

RIVM rapport 607030001/2007  
Waterdienst (RIZA) rapport nr. 2007.028  
Kiwa rapport nr. BTO 2007.036

## **Nanodeeltjes in water**

J. Struijs, RIVM  
D. van de Meent, RIVM  
W.J.G.M. Peijnenburg, RIVM  
E. Heugens, RIVM  
W. de Jong, RIVM  
W. Hagens, RIVM  
C. de Heer, RIVM  
J. Hofman, Kiwa Water Research  
E. Roex, Rijkswaterstaat Waterdienst

Contact:  
D. van de Meent  
Laboratorium voor Ecologische Risicobeoordeling  
D.van.de.Meent@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van Rijkswaterstaat Waterdienst, onder contract RI-4718 tussen Rijkswaterstaat en het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu

ISBN: 9789036914079

© RIVM 2007

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: 'Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave'.

# Rapport in het kort

## Nanodeeltjes in water

De komende jaren krijgen we steeds vaker te maken met nanotechnologie. Nanodeeltjes bieden nieuwe mogelijkheden, omdat ze klein zijn. Nanotechnologie wordt nu al gebruikt in bijvoorbeeld autolak, autobanden, schoenspray en zonnebrandcrème. De markt voor nanotechnologie groeit dan ook razendsnel. Onderzoekers en gebruikers zijn het met elkaar eens: deze nieuwe technologie gaat veel betekenen.

Maar bij nieuwe technologieën horen onzekerheden. Wat precies de voor- en nadelen zijn, kan niemand nog volledig inschatten. Het toenemende gebruik en de groeiende (maatschappelijke) aandacht voor de risico's van nanotechnologieën vormden de aanleiding voor een uitgebreide literatuurstudie naar de mogelijke toepassingen en risico's. Deze studie richt zich daarbij specifiek op het watermilieu en drinkwater. Het rapport 'Nanodeeltjes in water' is een gezamenlijk project van Rijkswaterstaat, Kiwa Water Research, Vewin en het RIVM; laatstgenoemde is door de regering aangewezen als 'observatiepost nanotechnologie'.

De studie geeft een overzicht van de beschikbare informatie over kansen en bedreigingen van nanotechnologie in relatie tot water. Het beschrijft de tot nu toe bekende effecten van nanodeeltjes voor het watermilieu en voor de mens en de mogelijkheden voor toepassing in de (drink)waterzuivering. Er zijn echter nog diverse kennislacunes, waardoor het moeilijk is de risico's in te schatten. Daarom geeft het rapport ook aan welke zaken nog moeten worden onderzocht om beter zicht op de risico's te krijgen. Daarnaast geeft het rapport inzicht in de nationale en Europese regelgeving die betrekking heeft op nanodeeltjes.

**Kortom:** een overzichtsrapport dat inzicht geeft in wetenschappelijke stand van zaken rond nanotechnologie in relatie tot water. Het is daarmee een aanzet voor verder onderzoek en kan als basis dienen voor beleid en regelgeving.

**Trefwoorden:** nanodeeltjes, nanotechnologie, water, drinkwater, (milieu)risico, toxiciteit, ecotoxiciteit

# Abstract

## Nano particles in water

In the coming years we will become more aware of nanotechnology. Nanoparticles offer new possibilities because they are small. Nanotechnology is already used for example in car paint, car tyres, shoe spray and sun cream. Therefore the market for nanotechnology is growing at a terrific pace. Researchers and users are agreed: the importance of this new technology will be great.

However with new technology comes uncertainty. No one can yet estimate what the exact advantages and disadvantages are. The increased use and growing (social) attention for the risks from nanotechnology provoked the need for an elaborate literature study into the possible uses and risks. This study is aimed specifically at the aquatic environment and drinking water. The report 'Nanoparticles in water' is a combined project by Rijkswaterstaat, Kiwa Water Research, Vewin and the RIVM, the latter being designated by the Government as 'observation point nanotechnology'.

The study provides, from the available information, a summary of opportunities and threats from nanotechnology in relation to water. It covers the effects known up until now from nanoparticles on the aquatic environment and on humans. In addition it identifies areas where further research is necessary in order to gain a better understanding of risks. Finally the report covers the national and European legislation related to nanoparticles. There appear to be many loose ends as a result of which risks cannot be correctly estimated.

In short: a summary report that provides insight into the scientific state of knowledge concerning nanotechnology in relation to water. Thereby it creates a start for further research and can be used as an aid for policy and legislation.

Key words: nanoparticles, nanotechnology, water, drinking water, (environmental) risk, toxicity, ecotoxicity

## Voorwoord

De voorliggende studie is een literatuurstudie, waarin een overzicht wordt gegeven van beschikbare informatie rond kansen en bedreigingen van nanotechnologie in relatie tot water.

De groeiende (maatschappelijke) aandacht voor de risico's voortvloeiend uit nanotechnologieën was de aanleiding voor Rijkswaterstaat en Kiwa Water Research om mogelijke toepassingen en risico's specifiek voor het watermilieu en het drinkwater op een rijtje te zetten. Het RIVM, door de regering aangewezen als observatiepost nanotechnologie, heeft in opdracht van Rijkswaterstaat deze studie uitgevoerd. Hieraan hebben Kiwa Water Research (via het bedrijfstakonderzoek en in opdracht van de Vewin) en Rijkswaterstaat Waterdienst (eigen onderzoek) hun inhoudelijke kennis bijgedragen.

De gezamenlijke studie had als projectleiders prof. dr. ir. D. van de Meent (RIVM), dr. S. M. Schrap (Rijkswaterstaat Waterdienst), drs. M.N. Mons (Kiwa Water Research) en ir. P.A.M. van de Veerdonk (Vewin).



# Inhoud

<b>Samenvatting</b>	<b>9</b>
<b>1 Inleiding</b>	<b>13</b>
1.1 Doel, onderzoeksvraag en afbakening	14
1.2 Leeswijzer	15
<b>2 Aard van nanodeeltjes</b>	<b>17</b>
2.1 Inleiding	17
2.2 Wat is nanotechnologie en wat zijn nanodeeltjes?	17
2.3 Waarvan en hoe worden nanodeeltjes gemaakt?	18
2.4 Welke eigenschappen maken nanodeeltjes bijzonder?	19
2.5 Kan nanotechnologie milieuschadelijk zijn?	20
2.6 Hoe wordt de concentratie van nanodeeltjes uitgedrukt?	20
<b>3 Analysemethoden</b>	<b>21</b>
3.1 Inleiding	21
3.2 Aspecifieke analysetechnieken voor nanodeeltjes	21
3.3 Specifieke analysetechnieken voor nanodeeltjes	22
3.4 Conclusies	22
<b>4. Mogelijke emissies van nanodeeltjes naar water</b>	<b>23</b>
4.1 Inleiding	23
4.2. Productiefase	24
4.3 Gebruiksfase	24
4.4 Emissies naar water	27
4.5 Conclusies	29
<b>5 Gedrag van nanodeeltjes in water</b>	<b>31</b>
5.1 Inleiding	31
5.2 Processen die de concentratie in water bepalen	32
5.3 Colloïdale suspensies	32
5.4 Gedrag van nanodeeltjes in water	34
5.5 Invloed op gedrag van andere stoffen	36
5.6 Conclusies	37
<b>6 Nanodeeltjes bij de behandeling van drink- en afvalwater</b>	<b>39</b>
6.1 Inleiding	39
6.2 Toepassingen van nanodeeltjes bij de behandeling van drink-, industrie- en afvalwater	40
6.3 Verwijdering van nanodeeltjes in de zuivering	45
6.4 Conclusies	47
<b>7 Effecten op het aquatische ecosysteem</b>	<b>49</b>
7.1 Inleiding	49
7.2 Resultaten standaardtoetsen	49
7.3 Resultaten overige toetsen	50
7.4 Conclusies	52
<b>8 Toxiciteit van nanodeeltjes in drinkwater</b>	<b>53</b>
8.1 Inleiding	53
8.2 De verschillende blootstellingsroutes	53
8.3 Kinetiek	53
8.4 Toxiciteit van nanodeeltjes na orale blootstelling	57
8.5 Conclusies	59

<b>9</b>	<b>Beleid en maatschappelijke ontwikkelingen</b>	<b>61</b>
9.1	Inleiding	61
9.2	Zijn beoordelingsmethoden voor stoffen van de EU toepasbaar op nanodeeltjes?	61
9.3	Hoe geschikt is de huidige wet- en regelgeving voor toelating van nanodeeltjes?	62
9.4	Aandacht voor negatieve effecten: wetenschap en publiek	69
9.5	Het standpunt binnen de EU: activiteiten en de positie van de Europese Raad	70
9.6	Conclusies	70
<b>10</b>	<b>Conclusies</b>	<b>71</b>
	<b>Literatuur</b>	<b>75</b>



## Samenvatting

Nanotechnologie ontwikkelt zich snel. Als gevolg hiervan groeit ook de toepassing van ontwikkelde producten. Alles wijst erop dat met gebruik van nanodeeltjes de wetenschap en de techniek over mogelijkheden gaan beschikken die voorheen buiten bereik lagen. Nanodeeltjes worden gecontroleerd in het laboratorium of in *high-tech* productie-units gefabriceerd. Het zijn chemische stoffen, die vanwege hun specifieke afmetingen en/of vorm echter heel nieuwe eigenschappen hebben in vergelijking met de tot nu toe bekende vormen van dezelfde chemische stof. Deze nieuwe eigenschappen maken nanodeeltjes interessant voor technologische toepassingen. Dezelfde nieuwe eigenschappen maken de milieu- en gezondheidsrisico's van nanodeeltjes lastig beoordeelbaar.

