevedessä oli 0,432 µg/l ja pintavedessä 0,010 µg/l (Gottschalk ym. 2009). Pintavesissä on arvioitu, ettei riskiä aiheutuisi vielä 10 µg/l pitoisuudessakaan (Gottschalk ym. 2013).

Nanosinkkioksidin vaikutuksista **siemenkasveihin** on joitakin tutkimuksia. Lajeina on käytetty ravintotai rehukasveja kuten retiisiä, rapsia, raiheinää, lehtisalaattia, maissia, kurkkua, papua ja vehnää. Erittäin korkeilla pitoisuuksilla saattaa olla siementen itämistä tai kasvien kasvua haittaavia vaikutuksia (Ma ym. 2013). Kun soijapapua kasvatettiin 8–9 viikkoa kasvihuoneessa pitoisuuksissa 50 ja 500 mg ZnO/kg, oli kasveissa vaurioita alemmassakin pitoisuudessa. Korkeammassa pitoisuudessa ei siemeniä valmistunut lainkaan (Yoon ym. 2014). Hiukkasten siirtymisestä kasvukudokseen on ristiriitaisia tietoja ja joidenkin tietojen mukaan hiukkaset voisivat siirtyä juurien kautta kasveihin ja jakautua eri osiin, mutta valtaosa tuloksista näyttää viittaavan siihen, että itse partikkelit eivät siirtyisi kasveihin vaan vain niistä liennut sinkki (Miralles ym. 2012). ZnO-nanohiukkaset voivat myös vaikuttaa sekä kasvien ent-

syymiaktiivisuuteen että maamikrobeihin (Kim ym. 2013) ja maaentsyymeihin (Du ym. 2011; Hu ym. 2014). Kaiken kaikkiaan koeasetelmilla on ollut ilmeisen suuri vaikutus tuloksiin samoin kuin sillä, että eri kasvilajit voivat reagoida eri tavoin.

Maaperän **selkärangattomilla eläimillä** tehdyissä tutkimuksissa verrattiin sinkkikloridin ja nanomuotoisen ZnO:n vaikutuksia luonnonmaanäynteissä eri pH-arvoissa (Waalewijn-Kool ym 2013, Heggelund ym. 2014). Kummassakaan työssä ei voitu osoittaa, että ZnO-nanohiukkasten ja sinkkikloridin vaikutukset olisivat erilaisia. Liuennut sinkki on todennäköinen toksisuuden aiheuttaja, mutta sinkin kemialliset reaktiot maassa ovat monimutkaisia. Lieroilla (*Eisenia fetida*) sinkin toksisuus oli samanlaista, oli se lähtöisin nanohiukkasista tai sinkkisuolasta, eikä nanospesifisiä vaikutuksia havaittu lisääntymiskokeissa. Sinkkipitoisuudet olivat korkeampia nanohiukkasille altistetuissa eläimissä (Heggelund ym. 2014).

Sinkkikloridin sekä 30 ja 200 nm kokoisten ZnO-nanohiukkasten vaikutuksia maaperässä on tutkittu myös hyppyhäntäisillä (*Folsomia candida*) (Waalewijn-Kool ym. 2013). Eläinten kuolevuuteen ei ZnO-nanohiukkasilla ollut vaikutusta, mutta poikastuotto väheni pitoisuuden kasvaessa kaikilla tutkituilla sinkkiyhdisteillä. EC50-arvot yksikössä mg Zn/kg olivat sinkkioksidille 30 nm hiukkasille 553, 200 nm hiukkasille 889 ja ZnCl<sub>2</sub>:lle 331. Kun verrattiin näissä kokeissa huokosveden sinkkipitoisuutta, oli se ZnCl<sub>2</sub>:ia sisältävässä maassa kaikkein suurin. Mutta merkittävää oli että kalsiumpitoisuus huokosvedessä oli noin 10 kertaa suurempi sinkkikloridia sisältäneessä maassa kuin ZnO-nanohiukkasia sisältäneessä maassa, mistä pääteltiin, että ero johtui kalsiumin suojavaikutuksesta eikä nanohiukkasten suuremmasta myrkyllisyydestä (Waalewijn-Kool ym. 2013). Kalsiumin tiedetään kilpailevan sinkin kanssa soluun kulkeutumisessa ja biologisista sitoutumispaikoista. Tämä osoittaa miten oleellista tulosten tulkinnassa on ottaa huomioon tutkimusasetelma kokonaisuudessaan.

#### **ZnO - nanohiukkaset**

- **haittavaikutukset johtuvat pääosin tai kokonaan hiukkasista liuenneesta sinkistä sekä maa- että vesiympäristössä**
- **altistuskokeet on tehty korkeissa pitoisuuksissa**
- **hiukkasten soluun kulkeutumisesta ristiriitaisia tuloksia**
- **vaikutusmekanismeja: hiukkasten toimiminen kuljettimena ja liukoisen sinkin lähteenä, haitallisten happiradikaalien muodostuminen**

### **7.3 Titaanidioksidi**

Titaanidioksidin nanohiukkasten vaikutuksia on tutkittu erityisesti vesieliöillä (levä, vesikirput, kalat), jonkin verran sedimentti- ja maaperäeläimillä sekä kasveilla. Vaikka nanotitaanidioksidin biologisia vaikutuksia on tutkittu varmaankin eniten, tulosten tulkintaa ja yhteenvedon tekemistä vaikeuttavat edelleen menetelmälliset vaihtelut ja nanohiukkasten puutteellinen karakterisointi sekä epäselvyys vaikutusmekanismista. Julkaistuissa artikkeleissa altistusliuosten ja dispersioiden valmistustapoja ei aina ole kuvattu selkeästi, ja usein on ollut vaikea osoittaa, että hiukkasten olisivat säilyneet halutun kokoisina altistuksen aikana (Menard ym. 2011). TiO<sub>2</sub>-nanohiukkastutkimuksille on tyypillistä, että altistuspitoisuudet ovat erittäin korkeita, jopa useita satoja milligrammoja litrassa. Vasta aivan viime aikoina on julkaistu tuloksia alhaisemmissa pitoisuuksissa tehdyistä kokeista ja samalla altistusajat ovat olleet pitempiä kuin akuuteissa testeissä. Usein esitettyä ajatusta, että erikokoisilla hiukkasilla olisi erilainen vaikutus, ei ole kyetty yksiselitteisesti vahvistamaan kokeellisissa tutkimuksissa (Menard ym. 2011). Kiderakenteella saattaa olla jonkin verran vaikutusta toksisuuteen, mutta koejärjestelyjen merkitys on olennainen (vesikirppukoe Seitz ym. 2013) (taulukko 6).

Nanotitaanidioksidin on todettu olevan myrkyllisempää *Pseudokirchneriella subcapitata* **-viherlevälle** kuin ei-nanomuotoisen titaanidioksidin. Erään tutkimuksen mukaan ei-nanomuotoisen titaanidioksidin

EC50-arvo oli 35,9 mg/l ja nanomuotoisen 5,83 mg/l (Aruoja ym. 2007). Kun nanokokoisien titaanidioksidin vaikutuksia tutkittiin 10 eri levälajin kasvuun ja biomassan tuottoon, oli tulos hyvin erilainen levälajista riippuen: toisilla kasvu väheni kun se toisilla lisääntyi ja levien yhteenlaskettu biomassa lisääntyi (Kulacki ja Cardinale, 2012).

Taulukko 6. TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten toksisuustuloksia *Daphnia magna* -vesikirpun akuuteista testeistä.

| Testiaine, kiderakenne  | Hiukkaskoko*  | Testiaika, tulos  | Viite                           |
|---|---|---|---------------------------------|
| <b>anataasi; päällystämätön</b>   | 10 nm   | 48 h EC50 7,75 mg/l<br>LOEC** 4,6 mg/l  | Das ym.<br>2013                 |
| <b>polyakrylaattipäällyste</b>  | 10 nm   | ei vaikutusta < 30 mg/l   |                                 |
|   | 21 nm   | 48 h EC50 > 100 mg/l  | Zhu ym.<br>2010                 |
| <b>80/20 anataasi/rutiili</b>   | testiliuoksessa<br>580 – 3528 nm (1<br>- 24 h kuluttua<br>NP lisäyksestä) | 72 h EC50 2,02 mg/l   |                                 |
| <b>70/30 anataasi/ rutiili</b>  | 40 nm   | 48 h EC50 >10 mg/l  | Kim ym.<br>2010                 |
| <b>70/30 anataasi/ rutiili,<br/>päällystämätön</b>  | 20 – 30 nm  | 48 h EC50 > 100 mg/l  | Wiench ym.<br>2009              |
| <b>rutiili, kolme eri<br/>päällystettä, joissa mm.<br/>alumiinihydroksidia,<br/>silikaa ja silikoni-<br/>johdannaisia</b> | 50 nm   | 48 h EC50 > 100 mg/l  | Wiench ym .<br>2009             |
| <b>kiderakennetta ei<br/>ilmoitettu</b>   | 30 nm<br>keskimäärin,<br>suodatettu                                       | 48 h EC50 5,5 mg/l  | Lovern ja<br>Klaper,<br>2006    |
|   | 100 -500 nm<br>sonikoitu  | 48 h EC50 > 10 mg/l   |                                 |
| <b>anataasi (pääosin)</b>   | 25 nm   | 0 – 48 % vaikutus   | Hund-Rinke<br>ja Simon,<br>2006 |
| <b>100 % anataasi</b>   | 100 nm  | 0 – 30 % vaikutus<br>ei annosvastetta kummal-<br>lakaan aineella välillä<br>1- 3 mg/l |                                 |

\* hiukkaskoko tarkoittaa valmistajan ilmoittamaa kokoa, testiolosuhteissa mitattu koko on mainittu erikseen, jos se on ilmoitettu.

\*\* Alhaisin pitoisuus, joka aiheuttaa haittavaikutuksia.

Nanokokoisella titaanidioksidilla ei todettu toksisia vaikutuksia *Lemna minor* -vesikasville 5 mg/L konsentraatiossa kahden viikon aikana (Li ym. 2013). Nanokokoisien titaanidioksidin on todettu aiheuttavan genotoksisia vaikutuksia sipulille (*Allium cepa*) ja tupakalle (*Nicotiana tabacum*) korkeilla pitoisuuksilla. Nanokoon titaanidioksidi aiheutti DNA-vaurioita ja lipidiperoksidaatiota sipulin juuressa 319 mg/l pitoisuudessa ja tupakalla DNA-vaurioita havaittiin 157 mg/l pitoisuudessa (Ghosh ym. 2010).

Vesifaasissa (100 mg/l pitoisuudessa) tehdyissä vehnän itävyys- ja juurenkasvukokeissa havaittiin, että alle 140 nm hiukkaset kertyvät juuriin ja että alle 36 nm hiukkaset siirtyvät lehtiin jossain määrin. Pienet 14–22 nm hiukkaset edistivät juuren kasvua, mutta mitkään hiukkaset eivät haitanneet itävyyttä, kasvua, fotosynteesiä tai redox-tasapainoa (Larue ym. 2012). Toisaalta, kun TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasia, lisättiin viljelymaahan, johon kahden kuukauden kuluttua lisäyksestä kylvettiin vehnää, väheni biomassan tuotto noin 14 % (Du ym. 2011). Samassa tutkimuksessa todettiin joidenkin entsyymiaktiivisuuksien vähentyneen. Tulokset ovat näissä tutkimuksissa keskenään ristiriitaisia. Monien nanomateriaalien toksisuustutkimustulosten ristiriitaisuus todettiin myös muun muassa vuonna 2012 julkaistussa kokooma-

artikkelissa, jossa käsiteltiin teollisesti valmistettujen nanohiukkasten myrkyllisyyttä, soluun ottoa ja kulkeutumista putkilokasvien eri osiin (Miralles ym. 2012).

Suuri osa toksisuustesteistä on tehty **vesieliöillä**, tavallisimmin *Daphnia magna* -vesikirpuilla. Tämän lajin standarditestissä (ISO 6341, OECD TG 202) on testiveden ionivahvuus niin korkea, että TiO<sub>2</sub>-nanohiukkaset pyrkivät aggregoitumaan nopeasti. Tämä on syytä ottaa huomioon tulosten arvioinnissa ja yhteenvetoja tehtäessä. Taulukkoon 6 on kerätty tuloksia *D. magnan* akuuteista testeistä. Tutkitun aineen kiderakenne, mahdollinen päällyste, dispersion valmistusmenetelmä ja muut testikäytäntöjen erilaisuus ovat vaikuttaneet tulosten vertailukelpoisuuteen. Useimmissa tutkimuksissa akuutit vaikutukset ovat olleet vähäisiä 10 tai jopa 100 mg/l pitoisuuksissa ja alhaisimmat EC50-arvot ovat olleet tasolla muutama mg/l.

Lisääntymistesteissä on TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten eri valmisteilla todettu vain hyvin vähäisiä vaikutuksia, kun seurataan poikasten lukumäärää standardimenetelmän mukaan (Wiench ym. 2009) (taulukko 7). TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten vaikutukset eivät välttämättä tule esiin klassisilla mittareilla (kuolevuus, kasvu, lisääntyminen). Ekologisesti merkittäviä seurauksia voivat olla uintikäyttäytymisen muutokset, muutokset ruuan saatavuudessa tai muussa vastaavassa. Levä saattaa tarttua aggregoituneisiin TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasiin aiheuttaen sedimentoitumista, mistä johtuen ruokaa on vähemmän saatavilla ja mistä edelleen seuraa poikastuoton väheneminen (Campos ym. 2013). Vesikirppujen kuoren vaihtamisen havaittiin muuttuneen jo 96 tunnin altistamisen jälkeen 2 mg/l pitoisuudessa ilmeisesti sen vuoksi, että nanohiukkaset kertyivät eläinten pinnalle (Dabrunz ym. 2012) Myös pitkäaikaiskokeista saadut tulokset viivästyneistä vaikutuksista voivat osoittautua merkittäviksi. Kun läpivirtaustestissä altistettiin vesikirppuja 21 päivän ajan, ei poikastuotossa ollut eroja kontrollien ja 0,02 ja 2 mg/l pitoisuuksissa. Mutta testin jälkipuolella syntyneet poikaset olivat noin 5 kertaa herkempiä akuuteille (96 h) vaikutuksille kuin testin alkupuolella syntyneet tai kontrollit. Vaikutukset näkyvät 2 mg/l pitoisuudessa altistettujen emojen poikasille toisella tutkituista valmisteista (TiO<sub>2</sub>-nanohiukkanen, P25, Evonik) ja toisella (TiO<sub>2</sub>-nanohiukkanen, A-100, Crenox) ne näkyivät jo 0,02 mg/l pitoisuudessa altistettujen emojen poikasilla, joskin ero oli tällöin vain noin kolminkertainen (Bundschuh ym. 2012). Voi siis odottaa, että menetelmäkehityksen myötä tutkimuksia voidaan tehdä entistä pienemmillä pitoisuuksilla ja tekemällä havainnot, joita ei standarditesteissä yleensä tehdä.

Titaanidioksidin ei aikaisemmissa tutkimuksissa todettu olevan myrkyllistä **seeprakalojen alkioille** tai **poikasille** nanomuotoisena tai bulkkimuotoisena (esim. Zhu, 2008). Myöhemmin on julkaistu tuloksia, joissa toksisuutta havaittiin, mutta vasta erittäin korkeilla pitoisuuksilla LC50-arvon ollessa 124,5 mg/l 96 h alkioiden kuolevuuskokeessa (Xiong ym. 2011). Seeprakalojen alkioiden altistuessa eri valaistus

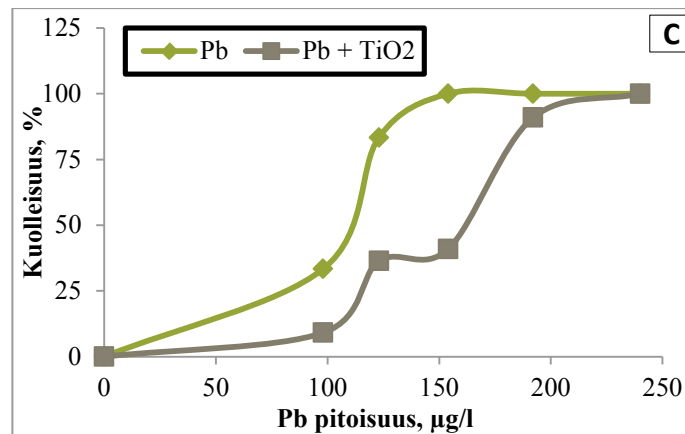
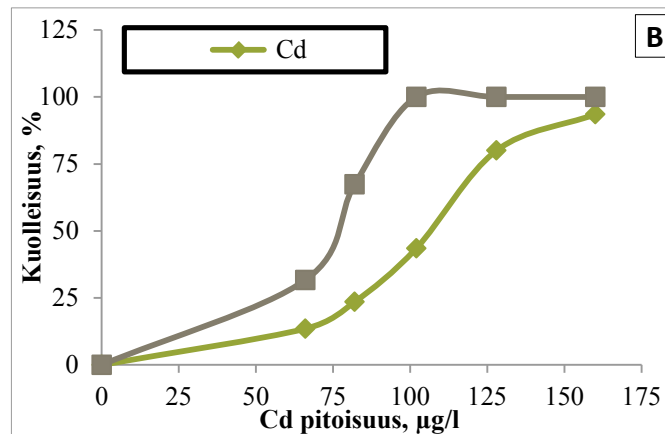
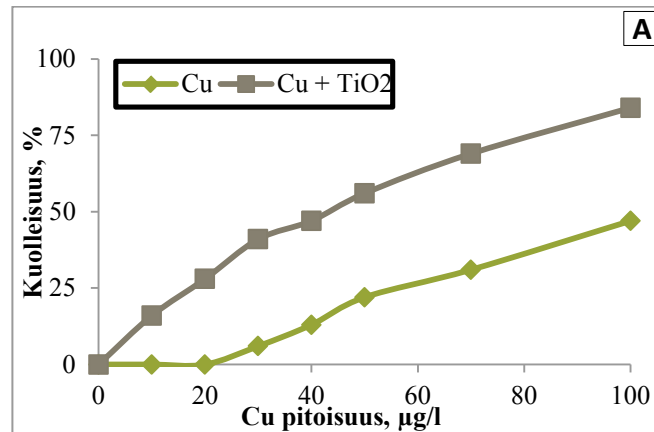
Taulukko 7. TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten toksisuustuloksia *Daphnia magna* -vesikirpun pitkäaikaisista toksisuustesteistä.

| Testiaine, kiderakenne  | Hiukkaskoko*  | Testiaika, tulos  | Viite                           |
|---|---|---|---------------------------------|
| <b>anataasi; päällystämätön</b>   | 10 nm   | 48 h EC50 7,75 mg/l<br>LOEC** 4,6 mg/l  | Das ym.<br>2013                 |
| <b>polyakrylaattipäällyste</b>  | 10 nm   | ei vaikutusta < 30 mg/l   |                                 |
|   | 21 nm   | 48 h EC50 > 100 mg/l  | Zhu ym.<br>2010                 |
| <b>80/20 anataasi/rutiili</b>   | testiliuoksessa<br>580 – 3528 nm (1<br>- 24 h kuluttua<br>NP lisäyksestä) | 72 h EC50 2,02 mg/l   |                                 |
| <b>70/30 anataasi/ rutiili</b>  | 40 nm   | 48 h EC50 >10 mg/l  | Kim ym.<br>2010                 |
| <b>70/30 anataasi/ rutiili,<br/>päällystämätön</b>  | 20 – 30 nm  | 48 h EC50 > 100 mg/l  | Wiench ym.<br>2009              |
| <b>rutiili, kolme eri<br/>päällystettä, joissa mm.<br/>alumiinihydroksidia,<br/>silikaa ja silikoni-<br/>johdannaisia</b> | 50 nm   | 48 h EC50 > 100 mg/l  | Wiench ym .<br>2009             |
| <b>kiderakennetta ei<br/>ilmoitettu</b>   | 30 nm<br>keskimäärin,<br>suodatettu                                       | 48 h EC50 5,5 mg/l  | Lovern ja<br>Klaper,<br>2006    |
|   | 100 -500 nm<br>sonikoitu  | 48 h EC50 > 10 mg/l   |                                 |
| <b>anataasi (pääosin)</b>   | 25 nm   | 0 – 48 % vaikutus   | Hund-Rinke<br>ja Simon,<br>2006 |
| <b>100 % anataasi</b>   | 100 nm  | 0 – 30 % vaikutus<br>ei annosvastetta kummal-<br>lakaan aineella välillä<br>1- 3 mg/l |                                 |

olosuhteissa (UV tai UV ja näkyvä valo yhdessä) TiO<sub>2</sub>-NP:ille todettiin poikasten kuoriutuvan aikaisemmin. Eri kidemuotojen välillä oli erojen siten, että anataasin ja rutiilin seos vaikutti UV-valossa voimakkaammin kuin pelkkä anataasi (Clemente ym. 2014).