Het is onvermijdelijk dat toepassing van nanodeeltjes zal leiden tot onbedoelde emissies naar het milieu. Het doel van dit rapport is om een overzicht te krijgen van de beschikbare kennis over het gebruik en de risico's van nanomaterialen. En dan specifiek over de aanwezigheid van nanodeeltjes in afvalwater, in oppervlaktewater en in drinkwater. Het rapport beoogt daarnaast kennislacunes en wensen voor aanvullend onderzoek aan te geven.

Via literatuuronderzoek is antwoord gezocht op de volgende vragen:

- welke nanodeeltjes worden er toegepast en welke nieuwe eigenschappen hebben ze?
- welke emissies naar het watermilieu moeten er worden verwacht?
- hoe gedragen nanodeeltjes zich in water en heeft de aanwezigheid van nanodeeltjes invloed op het gedrag van andere stoffen?
- welke toepassingen van nanomaterialen zijn er in de waterzuivering en kunnen deze toepassingen leiden tot aanwezigheid van nanodeeltjes in water?
- hoe schadelijk zijn nanodeeltjes voor waterorganismen?
- hoe schadelijk zijn nanodeeltjes voor de mens (inname via drinkwater)?
- is de huidige wet- en regelgeving voor chemische stoffen 'toepasbaar' op de nieuwe nanomaterialen?

### *Algemeen*

De informatie op deze terreinen blijkt spaarzaam. Concrete, getalsmatige antwoorden zijn op grond van de bestaande informatie niet te geven. Dit komt onder andere omdat de begrippen nanomateriaal en nanodeeltjes weinig specifiek zijn. Ze duiden op een grote verzameling van verschillende stoffen met uiteenlopende fysische en chemische eigenschappen, die verschillende toepassingen hebben. Lastig is ook dat er nog nauwelijks meetmethoden voorhanden blijken waarmee op routinematige wijze de eigenschappen en concentraties van nanodeeltjes in water kunnen worden gemeten.

### *Emissies*

Goede inschattingen van de emissie zijn moeilijk te maken. Verwacht wordt dat de grootste emissies optreden tijdens de gebruiks- en afvalfasen. Het is niet te voorspellen of daarbij vrije, enkelvoudige nanodeeltjes in het milieu vrijkomen. Emissies in de productiefase van nanomaterialen worden klein verondersteld. Echter, de waarschijnlijkheid dat deze emissies uit vrije nanodeeltjes bestaan, is groter dan voor emissies tijdens gebruik en afvalverwerking. Toepassingen van nanotechnologie die mogelijk kunnen leiden tot relatief grote emissies naar water zijn:

- toepassing van nanodeeltjes als UV-blocker in zonnebrandmiddelen;
- toepassing bij waterzuivering en bodemsanering;
- additieven voor dieselbrandstof;
- mogelijk nieuwe toepassingen als bestrijdingsmiddel in de landbouw.

### *Gedrag in water*

Nanodeeltjes zijn in het algemeen slecht oplosbaar en onafbreekbaar. Ze verdwijnen alleen uit water via bezinking naar het sediment. Alleen grote (clusters van) deeltjes met typische diameters > 1 micrometer komen voor bezinking in aanmerking. Het is niet voorspelbaar in welke concentraties vrije enkelvoudige nanodeeltjes in water zullen voorkomen. Nanodeeltjes in water zijn in beginsel goed onderzochte colloïdale systemen. Vooral nog staat echter niet vast welke rol colloïdchemie kan spelen in het voorspellen van

het (uitvlok)gedrag van nanodeeltjes in water. In de wetenschap is het namelijk nog de vraag of nanodeeltjes niet te klein zijn om met de gangbare wetmatigheden uit de colloïdchemie te kunnen worden beschreven. Door hun grote specifieke oppervlak hebben nanodeeltjes grote potentie als adsorbens voor in water opgeloste stoffen en als katalysator voor in water optredende reacties. Deze eigenschappen worden benut in de waterbehandeling. Of dezelfde eigenschappen van nanodeeltjes het gedrag van opgeloste stoffen in natuurlijke watersystemen kunnen beïnvloeden is nog niet duidelijk.

#### *Toepassing in waterbehandeling*

De ontwikkelingen op het gebied van nanotechnologie hebben nog niet geleid tot grootschalige praktijktoepassingen in de waterbehandeling. Uit het onderzoek blijkt dat belangrijke mogelijke toepassingen zijn:

- nieuwe membraanmaterialen;
- adsorbens voor zware metalen;
- katalysator voor omzetting van verontreinigingen.

In principe kan toepassing van nanodeeltjes in de drinkwaterproductie en afvalwaterbehandeling leiden tot aanwezigheid van nanodeeltjes in het geproduceerde drinkwater. Bij zorgvuldige toepassing (bijvoorbeeld in geïmmobiliseerde vorm) is de kans daarop echter gering. Bij toepassing van 'vrije' nanodeeltjes, zoals ijzeroxiden als adsorbens, is het wel van belang om te zorgen voor een goede afscheiding van de deeltjes. Aandacht hiervoor bij het ontwerp en de ontwikkeling van nieuwe zuiveringsprocessen waarbij nanodeeltjes worden toegepast, is daarom van groot belang.

#### *Effecten*

Ecotoxicologische studies naar effecten van nanodeeltjes zijn schaars en er worden schijnbaar tegenstrijdige resultaten gerapporteerd. Op de gerapporteerde studies is onder deskundigen veel inhoudelijke kritiek. Het blijkt dat de waargenomen ecotoxiciteit van nanodeeltjes afhankelijk is van de manier waarop de preparaten worden behandeld. Onderzoekers kunnen nog niet goed aangeven welke feitelijke blootstellingsconcentraties in de onderzochte media heersten. De beschikbare laboratoriumwaarnemingen geven aan dat effecten op aquatische organismen vooralsnog niet moeten worden uitgesloten. Op basis van de in de literatuur beschikbare informatie kan echter niet worden gezegd óf, en zo ja, in welke mate, er onder natuurlijke omstandigheden daadwerkelijke effecten van nanodeeltjes op (delen van) ecosystemen kunnen optreden.

Bij proefdieren is aangetoond dat nanodeeltjes door de darmwand kunnen worden opgenomen en zo het lymfesysteem kunnen bereiken. Vanaf daar kunnen nanodeeltjes in de bloedbaan terechtkomen en zich verspreiden over het lichaam. Er zijn aanwijzingen dat nanodeeltjes biologische barrières, zoals de bloed-hersen-barrière, kunnen passeren. Eenmaal binnen de cel is een groot aantal interacties met subcellulaire structuren denkbaar. Het is niet duidelijk of en in welke mate het voorkomen van nanodeeltjes in het menselijk lichaam aanleiding kan geven tot ongewenste effecten. Een aannemelijk effect van nanodeeltjes is de inductie van reactieve zuurstofradicalen, gevolgd door oxidatieve stress in cellen en organen.

#### *Beleid en maatschappelijke ontwikkelingen*

Nanodeeltjes zijn in de zin van de EU-regelgeving normale chemische stoffen. Beoordeling van de milieu- en gezondheidsrisico's zou binnen de bestaande kaders moeten worden uitgevoerd. De beschikbare methoden in de Technical Guidance Documents (TGD) zijn volgens de onderzoekers niet zonder meer toepasbaar op nanodeeltjes. Nanodeeltjes behoren daarmee minstens tot de categorie 'moeilijke stoffen' die *case-by-case* beoordeling vergen. Regels voor de productie, de import en het gebruik van stoffen, en dus ook stoffen in nanovorm, zijn in meerdere wettelijke kaders vastgelegd. Onder de nieuwe stoffenwetgeving REACH hebben fabrikanten en importeurs de verantwoordelijkheid om aan te tonen dat hun stof geen schade toebrengt aan mens of milieu. Dit zou in principe eventuele risico's van nanodeeltjes moeten ondervangen. Het is echter de vraag of altijd duidelijk is dat het om nanodeeltjes gaat, aangezien niet altijd de deeltjesgrootteverdeling gerapporteerd wordt. Ook geldt REACH vooralsnog slechts voor stoffen waarvan meer dan 10 ton per jaar wordt geproduceerd, wat voor nanodeeltjes nogal veel is.