Nanotitaanidioksidin **kertyvyys kaloihin** näyttää oleva lajista riippuvainen, sillä sen on todettu kertyvän karppien kudoksiin (Zhang ym. 2007) mutta ei kirjolohen kudoksiin (Federici, ym. 2007). Nanotitaanidioksidin ja kadmiumin yhteisvaikutuksia on tutkittu altistamalla karpeja 25 päivän ajan 100 µg Cd/l ja 10 mg nano-TiO<sub>2</sub>/l (Zhang ym. 2007). Nanotitaanidioksidi sitoi nopeasti kadmiumia niin, että liuenneen kadmiumin määrä oli noin kolmasosa verrattuna veteen, johon oli lisätty sama määrä kadmiumia ilman nano-TiO<sub>2</sub>. Kadmiumia kuitenkin kertyi kalan sisäelimiin ja kiduksiin enemmän silloin kun nano-TiO<sub>2</sub> oli läsnä. Kokeen lopussa kadmiumin pitoisuus kudoksissa oli noussut arvoon 22,3 µg/g kun se alussa oli ollut 9,07 µg/g. Titaanin pitoisuus kudoksissa oli 3,39 mg/g (koko kala). Eniten titaania ja kadmiumia kerääntyi kalojen sisäelimiin ja kiduksiin. Samat tutkijat tekivät vastaavan kokeen nanotitaanidioksidin ja arseenin kanssa samansuuntaisin tuloksin, eli titaanidioksidin läsnä ollessa arseenia kertyi kalaan enemmän kuin ilman titaanidioksidia. Tässäkin kokeessa kalojen titaanipitoisuudeksi mitattiin erittäin korkea arvo (4,95 mg/g; Sun ym. 2007). Päinvastaisia tuloksia kertyvyydestä eliöihin on saatu myöhemmin tutkittaessa kadmiumin kertymistä *Chlamydomonas reinhardtii* -viherlevään nanotitaanidioksidin läsnä ollessa (Yang ym. 2012). Tutkimuksessa ei havaittu titaanin kertyneen leviin. Syyinä tähän arveltiin olevan kadmiumin adsorption nanotitaanidioksidisiin.





Kuva 4. Raskasmetallien ja TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten yhteisvaikutuksia *Daphnia magna* -vesikirpputestissä. Kuparialistukset kestivät kolme päivää (A; Fan ym. 2012) ja kadmium- ja lyijyaltistukset kaksi päivää (B ja C; Li ym. julkaisematon). Kaikissa kokeissa TiO<sub>2</sub>-nanohiukkaspitoisuus oli vakio (2 mg/l).

Raskasmetallien ja TiO<sub>2</sub>-NP:ien yhteisvaikutuksia on tutkittu myös vesikirpuilla. Kun TiO<sub>2</sub>-NP pitoisuus pidettiin vakiona (2 mg/l) ja kuparipitoisuutta lisättiin, kuolivat vesikirput pienemmissä pitoisuuksissa kuin pelkän kuparin läsnä ollessa (Fan ym. 2012) (kuva 4). Samansuuntainen tulos saatiin kadmiumilla kahden päivän kokeessa, mutta lyijyn toksisuutta TiO<sub>2</sub>-NP:ien läsnäolo vähensi (Li ym. julkaisematon, kuva 4). Näiden tulosten mukaan nanomateriaalit voivat joko tehostaa tai lieventää toisten aineiden vaikutuksia johtuen syistä, joita ei vielä tunneta.

Mallinnettu TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten pitoisuus (moodi) luonnonvesissä on 21 ng/l ja puhdistetussa jätevedessä 4 µg/l (Gottschalk ym. 2009). Jätevedenpuhdistamolle tulevasta jätevedestä poistuu vähintään 96 % sinne tulevasta titaanista ja titaanipitoisuudet puhdistetussa jätevedessä olivat alle 25 µg/l kymmenessä tutkitussa puhdistamossa (Westerhoff ym. 2011). Kaikki tästä titaanista ei ole peräisin nanomateriaalista, mutta puhdistetussakin jätevedessä on osoitettu olevan 4–30 nm TiO<sub>x</sub>-partikkeleita (Westerhoff ym. 2011). Edellä esitetyissä laboratoriokokeissa on käytetty selvästi suurempia pitoisuuksia (useimmiten suuruusluokkana mg/l) ilman merkittävää toksisuutta, joten akuutteja vaikutuksia ympäristön eliöihin ei pitäisi olla odotettavissa nykyisillä TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten käyttömäärillä (Gottschalk ym. 2013). Pitkäaikaisvaikutuksista tarvitaan lisää tietoa. TiO<sub>2</sub>-nanohiukkasten sedimentoituminen ja kulkeutuminen luonnonvesissä säätelevät sitä, mitkä eliöt voivat altistua (Ottofülling ym. 2011).

#### **TiO<sub>2</sub>-nanohiukkaset**

- **laboratorioaltistukset tehty korkeissa pitoisuuksissa, aggregoitumista testiolosuhteissa ei ole aina otettu huomioon**
- **pH, ionivahvuus, orgaanisen aineksen määrä, sekä Ca<sup>2+</sup> ja Mg<sup>2+</sup> vesiympäristössä tärkeitä aggregoitumisen, sedimentoitumisen ja altistumisen säätelijöitä luonnonoloissa**
- **pitävää näyttöä hiukkaskoon tai päällysteen merkityksestä haittaominaisuuksiin ei ole saatu**
- **vaikutusmekanismi: happiradikaalien muodostuminen ja niiden seurauksena vaurioita solutasolla**

## **7.4 Hiiliyhdisteet**

### **7.4.1 Fullereenit**

Fullereenien (C<sub>60</sub>) niukkaliukoisuus ja pysyvyys/muuntuminen vesiliuoksissa asettaa ekotoksikologiselle tutkimukselle ja testaukselle monia haasteita. Jos liukoisuutta pyritään keinotekoisesti lisäämään, tulisi kyetä varmistamaan, ettei itse tutkittava materiaali ole muuttunut käsittelyn aikana tai että havaitut vasteet eivät johdu mahdollisesti käytetyistä liuottimista (Pycke ym, 2012). Tetrahydorifuraaniin (THF) liuotetuilla fullereeneilla tehdyistä kokeista on julkaistu kiistanalaisia tuloksia, jotka on myöhemmin kumottu (Petersen ja Henry 2012). Koska liuottimien tai muuten voimakkaiden käsittelyjen käyttöön liittyy näitä epävarmuuksia, on seuraavassa koottu tuloksia vain sellaisista kokeista, joissa fullereenit on dispersoitu veteen sekoittamalla.

Sekoitusta voidaan pitää ekotoksisuustesteihin soveltuvana tapana valmistaa altistusliuokset (Oberdörster ym. 2006), vaikka vedessäkin fullereenien pinta todennäköisesti osittain hydroksyloituu (Fortner ym. 2005). Fullereenin (C<sub>60</sub>) vaikutuksia on tutkittu mittaamalla **surviaissääsken** (*Chironomus riparius*) toukkien kasvua ja kehitystä keinosedimentissä. Fullereenin läsnä ollessa toukat kehittyivät hitaammin, niiden pääosat ja ruumiin pituus olivat keskimäärin pienempiä kuin kontrolleilla. Kun ruuan määrää lisättiin ohjeen (OECD:n testiohje 218) suosittlemasta 0,5 prosentista 0,8 prosenttiin, vaikutukset vähenivät. (Waissi-Leinonen ym. 2012). **Harvasukasmadolle** (*Lumbricus variegatus*) fullereenien (C<sub>60</sub>) sisältävä sedimentti (pitoisuus 10 ja 50 mg/kg) ei aiheuttanut kuolleisuutta eikä vaikuttanut lisääntymiseen 28 päivän aikana. Sen sijaan syömisaktiivisuus aleni jonkin verran kummassakin pitoisuudessa. Fullereeni ei ollut tunkeutunut suolen epiteelisolujen sisään, mutta suolen pinnassa havaitut vauriot suuremmassa pitoisuudessa viittasivat siihen, että eläimet saattaisivat herkistyä muille aineille (Pakarinen ym, 2011).

**Vesikirpuput** (*Daphnia magna*) keräsivät fullereenia vedestä ja osa eläimistä kuoli 2 mg/l pitoisuudessa 48 tunnin aikana, mutta kuolevuus ei ylittänyt 50 %. LC50-arvoa ei sen vuoksi voitu laskea (Oberdörster ym. 2006). Luonnonveteen sekoitettuna fullereeni C<sub>60</sub> ei myöskään näytä olevan vesikirpulle akuu-

tisti toksinen. Veden laatu ja varsinkin liuenneen orgaanisen aineen laatu voi aiheuttaa muutoksia fullereenin pysyvyydessä (Pakarinen ym. 2013). Pitkäaikaiskokeessa vesikirppujen lisääntymiskokeessa 40 % eläimistä kuoli kokeen 5 ensimmäisen päivän aikana, kun pitoisuus oli 2,5 tai 5 mg/l. Siihen asti hengissä säilyneet lisääntyivät kokeen loppuajan normaalisti. Yhteenlaskettu poikasmäärä kokeen lopussa oli näissä pitoisuuksissa pienempi kuin kontrolleissa, mikä populaatiotasolla voi olla merkittävää (Oberdörster ym. 2006). Toisella **äyriäisellä** (*Hyallorella azteca*) tehdyissä testeissä ei toksisuutta esiintynyt 96 h kokeen aikana suurimmassakaan pitoisuudessa (7 mg/l), eikä kalakokeessa medakalla (*Oryzias latipes*) 0,5 mg/l pitoisuudessa (Oberdörster ym. 2006). Rasvojen aineenvaihduntaan liittyviä biokemiallisia muutoksia sen sijaan havaittiin rasvapäämudulla (*Pimephales promelas*) mutta ei medakalla (Oberdörster ym. 2006).

Fullereenien pitoisuudet ympäristössä eivät todennäköisesti yllä vesieliöiden testeissä käytettyihin ja akuutteja haittavaikutuksia aiheuttaviin pitoisuuksiin. Pitkäaikaisesta altistumisesta pienille pitoisuuksille ei ole tietoja. Fullereenien laskennallinen pitoisuus puhdistetussa jätevedessä on noin 5 ng/l ja pintavesissä alle 0,02 ng/l (Gottschalk ym. 2009). Riskinarviointia varten ympäristöpitoisuudet tulisi tuntea nykyistä paremmin, mutta nykytiedon perusteella fullereeneista ei aiheudu ympäristöriskiä (Gottschalk ym. 2013).

Jos fullereenia joutuisi maaperään, se todennäköisesti pysyisi siinä pitkään. Se ei hajoaisi hiilidioksidiksi mikrobitoiminnan seurauksena tai kulkeutuisi kasveihin. <sup>14</sup>C-leimatulla fullereenilla tehdyissä kokeissa alle 7 % maassa olleesta radioaktiivisesta hiilestä löytyi kasveista ja lähes puolet tästä määrästä oli juurissa (Avanasi ym. 2014).

#### **Fullereenit**

- **fullereenien dispersointi testeissä käytettyihin vesiliuoksiin tuottanut vaikeasti tulkittavia tuloksia**
- **funktionaaliset ryhmät hiukkasten pinnalla muuttavat merkittävästi ominaisuuksia ja todennäköisesti myös vaikutuksia**

### 7.4.2 Hiilinanoputket

Hiilinanoputkien ekotoksikologisia tutkimustuloksia arvioitaessa on kiinnitettävä erityistä huomiota siihen että materiaalien ominaisuudet on kuvattu huolellisesti, mitä epäpuhtauksia on läsnä tai mitä apuaineita on käytetty. Epäpuhtaudet ja apuaineet vaihtelevat suuresti nanoputkien valmistustekniikasta riippuen. Lisäksi tutkittavien aineiden niukkaliukoisuuden takia dispersointiaineina käytettyjen luonnon- tai synteettisten polymeerien ja pinta-aktiivisten aineiden (orgaaninen hiili, SDS, PVP ja polyetyleenimiini) osuus tulisi erottaa nanomateriaalien aiheuttamista vaikutuksista (Gao ym. 2012; Petersen ja Henry, 2012; Jackson ym. 2013). Hiilinanoputkien pituus sekä pintarakenne ja koostumus voivat myös aiheuttaa merkittäviä eroja haittavaikutuksissa (Petersen ja Henry, 2012; Cheng ja Cheng 2012; Jackson ym. 2013).

Hiilinanoputket ovat fullereenien tavoin hydrofobisia aineita ja joutuessaan vesiympäristöön ne todennäköisesti hakeutuvat sedimenttiin. Haittavaikutuksia on sen tähden luonnollisestikin tutkittu juuri sedimenttieliöllä. Usealla makeanveden sedimenttieliöllä (katka, surviaissääski, harvasukasmato ja simpukka) tutkittiin elinkykyä ja lisääntymistä altistamalla yksinseinäisille (SWNT) ja moniseinäisille (MWNT; kaksi eri valmistetta) hiilinanoputkille. Testiaineista valmistettiin kaksi liuosta, joista toinen käsiteltiin ultraäänellä. Toista moniseinäistä puhdistettiin typpihappokäsittelyllä. Tuloksena oli että eliöiden elinkyky kärsi kahden viikon testin aikana merkittävästi (testipitoisuus 1 g/l). Ultraäänikäsittelyllä ei ollut selkeätä vaikutusta tuloksiin. Typpihappokäsittelty MWNT ei vaikuttanut eläinten elinkykyyn merkittävästi, mutta kasvuun se vaikutti. Toisin sanoen osa toksisuudesta johtui nimenomaan moniseinäisistä hiilinanoputkista (Mwangi ym. 2012). Meriveden katkalla ja kahdella äyriäislajilla yksiseinäiset hiilinanoputket eivät aiheuttaneet kuolevuutta suurimmassakaan, 100 mg/l pitoisuudessa sedimentissä tai ruuassa annosteltuna 7 päivän testissä. Hiilinanoputkia löytyi eläimistä 28 päivän testin jälkeen. Hii-

liinanoputket ovat siis biosaatavassa (bioaccessible) muodossa, mutta ne eivät näytä kertyvän merkittävässä määrin tai aiheuttavan haittaa näille eläimille (Parks ym. 2013). Selkeää näyttöä ei ole myöskään kertymisestä muihin vesi-, sedimentti- tai maaperäeliöihin, vaikka määritettyjen oktanoli-vesi-kerrontien perusteella näin voisi päätellä (Petersen ym. 2008; Petersen ja Henry 2012; Li ym. 2013). Vaikka hiilinanoputket eivät olisi varsinaisesti biokertyviä aineita, voivat ne kulkeutua ravintoketjussa, jos niitä on saaliseläinten elimistössä (Jackson ym. 2013).

Moniseinäiset hiilinanoputket saattavat muuttaa pohjaelämistön rakennetta. Tätä on tutkittu yhdessä harvoista nanomateriaaleille tehdyistä pitkäaikaisista (15 kk) *in situ* -kokeista pieniä pitoisuuksia käyttäen (0,002–2 g/kg). Tilastollisesti merkittävä hiilinanoputkista johtuva ero nähtiin jo pienimmällä pitoisuudella. Vertailuaineena käytettiin aktiivihiehtä, jolla saatiin sama tulos vasta 50 kertaa suuremmalla pitoisuudella (Velzeboer ym. 2013). On arvioitu, että hiilinanoputkien pitoisuudet sedimentissä (USA:n tilanne) olisivat voineet nousta neljässä vuodessa (2008–2012) pitoisuudesta 0,2 µg/kg pitoisuuteen 0,5 µg/kg (Gottschalk ym. 2009). Ympäristössä eliöt altistuisivat siis noin tuhat kertaa pienemmille pitoisuuksille kuin alhaisimmat, joilla on ollut haittavaikutuksia, mutta lisätietoja tarvitaan vielä paljon ennen kuin todellisia riskejä voi arvioida.

Meriveden levän kasvu estyi moniseinäisten hiilinanoputkien läsnä ollessa siten että 96 h EC50-arvo oli 0,82 mg/l. Hiilinanoputket oli happokäsitelty, jolloin pintaan muodostuu karboksyyliiryhmiä. Kasvun estymisen aiheuttivat isot agglomeraatit, sillä levä kasvoi normaaliin tapaan, kun näyte oli suodatettu 0,2 µm suodattimella (Wei ym. 2010). Yksiseinäisillä hiilinanoputkilla on havaittu levän kasvua estävä vaikutus, mutta tätä esiintyi vain erittäin korkeilla pitoisuuksilla 320 mg/l (Wang ja Yang 2013).

Moniseinäiset hiilinanoputket eivät aiheuttaneet akuuttia myrkyllisyyttä **vesikirpulle** (*Daphnia magna*) 48 h altistuskokeessa, mutta hiilinanoputkia kertyi vesikirppujen suoleen. Kun altistus päättyi ja eläimet siirrettiin puhtaaseen veteen, hiilinanoputket eivät poistuneet kokonaan 24 tunnin aikana riippumatta siitä, saivatko vesikirput ruokaa vai eivät (Petersen ym. 2009). Vesikirpuilla kuten lieroillakaan ei ole havaittu hiilinanoputkien tunkeutuvan soluihin, vaikka niitä näiden eläinten suoleen seinämässä havaittiin (Petersen ym. 2008; Petersen ym. 2009). Pentakloorifenolin natriumsuolan ja moniseinäisten hiilinanoputkien yhteisvaikutustutkimuksessa todettiin moniseinäisillä hiilinanoputkilla olevan lievästi indusoida vaikutus **lierojen** (*Eisenia fetida*) antioksidanttientsyymeihin (Zhang ym. 2014). Pentakloorifenoli indusoi entsyymejä merkittävästi, mutta hiilinanoputkien läsnä ollessa niiden vaikutus lieveni selvästi.

Jackson ym. (2013) on todennut laajaan aineistoon perustuen, että yksiseinäiset hiilinanoputket aiheuttavat alemmilla vesieliöille vaikutuksia pitoisuusalueella 0,05–10 mg/l ja moniseinäiset 0,1–51 mg/l, kun taas selkärangkaisille vesieliöille hiilinanoputkien vaikuttava pitoisuusalue olisi 10–240 mg/l. REACH:in käytäntöjen mukaan nämä arvioitaisiin erittäin haitallisiksi tai haitallisiksi alemmille eliöille ja hyvin haitallisiksi tai ei-haitallisiksi selkärangkaisille. Maaperäeliöille vaikutuksia ei todennäköisesti aiheutuisi. Nämä tiedot oli kerätty kaikkia hiilinanoputkia koskevista tutkimuksista samalla tavalla erottelematta eri materiaaleja ominaisuuksien mukaan. Eroja testiasetelmassa, annostelussa tai dispersion valmistustekniikassa ei myöskään otettu huomioon. Kirjoittajat toteavatkin, että korkeatasoisista tuloksista on edelleen puutetta ja että vaikka vaikutuksia voidaan laboratoriossa todeta, syy-seuraussuhteita ei ole pitävästi osoitettu eikä hiilinanoputkien ole raportoitu saastuttaneen ympäristöä.

#### **Hiilinanoputket**

- **hiilinanoputkien käyttäytyminen ja sen seurauksena vaikutukset vesiliuoksissa riippuvat suuresti testiliuoksen ominaisuuksista, tutkittavan aineen ominaisuuksista ja dispersointitekniikasta**
- **vaikutuksia todettu useilla eliöillä laboratoriotesteissä, mutta altistuminen ympäristössä epätodennäköistä**
- **hiilinanoputket saattavat päätyä maaperä- ja vesieliöiden ruuansulatuskanavaan, mutta eivät tunkeudu solujen sisään ja yleensä poistuvat nopeasti, siirtyminen ravintoketjussa ylöspäin mahdollista**

## 7.5 Nanoselluloosa

Nanoselluloosa (nanokiteinen, nanofibrilloitu) on luonnonmukainen aine, eikä sillä oleteta olevan merkittäviä haittavaikutuksia ympäristössä. Nanoselluloosa hajoaa samalla tavalla kuin ”makroselluloosa” (Kümmerer ym. 2011). Nanokiteisellä selluloosalla tehtyjen 9 eri vesieliön (mm. vesikirput: akuutti ja pitkäaikainen; kalat: akuutti, alkio testi, lisääntymistesti; levän kasvatusti) toksisuustestien perusteella todettiin sen olevan käytännössä myrkytöntä (O’Connor, 2009; Kovacs ym. 2010). Nanoselluloosan vesiliuos on hyvin viskoosinen ja voi siten haitata mekaanisesti vesieliöiden liikkumista tai ruokailua (Vartiainen ym. 2011).

Bakteerinanoselluloosalla ei ole todettu olevan genotoksisia vaikutuksia kahdella eri testillä tehtynä (Salmonella reversion ja comet-assay) (Moreira ym. 2009). De Lima ym. 2012 tutkivat erivärisistä puuvillakuiduista (luonnon väri, ei värjätty kuitu) ja curauakuiduista tuotettujen nanokiteisten selluloosinäytteiden genotoksisuutta käyttäen mm. keltasipulin (*Allium cepa*) juuren soluja. Genotoksisuus arvioitiin kromosomivaurioiden avulla ja sipulitestissä havaittiin tilastollisesti merkittäviä vaikutuksia vihreästä ja valkoisesta selluloosasta valmistetuissa näytteissä pitoisuuden ollessa 0,01 % tai enemmän. Ruskean selluloosan näyte oli genotoksinen korkeimmassa pitoisuudessa (1 %) ja curauakuidun näyte oli genotoksinen 0,1 ja 1 % pitoisuudessa, mutta punaisen selluloosan näyte ei aiheuttanut vaurioita missään pitoisuudessa. Ihmisen lymfosyyteillä tehdyissä kokeissa ruskean selluloosan ja curauakuidun näyte olivat genotoksisia 0,1 % pitoisuudessa (de Lima ym 2012). On vaikea arvioida, mikä näiden kokeiden merkitys todellisuudessa on, sillä jo 0,1 % pitoisuus nanoselluloosaa tekee vesiliuoksesta hyvin viskoosisen. Lisäksi kuitujen väriaineiden merkitystä ei tarkasteltu edellä kuvatussa työssä. Katsausartikkelissaan Lin ja Dufresne (2014) toteavatkin, ettei nanoselluloosan ole havaittu aiheuttavan vakavia vaikutuksia tai vaurioita geneettisellä eikä solutasolla eikä myöskään eläimillä *in vivo*.

### Nanoselluloosa

- nanoselluloosalla ei ole osoitettu tavanomaisissa toksisuustesteissä haittavaikutuksia

## 7.6 Kvanttipisteet

Kvanttipisteiden haittavaikutuksia lienee eniten tutkittu aineilla, joiden ydinmateriaalina on CdSe tai CdTe. Koska kvanttipisteet ovat hyvin pieniä, on niiden mahdollinen kulkeutuminen eliöihin ja niiden soluihin ja kudoksiin ollut tärkeänä tutkimuskohteena. Kadmiumin liukeneminen ydinmateriaalista on luonnollisesti myös herättänyt kiinnostusta. Sama koskee tietysti muitakin kvanttipisteitä, joissa on käytetty haitallisiksi tiedettyjä metalleja. Erilaisten kvanttipisteiden määrä on valtava, kun sekä kuoren että päällysteen materiaali ja kvanttipisteiden koko voivat ainakin teoriassa muuttaa biologisia vasteita huomattavasti. Tässä katsauksessa kuvataan muutamilla esimerkeillä sellaisten kvanttipisteiden haittavaikutuksia, joiden ydinosassa on kadmiumia. Kvanttipisteiden esiintymisestä ja pitoisuuksista ympäristössä ei tutkimustuloksia tai mallinnettuja pitoisuuksia ole saatavilla, joten laboratorioissa todettujen haittavaikutusten merkitystä todellisissa olosuhteissa ei voi arvioida.

Liuenneen kadmiumin ja kvanttipisteiden vaikutuksia on tutkittu **bakteereilla**. Kun *Pseudomonas aeruginosa* -bakteeria altistettiin kadmiumsuolalle tai CdSe-kvanttipisteille, olivat bakteerienkasvua inhiboivat vaikutukset samankaltaiset aina 50 mg/l pitoisuuteen asti liuenneena kadmiumina ilmaistuna. Tätä korkeammassa altistus- ja pitoisuudessa kvanttipisteet olivat myrkyllisempiä kuin kadmiumionit inhiboivat kasvua, aiheuttaen kalvovaurioita ja lopulta solujen hajoamista. Useimmissa pitoisuuksissa syntyi vapaita happiradikaaleja kummankin aineen altistuksissa, mutta kvanttipisteiden läsnä ollessa selvästi enemmän kuin kadmiumsuolalle altistuneissa (Priester ym. 2009). Solutoksisuus ja happiradikaalien muodostuminen osoitettiin myös *Escherichia coli* -**bakteerilla** kahdella eri CdSe-materiaalilla (Kauffer ym. 2014). Syntyneet happiradikaalit olivat ilmeisesti vaikutusten syynä. CdSe-kvanttipisteiden syto-

toksisuutta voidaan ilmeisesti vähentää käyttämällä suurempia seleenipitoisuuksia synteisivaiheessa, jolloin kvanttipisteiden pintaan adsorboituu vähemmän kadmiumia (Almeida Silva ym. 2014).

Levätutkimuksissa on käytetty sekä makean veden että meriveden lajeja. Domingos ym.(2011) vertasi kadmiumia sisältävien kvanttipisteiden ja pelkän kadmiumin kertymistä makeanveden **viherlevällä** (*Chlamydomas reinhardtii*). Kadmiumin kertyminen korreloi pääasiassa liuenneen kadmiumpitoisuuden kanssa, mutta levästä löytyi myös kvanttipisteitä. Kadmiumin liukeneminen on riippuvaista sekä kasvatuliuksen ominaisuuksista että kvanttipisteiden päällysteestä (Zhang ym. 2013). **Piilevän** (*Thalassiosira pseudonana*) kasvaessa karboksyyliiryhmällä tai aminoryhmällä päällystettyjen CdSe/ZnS-kvanttipisteiden läsnä ollessa kasvu hidastui hieman. Molemmista kvanttipisteistä liukeni kadmiumia enemmän ravintoliuoksessa, jossa oli vähemmän typpeä, mutta karboksyyli-päällysteisistä sitä liukeni enemmän (Zhang ym. 2013). Piilevän kasvu ei juuri tästä kärsinyt. Samansuuntaiseen tulokseen kasvun suhteen päädyttiin makeanveden **levällä** (*Ochromonas danica*) ja CdTe-kvanttipisteillä, vaikka niitä löydettiin levän sisältä (Wang ym. 2013). Morellin ym. (2013) kokeissa *Phaedactylum tricorutum*-piilevän kasvu kärsi annosriippuvalla tavalla, mutta *Dunaliella tertiolecta* -viherlevä kasvoi normaalisti (tai jopa enemmän kuin kontrolli) CdSe/ZnS-kvanttipisteiden läsnä ollessa. Kaiken kaikkiaan vaikuttaa siltä, että levätesteissä käytetyt koeasetelmat ja tutkittavat aineet ja mittaussuureet vaihtelevat niin paljon, että johtopäätöksiä on mahdotonta tehdä.

Neljällä eri materiaalilla päällystettyjen 6,5 nm CdSe/ZnS-kvanttipisteiden mahdollista siirtymistä maasta kasveihin on tutkittu **keltasipulilla** (*Allium repa*), **englanninraiheinällä** (*Lolium perenne*) ja **lituruoholla** (*Arabidopsis thaliana*) (Al-Salim ym. 2011). Siirtymistä kasvien solukkuun ei havaittu, mutta kasveja syövä hyönteisen kohdalla kävi toisin, sillä samassa tutkimuksessa havaittiin kvanttipisteiden siirtyvän kääriäisten toukkiin ravinnon kautta ja vielä kulkeutuvan suolesta hemolymfaan. Kun kvanttipisteillä altistetuista toukat kasvoivat aikuisiksi, niiden elimistöistä löytyy fluoresenssimittausten perusteella sekä kvanttipisteitä että kadmiumia enemmän kuin kontrolliryhmällä (Al-Salim ym. 2011).

Kvanttipisteiden pinnan modifioiminen ilmeisesti vaikuttaa siihen, mitä kvanttipisteille tapahtuu, kun ne joutuvat vesieliöiden elimistöön. Kun vesikirppuja altistettiin 48 h ajan trioktyylifosfiinioksidilla päällystetyille CdSe/ZnSe-kvanttipisteille, liukeni kadmiumia testiveteen ja testiaineiden pintarakenteessa oli tapahtunut muutoksia. Lähes kaikki vesikirput kuolivat testiajan kuluessa. Testiaineet oli dispersoitu veteen arabikumin avulla, jolloin (hydrodynaaminen) hiukkaskoko oli noin 300 nm, mikä edesauttoi hiukkasten siivilöitymistä vesikirpun ruuaksi. Kadmiumia liukeni veteen enemmän, jos vesikirput olivat läsnä ja testin lopussa kadmiumpitoisuudet vedessä olivat 4,48 µg/l ilman vesikirppuja ja 11,03 µg/l niiden läsnä ollessa. Kvanttipisteistä on voinut liuetta kadmiumia vesikirppujen ruuansulatuskanavan läpi kulkiessa (Kwon ym. 2012). Päällysteen takia pinnaltaan negatiivisesti varautuneet CdSe/ZnS kvanttipisteet kerääntyivät suuremmassa määrin *Daphnia magna* ja *Ceriodaphnia dubia* -**vesikirppuihin** kuin positiivisesti varautuneet tai neutraalit kvanttipisteet (Feswick ym. 2013). Tässä tutkimuksessa osoitettiin myös kvanttipisteiden tunkeutuneet ruuansulatuskanavan pintasolujen läpi ja siirtyneen muihin soluihin.

**Seeprakalan** alkioilla tehtäviä testejä voidaan verrata, ainakin tiettyjen vasteiden osalta, akuutteihin kalatesteihin. CdSe/ZnS-kvanttipisteiden vaikutukset olivat osittain samoja kuin liuenneella kadmiumilla, sillä ne korreloivat lievästi metallotioneiniipitoisuuden kanssa. Tästä pääteltiin, että kvanttipisteistä liukeni kadmiumia vain vähän ja että kvanttipisteiden haitat olisivat erilaisia kuin liuenneen kadmiumin (King-Heiden ym. 2009). Seeprakalan pitkäaikaisessa kokeessa CdS-kvanttipisteet (8 ja 50 nm) annosteltiin ruuan mukana 36–60 päivän ajan 40 tai 100 ng/d/g (Ladhar ym. 2014). Molekyylibiologisilla menetelmillä löydettiin genotoksisuutta ja stressiä osoittavia muutoksia sekä mitokondrioiden toimintahäiriöitä riippuen pitoisuudesta ja hiukkasten koosta. Kadmiumia kertyi kalojen aivoihin ja lihaskudokseen vasta 60 päivän kuluttua.

Lajien väliset erot kvanttipisteiden vaikutuksissa voivat olla suuria, mutta mitkä lajit olisivat erityisen kestäviä tai herkkiä kvanttipisteiden vaikutuksille on vielä epäselvää. Alhaisilla pitoisuuksilla tehtyjen pitkäaikaistestien tulokset olisivat korvaamattoman tärkeitä, kun etsitään herkimpää lajeja.

#### Kvanttipisteet

- erilaisia kvanttipisteitä suuri määrä, rakenne ja päällystemateriaalit muuttavat ominaisuuksia oleellisesti
- haitallisimpia todennäköisesti raskasmetalleja sisältävät kvanttipisteet
- kulkeutuminen solun sisään voi olla merkittävämpää kuin suuremmilla nanohiukkasilla

## 7.7 Hopea

Nanohopean myrkyllisyystutkimuksissa on selvitetty paljon sitä, johtuvatko havaitut vaikutukset liuenneesta vai hiukkasmuotoisesta hopeasta. Liuenne hopea on hyvin myrkyllistä monille vesieliöille kuten kasviplanktonille, selkärangattomille ja kaloille, kun taas ihmisille ja muille nisäkkäille se ei ole erityisen myrkyllistä (Luoma, 2008). Nanohopean toksisuus johtuu ainakin osittain ATP:n tuotannon ja DNA:n kahdentumisen häiriintymisestä hopeaionien sisäänoton seurauksena, vapaiden happiradikaalien muodostumisesta sekä solukalvojen vaurioitumisesta (Marambio-Jones ja Hoek, 2010). Joissakin tutkimuksissa on saatu todisteita siitä, että nanohopean ja liuenneen hopean vaikutus olisi erilainen, mutta lopullista vastausta tähän kysymykseen ei vielä tiedetä (Yu ym. 2013). Liuenneen hopean ja nanohopean erottaminen ja analysointi toksisuustestitulanteissa ja solutason reaktioissa on vaikeata (esim. Navarro ym. 2008; Fabrega ym. 2011; Xiu ym. 2012; Yu ym. 2013; Grogor'eva ym. 2013). Yhtenä vaikutustapana voidaan pitää hiukkasten toimintaa hopean kuljettajana, vaikka lopulliset reaktiot olisivatkin liuenneen hopean aiheuttamia. Hiukkasten ominaisuudet yhdessä kulloisenkin ympäristön ja tutkittavan eliön (tai kudoksen, solun, molekyylin tai yleensä biologisen muuttujan) ominaisuuksien kanssa määrittelevät, mihin hiukkaset päätyvät ja miten liukeneminen tapahtuu.

Nanohopea saattaa muuttaa luonnonvesissä **bakteeriyhteisöjen** rakennetta, mikä ei välttämättä näy yhteisöjen toiminnallisena muutoksena (Das ym. 2012). Hopean ja nanohopean antibakteerisista ominaisuuksista johtuen myös hyödylliset mikrobiyhteisöt voivat kärsiä. Jos esimerkiksi jätevedenpuhdistamon bakteerikannan toiminta häiriintyy, johtaa se puhdistamon tehon alenemiseen. Eräissä kokeissa osoitettiin, että nanohopean pitoisuus 65 µg/l johti lähes täydelliseen bakteerien kuolemaan neljässä tunnissa ja tämä näkyi myös kemiallisen ja biologisen hapenkulutuksen nousuna (Patil ja Parikh, 2014). Hopea muodostaa puhdistusprosessin aikana sulfideja ja suurin osa siitä joutuu lietteeseen (Kaegi ym. 2011, 2013), joten on vaikea arvioida, kuinka suuri merkitys antibakteerisilla ominaisuuksilla kokonaisuudessaan on jätevedenpuhdistuksessa.