#### *Kennislacunes*

Open vragen betreffen vooral:

- de te verwachten concentraties in water;
- de schadelijkheid voor waterorganismen en mensen.

Antwoorden hierop zullen moeten komen vanuit de milieuchemie en de (milieu)toxicologie.

Risico's van nanodeeltjes voor de gezondheid van mensen en ecosystemen zijn daarom op dit moment slecht in te schatten.



# 1 Inleiding

Onlangs werd in het Journal of Nanoscience and Nanotechnology (Davies, 2007) een uitspraak van de voormalige minister van defensie van de VS, Rumsfeld, aangehaald: '... as we know, there are known knowns: there are things we know we know. We also know there are known unknowns; that is to say we know there are some things we do not know. But there are also unknown unknowns: the ones we don't know we don't know.' Dit rapport kan bijdragen aan het identificeren van de eerste twee categorieën. De 'known knowns' kunnen worden geïnventariseerd, geselecteerd en geschikt gemaakt voor risicobeoordeling. Als we de 'known unknowns' geïdentificeerd hebben, kan richting gegeven worden aan onderzoek dat nog moet plaatsvinden. De publieke discussie over mogelijke ongewenste consequenties van toepassing van nanotechnologieën is in belangrijke mate gevoed door onwetendheid en angst. Bij nadere beschouwing blijken niet alle zorgpunten even steekhoudend. ZelfrePLICATIE op nanoschaal ('nanobots' die de macht overnemen) kan volgens de Gezondheidsraad naar het rijk der fabelen worden verwezen (Gezondheidsraad, 2006), omdat zelfrePLICATIE een kenmerk is van de levende natuur. Angst voor ontsnapping uit het laboratorium, gevolgd door een ongecontroleerde vermenigvuldiging, speelt de biotechnologie ernstig parten. Toch is het vanwege de extreme eigenschappen van nanodeeltjes niet uitgesloten dat 'unknown unknowns' bij grootschalige toepassing voor verrassingen zorgen. Een te grote angst zou contraproductief kunnen zijn. Het inzicht dat nanotechnologie grote mogelijkheden biedt voor mens en milieu, wordt algemeen gedeeld.

In een *White Paper* van de United States Environment Protection Agency wordt geschat dat toepassing van de huidige nanotechnologie een energiebesparing mogelijk maakt van 14,5 % (USEPA, 2007). Medische toepassing kan levens redden. In de Kabinetsvisie van Nanotechnologieën (Kabinet, 2006) wordt een voorkeur uitgesproken voor *risk governance* (zie 'Nuchter omgaan met risico's'; De Hollander en Hanemaaijer, 2003), waarbij het voorzorgsbeginsel gehanteerd wordt, maar waarbij proportionaliteit één van de criteria is die daarbij in overweging zullen worden genomen. In dit verband merkt de KNAW op dat het instellen van een moratorium voor nanowetenschappen en -technologieën uit het oogpunt van proportionaliteit ongewenst is, aangezien dit een ontoelaatbaar grote beperking zou inhouden voor de Nederlandse wetenschapsbeoefening en de kennisopbouw voor maatschappelijke toepassingen (KNAW, 2004).

Zoals biotechnologie kan nanotechnologie van groot maatschappelijk nut zijn. Voor beide geldt tevens dat er risico's aan kleven, die nog niet helemaal bekend zijn. Een probleem bij welke evaluatie van nanotechnologie dan ook is dat het een vergaarbak is van veel onsamenhangende onderwerpen. De Kabinetsvisie stelt dat nanotechnologie weliswaar nog in de kinderschoenen staat, maar dat de groeipotentie als volgt kan worden geïllustreerd: naar verwachting zal de wereldwijde verkoop van nanotechnologie bevattende producten groeien van € 25 miljard in 2004 naar € 2.000 miljard in 2014. Een rapport van Allianz en OECD (Allianz, 2005) schat de markt voor nanotechnologie al even groot als die voor de biotechnologiesector, maar de groei is de komende jaren naar verwachting veel groter. In het tijdschrift Nature werd onlangs melding gemaakt van meer dan 300 producten die op de markt zijn gekomen dankzij nanomaterialen of nanotechnologie (Maynard et al., 2006). De auteurs stellen dat risico's om twee redenen zo snel en zo goed mogelijk in kaart moeten worden gebracht omdat:

1. grootschalig gebruik en ongecontroleerde proliferatie van nanodeeltjes schade kan veroorzaken die vermeden had kunnen worden;
2. ongegronde angst een belemmering zou kunnen zijn voor groot maatschappelijk nut. Behalve in medische toepassingen biedt nanotechnologie onder andere kansen voor grondstoffenbesparing en hergebruik. Nanotechnologie kan (net zoals biotechnologie) een belangrijke rol spelen in de wereldvoedselvoorziening, in de waterzuivering en misschien wel voor een doorbraak zorgen in de energievoorziening. Als zodanig is nanotechnologie belangrijk in de strijd tegen milieuverontreiniging en klimaatverandering.

Bijvoorbeeld kan nanotechnologie zonne-energie lucratief maken door de productie van organische zonnecellen (de zogenaamd Graetzel cell), waarvan efficiëntie-/prijsverhouding zo gunstig is dat de prijs per kilowattuur in de buurt komt van de huidige elektriciteitsprijs.

Door vulkanen, bosbranden en erosie worden op natuurlijke wijze nanodeeltjes uitgeworpen. We staan nu echter aan het begin van een tijdperk waarin geheel nieuwe nanodeeltjes met nog onvoorziene fysische, chemische en biologische eigenschappen worden *gesynthetiseerd* en dus geëmitteerd.

De Europese Commissie heeft aan onafhankelijke deskundigen (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, SCENIHR) gevraagd om hun visie te geven op de geschiktheid van de huidige methoden om risico's van nanotechnologie te beoordelen. De deskundigen concludeerden dat deze methoden aanpassing behoeven (SCENIHR, 2007).

## 1.1 Doel, onderzoeksvraag en afbakening

De titel van dit rapport is 'Nanodeeltjes in water'. De onderzoeksvraag was evenwel breder: welke gevaren en risico's met betrekking tot oppervlaktewater (en aquatisch ecosysteem) en drinkwater zouden er kunnen kleven aan het te verwachten toenemend gebruik van nanotechnologie in een dichtbevolkte industriële samenleving? En wat zijn de belangrijkste kennislacunes?

Het is moeilijk om hierop een antwoord te geven, omdat het hier gaat om een technologie met een reikwijdte die nog niet te overzien is. De indirecte gevaren van nanodeeltjes in water verdienen aandacht omdat schadelijke componenten kunnen ontstaan als gevolg van de sterke katalytische werking.

Een aantal risico's komt niet aan de orde. Het explosiegevaar, weliswaar reëel gezien het grote oppervlak en de daarmee gepaard gaande reactiviteit, is niet relevant in relatie tot het watercompartiment.

Epidemiologische studies hebben een correlatie laten zien tussen gezondheidsschade en inhalatoire blootstelling aan (ultra)fijn stof als gevolg van verkeer- en energie-emissies. Een causaal verband kon tot nu toe niet worden aangetoond. Risico's door inhalatie van nanopartikeltjes wordt het meest gevreesd en is voor mens en dier de belangrijkste of meest waarschijnlijke blootstellingsroute, maar dit zal buiten deze studie vallen. Er is hierover al veel gepubliceerd, veelal door groepen die zich ook met fijn stof hebben bezig gehouden. SCENIHR (2007) geeft een overzicht van epidemiologische onderzoeken, dosimetrie en experimentele gegevens van toxiciteit na inademing. De focus van dit onderzoek is hoofdzakelijk gericht op de risico's van blootstelling aan nanodeeltjes in water, oppervlaktewater en drinkwater.

Met dit onderzoek wordt antwoord gevonden op een reeks van specifiek geformuleerde onderzoeksvragen:

1. Algemeen
  - 1.1. Wat is nanotechnologie, wat zijn nanodeeltjes en welke deeltjes zijn er (relatie met fijn stof)?
2. Analyses
  - 2.1. Welke methodes om nanodeeltjes te meten in water zijn er?
3. Bronnen en emissies
  - 3.1. Wat zijn de bronnen?
  - 3.2. Hoe (groot) zijn de emissies (route)?
  - 3.3. Welke nanodeeltjes zijn te verwachten in het aquatisch milieu, in drinkwater, afvalwater?
4. Gedrag in het aquatisch milieu
  - 4.1. Hoe is het gedrag van nanodeeltjes in water (in relatie tot chemische stoffen, colloïd- chemie)?
  - 4.2. Kan de aanwezigheid van nanodeeltjes het gedrag van andere stoffen beïnvloeden in het milieu, of bij de zuivering van afvalwater en drinkwater?
5. Toepassingen
  - 5.1. Welke mogelijkheden zijn er voor het gebruik van nanodeeltjes bij de zuivering van afvalwater en/of in de drinkwaterbereiding. En hoe staat het met octrooien en patenten op dit gebied?
  - 5.2. Kan de eventuele toepassing van nanodeeltjes bij de zuivering van afvalwater en/of drinkwater ook nadelige gevolgen hebben?
6. Effecten
  - 6.1. Welke effecten kunnen nanodeeltjes veroorzaken bij aquatische organismen?
  - 6.2. Welke effecten kunnen nanodeeltjes veroorzaken bij de mens in relatie met drinkwaterconsumptie?
7. Beleid, maatschappelijke ontwikkelingen
  - 7.1. Zijn beoordelingsmethoden voor stoffen (EU) toepasbaar op nanodeeltjes?