Nanohopean (5–12 nm) on osoitettu tunkeutuvan sekä *Salmonella typhimurium* (gram-) että *Staphylococcus aureus* (gram+)-**bakteereihin**. Mielenkiintoinen havainto oli, että solun sisällä hiukkaset eivät aggregoituneet ja että hiukkaset sitoutuivat eri tavalla solun makromolekyyliin ja muutokset solujen rakenteessa erosivat merkittävästi lajien välillä (Grigor'eva ym. 2013).

Hopeananohiukkaset ovat erittäin myrkyllisiä viherleville, mutta testivedet ominaisuudet ja hiukkasten päällyste saattavat vähentää toksisuutta merkittävästi (taulukko 8 ja 9). Erityisesti orgaanisen aineksen laadulla ja määrällä sekä kalsium- ja kloridipitoisuudella on suuri merkitys toksisuuden kannalta. Esimerkiksi *Pseudokirchneriella subcapitata* -**viherlevällä** kasvunestymisen EC50-arvoiksi on saatu 4,61 µg/l ravintoliuoksessa, kun se paljon orgaanista hiiltä sisältävässä luonnonvedessä oli 1600 µg/l (McLaughlin ja Bonzongo, 2012). Vastaavanlaisia tuloksia ovat julkaisseet Tuominen ym. (2013). Samaa EPA:n testimenetelmää (EPA-821-R-02-013) käyttäen on toisessa tutkimuksessa (Griffitt ym. 2008) laskettu EC50-arvoksi 190 µg/l keskikovassa luonnonvedessä (142 mg CaCO<sub>3</sub>/l).

Liuennot hopea on **pikkulimaskalle** (*Lemna minor*) myrkyllisempää kuin kadmium tai elohopea. Seitsemän päivän kasvutestissä EC50-arvo oli 43 µg/l, kun se laskettiin viiden muuttujan (lehtien määrä, kuivapaino, tuorepaino, klorofyllin ja karatenoidin määrä) keskiarvona (Naumann ym. 2007). Nanokokoisen hopean on puolestaan todettu inhiboivan pikkulimaskan kasvua vähemmän EC50-arvon ollessa 140 µg/l 30 nm ja 125 µg/l 94 nm kokoisille sitraattipäälysteisille hopeananohiukkasille (Gubbins ym. 2011). Toisella limaskakasvilla (*Spirodela polyrhiza*) oksidatiivisen stressin oireita mitattiin alhaisimmillakin pitoisuuksilla ja pitoisuuden mukaan kasvavasti, kun kasveja altistettiin 72 tunnin ajan 0,5–10 mg/l pitoisuuksille. Vaikutukset olivat lisäksi selvempiä 6 nm hiukkasilla kuin 20 nm hiukkasilla. Korkeimmassa pitoisuudessa myös kloroplastien rakenteessa nähtiin muutoksia (Jiang ym. 2014).

Taulukko 8. Nanohopean toksisuus *Ceriodaphnia dubia* -vesikirpulle ja *Pseudokirchneriella subcapitata* -vihherlevälle luonnonvesissä McLaughlin ja Bonzongo (2012) mukaan. Nanohopean alkuperäinen hiukkaskoko oli 25,4 nm ja puhtaassa vedessä 145 nm.

| Testivesi  | Ag<br>hiukkaskoko (nm)<br>testivedessä | P. subcapitata<br>96 h EC50, µg/l | C. dubia<br>48 h EC50, µg/l |
|--|--|-----------------------------------|-----------------------------|
| Standardi-<br>kasvatusliuos                            | 395                                    | 4,61                              | nd                          |
| Standardi-<br>kasvatusliuos<br>(keskikova)             | 192                                    | nd                                | 0,482                       |
| Luonnonvesi<br>alhainen DOC<br>korkea Ca <sup>2+</sup> | 76,8                                   | 22,6                              | 0,433                       |
| Luonnonvesi<br>korkea DOC<br>alhainen Ca <sup>2+</sup> |  | 1600                              | 221                         |

Akuutin toksisuuden (48 h) LC50-arvojen *Daphnia magna* -vesikirpulle on raportoitu olevan välillä 4,31–30,36 µg Ag/l hiukkaskoon ollessa 10, 20, 30 tai 50 nm. Lisäksi hiukkasten spesifinen pinta-ala korreloi vahvasti akuutin toksisuuden kanssa (Hoheisel ym. 2012). Laktaatilla, PVP:llä ja dodekyylibentseeni-sulfonaatilla päällystettyjen hiukkasten 48 h EC50-arvot *Daphnia magna* -**vesikirpulle** olivat 28,7 µg/l, 2,0 µg/l ja 1,1 µg/l hiukkaskoon ollessa 123,8 nm, 79,7 nm ja 65,3 nm (Zhao ja Wang 2012). Kun tulokset laskettiin liuennotta hopeaa kohti, aineiden välinen ero pieneni huomattavasti. Liuenneelle hopealle lasketut EC50-arvot laktaatti- ja PVP-nanohopealle olivat 1,1 ja 0,57 µg/l, mistä pääteltiin liuenneen hopean olevan myrkyllisyyden syynä. Vertailuaineena käytettiin hopeanitraattia, jonka EC50-arvo oli 0,88 µg/l. Muilla vesikirppulajeilla akuutti toksisuus vaihtelee alle µg/l pitoisuuksista noin 70 µg/l riippuen paljon testiveden ominaisuuksista ja päällysteestä (taulukko 8 ja 9). Pitkäaikaistesteistä ei juuri ole tietoja saatavilla, mutta oletettavasti vaikutukset näkyisivät jo alhaisemmissa pitoisuuksissa, koska jo 10 ng/l liuenneen hopean pitoisuudessa *C. dubian* lisääntyminen estyi 8 päivän kokeessa (Luoma 2008). Vesikirppukokeiden tuloksia tarkasteltaessa on syytä muistaa, että eri lajien testivesissä ja eri menetelmien kesken ionivahvuus, kloridi- ja kalsiumpitoisuus ym. ominaisuudet vaihtelevat, jolloin myös nanohopean aggregoituminen ja liuenneen hopean kompleksoituminen muuttuvat.

Kalat ovat myös ilmeisen herkkiä hopeaioneille. **Kirjolohille** jo alle 1 µg/l pitoisuudet ovat haitallisia pitkäaikaisaltistuksessa (Luoma 2008). Nanohopean (10 nm) LC50- arvoksi **rasvapäämudulla** (*Pimephales promelas*) on saatu 89,4 µg Ag/l 96 h akuutissa testissä ja 7 vuorokauden LC20- arvoksi 46,1 µg Ag/l vastaavien arvojen ollessa liuenneelle hopealle 4,70 µg/l ja 1,37 µg/l (Hoheisel ym. 2012). **Seeprakalojen alkioiden** LC50- arvot liuenneelle hopealle oli 0,07 µg/l ja nanohopealle 1,18 µg/l 96-tunnin kokeessa (Massarsky ym. 2013). Seeprakalojen alkiolla tehdyissä tutkimuksissa on saatu ristiriitaisia tuloksia siitä, lisääkö vai vähentääkö hiukkasen koko toksisuutta (Yu ym. 2013). Hiukkaset kulkeutuvat vedestä kaloihin (Gaiser ym. 2012) ja hiukkasten koko ja päällyste ovat mahdollisesti syynä erilaiseen kulkeutumiseen solun sisään (Farkas ym. 2011). Hiukkasista liuenneen hopean on katsottu olevan suurimmaksi osaksi toksisuuden syy aiheuttaen kuolleisuutta ja morfologisia muutoksia seepra-



kalan (*Danio rerio*) alkioissa (Osborne ym. 2013) ja samankaltaisia kehityshäiriöitä japanilaisella **medakalla** (*Oryzias latipes*) Wu ym. 2010). Medakalla on myös todettu stressireaktioita kuvaavia vasteita (soluvaurioita, DNA vaurioita, metallotioneiinin lisääntymistä, oksidatiivista stressiä), jotka poikkesivat hopeaionien vaikutuksista (Chae ym. 2009). Kaloihin kohdistuvat vaikutukset voivat siis olla luonteeltaan hyvin monimuotoisia ja osa luonteeltaan vakavia. Sekä hiukkasten pysyvyys että hopean kemialliset reaktiot pitoisuuksien ohella määrittelevät sen, miten nämä haitalliset ilmiöt toteutuvat todellisissa

Taulukko 9. Nanohopean toksisuus vesieläille, pitoisuusyksikkö µg/l. Tiedot on koottu julkaisuista Angel ym. 2013 (A); Griffitt ym. 2008 (G); Zhao ja Wang 2012 (Z).

|  | <b>P.subcapitata</b>           | <b>P.subcapitata</b>                       | <b>P. tricornutum</b>          | <b>C. dubia</b>                        | <b>Viite</b> |
|--|--------------------------------|--|--------------------------------|--|--------------|
| <b>Ag, päällyste, koko</b>                             | <b>72 h EC50 nominaalipit.</b> | <b>72 h EC50 Ag<sup>+</sup> analysoitu</b> | <b>72 h EC50 nominaalipit.</b> | <b>48 h LC50 nominaalipit.</b>         |              |
| sitraatti<br>14 nm                                     | 3                              | 0,7  | 2380                           | 0,15                                   | A            |
| PVP<br>15 nm   | 19,5                           | 3  | 3690                           | 2                                      | A            |
| Ag <sup>+</sup>  | 1,1                            | 0,5  | 400                            | 0,11                                   | A            |
| Ag <sup>0</sup> 2000-3500 nm                           | 966                            | 1,1  | nd                             | nd                                     | A            |
|  | <b>P.subcapitata</b>           | <b>D.pulex</b>                             |                                | <b>C. dubia</b>                        |              |
| hopeaoksidi<br>20 - 30 nm                              | 190                            | 40   |                                | 67                                     | G            |
| Ag <sup>+</sup>  | nd                             | 8  |                                | 160                                    | G            |
|  |                                | <b>D.magna</b>                             |                                | <b>D.magna</b>                         |              |
|  |                                | <b>48 h EC50 Ag<sup>+</sup> analysoitu</b> |                                | <b>48 h EC50 totaali Ag analysoitu</b> |              |
| laktaatti<br>5-50 nm* (123,9)                          |                                | 1,1  |                                | 28,7                                   | Z            |
| PVP<br>5-50 nm (79,7 nm)                               |                                | 0,57                                       |                                | 2                                      | Z            |
| dodekyylbentseeni-<br>sulfonaatti<br>5-50 nm (65,3 nm) |                                | nd   |                                | 1,1                                    | Z            |
| Ag <sup>+</sup>  |                                | 0,88                                       |                                |  | Z            |

\*TEM-tulos, suluissa DLS-määrittäminen

altistustilanteissa. Nanohopean arvioidut pitoisuudet makeassa vedessä ovat alle 1 ng/l ja puhdistetussa jätevedessä noin 40 ng/l (Gottschalk ym. 2009). Näitä pitoisuuksia ei ole vahvistettu kemiallisilla analyyseillä ja jätevedenpuhdistamotekniikka vaikuttaa olennaisesti hopean poistumiseen vesifaasista (Wang ym. 2012; Kaegi ym. 2013). Hopean kertyminen puhdistamolietteeseen ja lopulta sedimenttiin tai maaperään ja muuntuminen niukkaliukoiseksi sulfidiksi on todennäköistä, jolloin vain hyvin pieni osa kulkeutuisi pintavesiin (Wang ym. 2012; Kaegi ym. 2013).

Sedimentti- ja maaperäeliöillä nanohopeaa on tutkittu paljon vähemmän kuin vesieläillä. **Sedimenttimadot** *Nereis diversicolor* ja *Lumbriculus variegatus* keräsivät hopeananohiukkasia, kun eläimiä altistettiin hiukkasia sisältävälle sedimentille (Garcia-Alonso; Coleman ym. 2013). Hiukkasia löytyy eläinten suolesta, josta ne myös tunkeutuvat solujen sisään. Kun tutkittiin sukkulamadon (*Caenorhabditis elegans*) lisääntymistä altistamalla sitraatilla, PVP:lla ja arabikumilla päällystetyille hiukkasille (hiukkaskoko vaihteli 7–75 nm) kahdella eri kasvualustalla, laskettiin EC50-arvoksi 0,9–50 mg/l korkeassa

ionivahvuudessa ja 0,09–11,7 mg/l matalassa ionivahvuudessa. Vastaavat luvut vertailuaineena käytetyille hopeanitraatille olivat 6,4 mg Ag/l ja 64 µg Ag/l (Yang ym. 2011). **Kompostilieroissa** (*Eisenia fetida*) biomarkkereina käytetyt entsyymiaktiivisuudet (glutathionireduktaasi, glutationi-S-transferaasi, hapan fosfataasi, Na,K-ATPaasi) inhiboituivat, kun eläimiä altistettiin kahden viikon ajan 500 mg/kg pitoisuudessa (Hu ym. 2012). Karkeammalla tavalla mitattuna (kuolevuus, kasvu) akuutteja vaikutuksia ei todettu yli 700 mg/kg pitoisuuksissa, mutta lisääntyminen väheni merkittävästi (Shoults-Wilson ym. 2011). Jälleen kerran on huomattava, että pitoisuudet ovat olleet hyvin korkeita lierokokeissa, joissa tutkittava hopea on sekoitettu kiinteään maaperänäytteeseen.

Nanohopean vaikutuksissa kasveihin on tutkittu sekä ihmisten ravinnoksi käytettävillä että muilla kasveilla. On pyritty tutkimaan hiukkasten kulkeutumista juurien kautta kasvukudokseen, siirtymistä lehtiin tai muihin syötäviin osiin, mahdollista kertymistä kasveihin, vaikutuksia siementen itävyyteen, kasvuun jne. Vuonna 2013 julkaistun kokooma-artikkelin mukaan ristiriitaisuuksia ja selvittämättömiä asioita on runsaasti. Julkaistuissa tutkimustuloksissa kuvataan epä johdonmukaisesti positiivisia tai negatiivisia vaikutuksia, tai vaikutuksia ei ole havaittu lainkaan (Anjum ym. 2013). Seurauksena on, että tulokset ovat herättäneet enemmänkin kysymyksiä kuin selventäneen asioita. On tietysti selvää, että maaperässä olevan hopean ja nanohopean ja kasvien välisten vuorovaikutusten selvittäminen on hyvin vaikeaa pelkästään maaperän kemiastakin johtuen. Monesti kokeissa on käytetty maan sijasta vesiviljelyä tai agaralustaa. Havainnollinen esimerkki kasvualustan merkityksestä on pavulla ja durralla tehty koe, jossa erittäin korkeissa pitoisuuksissa (100–2000 mg/kg) kasvu estyi agarilla pitoisuudesta riippuvalla tavalla, mutta samat pitoisuudet maassa eivät kasvua estäneet (Lee ym. 2012). Tämänhetkisen tiedon valossa ei maan kautta altistuminen näytä olevan riski, mutta tarkempaa tietoa tarvitaan pitkäaikaisvaikutuksista ja ennen muuta nanohopean käyttäytymisestä maaperässä.

#### **Nanohopea**

- **hiukkasista liennut hopea haittavaikutusten pääasiallinen aiheuttaja, hopea on myrkyllinen raskasmetalli**
- **hiukkaset toimivat hopean kuljettajina**
- **hiukkasten päällysteen ominaisuudet ja ympäristöolot säätelevät hopean liukenemistä ja muuntumista**
- **vaikutusmekanismi pääasiassa hopeaionien kautta: häiriöt energian tuotannossa, häiriöt DNA:n kahdentumisessa, vapaiden happiradikaalien muodostuminen, solukalvojen vaurioituminen**

## 8. Keskeisimmät tietoaukot ja kehityskohteet

Nanomateriaalien ympäristötutkimus on kehittynyt huomattavasti viime vuosien aikana. Käynnissä on muun muassa useita laajoja EU-rahoitteisia tutkimushankkeita (liite 3). Suuria haasteita asettaa sekä eri materiaalien suuri lukumäärä että hiukkasten päästöjen ja niiden muuntumisen selvittäminen. Pitoisuuksien määrittäminen ympäristönäytteistä on ehkä suurin ongelma nanomateriaalien ympäristövaikutusten ja -riskien arvioinnissa. Pitoisuustiedon puute hankaloittaa sekä eliöiden altistumisen arvioinnin että nanohiukkasten kulkeutumisen ja pysyvyyden selvittämistä. Tarvitaan

### ➤ kehittyneempiä mittausten menetelmiä ja tietoa ympäristöpitoisuuksista

Nanomateriaalien haittavaikutuksista on jo kertynyt huomattava määrä tietoa. Määrästä huolimatta nanohiukkasten biologisista haittavaikutuksista ei ole riittävästi tietoa kattavien arvioiden tekemiseen, erityisesti pienten pitoisuuksien pitkäaikaisvaikutuksista puuttuu tietoa. Materiaalien suuresta lukumäärästä johtuen kaikkia eri aineita ei voida tutkia yksitellen, vaan tulisi löytää sellaisia yhteisiä ominaisuuksia ja tekijöitä, joihin haittavaikutusten mallintaminen voidaan perustaa. Lisäksi eräs peruskysymyksistä eli se onko nanospesifisiä haittavaikutuksia olemassa, on edelleen suurelta osin avoin. Koska tutkimuksia on tehty hyvin erilaisilla aineilla, eri menetelmin ja puutteellisesti kuvatuissa olosuhteissa, tarvitaan

### ➤ systemaattista tietoa haittavaikutuksista ja ympäristöriskeistä

Kokonaisvaltaisia arvioita nanomateriaalien valmistuksen, käytön ja jätteiden käsittelyn ympäristövaikutuksista on olemassa vain muutama. Monien kiinnostavien nanomateriaalien valmistusmenetelmät ovat vielä teknisesti monimutkaisia, kuluttavat paljon energiaa tai ovat muuten taloudellisesti kannattamattomia. Lisäksi monissa materiaaleissa käytetään harvinaisia alkuaineita, joiden louhiminen, eristäminen ja puhdistaminen voivat johtaa uusiin ympäristö- tai sosioekonomisiin ongelmiin. Tarvitaan

### ➤ elinkaariarvioita sekä hyötyjen ja haittojen arviointia/arvottamista

Luotettavampi tieto antaa pohjan materiaalien vaaraominaisuuksiin, altistumistietoihin ja riskinarviointiin perustuvaan luokitteluun ja turvalliseen käyttöön.

Yksityiskohtaisempi selvitys tietoaukoista ja tutkimuskohteista on laadittu OECD:n synteettisiin nanomateriaaleihin keskittyvän työryhmän asiantuntijakokouksessa vuoden 2014 alussa. Kokouksen tarkoituksena oli keskustella tutkimuksen tämänhetkisestä tilasta ja kartoittaa tarpeet teknisten ohjeiden päivityksille ja uusien ohjeiden laatimiselle. Kokouksessa esitettiin synteettisten nanomateriaalien ympäristötutkimusta koskevat nykyiset tietoaukot ja tutkimustarpeet (Kühnel ja Nickel, 2014):

- 1) Mittaustekniikat
  - a. herkempien mittaustekniikoiden kehittäminen
  - b. nanomateriaalien tunnistaminen ja kvantitointi ympäristö- ja testinäytteistä
  - c. tiettyjen ominaisuuksien mittaaminen ml. hiukkasten pinta-ala ja lukumäärä vedessä ja muissa ympäristönäytteissä sekä biosaatava osuus
- 2) Yleinen testaus
  - a. menetelmien harmonisointi (esim. nanomateriaalien dispersointi) ekotoksisuustestausta ja ympäristökohtalo/käyttätymistutkimusta varten
- 3) Ekotoksikologia

- a. tietoa kroonisista vaikutuksista ja nanomateriaalien vuorovaikutuksista eläinten aistielinten kanssa
  - b. ymmärrystä nanomateriaalien ikääntymisen/muuntumisen merkityksestä niiden ympäristövaikutuksiin
  - c. lisätietoa nanomateriaalien toksikokinetiikasta
  - d. lisätietoa nanomateriaalien vaikutuksista käyttäen paremmin soveltuvia biotestejä
  - e. testimateriaalien tarkempaa fysikaaliskemiallista karakterisointia biotestien yhteydessä
  - f. nanomateriaalien biosaatavan osuuden arviointi
  - g. nanomateriaalien pitoisuuksien määrittäminen huokosvedestä
  - h. ohjeita miten erityyppiset nanomateriaalit pitäisi lisätä biotesteihin
  - i. lisätietoa muuntumisprosesseista (esim. liukeneminen ja aggregoituminen) ja niiden vaikutuksista nanomateriaalien biosaatavuuteen
- 4) Ympäristökohtalo ja käyttäytyminen
- a. lisätietoa muuntumisesta, liukenemisesta ja dispersoitumisesta erilaisissa ympäristömatrifeissa
  - b. lisätietoa ikääntyneiden tai muuntuneiden nanomateriaalien vaikutuksista
  - c. nanomateriaalien käyttäytymistä ennustavien testiparametrien kehittäminen (vrt.  $K_{ow}$ , BMF, BCF)
  - d. nanomateriaalien kohtaloon ja käyttäytymiseen vaikuttavien maaperän laatutekijöiden tunnistaminen
  - e. lisätietoa altistusreiteistä ja mallinnustutkimuksista
  - f. pitkäaikaiset tutkimukset
- 5) Riskinarviointi
- a. nanomateriaalien ryhmittely tai luokittelu
  - b. mallintaminen
  - c. read across -menettelyn testaaminen ja soveltaminen nanomateriaaleille

Tiedon tarve nanomateriaalien mahdollisista ympäristövaikutuksista on siis edelleen suuri. Tämän katsauksen lukijalle on toivottavasti välittynyt käsitys nanomateriaalien tutkimus- ja mittausten menetelmiä ja ympäristökäyttäytymistä koskevista haasteista sekä epävarmuuksista, joskus jopa ristiriitaisuuksista, joita on raportoitu nanomateriaalien biologisista haittavaikutuksista. Toksikologisten tutkimustulosten tulkinnassa ei ole aina toimittu riittävän kriittisesti ja huolenaiheita on herätetty väärin perustein (Krug 2014). Toisaalta kansalaisten kiinnostus tuotteiden turvallisuutta kohtaan ja halu tietää uusien aineiden mahdollisista haittavaikutuksista on ymmärrettävää ja oikeutettua. Vaikka nanomateriaalien turvallisuustutkimusta on jo tehty intensiivisesti yli 15 vuoden ajan, ei hälyttäviä merkkejä haittavaikutuksista ole toistaiseksi ilmaantunut.

## LÄHTEET

- Adam, N., Schmitt, C., Galceran, J., Companys, E., Vakurov, A., Wallace, R., Knapen, D. ja Blust, R. 2014. Chronic toxicity of ZnO nanoparticles and ZnCl<sub>2</sub> to *Daphnia magna* and the use of different methods to assess nanoparticle aggregation and dissolution. *Nanotoxicology* 8(7), 709-717.
- Almeida Silva, A.C., Barbosa Silva, M.J., Cordero da Luz, F.A., Pereira Silva, D., Vieira de Deus, S.L. ja Oliveira Dantas, N. 2014. Controlling the cytotoxicity of CdSe magic-sized quantum dots as a function of surface defect density. *Nano Lett.* 14 (9), 5452-5457. Doi: 10.1021/nl5028028.
- Al-Salim, N., Barraclough, E., Burgess, E., Clothier, B., Deurer, M., Green, S., Malone, L. ja Weir, G. 2011. Quantum dot transfer in soil, plants, and insects. *Sci. Tot. Environ.* 409, 3237-3248.
- Angel, B., Batley, G.E., Jarolimek, C.V. ja Rogers, N.J. 2013. The impact of size on the fate and toxicity of nanoparticulate silver in aquatic systems. *Chemosphere* 93, 359-365.
- Anjum, N.A., Gill, S.S., Duarte, A.D., Pereira, E. ja Ahmad, I. 2013. Silver nanoparticles in soil-plant systems. *J. Nanopart. Res.* 15, 1896. Doi 10.1007/s11051-013-1896-7.
- Arias, L.R. ja Yang, L. 2009. Inactivation of bacterial pathogens by carbon nanotubes in suspensions. *Langmuir* 25 (5), 3003-3012. Doi: 10.1021/la802769m.
- Aruoja, V., Dubourguier, H., Kasemets, K. ja Kahru, A. 2009. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Sci. Tot. Environ.* 407, 1461-1468.
- Avanasi, R., Jackson, W.A., Sherwin, B., Mudge, J.F. ja Anderson, T.A. 2014. C60 fullerene soil sorption, biodegradations and plant uptake. *Environ. Sci. Technol.* 48 (5), 2792-2797.
- Bai, W., Zhang, Z., Tian, W., He, X., Ma, Y., Zhao, Y. ja Chai, Z. 2010. Toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a physicochemical study of toxicity mechanism. *J. Nanopart. Res.* 12, 1645-1654.
- Baker, T.J., Tyler, C.R. ja Galloway, T.S. 2014. Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms. *Environ. Pollut.* 186, 257-271.
- BEK nr 644. 2014. Bekendtgørelse om register over blandinger og varer, der indeholder nanomaterialer samt producenter og importørers indberetningspligt til registeret. Miljøministeriet, Danmark.
- Benn, T.M. ja Westerhoff, P. 2008. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4133-4139.
- Bundschuh, M., Seitz, F., Rosenfeldt, R.R. ja Schulz, R. 2012. Titanium dioxide nanoparticles increase sensitivity in the next generation of the water flea *Daphnia magna*. *PLoS ONE* 7(11):e48956.
- Campos, B., Rivetti, C., Rosenkranz, P., Navas, J.M. ja Barata, C. 2013. Effects of nanoparticles of TiO<sub>2</sub> on food depletion and life-history responses of *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol.* 130-131; 174-183.
- Cheng, J. ja Cheng, S.H. 2012. Influence of carbon nanotube length on toxicity to zebrafish embryos. *Int. J. Nanomedicine* 7, 3731-3739.
- Choi, J.E., Kim, S., Ahn, J.H., Youn, P., Kang, J.S., Park, K., Yi, J. ja Ryu, D-Y. 2010. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Aquat. Toxicol.* 100, 151-159.
- Cohen, Y., Rallo, R., Liu, R., ja Liu, H. 2013. In silico analysis of nanomaterials hazard and risk. *Accounts of Chemical Research* 46 (3), 802-812.
- Dabrunz, A., Düster, L., Prasse, C., Seitz, f., Rosenfeldt, R., Schilde, C., Schaumann, G.E. ja Schulz, R. 2012. Biological surface coating and molting inhibition as mechanisms of TiO<sub>2</sub> nanoparticle toxicity in *Daphnia magna*. *PLoS ONE* 6(5):e20112.
- Das, P., Williams, C.J., Fulthorpe, R.R., Hoque, M.E., Metcalfe, C.D. ja Xenopoulos, M.A. 2012. Changes in bacterial community structure after exposure to silver nanoparticles in natural waters. *Environ. Sci. Technol.* 46 (16), 9120-9128.
- Das, P., Xenopoulos, M.A. ja Metcalfe, C.D. 2013. Toxicity of silver and titanium nanoparticle suspensions to the aquatic invertebrate, *Daphnia magna*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 91, 76-82.
- Domingos, R.F., Simon, D.F., Hauser, C. ja Wilkinson, K.J. 2011. Bioaccumulation and effects of CdTe/CdS quantum dots on *Chlamydomonas reinhardtii* - nanoparticles or the free ions? *Environ. Sci. Technol.* 45, 7664-7669.
- Du, W., Sun, Y., Ji, J., Wu, J. ja Guo, H. 2011. TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil. *J. Environ. Mon.* 13, 822-828.
- Duesberg, G.S., Burghard, M., Muster, J., Phillip, G. ja Roth, S. 1998. Separation of carbon nanotubes by size exclusion chromatography. *Chemical Communications* 3, 435-436.
- Duester, L., Burkhardt, M., Gutleb, A.C., Kaegi R., Macken, A., Meermann, B. ja v.d. Kammer, F. 2014. Toward a comprehensive and realistic risk evaluation of engineered nanomaterials in the urban water system. *Frontiers in chemistry* 2/39, 1-6.
- Echegoyen, Y. ja Nerin, C. 2013. Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers. *Food Chem. Toxicol.* 62, 16-22.
- Fabrega, J., Luoma, S.N., Tyler, C.R., Galloway, T.S. ja Lead, J.R. 2011. Silver nanoparticles: Behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ. Int.* 37, 517-531.
- Fan, W.H., Cui, M.M., Shi, Z.W., Tan, C. ja Yang, X.P. 2012. Enhanced oxidative stress and physiological damage in *Daphnia magna* by copper in the presence of nano-TiO<sub>2</sub>. *J. Nanomaterials*, Article ID 398720. Doi:10.1155/2012/398720.
- Farkas, J., Christian, P., Gallego-Urrea, J.A., Roos, N., Hasselöv, M., Tollefsen, K.E. ja Thomas, K.V. 2011. Uptake and effects of manufactured silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill cells. *Aquat. Toxicol.* 101, 117-125.
- Farré, M., Gajda-Schranz, K., Kantiani, L. ja Barceló, D. 2009. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Anal. Bioanal. Chem.* 393, 81-95.
- Farré, M., Pérez, S., Gajda-Schranz, K., Osorio, V., Kantiani, L., Ginebreda, A. ja Barceló, D. 2010. First determination of C60 and C70 fullerenes and N-methylfulleropyrrolidine C60 on the suspended material of wastewater effluents by liquid chromatography hybrid quadrupole linear ion trap tandem mass spectrometry. *J. Hydrol* 383, 44-51.
- Feswick, A., Griffith, R.J., Siebein, K. ja Barber, D.S. 2013. Uptake, retention and internalization of quantum dots in daphnia is influenced by particle surface functionalization. *Aquat. Toxicol.* 130-313, 210-218.
- Fortner, J.L., Sayes, D.Y.C.M., Boyd, A.M., Falkner, J., Hotze, E., Alemany, L., Tao, Y.J., Guo, W., Ausman, K.D., Colvin, V.L. ja Hughes, J.B. 2005. C60 in water: nanocrystal formation and microbial response. *Environ. Sci. Technol.* 39(11), 4307-4316.
- Franklin, N.M., Rogers, N.J., Apte, S.C., Batley, G.E., Gadd, G.E. ja Casey, P.S. 2007. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO and ZnCl<sub>2</sub> to a freshwater microalgae (*Pseudokirchneriella subcapitata*). The importance of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.* 41, 8484-8490.
- Fraser, T.W., Reinhardt, H.C., Shaw, B.J., Henry, T.B. ja Handy, R.D. 2011. Dietary toxicity of single-walled carbon nanotubes and fullerenes (C60) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Nanotoxicology.* 5(1), 98-108. Doi: 10.3109/17435390.2010.502978.
- Fujishima, A., Zhang, X. ja Tryk, D.A., 2008. TiO<sub>2</sub> photocatalysis and related surface phenomena. *Surf. Sci Rep.* 63, 515-582.

- Gaiser, B.K., Fernandes, T.F., Jepson, M.A., Lead, J.R., Tyler, C.R., Baalousha, M., Biswas, A., Britton, G.J., Cole, A.P., Johnston, B.D., Junnam, Y., Rosenkranz, P., Scown, T.M. ja Stone, V. 2012. Interspecies comparisons on the uptake and toxicity of silver and cerium dioxide nanoparticles. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 144–154.
- Gao, J., Llana, V., Sejin You, S., Carlos A. Silveira-Batista, C.S., Ziegler, K.J. ja Bonzongo, J.-C.J. 2012. Aqueous suspension methods of carbon-based nanomaterials and biological effects on model aquatic organisms. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 210–214.
- Ge, Y., Schimel, J.P. ja Holden, P.A. 2011. Evidence for negative effects of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities. *Environ. Sci. Technol.* 45, 1659–1664.
- Geranio, L., Heuberger, M. ja Nowack, B. 2009. The behaviour of silver nanotextiles during washing. *Environ. Sci. Technol.* 43, 8113–8118.
- Ghosh, M., Bandyopadhyay, M. ja Mukherjee, A. 2010. Genotoxicity of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles at two trophic levels: Plant and human lymphocytes. *Chemosphere* 81, 1253–1262.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W. ja Nowack, B. 2009. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol.* 43, 9216–9222.
- Gottschalk, F., ja Nowack, B. 2013. The release of engineered nanomaterials to the environment. *J. Environ. Monit.* 13, 1145–1155.
- Gottschalk, F., Sun, T.Y. ja Nowack, B. 2013. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies. *Environ. Pollut.* 181, 287–300.
- Griffith, R.J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J. ja Barber, D.S. 2012. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organism. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1972–1978.
- Gubbins, E.J., Batty, L. C. ja Lead, J.R. 2011. Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environ. Pollut.* 159, 1551–1559.
- Guo L., Wen L.-S., Tang D. ja Santschi P.H. 2000. Re-examination of cross-flow ultrafiltration for sampling marine colloids: evidence from molecular probes. *Marine Chemistry* 69, 75–90.
- Han, X., Corson, N., Wade-Mercer, P., Gelein, R., Jiang, J., Sahu, M., Biswas, P., Finkelstein, J.N., Elder, A. ja Oberdörster, G., 2012. Assessing the relevance of in vitro studies in nanotoxicology by examining correlations between in vitro and in vivo data. *Toxicology*, 297, 1–9.
- Hannuksela, M. 2006. Fotokatalyysi matkalla tieteiskirjallisuudesta käyttöön. *Duodecim* 122, 1845–1847.
- Hao, L., Chen, L., Hao, J. ja Zhong, N. 2013. Bioaccumulation and sub-acute toxicity of zinc oxide nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus carpio*): a comparative study with its bulk counterparts. *Ecotox. Environ. Saf.* 91, 52–60.
- Hassellöv, M., Readman, J.W., Ranville, J.F. ja Tiede, K. 2008. Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles. *Ecotoxicology* 17, 344–361.
- Heggelund, L.R., Diez-Ortiz, M., Lofts, S., Lahive, E., Jurkschat, K., Wojnarowicz, J., Cedergreen, N., Spurgeon, D. ja Svendsen, C. 2014. Soil pH effects on the comparative toxicity of dissolved zinc, non-nano and nano ZnO to the earthworm *Eisenia fetida*. *Nanotoxicology* 8(5), 559–572.
- Heymann, D. 1996. Solubility of fullerene C<sub>60</sub> and C<sub>70</sub> in seven normal alcohols and their deduced solubility in water. *Fullerene Sci. Technol.* 4, 509–515.
- Hoheisel, S.M., Diamond, S. ja Mounty, D. 2012. Comparison of nanosilver and ionic silver toxicity in *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. *Environ. Toxicol. Chem.* 31 (11), 2557–2563.
- Hu, C., Li, M., Wang, W., Cui, Y., Chen, J., ja Yang, L. 2012. Ecotoxicity of silver nanoparticles on earthworm *Eisenia fetida*: responses of the antioxidant system, acid phosphatase and ATPase. *Toxicol. Environ. Chemistry* 94 (4), 732–741.
- Hu, C., Liu, X., Li, X. ja Zhao, Y. 2014. Evaluation of growth and biochemical indicators of *Salvinia natans* exposed to zinc oxide nanoparticles and zinc accumulation in plants. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 732–739.
- Hund-Rinke, K. ja Simon, M. 2006. Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (TiO<sub>2</sub>) on algae and daphnids. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 13, 225–232.
- Hunt, G., Lynch, I., Cassee, F., Handy, R.D., Fernandes, T.F., Berges, M., Kuhlbusch, T.A.J., Dusinska, M. ja Riediker, M. 2013. Towards a consensus view on understanding nanomaterials hazards and managing exposure: Knowledge gaps and recommendations. *Materials* 6, 1090–1117.
- Jackson, P., Jacobsen, N.R., Baun, A., Birkedal, R., Kühnel, D., Jensen, K.A., Vogel, U. ja Wallin, H. 2013. Bioaccumulation and ecotoxicity of carbon nanotubes. *Chemistry Central Journal* 7,154. doi:10.1186/1752-153X-7-154.
- Jackson B.P., Ranville J.F., Bertsch P.M. ja Sowder A. 2005. Characterization of colloidal and humic-bound Ni and U in the "dissolved" fraction of contaminated sediment extracts. *Environ. Sci. Technol.* 39, 2478–2485.
- Jiang, H-S., Qiu, X-N., Li, G-B., Li, W. ja Yin, L-Y. 2014. Silver nanoparticles induced accumulation of reactive oxygen species and alteration of antioxidant systems in the aquatic plant *Spirodela polyrhiza*. *Environ. Toxicol. Chem.* 33 (6), 1398–1405.
- Johnson, A., Cisowska, I., Jurgens, M., Keller, V., Lawlor, A. ja Williams, R. 2011a. Exposure assessment for engineered silver nanoparticles throughout the rivers of England and Wales (CB0433). Centre for Ecology and Hydrology, UK (report 2011).
- Johnson, A.C., Bowes, M.J., Crossley, A., Jarvie, H.P., Jurkschat, K., Juergens, M.D., Lawlor, A.J., Park, B., Rowland, P., Spurgeon, D., Svendsen, C., Thompson, I.P., Barnes, R.J., Williams, R.J. ja Xu N. 2011b. An assessment of the fate, behaviour and environmental risk associated with sunscreen TiO<sub>2</sub> nanoparticles in UK field scenarios. *Sci. Tot. Environ.* 409, 2503–2510.
- Jones, N., Ray, B., Ranjit, K. T. ja Manna, A. C. 2008. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 279, 71–76.
- Ju-Nam, Y. ja Lead, J.R. 2008. Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Sci. Tot. Environ.* 400, 396–414.
- Kaegi, R., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Mueller, E., Vonbank, R., Boller, M. ja Burkhardt, M. 2010. Release of silver nanoparticles from outdoor facades. *Environ. Pollut.* 158, 2900–2905.
- Kaegi, R., Ulrich, A., Sinnet, B., Vonbank, R., Wichser, A., Zuleeg, S., Simmler, H., Brunner, S., Vonmont, H., Burkhardt, M., Boller, M. 2008. Synthetic TiO<sub>2</sub> nanoparticle emission from exterior facades into the aquatic environment. *Environ. Pollut.* 156, 233–239.
- Kaegi, R., Voegelin, A., Sinnet, B., Zuleeg, S., Hagendorfer, H., Burkhardt, M. ja Siegrist, H. 2011. Behavior of metallic silver nanoparticles in a pilot wastewater treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* 45 (9), 3902–3908.
- Kaegi, R., Voegelin, A., Ort, C., Sinnet, B., Thalmann, B., Krismer, J., Hagendorfer, H., Elumelu, M. ja Mueller, E. 2013. Fate and transformation of silver nanoparticles in urban wastewater systems. *Water Res.* 47, 3866–3877.
- v.d. Kammer F., Baborowski M. ja Friese K. 2005. Field-flow fractionation coupled to multi-angle laser light scattering detectors: applicability and analytical benefits for the analysis of environmental colloids. *Analytica Chimica Acta* 552, 166–174.
- Kangas, H. 2012. Soveltajan opas mikro- ja nanoselluloosille. Loppuraportti 11002-2. [<http://193.166.21.102:9091/servlet/com.trend.iwss.user.servlet.sendFile?downloadfile=IRES-522077741-E4BC1FE0-29614-29582-46>] 15.4.2013.
- Kauffer, F.-A., Merlin, C., Balan, L. ja Raphaël Schneider. 2014. Incidence of the core composition on the stability, the ROS production and the toxicity of CdSe quantum dots. *J. Hazard. Mat.* 268, 246–255.