- 7.2. Wet- en regelgeving, ontwikkelingen in toelatingsbeleid (wordt er al aandacht aan besteed, hoe vindt toelating plaats, in hoeverre is huidige regelgeving voor stoffen 'toepasbaar' op nanodeeltjes)?
- 7.3. Waar en hoe is er aandacht voor de nadelige effecten voor mens en milieu (water) van nanodeeltjes; onderzoeksprojecten (inter)nationaal, politieke aandacht (milieubeweging/actiegroepen). Valt er iets te leren vanuit de discussie in het verleden omtrent biotechnologie?
- 7.4. Welke activiteiten zijn er en hoe is de stand van zaken binnen de EU (zogenaamd green/white paper, onderzoeksprojecten, standpunt Europese Raad, standpunt Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks)?

De rapportage beoogt daarmee om:

- een overzicht te geven van de beschikbare informatie over nanodeeltjes in relatie met oppervlaktewater, afvalwater en drinkwater;
- aan te geven welke kennislacunes er zijn, deze te prioriteren en tevens uit te vinden waar de mogelijkheden van gericht onderzoek liggen.

## 1.2 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 is onderzoeksvraag 1.1 aan de orde. Het geeft een definitie van nanodeeltjes en gaat in op hun eigenschappen die volgens de literatuur 'fundamenteel nieuw' zijn. Het bevat een inleiding over welke typen er zijn en hoe nanodeeltjes toegepast kunnen worden.

Hoofdstuk 3 beantwoordt onderzoeksvraag 2.1. Het beschrijft meetmethoden voor nanodeeltjes in water en eventuele standaardisatie.

Hoofdstuk 4 behandelt de onderzoeksvragen 3.1, 3.2 en 3.3. Er wordt nader ingegaan op bronnen en emissies en welke nanodeeltjes er in het aquatisch milieu, in drinkwater en/of afvalwater verwacht kunnen worden.

In hoofdstuk 5 zijn de onderzoeksvragen 4.1 en 4.2 aan de orde. Het gaat over het gedrag van nanodeeltjes in het aquatisch milieu (in relatie tot chemische stoffen) en gaat in op de vraag of de wetmatigheden uit de 'klassieke' colloïdchemie van toepassing zijn. Tevens komt aan de orde of de aanwezigheid van nanodeeltjes het gedrag van andere stoffen in het milieu of bij de zuivering van water kan beïnvloeden.

Hoofdstuk 6 sluit hierop aan met beantwoording van de onderzoeksvragen 5.1 en 5.2. Het geeft een overzicht van de toepassingen. Vragen zijn: welke mogelijkheden zijn er voor het gebruik van nanodeeltjes bij de zuivering van afvalwater en/of in de drinkwaterbereiding? En hoe staat het met octrooien en patenten op dit gebied? Kan de eventuele toepassing van nanodeeltjes bij de zuivering van afvalwater en/of drinkwater ook nadelige gevolgen hebben?

Hoofdstuk 7 beantwoordt onderzoeksvraag 6.1. Het beschrijft welke effecten nanodeeltjes veroorzaken bij aquatische organismen.

In hoofdstuk 8 is onderzoeksvraag 6.2 aan de orde. Het beschrijft hoe nanodeeltjes zich na inname met drinkwater in het lichaam kunnen verspreiden en tot welke effecten dit kan leiden.

In hoofdstuk 9 komen de onderzoeksvragen 7.1 tot 7.4 aan de orde. Hier wordt ingegaan op de maatschappelijke ontwikkelingen en het beleid. Dit wordt uitgewerkt aan hand van een evaluatie van beoordelingsmethoden voor stoffen van de EU en hun toepasbaarheid op nanodeeltjes. Er wordt aandacht geschonken aan internationale onderzoeksprojecten, de politieke aandacht voor dit onderwerp, ook vanuit de milieubeweging of actiegroepen en het standpunt van de Europese Raad.





## 2 Aard van nanodeeltjes

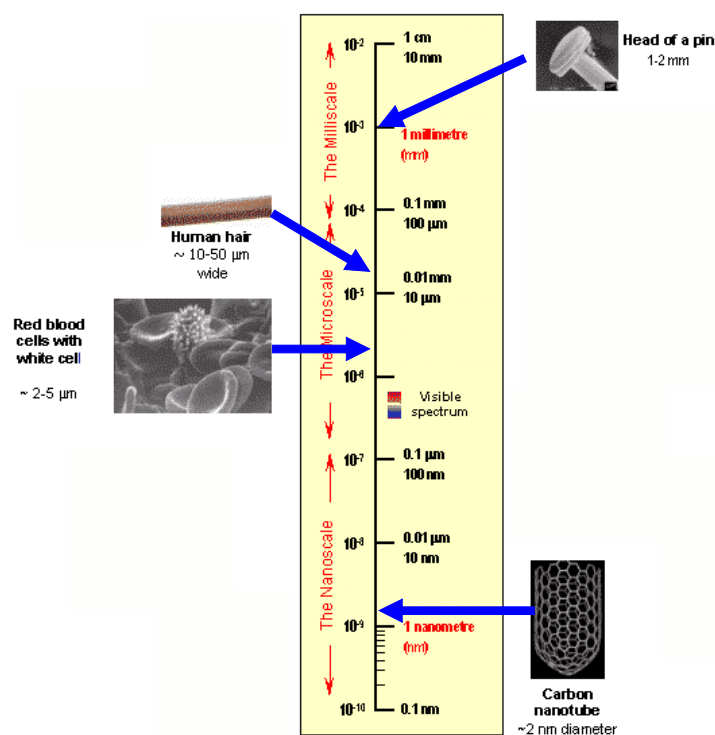
### 2.1 Inleiding

Dit hoofdstuk behandelt de onderzoeksvraag:

- 1.1 Wat is nanotechnologie, wat zijn nanodeeltjes en welke deeltjes zijn er (relatie met fijn stof)? Het geeft een definitie van nanodeeltjes en een overzicht van recent in de literatuur beschreven productie, eigenschappen en toepassingen. Emissie en verschillende wijzen waarop een concentratie van nanodeeltjes kan worden uitgedrukt, worden beknopt beschreven.

### 2.2 Wat is nanotechnologie en wat zijn nanodeeltjes?

Nanotechnologie is een zogenaamde *enabling technology*. Alles wijst erop dat door nanodeeltjes wetenschap en techniek over mogelijkheden gaan beschikken die voorheen buiten bereik lagen. Tabel 2.1 geeft een aantal voorbeelden van nanodeeltjes die al van commercieel belang zijn. Figuur 2.1 geeft op een logaritmische maatlat afmetingen van verschillende objecten en verschijnselen.



Figuur 2.1 Nanoschaal op een logaritmische maatlat

Nano verwijst naar nanometer<sup>1</sup> (nm), maar volgens Thomas en Sayre (2005) is de grootte alleen (1 – 100 nm) niet voldoende om van nanodeeltjes te kunnen spreken. Ook doelbewuste fabricage van nanodeeltjes en gebruiksententie zijn van belang om onderscheid te kunnen maken met ongewenste bijproducten, zoals (ultra)fijn stof door emissies van wegverkeer en energieproducenten. Er zijn verschillende definities voor de term ‘nanotechnologie’ die allemaal verwijzen naar de schaal waarop manipulaties plaatsvinden. Nanotechnologie werkt met afmetingen kleiner dan honderd nanometer in tenminste één dimensie. Dus ook *grafeen* zou hieronder vallen (één dimensie): een monomoleculaire

<sup>1</sup> 1 nm = 1 nanometer = 10<sup>-9</sup> m. In vaste stoffen, zoals metalen en halfgeleiders, ligt de afstand tussen naburige atomen typisch tussen 0,1 en 1 nm. Een nanometer is dus een lengte waarop nog maar enkele atomen passen.

grafietlaag van in principe grote afmetingen. Dat geldt ook voor koolstof nanobuisjes (twee dimensies) die in principe lang kunnen zijn, maar een diameter hebben van slechts 0,6 tot 1,8 nm. Volgens de definitie van Dreher (2004) is ook controle en begrip van het productie- en gebruiksprocessen essentieel voor het verlenen van het praefix *nano*.