- Khosravi, K., Hoque, M.E., Dimock, B., Hintelmann, H. ja Metcalfe C.D. 2012. A novel approach for determining total titanium from titanium dioxide nanoparticles suspended in water and biosolids by digestion with ammonium persulfate. *Analytica Chimica Acta* 713, 86–91.
- Kim, K.T., Klaine, S.J., Cho, J., Kim, S.H. ja Kim, S.D. 2010. Oxidative stress responses of *Daphnia magna* exposed to TiO<sub>2</sub> nanoparticles according to size fraction. *Sci. Tot. Environ.* 408, 2268–2272.
- Kim, S.H., Sin, H.J. Lee, S.Y. ja Lee, I.S. 2013. Influence of metal oxide particles on soil enzyme activity and bioaccumulation of two plants *J. Microbiol. Biotechnol.* 23(9), 1279–1286.
- King-Heiden, T.C., Wicinski, P.N., Mangham, A.N., Metz, K.M., Nesbit, D., Pedersen, J.A., Hamers, R.J., Heideman, W. ja Peterson, R.E. 2009. Quantum dot nanotoxicity assessment using the zebrafish embryo. *Environ. Sci. Technol.* 43 (5), 1605–1611.
- Kiser, M.A., Westerhof, P., Benn, T., Wang, Y., Pérez-Rivera, J. ja Hristovski, K. 2009. Titanium nanomaterial removal and release from wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Technol.* 43, 6757–6763.
- Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D. ja Dorris, A. 2011. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. *Angew. Chem. Int. Ed.* 50, 5438–5466.
- Kovacs, T., Naish, V., O'Connor, B., Blaise, C., Gagné, F., Hall, L., Trudeau, V. ja Martel, P. 2010. An ecotoxicological characterization of nanocrystalline cellulose (NCC). *Nanotoxicology* 4(3), 255–70.
- Krug, H.F. 2014. Nanosafety research – Are we on the right track? *Angew. Chem. Int. Ed.* 53, 12304–12319.
- Kulacki, K.J. ja Cardinale, B.J. 2012. Effects of nano-titanium dioxide on freshwater algal population dynamics. *PLoS ONE* 7(10), e47130.
- Kuuniawan, T.A., Sillanpää, M.E.T. ja Sillanpää, M. 2012. Nanoadsorbents for remediation of aquatic environment: local and practical solutions for global water pollution problems. *Critical Rev. Environ. Sci. Technol.* 42, 1233–1295.
- Kühnel, D. ja Nickel, C. 2014. The OECD expert meeting on ecotoxicology and environmental fate – towards the development of improved OECD guidelines for the testing of nanomaterials. *Sci. Tot. Environ.* 472, 347–353.
- Kümmerer, K., Menz, J., Schubert, T. ja Thielemans, W. 2011. Biodegradability of organic nanoparticles in the aqueous environment. *Chemosphere* 82, 1387–1392.
- Kwon, D., Kim, M.J., Park, C., park, J., Choi, K. ja Yoon, T.H. 2012. In vivo biodegradation of colloidal quantum dots by a freshwater invertebrate, *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol.* 114–115, 217–222.
- Ladhar, C., Geffroy, B., Cambier, E., Treguer-Delapierre, M., Durand, E., Brêthes, D. ja Bourdineaud, J-P. 2014. Impact of dietary cadmium sulphide nanoparticles in *Danio rerio* zebrafish at very low contamination pressure. *Nanotoxicology* 8(6), 676–685.
- Larsson, J., Gustafsson, O. ja Ingri, J. 2002. Evaluation and optimization of two complementary cross-flow ultrafiltration systems toward isolation of coastal surface water colloids. *Environ. Sci. Technol.* 36, 2236–2241.
- Lee, W-M., Kwak, J.I. ja An, Y-J. 2012. Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: Media effect on phytotoxicity. *Chemosphere* 86, 491–499.
- Li, L., Sillanpää, M., Tuominen, M., Lounatmaa, K. ja Schultz, E. 2013. Behaviour of titanium dioxide nanoparticles in *Lemna minor* growth test conditions. *Ecotox. Environ. Saf.* 88, 89–94.
- Li, S., Irin, F., Atore, F.O., Green, M.J. ja Cañas-Carrell, J.E. 2013. Determination of multi-walled carbon nanotube bioaccumulation in earthworms measured by a microwave-based detection technique. *Sci. Tot. Environ.* 445–446, 9–13.
- Li X.-Q., Elliott D.W. ja Zhang W.-X. 2006. Zero-valent iron nanoparticles for abatement of environmental pollutants: materials and engineering aspects. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences* 31, 111–122.
- De Lima, R., Oliveira Feitosa L, Rodrigues Maruyama C, Abreu Barga M, Yamawaki PC, Vieira IJ, Teixeira EM, Corrêa AC, Caparelli Mattozo LH, Fernandes Fraceto L. 2012. Evaluation of the genotoxicity of cellulose nanofibers. *Int. J. Nanomedicine* 7, 3555–3565.
- Lin, N. ja Dufresne, A. 2014. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *European Polymer Journal*. Doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.07.025
- Lopes, S., Ribeiro, F., Wojnarowicz, J., Łojkowski, W., Jurkschat, K., Crossley, A., Soares, A.M.V.M. ja Loureiro, S. 2014. Zinc oxide nanoparticles toxicity to *Daphnia magna*: size-dependent effects and dissolution. *Environ. Toxicol. Chem.* 33,190–198.
- Luoma, S.N. 2008. Silver nanotechnologies and the environment: old problems or new challenges. *Project on Emerging Nanotechnologies* 15.
- Ma, H., Williams, P.L. ja Diamond, S. 2013. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles - A review. *Environ. Pollution.* 172, 76–85.
- Majedi, S.M., Lee, H.K. ja Kelly, B.C. 2012. Chemometric analytical approach for the cloud point extraction and inductively coupled plasma mass spectrometric determination of zinc oxide nanoparticles in water samples. *Analytical Chemistry*, 84, 6546–6552.
- Marambio-Jones, C. ja Hoek, E.M.V. 2010. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J. Nanopart. Res.* 12, 1531–1551.
- Massarsky, A., Dupuis, L., Taylor, J., Eisa-Beygi, E., Streck, L., Trudeau, V.L. ja Moon, T.W. 2013. Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development. *Chemosphere* 92, 59–66.
- McLaughlin, J. ja Bonzongo, J.J. 2012. Effects of natural water chemistry on nanosilver behaviour and toxicity to *Ceriodaphnia dubia* and *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 168–175.
- Menard, A., Drobne, D. ja Jemec, A. 2011. Ecotoxicity of nanosized TiO<sub>2</sub>. Review of in vivo data. *Environ. Pollut.* 159(3), 677–684. doi: 10.1016/j.envpol.2010.11.027
- Miralles, P., Church, T.L. ja Harris, A.T. 2012. Toxicity, uptake and translocation of engineered nanomaterials in vascular plants. *Env. Sci. Toxicol.* 46, 9224–9239.
- Mitrano, D.M., Leshner, E.K., Bednar, A., Monserud, J., Higgins, C.P. ja Ranville, J.F. 2012. Detecting nanoparticulate silver using single-particle inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 115–121.
- Moreira, S., Silva, N., Almeida-Lima, J., Rocha, H., Medeiros, S., Alves jr, C. ja Gama, F. 2009. BC Nanofibres: In vitro study of genotoxicity and cell proliferation. *Toxicol. Lett.* 189, 235–241.
- Morelli, E., Salvadori, E., Bizzarri, R., Cioni, P. ja Gabellieri, E. 2013. Interaction of CdSe/ZnS quantum dots with the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* and the green alga *Dunaliella tertiolecta*: A biophysical approach. *Biophys. Chem.* 182, 4–10.
- Mustonen, M. Nanoselluloosan rajattomat mahdollisuudet 13.12.2012 [http://www.uef.fi/fi/uef/-/nanoselluloosan-rajattomat-mahdollisuudet]. 15.4.2013.
- Mwangi, J.N., Wang, N., Ingersoll, C.G., Hardesty, D.K., Brunson, E.L., Li, H. ja Deng, B.L. 2012. Toxicity of carbon nanotubes to freshwater aquatic invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.* 31(8), 1823–1830.
- Naumann, B., Eberius, M. ja Appenroth, K. 2007. Growth rate based dose-response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St. *J. Plant. Physiol.* 164, 1656–1664.
- Navarro, E., Piccapietra, F., Wagner, B., Marconi, F., Kaegi, R., Odzak, N., Sgg, L. ja Behra, R. 2008. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ. Sci. Technol.* 42 (23), 8959–8964.
- Neal, C., Jarvie, H., Rowland, P., Lawler, A., Sleep, D. ja Scholefield, P. 2011. Titanium in UK rural, agricultural and urban/industrial rivers: geogenic and anthropogenic colloidal/sub-colloidal sources and the significance of within-river retention. *Sci. Tot. Environ.* 409, 1843–1853.
- Newman, M.D., Stotland, M. ja Ellis, J.I. 2009. The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide- based sunscreens. *J. Am. Acad. Dermatol.* 61, 685–692.

- Nowack, B., Ranville, J.F., Diamond, S., Gallego-Urrea, J.A., Metcalfe, C., Rose, J., Horne, N., Koelmans, A.A. ja Klaine, S.J. 2012. Potential scenarios for nanomaterials release and subsequent alteration in the environment. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 50-59.
- Oberdörster, E., Zhu, S., Blickey, T.M., McClellan-Green, P. ja Haasch, M.L. 2006. Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: Effects of fullerenes (C60) on aquatic organisms. *Carbon* 44, 1112 – 1120.
- O'Connor, B. 2009. Ensuring the safety of manufactured nanocrystalline cellulose. OECD Conference, Pariisi, 15-17.7.2009. [www.oecd.org/science/nanosafety/44027521.pdf] 16.4.2013.
- OECD 2014. Addendum to ecotoxicology and environmental fate of manufactured nanomaterials: Test guidelines. Expert Meeting Report, Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials, No. 40.
- Osborne, O. J., Johnston, B. D. Moger, J., Balousha, M., Lead, J.R. ja Kudoh, T. 2013. Effects of particle size and coating on nanoscale Ag and TiO<sub>2</sub> exposure in zebrafish (*Danio rerio*). *Nanotoxicology* 7(8), 1315-1324.
- Ottofulling, S., v.d. Kammer, F. ja Hofmann, T. 2011. Commercial titanium dioxide nanoparticles in both natural and synthetic water: Comprehensive multidimensional testing and prediction of aggregation behavior. *Environ. Sci. Technol.* 45, 10045 – 10052.
- Pakarinen, K., Petersen, E.J., Leppänen, M.T., Akkanen, J. ja Kukkonen, J.V.K. 2011. Adverse effects of fullerenes (nC60) spiked to sediments on *Lumbricus variegatus* (*Oligochaeta*). *Environ. Pollut.* 159, 3750-3756.
- Park B., Donaldson K., Duffin R., Tran L., Kelly F., Mudway I., Morin J.P., Guest R., Jenkinson P., Samaras Z., Giannouli M., Kouridis H. ja Martin P. 2008. Hazard and risk assessment of a nanoparticulate cerium oxide-based diesel fuel additive – a case study. *Inhalation Toxicology* 20, 547-566.
- Parks, A.N., Portis, L.M., Schierz, A., Washburn, K.M., Perron, M.M., Burgess, R.M., Ho, K.T., Chandler, T. ja Ferguson, L., 2013. Bioaccumulation and toxicity of single-walled carbon nanotubes to benthic organisms at the base of the marine foodweb. *Environ. Toxicol. Chem.* 32, 1270-1277.
- Pelley, J.L., Daar, A.S. ja Saner, M.A. 2009. State of academic knowledge on toxicity and biological fate of quantum dots. *Toxicol. Sci.* 112, 276–296.
- Petersen, E.J., Akkanen, J., Kukkonen, J.V.K. ja Weber, jr. W.J. 2009. Biological uptake and depuration of carbon nanotubes by *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Technol.* 43, 2965-2975.
- Petersen E.J., Huang, Q. ja Weber jr, W.J. 2010. Relevance of octanol-water distribution measurements to the potential ecological uptake of multi-walled carbon nanotubes. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 1106 – 1112.
- Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S. ja Nowack, B. 2012. Industrial production quantities uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *J. Nanopart. Res.* 14:1109. Doi 10.1007/s11051-012-1109-9.
- Priester, J.H., Stoimenov, P.K., Mielke, R.E., Webb, S.M., Ehrhardt, C., Zhang, J.P., Stucky, G.D. ja Holden, P. 2009. Effects of soluble cadmium salts versus CdSe quantum dots on the growth of planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ. Sci. Technol.* 43. 2589-2594.
- Pycke, B.F.G., Benn, T.M., Herkces, P., Westerhoff, P. ja Halden, R.U. 2012. Strategies for quantifying C60 fullerenes in environmental and biological samples and implications for studies in environmental health and ecotoxicology. *Trends Analyt. Chem.* 30, 44–57. Doi: 10.1016/j.trac.2010.08.005
- Robichaud, C.O., Uyar, A.E., Darby, M.R., Zucker, L.G. ja Wiesner, M.R. 2009. Estimates of upper bounds and trends in nano-TiO<sub>2</sub> production as basis for exposure assessment. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4227-4233.
- Sanchis, J., Berrojalbiz, N., Caballero, G., Dachs, J., Farre, M. ja Barcelo, D. 2011. Occurrence of aerosol-bound fullerenes in the Mediterranean sea atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* 46, 1335–1343.
- Shoultz-Wilson, W.A., Reinsch, B.C., Tsyusko, O.V., Bertsch, P.M. ja Lowry, G.V. 2011. Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (*Eisenia fetida*). *Nanotoxicology* 5 (3), 432-444.
- Seitz, F., Bundschuh, M., Rosenfeldt, R.R. Schulz R. 2013. Nanoparticle toxicity in *Daphnia magna* reproduction studies: The importance of test design. *Aquat. Toxicol.* 126, 163–168.
- Sillanpää, M., Paunu, T.-M. ja Sainio, P. 2011. Aggregation and deposition of engineered TiO<sub>2</sub> nanoparticles in natural fresh and brackish waters. *Journal of Physics: Conference series* 304, 012018. doi:10.1088/1742-6596/304/1/012018.
- Sun, H., Zhang, X., Niu, Q., Chen, Y. ja Crittenden, J.C. 2007. Enhanced accumulation of arsenate in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles. *Water Air Soil Pollut.* 178, 245-254.
- Tiede K., Boxall A.B.A., Tear S.P., Lewis J., David H. ja Hasselöv M. 2008. Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food Additives and Contaminants* 25, 795-821.
- Tiede K., Hasselöv M., Breitbarth E., Chaudhry Q. ja Boxall A.B.A. 2009. Considerations for environmental fate and ecotoxicity testing to support environmental risk assessments for engineered nanoparticles. *J. Chromatogr. A* 1216, 503-509.
- Tran, Q.H., Nguyen, V. Q. ja Le, A.-L. 2013. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 4, 033001. Doi: 10.1088/2043-6262/4/3/033001.
- Tuominen, M., Schultz, E. ja Sillanpää, M. 2013 Toxicity and stability of silver nanoparticles to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata* in boreal freshwater samples and growth media. *Nanomaterials and the Environment* 1, 48–57. Doi: 10.2478/nanome-2013-0004.
- Vartiainen, J., Pöhler, T., Sirola, K., Pykkänen, L., Alenius, H., Hokkinen, J., Tapper, U., Lahtinen, P., Kapanen, A., Putkisto, K., Hiekkataipale, P., Eronen, P., Ruokolainen, J. ja Laukkanen, A. 2011. Health and environmental safety aspects of friction grinding and spray dyeing of microfibrillated cellulose. *Cellulose* 18, 775-786.
- Velzboer, I., Peeters, E.T.H.M. ja Koelmans, A.A. 2013. Multiwalled carbon nanotubes at environmentally relevant concentrations affect the composition of benthic communities. *Environ. Sci. Technol.* 47(13), 7475 – 7482.
- de Volder, M.F., Tawfick, S.H., Baughman, R.H. ja Hart, A.J. 2013. Carbon nanotubes: present and future commercial applications. *Science* 339, 535 – 539.
- Waalewijn-Kool, P.L., Diez Ortiz, M., Lofts, S. ja van Gestel, C.A.M. 2013. The effect of pH on the toxicity of zinc oxide nanoparticles to *Folsomia candida* in amended field soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 32, 2349–2355.
- Waissi-Leinonen, G.C., Peterson, E. J., Pakarinen, K., Akkanen, J. Leppänen, M.T. ja Kukkonen, J.V.K., 2012. Toxicity of fullerene (C60) to sediment-dwelling invertebrate *Chironomus riparius* larvae. *Environ Toxicol Chem.* 31, 2108-2116.
- Wang, Y., Miao, A.J., Luo, J., Wei, Z.B., Zhu, J.J. ja Yang, L.Y. 2013. Bioaccumulation of CdTe quantum dots in a freshwater alga *Ochromonas danica*: A kinetics study. *Env. Sci. Technol.* 47(18), 10601-10610.
- Wang, Y. ja Yang, K.J. 2013. Toxicity of single-walled carbon nanotubes on green microalga *Chromochloris zofingensis*. *Chinese J. Oceanol. Limnol.* 31 (2), 306 – 311.
- Wei, L., Thakkar, M., Chen, Y., Ntim, S.A., Mitra, S. ja Zhang, X. 2010. Cytotoxicity effects of water dispersible oxidized multiwalled carbon nanotubes on marine alga, *Dunaliella tertiolecta*. *Aquat. Toxicol.* 100, 194–201.
- Westerhoff, P., Song, G., Hristovski, K. ja Kiser, M.A. 2011. Occurrence and removal of titanium at full scale wastewater treatment plants: implications for TiO<sub>2</sub> nanomaterials. *J. Environ. Monit.* 13, 1195-1203.
- Wiench, K., Wohlleben, W., Hisgen, V., Radke, K., Salinas, E., Zok, S. ja Landsiedel, R. 2009. Acute and chronic effects of nano- and nano-scale TiO<sub>2</sub> and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere* 76, 1356–1365.