De definitie in het recent verschenen rapport van de SCENIHR (2007) vat bovenstaande kort en bondig samen: nanomaterialen worden gekarakteriseerd door zowel ten minste één dimensie van kleiner dan 100 nm als nieuwe fysisch-chemische eigenschappen.

In dit rapport wordt onderscheid gemaakt tussen enerzijds nanomaterialen of nanodeeltjes en anderzijds 'conventionele' wanneer verwezen wordt naar grotere deeltjes van dezelfde chemische stoffen.

## 2.3 Waarvan en hoe worden nanodeeltjes gemaakt?

Nanodeeltjes worden gecontroleerd in het laboratorium of in *high-tech* productie-units gefabriceerd. Dit proces kan onderverdeeld worden naar de productiewijze waarbij begrippen als *top-down* en *bottom-up* gehanteerd worden (Thomas en Sayre, 2005). Met *top-down* wordt verwezen naar fabricage van nanodeeltjes uit een groter geheel door middel van etsen (bijvoorbeeld de lithografie in de halfgeleiderstechnologie) of malen. De meer recentere *bottom-up* technieken zijn gebaseerd op 'assemblage' van nanodeeltjes uit kleinere eenheden door middel van chemische synthese. Dit kan plaatsvinden in de gas- of in de vloeistoffase. Veel nieuwe bouwstenen waarvan nanodeeltjes gemaakt zijn, werden recent geïntroduceerd (zie Glotzer et al., 2005). De verschillende productiewijzen worden vooralsnog belemmerd door hoge kosten, technische beperkingen zoals geringe reproduceerbaarheid, lage opbrengst, moeilijkheden bij het opschalen. Ook het niet voorhanden zijn van een geschikt surfactant (of ander agens) waarmee agglomeratie van nanodeeltjes voorkomen kan worden, is een beperking. Verder kunnen milieuaspecten een obstakel vormen wanneer bij de productie grote afvalstromen ontstaan (Willems en Van den Wildenberg, 2006). Glotzer et al. (2005) noemen in een literatuurreview de volgende elementen of verbindingen:

- chalcogeniden<sup>2</sup> van de elementen Cd, Pb, Hg, Fe, Ni, Co, Ag, Au, Cu en In;
- nitriden en arseniden van Ga, Si, Ge en Ti;
- elementair Au, Ag, Pt, Pd, Rh, Si, Ge, Co, Ni, Fe, S, C ;
- oxiden van Al, Si, Ge, Fe, Ni, Co, Cr, B, Os, Ce, Zn en Ti.

Ook bestaan er nanodeeltjes van organische polymeren, zoals PMA (polymethylmetacrylaat).

*Nanoscience* is onderzoek en technologie ontwikkeling op atomair, moleculair of macromoleculair niveau, in de orde van grootte van 1-100 nanometer met als doel fundamenteel begrip van processen en materialen op nanoschaal te verkrijgen. Nanotechnologie past dit toe voor het creëren en gebruiken van structuren, ontwerpen en systemen die vanwege het kleine formaat nieuwe eigenschappen en functies hebben.

Op dit moment bestaan de meeste soorten nanodeeltjes uit metaaloxides (meestal zeldzame aarden of overgangsmetalen), silicium of koolstof. Behalve productie kan het nodig blijken om de deeltjes te modificeren ('functionaliseren'), bijvoorbeeld door middel van *coating* of het aanbrengen van een functionele chemische groep. Het *coaten* of *passiveren* is dikwijls noodzakelijk om ongewenste oxidatie van metallische nanodeeltjes te voorkomen.

Medische toepassingen van nanodeeltjes hebben onder andere een efficiëntere *drug-delivery* mogelijk gemaakt. Hiervoor worden meestal lipiden, liposomen of derivaten van polyethyleenglycol gebruikt (Allen en Cullis, 2004). Recent heeft de Britse Gezondheidsraad een inventarisatie uitgevoerd van medische toepassingen van nanodeeltjes (CHM, 2006). Verschillende al dan niet bio-afbreekbare nanodeeltjes worden toegepast in 'drug delivery', in contrastvloeistoffen bij diagnose, vanwege hun desinfecterende werking (Ag, Ni) en in chirurgie (Fe bij magnetische verwijdering van tumoren, Au bij nieuwe vormen van weefselhechting). CHM (2006) geeft ook enkele voorbeelden van toepassingen van 'nanostructures'. Nanodeeltjes worden verwerkt in materialen (onder andere in geneesmiddelen, chirurgie, implantaten en minibatterijen).

---

<sup>2</sup> Chalcogeniden zijn binaire chemische samenstellingen die bestaan uit een element uit de zuurstofgroep en een elektropositiever element. Het elektropositieve element wordt vaak ingebracht via dopering.

Tabel 2.1 Voorbeelden van nanotechnologie (Allianz, 2005; CHM, 2006)

Type	Voorbeelden van toepassingen
<b>Metaaloxides</b>	
Silica (SiO <sub>2</sub> )	Additieven voor polymeercomposieten maken de productie van superieure kunststoffen mogelijk
Titaniumoxide (TiO <sub>2</sub> )	Bescherming tegen UV straling, onder andere in zonnebrandcrèmes; fotokatalytisch reinigen; in houtbeschermingsproducten
Alumina (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	Zonnecellen
IJzeroxide (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , Fe <sub>3</sub> O <sub>3</sub> )	Diagnose met behulp van contrastvloeistoffen; thermische verwijdering tumoren door magnetische nanodeeltjes
Zirconiumoxide (ZrO <sub>2</sub> )	Additieven in krasbestendige coatings
Zinkdioxide (ZnO)	In houtbeschermingsproducten
<b>Koolstof</b>	
C <sub>60</sub> fullereen (Bucky balls)	Mechanische en biologische toepassingen
SWNT (single walled carbon nanotubes)	Additief voor polymeercomposieten: kunststoffen
MWNT (multiwalled carbon nanotubes)	Elektronica (field emitters), batterijen, brandstofcel
<b>Halfgeleiders</b>	
Cadmiumteleride (CdTe)	Elektronische en optische apparaten
Galliumarsenide (GaAs)	
Organisch-chemische nanodeeltjes	Geneesmiddelen op microschaal, Polymere dispersies
<b>Metalen</b>	
Goud (Au)	Katalyse
Zilver (Ag)	Opto-elektronica; medisch: antimicrobiële werking
Nikkel (Ni)	Medisch: antimicrobiële werking

## 2.4 Welke eigenschappen maken nanodeeltjes bijzonder?

Nanodeeltjes zijn chemische stoffen. Vanwege hun specifieke afmetingen en/of vorm kunnen nanodeeltjes echter heel nieuwe eigenschappen hebben in vergelijking met de tot nu toe bekende vormen - enkelvoudige atomen of moleculen (in gasfase, waterfase of geadsorbeerd aan vaste fase) en macroscopische deeltjes - van dezelfde chemische stof. Deze nieuwe eigenschappen maken nanodeeltjes interessant voor technologische toepassingen. Dezelfde nieuwe eigenschappen maken de milieu- en gezondheidsrisico's van nanodeeltjes lastig beoordeelbaar.

Wanneer de afmetingen van deeltjes de nanoschaal bereiken, neemt het aandeel van atomen aan het oppervlak sterk toe (tot 50 % bij 3 nm). Oppervlakteatomen hebben vaak andere eigenschappen dan atomen binnenin. Beneden de 50 nm kunnen quantumeffecten optreden, waardoor elektrische, magnetische en optische eigenschappen van op nanoschaal kunnen verschillen van de eigenschappen van hetzelfde materiaal op macroschaal. Bij afmetingen kleiner dan de golflengte van zichtbaar licht (450 tot 650 nanometer) kunnen deeltjes met een diameter beneden de kritische golflengte zichtbaar licht laten passeren. Deze transparantie geldt niet voor ultraviolet licht, dat vanwege de kortere golflengte interactie vertoont met diezelfde nanodeeltjes. Zink- en titaanoxide nanodeeltjes worden op die manier gebruikt als UV-blockers in zonnebrandcrèmes. Door de geringe massa kan het fysische gedrag ook tot uiting komen in micro-emulsies op nanoschaal. Bij vaste fase deeltjes in water van 1000 nm of groter speelt de zwaartekracht een overheersende rol, maar bij 1 nm gedragen de deeltjes zich alsof ze opgelost zijn. De thermische energie, verantwoordelijk voor de Brownse-beweging, is in het lage nanogebied (1 tot 10 nm), afhankelijk van de dichtheid van het materiaal, groter dan de potentiële energie van gravitatie. Een andere bijzondere fysische eigenschap is het grote oppervlak (specifiek oppervlak is in de orde van 100 m<sup>2</sup> per gram, zie Tabel 2.1) waardoor de reactiviteit groot is. Nanodeeltjes van edelmetalen lenen zich daarom

uitstekend voor katalyse. Dit geeft nanodeeltjes tevens uitzonderlijke biologische eigenschappen, zoals antimicrobiële werking. ZnO of TiO<sub>2</sub> nanodeeltjes zitten al in houtbeschermingsproducten.