- Wigginton N.S., Haus K.L. ja Hochella jr, M.F. 2007. Aquatic environmental nanoparticles. *J. Env. Monit.* 9, 1306-1316.
- Wijnhoven S.W.P., Oomen, A.G., Sips, A.J.A.M., Bourgeois, F.C., te Dorsthorst, G.J.P.M., Kooi, M.W. ja Bakker, M.I. 2010. Development of an inventory for consumer products containing nanomaterials. Final Report 070307/2010/580587/SER/D3.
- Williams A., Varela E., Meehan E. ja Tribe K. 2002. Characterisation of nanoparticulate systems by hydrodynamic chromatography. *Int. J. Pharmaceutics* 242, 295-299.
- Wu, Y., Zhou, Q., Li, H., Liu, W., Wang, T. ja Jiang, G. 2010 Effects of silver nanoparticles on the development and histopathology biomarkers of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) using the partial-life test. *Aquatic Toxicology* 100, 160-167.
- Xiong, D., Fang T., Yu, L., Sima, X. ja Zhu, W. 2011. Effects of nano-scale TiO<sub>2</sub>, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: Acute toxicity, oxidative stress and oxidative damage. *Sci. Tot. Environ.* 409; 1444-1452.
- Xiu, Z., Zhang, Q., Puppala, H.L., Colvin, V.L. ja Alvarez, P.J.J. 2012. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. *Nano Lett.* 12 (8), 4271-4275.
- Zhang, X., Sun, H., Zhang, Z., Niu, Q., Chen, Y. ja Crittenden, J. 2007. Enhanced bioaccumulation of cadmium in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles. *Chemosphere* 67, 160-166.
- Zhang, S., Jiang, Y., Chen, C-S., Creeley, D., Schwehr, K.A., Quigg, A., Chin, W-C. ja Santschi, P.H. 2013. Ameliorating effects of extracellular polymeric substances excreted by *Thalassiosira pseudonana* on algal toxicity of CdSe quantum dots. *Aquat Toxicol.* 126, 214-223.
- Zhao, C-M. ja Wang, W-Z. 2012. Importance of surface coatings and soluble silver in silver nanoparticles toxicity to *Daphnia magna*. *Nanotoxicology* 6 (4), 361-370. Doi:10.3109/17435390.2011.579632.
- Zhao, X., Wang, S., Wu, Y., You, H. ja Lv, L. 2013. Acute ZnO nanoparticles exposure induces developmental toxicity, oxidative stress and DNA damage in embryo-larval zebrafish. *Aquat. Toxicol.* 136- 137, 49- 59.
- Zhu, X., Zhu, L., Duan, Z., Qi, R., Li, Y ja Lang, Y. 2008. Comparative toxicity of several metal oxide nanoparticles aqueous suspensions to zebrafish (*Danio rerio*) early developmental stage. *J. Environ. Sci. Health A*, 43, 278-284.
- Zhu X., Wang, J., Zhang, X., Chang, Y. ja Chen Y. 2009. The impact of ZnO nanoparticle aggregates on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *Nanotechnology* 20, 195103. Doi:10.1088/0957-4484/20/19/195103.
- Yang, Z., Gondikas, A.P., Marinakos, S.M., Auffan, M., Liu, J., Hsu-Kim, H. ja Meyer, J.N. 2011. Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans*. *Env. Sci. Technol.* 46, 1119 - 1127.
- Yang, W., Li, Y., Miao, A. ja Yang, L., 2012. Cd<sup>2+</sup> toxicity as affected by bare TiO<sub>2</sub> nanoparticles and their bulk counterpart. *Ecotox. Environ. Saf.* 85, 44-51.
- Yoon, S-J., Kwak, J.I., Lee, W-M., Holden, P.A. ja An, Y-J. 2014. Zinc oxide nanoparticles delay soybean development: A standard soil microcosm study. *Ecotox. Environ. Saf.* 100, 131-137.
- Yu, L., Fang, T., Xiong, D., Zhu, W ja Sima, X. 2011. Comparative toxicity of nanoZnO and bulk ZnO suspensions to zebrafish and the effects of sedimentation. OH production and particle dissolution in distilled water. *J. Env. Monit.* 13 (7), 1975-1982.
- Yu, S., Yin, Y. ja Liu, J. 2013 Silver nanoparticles in the environment. *Environ. Sci.: Processes Impacts* 15, 78 - 92.

## Liite 1.

Nanomateriaalien määritelmistä.

### **KOMISSION SUOSITUS nanomateriaalin määritelmästä (2011/696/EU), 18.10.2011**

Jäsenvaltioita, Euroopan unionin virastoja ja talouden toimijoita pyydetään käyttämään seuraavaa käsitteen ”nanomateriaali” määritelmää nanoteknologian tuotteita koskevan lainsäädännön, politiikkojen ja tutkimusohjelmien hyväksymisen ja täytäntöönpanon yhteydessä.

2. ”Nanomateriaali” tarkoittaa luonnollista materiaalia, sivutuotemateriaalia tai valmistettua materiaalia, joka sisältää hiukkasia joko vapaina, agglomeroituneina tai aggregoituneina ja jonka hiukkasista vähintään 50 prosenttia lukumääräperusteisen kokojakauman mukaisesti on kooltaan 1–100 nm tai jonka ulkomitoista yksi tai useampi on 1–100 nm.

Eryitystapauksissa ja jos ympäristöön, terveyteen, turvallisuuteen tai kilpailukykyyn liittyvät huolenaiheet sen oikeuttavat, lukumääräperusteisen kokojakauman 50 prosentin kynnsarvo voidaan korvata 1–50 prosentin kynnsarvolla.

3. Poiketen 2 kohdan soveltamisesta fullereeneja, grafeenihiutaleita ja yksiseinäisiä hiilinanoputkia, joiden yksi tai useampi ulkomitta on alle yksi nanometri, olisi pidettävä nanomateriaaleina.

4. Edellä olevan 2 kohdan soveltamiseksi käsitteet ”hiukkanen”, ”agglomeraatti” ja ”aggregaatti” määritellään seuraavasti:

- a) ”Hiukkasella” tarkoitetaan erittäin pientä aineen osaa, jonka fyysiset rajat on määritetty;
- b) ”Agglomeraatilla” tarkoitetaan heikosti sidottuja hiukkasia tai hiukkasryhmittymiä, joiden yhteinen ulkoinen kokonaispinta-ala vastaa yksittäisen komponenttien pinta-alojen summaa;
- c) ”Aggregaatilla” tarkoitetaan hiukasta, joka koostuu vahvasti sidotuista tai fuusioituneista hiukkasista.

5. Jos se on teknisesti toteutettavissa ja jos erityislainsäädännössä sitä edellytetään, voidaan 2 kohdan määritelmän noudattaminen määrittää erityisen tilavuuteen suhteutetun pinta- alan perusteella. Materiaalin olisi katsottava kuuluvan 2 kohdan määritelmän soveltamisalaan, jos aineen erityinen tilavuuteen suhteutettu pinta-ala on suurempi kuin  $60 \text{ m}^2 / \text{cm}^3$ . Kuitenkin sellaista materiaalia, joka on lukumääräperusteisen kokojakauman mukaisesti nanomateriaalia, olisi pidettävä 2 kohdan määritelmän mukaisena, vaikka materiaalin erityinen pinta-ala on pienempi kuin  $60 \text{ m}^2 / \text{cm}^3$ .

6. Edellä 1–5 kohdassa tarkoitettua määritelmää on tarkasteltava uudelleen viimeistään joulukuussa 2014 saatujen kokemusten ja tieteen ja tekniikan kehityksen mukaisesti. Uudelleentarkastelussa olisi keskityttävä erityisesti siihen, olisiko lukumääräperusteisen kokojakauman 50 prosentin kynnsarvo nostettava tai laskettava.

### **KOMISSION DELEGOITU ASETUS (EU N:o 1363/2013), 12.12.2013**

**elintarviketietojen antamisesta kuluttajille annetun Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EU) N:o 1169/2011 muuttamisesta siltä osin kuin kyse on ’valmistetun nanomateriaalin’ määritelmästä**

1 artikla:

Korvataan asetuksen (EY) N:o 1169/2011 2 artiklan 2 kohdan t alakohta seuraavasti:

”t) ’valmistetulla nanomateriaalilla’ tarkoituksellisesti valmistettua materiaalia, joka sisältää hiukkasia joko vapaina, agglomeroituneina tai aggregoituneina ja jonka hiukkasista vähintään 50 prosenttia lukumääräperusteisen kokojakauman mukaisesti on kooltaan 1–100 nm tai jonka ulkomitoista yksi tai useampi on 1–100 nm.”

Poikkeukset:

a) ensimmäisessä kohdassa olevan määritelmän piiriin kuuluvia elintarvikelisiä aineita ei pidetä valmistettuina nanomateriaaleina, jos ne on sisällytetty asetuksen (EY) N:o 1333/2008 4 artiklassa tarkoitettuihin unionin luetteluihin komission asetuksilla (EU) N:o 1129/2011 (\*) ja (EU) N:o 1130/2011 (\*\*);

b) fullereeneja, grafeenihiutaleita ja yksiseinäisiä hiilinanoputkia, joiden yksi tai useampi ulkomitta on alle yksi nanometri, pidetään valmistettuina nanomateriaaleina.

Sovellettaessa ensimmäisessä kohdassa annettua määritelmää:

i) ’hiukkasella’ tarkoitetaan erittäin pientä aineen osaa, jonka fyysiset rajat on määritetty;

ii) ’agglomeraatilla’ tarkoitetaan heikosti sidottuja hiukkasia tai hiukkasryhmittymiä, joiden yhteinen ulkoinen kokonaispinta-ala vastaa yksittäisten komponenttien pinta-alojen summaa;

iii) ’aggregaatilla’ tarkoitetaan hiukkasta, joka koostuu vahvasti sidotuista tai fuusioituneista hiukkasista;

iv) ’tarkoituksellisesti valmistetulla’ tarkoitetaan sitä, että materiaali on valmistettu täyttämään tietyn tehtävän tai tarkoituksen;”.

## **EUROOPAN PARLAMENTIN JA NEUVOSTON ASETUS (EY N:o 1223/2009), 30.11.2009**

### **kosmeettisista valmisteista**

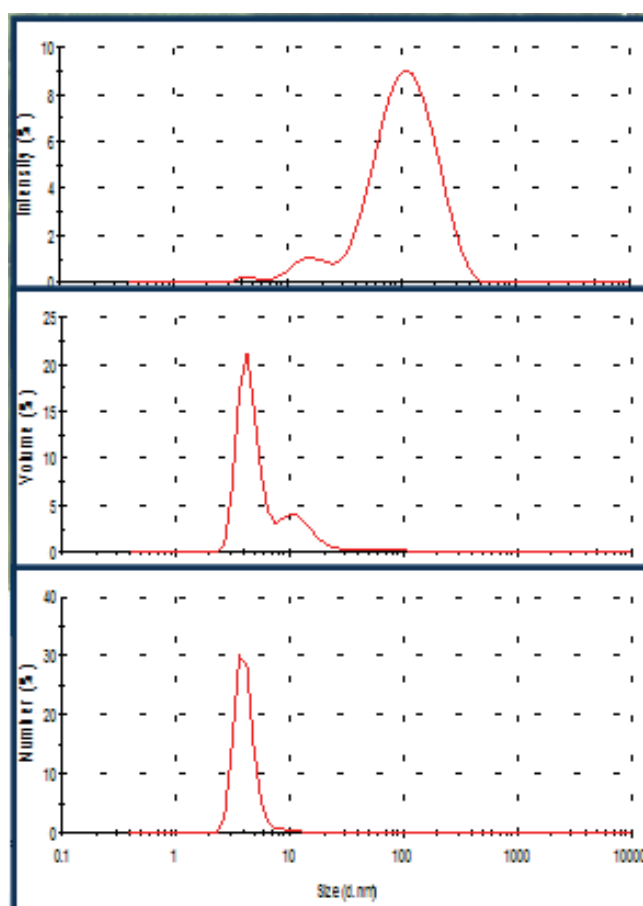
I luku, 2. artikla, 1 kohta k (s. 65):

k) Tässä asetuksessa tarkoitetaan: ”nanomateriaalilla” liukenematonta tai biologisesti pysyvää tarkoituksellisesti valmistettua materiaalia, jonka yksi tai useampi ulottuvuus tai sisäinen rakenne on 1–100 nanometriä.”

## Liite 2.

### Polydispersiivisen hiukkaspopulaation koon esittäminen

Lähes poikkeuksetta valmistettujen hiukkasten koko vaihtelee jossain määrin, ja siksi kokoa on syytä tarkastella kokojakauman avulla. Ideaalitapauksessa hiukkaspopulaation kokojakauma on kapea ja yksi-hiippuinen. Kokojakaumassa voi esiintyä myös kaksi tai useampi huippu. Hiukkaspopulaation kokojakauma voidaan esittää esimerkiksi lukumäärään, massa- tai pintalaan tai valonsirontaan perustuvan arvon avulla. Hiukkaspopulaation esittämisessä lukumäärän avulla korostuu pienten hiukkasten osuus, kun taas massan tai tilavuuden ja erityisesti valon sirontaan perusteella esitetyissä kokojakaumissa painottuu isoimpien hiukkasten osuus (ks. kuva 1 alla). Periaatteessa eri kokojakaumiin perustuvat hiukkaskokojakaumat ovat muunnettavissa toisikseen matemaattisin menetelmin. Muunnosten yhteydessä on muistettava, että mittauksen aikana voimakkaat signaalit ovat saattaneet peittää tai kokonaan kadottaa heikommät. Esimerkiksi valonsirontaan perustuvissa mittauksissa isojen hiukkasten signaali on niin voimakas, ettei pieniä hiukkasia välttämättä havaita vaikka niitä lukumääräisesti olisi selvästi enemmän. Tästä johtuen viitattaessa hiukkaskokoon tai hiukkaskokojakaumaan on erityisen tärkeää tuoda esiin millaisiin mittauksiin tulokset perustuvat.



Kuva 1. Polydispersiivisen nanohiukkasnäytteen hiukkaskokojakauma esitettynä sironnun valon intensiteettinä (ylin kuva), tilavuutena (keskellä) ja lukumääränä (alinen kuva). Huippujen suhteelliset korkeudet vaihtelevat voimakkaasti esitetyn ominaisuuden mukaan. Kuvassa esitetty tulos perustuu dynaamisella valonsirontalaitteella tehtyihin mittauksiin.

## Liite 3.

EU:n 7. puiteohjelman rahoittamia projekteja

EU:n rahoittamien nanomateriaalien ja nanoteknologioiden turvallisuutta koskevat tutkimushankkeet on koottu yhteen klusteriksi (NanoSafety Cluster), jonka johtajana toimii professori Kai Savolainen Työterveyslaitokselta. Kaikki vuoden 2009 huhtikuusta lähtien rahoitetut tutkimushankkeet kuuluvat klusteriin. Pyrkimyksenä on lisätä puiteohjelmista 6 ja 7 rahoitettujen projektien yhteistyötä. NanoSafety Cluster käsittää useita kymmeniä projekteja, joiden aiheina ovat mm. nanomateriaalien toksisuus, altistuksen monitorointi, yhdenmety riskinarviointi sekä turvallisuuden tutkimusta viranomaisnäkökulma huomioiden. Kaikilla hankkeilla on internetsivut, joihin löytää seuraavan osoitteen kautta:

<http://www.nanosafetycluster.eu/eu-nanosafety-cluster-projects.html>

Ajankohtainen (kesäkuu 2014) yhteenveto projekteista löytyy myös klusterin sivujen kautta (<http://www.nanosafetycluster.eu>) tai suoraan osoitteesta [http://www.nanosafetycluster.eu/uploads/files/pdf/2014\\_NSC\\_Compendium.pdf](http://www.nanosafetycluster.eu/uploads/files/pdf/2014_NSC_Compendium.pdf).