## 2.5 Kan nanotechnologie milieuschadelijk zijn?

Onvermijdelijke consequentie van het gebruik van nanotechnologie is dat er nanodeeltjes worden uitgeworpen naar lucht, water en bodem. Onvermijdelijk komen mensen in contact met producten waarin nanotechnologie is verwerkt of via drinkwater of de voedselketen, als recreant (blootstelling via oppervlaktewater), als patiënt (allerlei medische toepassingen) of op de werkplek. Bekend is dat nanodeeltjes cellen kunnen binnendringen. De bewijzen van translocatie van nanodeeltjes in het menselijk lichaam (Oberdörster) en van opname van TiO<sub>2</sub> en carbon black door watervlooien (Fernandes) worden op vrijwel alle wetenschappelijke congressen geciteerd.

De mogelijke ernst hiervan is het onderwerp van deze studie.

## 2.6 Hoe wordt de concentratie van nanodeeltjes uitgedrukt?

In de wetenschappelijke literatuur wordt veel gediscussieerd over geschikte maten om concentraties en doses van nanodeeltjes uit te drukken: massa-eenheden per volume-eenheid, aantal deeltjes per volume-eenheid, deeltjesoppervlak per volume-eenheid? Bij dezelfde waarde van de conventionele massaconcentratie (bijvoorbeeld 1 µg/L) zijn de andere maten zeer sterk afhankelijk van de vorm en grootte van de deeltjes. Tabel 2.2 laat dit zien voor bolvormige deeltjes met een straal van 1, 10 en 100 nanometer. In dit voorbeeld is de dichtheid van de vaste fase 3000 g/L.

*Tabel 2.2 Eigenschappen van een nano-dispersie van 1 µg/L*

<b>Straal bolvormig nanodeeltje (nm)</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>100</b>
Volume van één deeltje (m <sup>3</sup> )	4.19·10 <sup>-27</sup>	4.19·10 <sup>-24</sup>	4.19·10 <sup>-21</sup>
Massa van één deeltje (g)	1.26·10 <sup>-20</sup>	1.26·10 <sup>-17</sup>	1.26·10 <sup>-14</sup>
Oppervlak van één deeltje (m <sup>2</sup> )	1.26·10 <sup>-17</sup>	1.26·10 <sup>-15</sup>	1.26·10 <sup>-13</sup>
Specifiek oppervlak (m <sup>2</sup> /g)	1000	100	10
Massaconcentratie deeltjes in suspensie (µg/L)	1	1	1
Aantalconcentratie deeltjes in suspensie (aantal/L)	7.96·10 <sup>13</sup>	7.96·10 <sup>10</sup>	7.96·10 <sup>7</sup>
Gezamenlijk oppervlak van de deeltjes in suspensie (m <sup>2</sup> /L)	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
Sedimentatielengte van de deeltjes (m), hoofdstuk 5	33	3.3·10 <sup>-2</sup>	3.3·10 <sup>-5</sup>

Duidelijk is dat de vermelding dat de concentratie van een zekere soort nanodeeltjes 1 µg/L is, niet volstaat. Relevant voor deze studie is met name de zogenaamde sedimentatielengte. De mate waarin vaste deeltjes onder invloed van Brownse-bewegingen blijven ‘zweven’ is zeer sterk afhankelijk van de grootte van de deeltjes. Minerale deeltjes ter grootte van bacteriën (100nm) hebben een heel kleine sedimentatielengte en komen daarom alleen dicht aan het sedimentoppervlak voor. Kleine nanodeeltjes van 1 nm hebben een sedimentatielengte die groter is dan de diepte van veel wateren: ze gedragen zich bijna als opgeloste moleculen.

## 3 Analysemethoden

### 3.1 Inleiding

Dit hoofdstuk behandelt de onderzoeksvraag:

- 2.1 Welke methodes zijn er om nanodeeltjes te meten in water?

Bij de kwalitatieve en kwantitatieve analyse van nanodeeltjes in water moeten twee aspecten in ogenschouw worden genomen:

1. De bepaling van de bulkeigenschappen van de deeltjes in de zin van een totaalbepaling van de concentratie van nanodeeltjes in water. Dit betreft bijvoorbeeld de bepaling met behulp van Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS) of een vergelijkbare techniek, voor het bepalen van het zink- of siliciumgehalte van watermonsters zonder dat specifiek bekeken wordt of er sprake is van de aanwezigheid van nanodeeltjes.
2. De kwalitatieve en kwantitatieve bepaling van nanodeeltjes op basis van de bepaling van nanodeeltjesspecifieke eigenschappen. Een voorbeeld van dit aspect van de analyse van nanodeeltjes is het meten van de mate van lichtverstrooiing van oplossingen van nanodeeltjes.

In zijn algemeenheid geldt dat metingen uit categorie 1 specifiek zijn voor nanodeeltjes. Omdat dergelijke metingen relatief eenvoudig en goedkoop zijn uit te voeren, zijn ze echter goed bruikbaar in een stapsgewijze analysestrategie, gebaseerd op de primaire vraag of er sprake is van verhoging/verlaging van de gehalten aan contaminanten.

Metingen in categorie 2 zijn vaak moeilijk interpreteerbaar. Dat komt door de complexiteit van de metingen, de benodigde apparatuur/infrastructuur, de beïnvloeding van de uitkomsten door interacties met de complexe matrix en door interacties met andere aanwezige nanodeeltjes. In de praktijk blijkt dat er op dit moment géén gevalideerde technieken zijn die specifiek zijn voor de analyse van nanodeeltjes in oppervlaktewatermonsters. Wél is het zo dat er een groot scala aan analysetechnieken is voor specifieke nanodeeltjes in goed gedefinieerde testsystemen. Hierin is nauwelijks of geen sprake van interacties met hetzij andere nanodeeltjes, dan wel met andere niet-waterige bestanddelen van het watermonster (zoals opgelost organisch materiaal).

### 3.2 Aspecifieke analysetechnieken voor nanodeeltjes

Aspecifieke analysetechnieken voor nanodeeltjes zijn veelal gebaseerd op de bepaling van het gehalte aan specifieke elementen. Enerzijds betreft dit metaalanalyses, anderzijds betreft het veelal koolstofanalyses. In beide gevallen wordt hierbij primair het totaalgehalte van het desbetreffende element gemeten. Daarbij is het in sommige gevallen mogelijk om door modificatie van de analyseomstandigheden te bepalen of er sprake is van verschillende vormen waarin het desbetreffende element voorkomt. Zo is het zelfs mogelijk om een indicatie te krijgen van de mate van aggregatie. Een voorbeeld van deze laatste aanpak is recent gegeven door Hyung et al. (2007) en betreft de analyse van koolstof nanobuisjes. Deze auteurs gebruikten een combinatie van een TOT-analyzer (TOT = Thermal Optical Transmittance), UV-vis absorptie en meting van de troebelheid (turbidity) om de koolstof-nanodeeltjes op basis van koolstofanalyses te onderscheiden van andere koolstofatomen, zoals aanwezig in het van nature aanwezige opgeloste koolstof. Voor nanodeeltjes op basis van metaalaten, is een scala aan aspecifieke elementaire analysetechnieken beschikbaar. Naast individuele metaalanalyses met behulp van bijvoorbeeld AAS (Atomaire AtoomAbsorptie), wordt meer en meer gebruikgemaakt van simultane bepaling van metaalaten door bijvoorbeeld ICP-MS (Inductive Coupled Plasma-Mass Spectroscopy), ICP-AES (ICP - Atomic Emission Spectroscopy) of XRF (X-Ray diffractie). Metalen in waterige monsters kunnen hierbij veelal zonder noemenswaardige storingen betrouwbaar en reproduceerbaar worden gekwantificeerd.

### 3.3 Specifieke analysetechnieken voor nanodeeltjes

Specifieke technieken voor het kwantificeren van nanodeeltjes in oppervlaktewateren zijn schaars. Er is een enorm scala aan potentiële methodes aanwezig, die veelal echter in combinatie ingezet dienen te worden en die bovendien veelal enkel toepasbaar zijn in goed gedefinieerde, niet-complexe oplossingen zonder organisch koolstof waarin maar één type nanodeeltjes aanwezig is. Hierbij zou in eerste instantie gedacht kunnen worden aan suspensies van nanodeeltjes in (drink)water, maar bij de auteurs van dit rapport zijn geen specifieke analyses van nanodeeltjes in drinkwater bekend. Behalve de geïntegreerde analysetrein van Hyung et al. (2007), die hierboven is gespecificeerd en die in feite ook enkel is toegepast op een in het laboratorium samengesteld watermonster, zijn er geen voorbeelden van methodieken die toegepast zijn op reële oppervlaktewatermonsters.

Er wordt hard gewerkt aan het ontwikkelen en toepassen van nieuwe technieken voor de bepaling van nanodeeltjes. Zo kunnen combinaties genoemd worden van:

- Raman spectroscopie voor SWCNTs (Single-Walled Carbon NanoTubes; Michel et al., 2006).
- Fluorescentie-metingen van probes van gelabelde CNTs (Carbon NanoTubes) in combinatie met detectie met behulp van confocale microscopie (zie bijvoorbeeld Xiao et al., 2006).
- Labelen van nanodeeltjes met stabiele radio-isotopen (niet toepasbaar als techniek voor het kwantificeren van deeltjes in veldmonsters).
- Meten van de mate van lichtverstrooiing.
- Transmissie Electron Microscopie (TEM).
- Scanning Electron Microscopie (SEM).
- Cross Flow UltraFiltration (CFUF; zie bijvoorbeeld Wilding et al., 2004).
- Field-Flow Fractionation (FFF) en een modificatie hierop: Flow-Field Flow Fractionation (FIFFF). Op <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/1475/fff.html> wordt een uitgebreide introductie op deze technieken gegeven.

Deze lijst is niet uitputtend. Er worden regelmatig nieuwe technieken toegepast voor de bepaling van nanodeeltjes. De genoemde technieken hebben echter gemeen dat ze niet ingezet kunnen worden voor de kwantificering van nanodeeltjes in (oppervlakte)watermonsters, laat staan dat deze technieken routinematig ingezet kunnen worden. Ze zijn ook nog niet toepasbaar in complexe watermatrices, zoals rioolwaterzuiveringsinstallatie-influenten of -effluenten.

### 3.4 Conclusies

1. Er zijn nog geen routinematig toepasbare methoden om de gehalten aan nanodeeltjes in watermonsters te bepalen.
2. Een groot scala aan specifieke en aspecifieke analysemethodieken is in potentie beschikbaar, maar deze methodieken zijn op dit moment op zijn best geschikt voor een kwalitatieve bepaling van het al dan niet aanwezig zijn van (geaggregeerde) nanodeeltjes in watermonsters.

## 4. Mogelijke emissies van nanodeeltjes naar water

### 4.1 Inleiding

Dit hoofdstuk behandelt de onderzoeksvragen:

- 3.1 Wat zijn de bronnen?
- 3.2 Hoe (groot) zijn de emissies (route)?
- 3.3 Welke nanodeeltjes zijn te verwachten in het aquatisch milieu, in drinkwater en in afvalwater?

Emissie naar het milieu kan op verschillende manieren optreden. Voor nanomaterialen is het hierbij zinvol om onderscheid te maken naar de wijze van gebruik van producten waarin nanodeeltjes zijn verwerkt. Bij bepaalde toepassingen worden oppervlakken langdurig blootgesteld aan alle weersomstandigheden. Voorbeelden zijn: toepassing van zelfreinigende ramen vooralsnog in de hoogbouw, maar wellicht later op meer uitgebreide schaal. Toepassingen op kleurwerking en krasbestendigheid van bijvoorbeeld autolakken. Deze te verwachten grootschalige behandeling van oppervlakken lijkt verspreiding van nanodeeltjes naar bodem, het riool of direct naar water onvermijdelijk te maken. Disperse emissie direct naar het oppervlaktewater of via het rioolsysteem is mogelijk door gebruiksartikelen in de sfeer van persoonlijke verzorging. Bijvoorbeeld TiO<sub>2</sub> in zonnebrandcrème of textiel dat dankzij nanotechnologie vlekbestendig is gemaakt of andere gewenste eigenschappen heeft gekregen (lucht- maar niet vochtdoorlatend). Bij niet-disperse toepassingen kunnen, zonder specifieke maatregelen, op enig moment nanodeeltjes het milieu binnendringen. Emissie tijdens de afvalfase, zoals *glare-resistant* zonnebrillen, tennisrackets die verstevigd zijn met koolstof nanotubes, lijkt alleen relevant bij vuilstort maar niet bij afvalverbranding. Enige voorzichtigheid is hier op zijn plaats aangezien de toepassing van nanodeeltjes ten behoeve van materiaalversterking zich snel ontwikkelt. De vergelijking met weekmakers die in kunststoffen toegepast worden, dringt zich op. Weekmakers zijn in vrijwel alle milieucompartimenten aanwezig. Koolstof nanotubes worden tegenwoordig al in autobanden toegepast (Wentzel, 2007).

Dit hoofdstuk geeft een overzicht van de mogelijke emissies van nanodeeltjes naar het watercompartiment toe, zowel in de huidige situatie als in de (nabije) toekomst. De emissies van nanodeeltjes naar het watercompartiment kunnen, net zoals bij andere stoffen, plaatsvinden in verschillende fasen van de levenscyclus van een nanodeeltje:

1. tijdens de productie van nanodeeltjes;
2. tijdens het gebruik van nanodeeltjes;
3. tijdens de afvalfase van nanodeeltjes.

Deze fasen worden hieronder behandeld. Daarbij wordt gekeken naar de mogelijke emissies van de belangrijkste toepassingen. Door verschillende partijen is recent geïnventariseerd in welke toepassingen nanodeeltjes het meest gebruikt worden, dan wel in de toekomst het meest gebruikt zouden kunnen gaan worden (zie onder andere Royal Society, 2004; Tran et al., 2005, Willems en Van den Wildenberg; 2006, Nanoroad SME, 2006). Voor de toekomst worden over het algemeen voorspellingen gedaan tot 2015. Mede aan de hand van deze analyses en nadere relevante literatuur is voor de belangrijkste toepassingen een inschatting gemaakt van de emissies naar het watercompartiment toe. Naast de te verwachten overlap tussen de verschillende analyses, is opvallend het verschil aan toepassingen dat door de verschillende onderzoeken genoemd wordt. Redenen voor deze verschillen zouden kunnen zijn het tijdstip van onderzoek en/of de geraadpleegde experts op het gebied van nanotechnologie. Duidelijk is dat er nog veel onzekerheid is over de mogelijke toepassingen van nanodeeltjes in de toekomst, en daarmee ook over de mogelijke emissies naar het watercompartiment toe.

## 4.2. Productiefase

Bulkproductie van nanodeeltjes door commerciële bedrijven is in de komende tijd niet te verwachten, omdat massaproductie in vele gevallen (nog) te kostbaar is (Willems en Van den Wildenberg, 2006). Verondersteld mag worden dat emissies van nanodeeltjes vanuit effluënten afkomstig van sites die nanodeeltjes produceren, tot een minimum beperkt zullen worden, mede vanuit kosteneffectiviteit. Andere mogelijke belangrijke emissiebronnen van nanodeeltjes kunnen universiteiten en onderzoeksinstituten zijn, die betrokken zijn bij de ontwikkelingen en toepassingen van nanodeeltjes (Royal Society, 2004). Gezien het feit dat nanotechnologie in al zijn toepassingsvormen zich nog voor relatief lange tijd in de Research en Development-fase zal bevinden, is het te verwachten dat deze emissiebron in de nabije toekomst een belangrijke bijdrage zou kunnen leveren aan emissies naar het oppervlaktewater toe. Deze instellingen hebben over het algemeen geen eigen waterzuivering en zullen via de gemeentelijke riolering op een RWZI lozen. De effecten van nanodeeltjes op de effectiviteit van een waterzuivering zijn (nog) niet bekend, maar vanwege de antibacteriële werking van vooral metaaloxides kan het zuiveringsproces verstoord worden, zoals door sommige auteurs gesuggereerd wordt (Reijnders, 2006).

In het algemeen kan gesteld worden dat de emissies van nanodeeltjes bij de productie ervan laag zullen zijn, zowel nu als in de toekomst. Daarbij moet worden aangetekend dat in de productiefase nanodeeltjes nog voornamelijk als enkelvoudige vrije nanodeeltjes aanwezig zijn. De lage emissies zouden dan toch een betrekkelijk groot deel van de emissies van vrije nanodeeltjes kunnen vertegenwoordigen.

## 4.3 Gebruiksfase

De mogelijke emissies naar het oppervlaktewater tijdens de gebruiksfase zijn sterk afhankelijk van de toepassing, die dikwijls gerelateerd is aan het materiaal waarvan het nanodeeltje is gemaakt. Metaal heeft naast chemische ook elektrische en magnetische eigenschappen die veel mogelijkheden bieden. Katalytische reactiviteit van edelmetalen maken vervanging van het dure platina door goud of minder edele metalen mogelijk. Van keramische metaaloxide materialen worden vooral de mechanische en optische eigenschappen benut. De combinatie van katalytische en optische karakteristieken van titaanoxide kan als een eigenschap op zich worden beschouwd en wordt toegepast in ramen die zichzelf fotokatalytisch reinigen. Ook andere (oppervlakte)effecten op nanoschaal ('lotuseffect', zie kader) maken zelfreiniging van ramen mogelijk. Deeltjes van silicaten hebben naast chemische en thermische vooral de gewenste mechanische eigenschappen. Van niet-oxidische keramische materialen worden alle genoemde eigenschappen benut, met uitzondering van de chemische.