Seuraavassa on koottuna esimerkin tavoin tietoja muutamista klusterin projekteista. Monet klusterin hankkeista ovat laajoja ja edelleen käynnissä. Tieteelliset julkaisut ja yhteenvedot tuloksista ilmestyvät pääsääntöisesti vasta projektien päättyessä tai päättyttyä.

### **NanoFATE (2010-2014)**

Nanoparticle Fate Assessment and Toxicity in the Environment

21 partneria, 9 maata

Koordinaattori: C. Svendsen, Iso-Britannia

<http://www.nanofate.eu>

Tavoitteet

- hiukkaskemian ja hiukkasten ympäristökohtalo
- ekotoksikologia ja biosaatavuus
- riskinarviointi ja kommunikaatio

Malliaineiksi on otettu sinkkioksidi, hopea ja ceriumdioksidi, mallinnettu ZnO ja Ag pitoisuudet vesissä ja viljelymaassa, johon on levitetty puhdistamolietettä, arvioitu ja mukautettu ekotoksisuustestimenetelmät tutkittujen aineiden testaukseen sekä vesi- että maaperäeliöille, laadittu riskikartta ko. aineille.

Projektissa mallinnettiin Ag ja ZnO pitoisuuksia Euroopassa (worst-case assumptions). Laskelmien mukaan korkeimmat pitoisuudet voisivat olla Po-joen ja Reinin laskeuma-alueella, Kaakkois-Englannissa ja Välimeren tiheään asutuilla alueilla, missä nAg pitoisuudet voisivat olla 6 ng/l ja ZnO 500 ng/l.

Eri työosuiden raporteista on lyhennelmät internet-sivuilla, missä on myös hyödyllisiä ohjeita tutkijoille ja viranomaiskäyttöön.

### **NanoTransKinetics (2011-2014)**

Modelling basis and kinetics of nanoparticle interaction with membranes, uptake into cells and sub-cellular and inter-compartmental transport.

4 partneira, 4 maata

koordinaattori: K. A. Dawson, Irlanti

<http://www.nanotranskinetics.eu> Projekti pyrkii löytämään ne vuorovaikutusmekanismit solutasolla, joihin biologiset vaikutukset perustuvat. Tutkittavat mekanismit ovat soluun kulkeutuminen, solun sisäiset kuljetusmekanismit ja kuljetus biologisten esteiden ja kalvojen läpi. Näiden pohjalta voidaan kehittää malleja esimerkiksi bioakkumulaatiomahdollisuuden ennustamiseen. Lähtökohtana on, että on tiedettävä missä lopullinen vaikutuspaikka ja missä hiukkaset ovat elävissä soluissa.

Tieteellisiä artikkeleita on julkaistu projektin kuluessa ja tämän projekti toimii kontaktina NanoSafety Clusterin työryhmälle, joka hallinnoi tietoaaineistoja.

### **NanoValid (2011-2015)**

Development of reference methods for hazard identification, risk assessment and LCA of engineered nanomaterials

29 partneria, 2 muuta yhteistyötahoa, yhteensä 19 maata

Koordinaattori: R. Reuther, Ruotsi

<http://www.nanovalid.eu>

Päätavoitteena on kehittää luotettavia vertailumateriaaleja ja materiaaleja valmistukseen, fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksien määrittämiseen sekä vaaran ja altistumisen arviointiin. Lisäksi sovelletaan ja kehitetään nanomateriaaleille sopiviksi dispersioiden valmistusmenetelmiä, sekä riskinarviointimenetelmiä ja LCA-menetelmiä.

Projekti on vielä kesken, mutta tuloksia on julkaistu tieteellisissä lehdissä. Aluminioksidihiuksien ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) osoitettiin kulkeutuvan solun sisään soluviljelyssä, mutta ne eivät menneet tumaan eikä aiheuttaneet haittavaikutuksia. Maaperään annostellut titaanidioksidihiuksiset eivät myöskään olleet haitallisia lieroille, vaikka ne kartoivat sellaista maata, jossa oli korkea pitoisuus.

### **NanoMILE (2013-2017)**

Engineered nanomaterial mechanisms of interactions with living systems and the environment: a universal framework for safe nanotechnology

28 partneria, 12 maata

Koordinaattori: E. Valsami-Jones, Iso-Britannia

<http://www.nanomile.eu>

Aineet:  $\text{CeO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ , Ag,  $\text{Fe}_x\text{O}_y$ , grafeeni ja muut hiiliyhdisteet,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$

Tavoitteena on luoda malli kuvaamaan nanomateriaalien ja eliöiden tai ympäristön välisiä vuorovaikutusmekanismeja ja kehittää menettelytapa nanomateriaalien turvallisuusluokitusta varten. Pyritään myös selvittämään, mitkä ovat ne hiukkasten ominaisuustiedot (pitoisuuden lisäksi), jotka ovat merkittäviä vaikutusten ja arvioinnissa ja turvallisuusluokituksessa. Julkaistaan yhteistyössä muiden projektien ja NanoSafety klusterin koordinoimana käsikirja parhaista menettelytavoista.

### **NanoSustain (2010 - 2013)**

Development of sustainable solutions for nanotechnology-based products based on hazard characterization and LCA.

12 partneria, 8 maata

Koordinaattori: R. Reuther, Ruotsi

<http://www.nanosustain.eu>Aineet: TiO<sub>2</sub>, ZnO, MWCNT ja nanoselluloosa

Hankkeen tavoitteena oli parantaa nanomateriaalien vaikutusten arviointia ja lisätä tietoa ympäristökohdalosta sekä luoda pohja uusien kestävien tuotteiden kehittämiseksi ja teollisuuden nanoteknologisille sovelluksille. Pyrittiin kehittämään tuotekehityksen, sekä positiivisten ja negatiivisten ympäristövaikutusten arviointia tuotteiden elinkaaren eri vaiheissa.

Tuotteisiin käytetyt nanomateriaalit tai –rakenteet eivät valmistuksen jälkeen käyttäydy kuin vapaa nanomateriaali eivätkä myöskään aiheuta ihmisen terveydelle vaaraa. Tutkituista aineista vain ZnO oli ekotoksisuustesteissä akuutisti myrkyllinen johtuen liuenneista sinkki-ioneista. Jätteenkäsittelymenetelmien (kompostointi nanoselluloosalle, sulatus nZnO sisältävälle lasille, poltto hiilinanoputkia sisältäville komposiiteille ja kaatopaikkasijoitus nZnO sisältäville jätteille) tarkastelussa ei tullut esille sellaista, mikä estäisi näiden menetelmien käytön tutkituille nanomateriaaleille.

### **NANoREG (2013-2016)**

A common European approach to the regulatory testing of nanomaterials

59 partneria, 15 maata

Koordinaattori: T. van Teunenbroek, Hollanti

<http://www.nanoreg.eu>

Tavoitteena on kehittää viranomaiskäyttöön soveltuvia keinoja riskinarviointiin ja päätöksentekoon, sekä luoda uusia testausstrategioita, jotka soveltuvat suurelle joukolla nanomateriaaleja. Pyritään läheiseen yhteistyöhön viranomaisten ja teollisuuden kanssa, jotta löydetään kaikkien osapuolten hyväksymät riskinhallinta käytännöt.

### **ENNSATOX (2009 – 2012)**

Engineered Nanoparticle impact on aquatic environments: Structure, activity and toxicology

koordinaattori A. Nelson, Iso-Britannia

aineet: SiO<sub>2</sub>, ZnO, TiO<sub>2</sub>

### **SUN (2013-2017)**

Sustainable nanotechnologies project

35 partneria, 12 maata

projekti alkanut 2013 lokakuussa ja kestää 3,5 vuotta

koordinaattori: A. Marcomini, Italia

<http://www.sun-fp7.eu>

aineet: wolframikarbidi-koboltti, CuO, MWCNT, SiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>, orgaaninen punainen pigmentti, Ag

Erittäin laaja projekti, jonka tavoitteet käsittävät paitsi ihmisten terveyden suojelemisen myös kattavasti ympäristön suojelun päätyen laadittaviin ohjeistoihin, joilla hallitaan nanomateriaalien koko elinkaari. Lähtökohtana on ajatus, että vaikka olemassa oleva tieto nanomateriaalien terveys- ja ympäristövaikutuksista on puutteellista, sen avulla voidaan luoda menettelytavat ja ohjata nanomateriaalien turvalliseen käyttöön koko niiden elinkaaren aikana.

Työpakettien sisällöstä esimerkkeinä seuraavat:

- lähtöaineiden karakterisointi
- ympäristölaatunormien kehittäminen ja periaatteet vihreälle teknologialle
- tuotteista vapautuvien hiukkasten analysointimenetelmät ja mallinnustyökalut, ympäristöpitoisuuksien arviointi ilmassa, makeassa vedessä, sedimentissä ja maassa.
- riskinarviointimenetelmät ja ympäristöriskien vähentäminen monimutkaisissa altistustilanteissa
- terveys ja työterveysriskit, kuluttajien altistuksen arviointi



## KUVAILELEHTI

|  |  |                                     |
|--|--|-------------------------------------|
| Julkaisija   | Suomen ympäristökeskus   | Julkaisu-aika<br>Joulukuu 2014      |
| Tekijä(t)  | Markus Sillanpää, Eija Schultz ja Meri Tuominen  |                                     |
| Julkaisun nimi   | Synteettisten nanomateriaalien ympäristövaikutukset: kokeellisen tutkimuksen nykytila  |                                     |
| Julkaisusarjan nimi ja numero                                  | Suomen ympäristökeskuksen raportteja 47/2014   |                                     |
| Julkaisun teema  |  |                                     |
| Julkaisun osat/<br>muut saman projektin<br>tuottamat julkaisut | Julkaisu on saatavana vain internetistä: <a href="http://www.syke.fi/julkaisut">www.syke.fi/julkaisut</a>   <a href="http://helda.helsinki.fi/syke">helda.helsinki.fi/syke</a>   |                                     |
| Tiivistelmä  | <p>Nanomateriaaleja käytetään nykyään monissa kuluttajatuotteissa ja teollisuuden sovelluksissa. Teollisen tuotannon ja käytön voimakkaaseen kasvuun liittyy uhka nanomateriaalien tahattomasta vapautumisesta ympäristöön. Sen vuoksi on tehty jo paljon tutkimusta, jossa pyritään arvioimaan nanomateriaalien turvallisuutta ihmisten terveyden ja ympäristön kannalta. Tämä raportti on katsaus synteettisten nanomateriaalien ympäristötutkimukseen, ja se pohjautuu viimeaikaiseen tieteelliseen kirjallisuuteen. Lähteinä on käytetty 2000-luvulla ja pääasiassa viimeisen viiden vuoden aikana ilmestyneitä alkuperäisiä artikkeleita ja katsauksia. Selvityksessä käsitellään nanomateriaalien ympäristötutkimukseen liittyviä teemoja, kuten aineiden vapautumista ympäristöön, mittaustekniikoita, mittaamiseen ja analysoimiseen liittyviä haasteita, nanomateriaalien ympäristökohtaloa ja biologisia vaikutuksia. Tarkastelun kohteeksi valittiin ominaisuuksiltaan kuusi erilaista nanomateriaalia tai nanomateriaaliryhmää (sinkkioksidi, titaanidioksidi, hopea, hiilipohjaiset aineet, nanoselluloosa ja kvanttipisteet). Katsauksen lopussa on joitakin huomioita tärkeimmistä tietoaukoista. Tässä raportissa keskitytään käsittelemään nanomateriaaleja vesiympäristössä, aerosolihiukkaset jätettiin kokonaan huomiotta, ja maaperäasioita on käsitelty vain rajoitetusti.</p> |                                     |
| Asiasanat  | Nanohiukkaset, nanomateriaalit, biologiset vaikutukset, mittauslaitteet, ympäristöturvallisuus   |                                     |
| Rahoittaja/<br>toimeksiantaja                                  | Ympäristöministeriö ja Suomen ympäristökeskus  |                                     |
|  | ISSN (pdf)<br>1796-1726  | ISBN (verkoj.)<br>978-952-11-4419-6 |
|  | Sivuja<br>57   | Kieli<br>Suomi                      |
|  | Luottamuksellisuus<br>julkinen   |                                     |
| Julkaisun jakelu   | Suomen ympäristökeskus (SYKE), neuvonta<br>PL 140, 00251, Helsinki<br>Sähköposti: <a href="mailto:neuvonta.syke@ymparisto.fi">neuvonta.syke@ymparisto.fi</a>   |                                     |
| Julkaisun kustantaja   | Suomen ympäristökeskus (SYKE), syke.fi<br>PL 140, 00251, Helsinki<br>Puh. 0295 251 000   |                                     |
| Painopaikka ja -aika   |  |                                     |

## PRESENTATIONSBLAD

|  |   |                                    |
|--|---|------------------------------------|
| Utgivare   | Finlands miljöcentral   | Datum<br>December 2014             |
| Författare   | Markus Sillanpää, Eija Schultz och Meri Tuominen  |                                    |
| Publikationens titel   | Miljöeffekter av nanomaterial: tillstånd av experimentell forskning   |                                    |
| Publikationsserie och nummer                                 | Finlands miljöcentrals rapporter 47/2014  |                                    |
| Publikationens tema  |   |                                    |
| Publikationens delar/ andra publikationer inom samma projekt | Publikationen finns tillgänglig på internet: <a href="http://www.syke.fi/publikationer">www.syke.fi/publikationer</a>   <a href="http://helda.helsinki.fi/syke">helda.helsinki.fi/syke</a>  |                                    |
| Sammandrag   | <p>Idag används nanomaterial i många konsumentprodukter och i industriella tillämpningar. Den starka tillväxten inom industriproduktion och användning av nanomaterial utgör en risk för oavsiktliga utsläpp av dessa i miljön. Därför har det gjorts en hel del forskning, som syftar till att bedöma säkerheten hos nanomaterial för människors hälsa och för miljön. Denna rapport är en översikt av miljöforskningen kring syntetiska nanomaterial och den baserar sig på den nyaste vetenskapliga litteraturen. Källorna som har använts är ursprungsartiklar och recensioner som publicerats under 2000-talet och framför allt under de senaste fem åren. Rapporten behandlar teman som berör miljöforskning av nanomaterial, såsom utsläpp av ämnen till omgivningen, utmaningar som gäller mätteknik och analys, nanomaterials öde i miljön samt biologiska konsekvenser. Här granskas sex olika nanomaterial eller grupper av nanomaterial med olika egenskaper (zinkoxid, titandioxid, silver, kolbasebaserat material, nanocellulosa och kvantprickar). I slutet sammanfattas de viktigaste iakttagelserna om informationsluckor. Rapporten fokuserar sig på hantering av nanomaterial i vattenmiljöer, aerosolpartiklar behandlas inte alls och markfrågor diskuterats endast i begränsad omfattning.</p> |                                    |
| Nyckelord  | Nanopartiklar, nanomaterial, biologiska effekter, mätinstrument, halt, miljö säkerhet   |                                    |
| Finansiär/ uppdragsgivare                                    | Miljöministeriet och Finlands miljöcentral  |                                    |
|  | ISSN (pdf)<br>1796-1726   | ISBN (online)<br>978-952-11-4419-6 |
|  | Sidantal<br>57  | Språk<br>Finska                    |
|  | Offentlighet<br>Offentlig   |                                    |
| Distribution   | Finlands miljöcentral (SYKE),<br>PB 140, 00251 Helsingfors<br>Epost: <a href="mailto:neuvonta.syke@ymparisto.fi">neuvonta.syke@ymparisto.fi</a>   |                                    |
| Förläggare   | Finlands miljöcentral (SYKE),<br>PB 140, 00251 Helsingfors<br>Tel. 0295 251 000   |                                    |
| Tryckeri/tryckningsort -år                                   |   |                                    |

## DOCUMENTATION PAGE

|   |   |                                    |               |
|---|---|------------------------------------|---------------|
| Publisher   | Finnish Environment Institute   | Date                               | December 2014 |
| Author(s)   | Markus Sillanpää, Eija Schultz and Meri Tuominen  |                                    |               |
| Title of publication                                | Environmental effects of engineered nanomaterials: state of experimental research   |                                    |               |
| Publication series and number                       | Reports of the Finnish Environment Institute 47/2014  |                                    |               |
| Theme of publication                                |   |                                    |               |
| Parts of publication/<br>other project publications | The publication is available in the internet: <a href="http://www.syke.fi/publications">www.syke.fi/publications</a>   <a href="http://helda.helsinki.fi/syke">helda.helsinki.fi/syke</a>   |                                    |               |
| Abstract  | <p>Nanomaterials are currently used in many consumer products and industrial applications. A growing risk of accidental release of nanomaterials to the environment is concomitant with the increasing volumes of production and use. Therefore, considerable efforts have been made to investigate the effects and risks of nanomaterials on human health and the environment. This report is a review of environmental research of synthetic nanomaterials. The material for this review has been collected from the recent scientific literature published in the 2000s, mainly during the five last years. The main issues considered are such as the release of nanomaterials to the environment, measurement techniques and challenges faced in measuring and analyzing techniques, the environmental fate of nanomaterials and biological impacts. The main emphasis has been put on six different nanomaterials or groups of nanomaterials, namely, zinc oxide, titanium dioxide, silver, carbon-based materials, nanocellulose and quantum dots. Some information gaps are also discussed. Attention has been paid for nanomaterials in the aquatic environment, while aerosol particles have been ignored and soil issues have been discussed to a very limited extent.</p> |                                    |               |
| Keywords  | Nanoparticles, nanomaterials, biological effects, concentration, environmental safety   |                                    |               |
| Financier/<br>commissioner                          | Ministry of the Environment and Finnish Environment Institute   |                                    |               |
|   | ISSN (pdf)<br>1796-1726   | ISBN (online)<br>978-952-11-4419-6 |               |
|   | No. of pages<br>57  | Language<br>Finnish                |               |
|   | Restrictions<br>public  | Price                              |               |
| Distributor   | Finnish Environment Institute (SYKE), neuvonta<br>P.O. Box 140, FI-00251 Helsinki, Finland<br>Email: <a href="mailto:neuvonta.syke@ymparisto.fi">neuvonta.syke@ymparisto.fi</a>   |                                    |               |
| Financier<br>of publication                         | Finnish Environment Institute (SYKE), P.O. Box 140, FI-00251 Helsinki, Finland<br>Phone +358 295 251 000  |                                    |               |
| Printing place<br>and year                          |   |                                    |               |