Het **lotuseffect** is het verschijnsel dat optreedt als water of vuil op het blad van een lotusplant terecht komt; het blijft niet plakken. Deze zelfreinigende eigenschap is te wijten aan hele kleine bultjes (op nano-schaal) op het blad. Ook andere planten als Oost-Indische kers en kool vertonen dit effect. Materiaalkundigen proberen dit zelfreinigende effect na te bootsen door het ontwikkelen van geavanceerde materialen. De toepassing zou bijvoorbeeld gevonden kunnen worden in vuilafstotende badkamertegels of dunne deklagen op auto's, maar ook bijvoorbeeld in gebruik in de vliegtuigindustrie, voor het eenvoudig ijsvrij kunnen maken van romp en vleugels na een vlucht.

Mechanische eigenschappen worden gebruikt om composieten en polymeren te versterken, waarbij zowel een lager gewicht als een kostenreductie gerealiseerd wordt. Het spectrum van toepassingen van nanodeeltjes is sterk in beweging. Sommige toepassingen zijn al wijd verbreid, andere mogelijke toepassingen zitten nog in de R&D-fase. Door Willems en Van den Wildenberg (2006) is een analyse uitgevoerd van de belangrijkste huidige en toekomstige toepassingen van nanodeeltjes. Deze beslaat de periode tot 2015 en is uitgevoerd met behulp van de Delphi-methode (zie kader). Deze analyse wordt als meest uitgebreid en gedegen beschouwd. De belangrijkste toepassingen die uit deze Delphi-analyse van nanodeeltjes naar voren kwamen, worden hieronder behandeld en zijn aangevuld met relevante literatuur.



De Delphi-methode, genoemd naar het orakel van Delphi, is een onderzoeksmethode waarbij de meningen van een groot aantal, zorgvuldig gekozen, experts wordt gevraagd over een onderwerp waar geen consensus over bestaat (bijvoorbeeld de risico's van kernenergie). De experts antwoorden op vragenlijsten waarvan de vragen gewoonlijk geformuleerd worden als hypothesen. De experts moeten dan antwoorden wanneer zij denken dat de hypothesen vervuld zullen zijn. Elke vragenronde wordt gevolgd door een terugkoppeling met de resultaten van de vragenronde, gewoonlijk anoniem. De experts worden op die manier ertoe aangezet hun meningen bij te stellen aan de hand van de antwoorden van de andere experts. Op deze manier wordt in een aantal rondes geprobeerd tot consensus te komen. Na een aantal rondes wordt het proces beëindigd, en de medianen bepalen het uiteindelijke antwoord. Aan de hand hiervan kunnen tijdstabellen voor toekomstige ontwikkelingen opgesteld worden.

- 1. Toepassing in rubber.** Als belangrijkste toepassing op dit moment wordt het gebruik van nanodeeltjes in rubber genoemd. Al jaren wordt 'Carbon Black' toegevoegd aan autobanden om ze sterker en duurzamer te maken. 'Carbon Black' wordt gevormd bij de onvolledige verbranding van petroleumproducten en is daarmee een van de eerste nanodeeltjes die op grote schaal wordt toegepast, alhoewel niet alle 'Carbon Black' onder de definitie van nanodeeltjes valt vanwege de verscheidenheid aan grootte in Carbon Black-deeltjes (Royal Society, 2004). Op dit moment wordt geëxperimenteerd met het toevoegen van allerlei nieuwe nanodeeltjes aan rubber om de duurzaamheid nog verder te verhogen. Zo zijn er goede resultaten behaald met 'PureNano', silicium carbide (SiC) nanodeeltjes, die de slijtage van banden met 50% zou kunnen verlagen (ETC group, 2004). Dit zou bijvoorbeeld de vraag naar rubber met de helft kunnen doen afnemen, wat grote gevolgen zou hebben voor rubberproducerende landen als India. Ook wordt geëxperimenteerd met bijvoorbeeld het toevoegen van Single Walled Nano Tubes (SWNT) aan rubber. Binnen het NANOSAFE2-project wordt op dit moment door het London Centre voor Nanotechnology een Life Cycle Analysis (LCA) voor onder andere nanotubes in rubber uitgevoerd. Het doel van deze analyse is om de potentiële blootstelling aan nanotubes gedurende de levenscyclus in kaart te brengen (DEFRA, 2005). Op dit moment zijn de resultaten van deze studie nog niet beschikbaar.  
Bij de slijtage van banden zouden bovenstaande deeltjes via wegafwatering in het terrestrisch en aquatisch milieu terecht kunnen komen. Ook bij de toepassing van rubbergranulaat afkomstig van oude banden, in bijvoorbeeld kunstgrasvelden en tegels op kinderspeelplaatsen, is eveneens uitloging naar het water mogelijk. Zo is recent bewezen dat uitloging van zink en PAK's uit rubbergranulaat een overschrijding van de MTR in het ontvangende oppervlaktewater tot gevolg kan hebben (Verschoor, 2007). Aangezien de nanodeeltjes echter geïncorporeerd zijn in een matrix is de kans klein dat nanodeeltjes via deze toepassingen in het water terecht zullen komen.
- 2. Antibacteriële toepassingen.** Hierbij wordt nanozilver het meest genoemd. Toepassingen moeten vooral worden gezocht in bijvoorbeeld de hoek van medische verbandmiddelen, maar ook in wasmachines. Zo heeft Samsung een wasmachine op de markt gebracht waarin een kleine hoeveelheid zilverionen aan de was wordt toegevoegd om eventuele in de was aanwezige bacteriën te doden (<http://www.samsung.com/products/laundry/washingmachine/index.asp>). Via deze route kunnen nanodeeltjes via het rioleringsstelsel in het oppervlaktewater worden gebracht. De antibacteriële werking van deze zilverdeeltjes kan ervoor zorgen dat de werking van RWZI's verstoord wordt, waardoor indirect de milieubezwaarlijkheid van RWZI-effluenten kan toenemen. Naar aanleiding van het op de markt brengen van dit product en de antibacteriële werking van zilver heeft de US EPA besloten om dit soort producten te reguleren onder het Amerikaanse pesticidenbeleid (<http://www.epa.gov/oppad001/ion.htm>). Tevens heeft Samsung besloten onder maatschappelijke druk deze wasmachine in Zweden van de markt te halen. Ook in andere landen (Duitsland, Australië) is door de milieubeweging aan de bel getrokken over de mogelijk risico's van dit soort producten. Het lijkt erop dat deze toepassing in de kiem gesmoord zal worden.  
Bij de medische verbandmiddelen zal vooral humane blootstelling via de huid een rol spelen. Emissies naar het water kunnen in beperkte mate optreden in de afvalfase.
- 3. Zonnebrandmiddelen.** De toepassing van titaniumoxide, en in mindere mate zinkoxide, in zonnebrandmiddelen en cosmetica als UV-bescherming. Deze toepassing vindt op steeds grotere schaal plaats, en emissies direct naar het oppervlaktewater (recreatie) of indirect (via het rioolstelsel) zijn hier dan ook te verwachten (Owen en Depledge, 2005).

4. **Chemical Mechanical Planarization (CMP)-proces.** Nanodeeltjes worden hierbij gebruikt om het oppervlak van halfgeleiders vlak en glad te maken. De nanodeeltjes die hierbij gebruikt worden zijn aluminium, silica en carbon nanotubes. Volgens Borm et al. (2006) betrof de grootste productie van nanodeeltjes in 2004 deze toepassing. Desondanks zijn emissies naar het oppervlaktewater vanwege hun toepassingsgebied hier nauwelijks te verwachten, behalve beperkt in de afvalfase.
5. **Katalysatoren.** Door hun hoge reactieve vermogen, veroorzaakt door hun gunstige oppervlakte-/inhoudverhouding (zie hoofdstuk 2), zijn nanodeeltjes uitermate geschikt om als katalysator in allerlei processen te dienen, bijvoorbeeld bij waterzuivering (zie bijvoorbeeld Hristovski et al., 2007 en hoofdstuk 6 van dit rapport) of bij het in situ opruimen van bodemverontreinigingen (Elliot en Zhang, 2001). Omdat bij dit soort toepassingen de nanodeeltjes bewust in het milieu worden gebracht, zijn vooral hier emissies naar het water te verwachten. Hierbij moet wel onderscheid gemaakt worden tussen nanodeeltjes die zich in of op een membraan bevinden en nanodeeltjes die echt als nanodeeltje in het milieu worden toegepast. Bij deze laatste categorie zijn de te verwachten emissies naar en risico's voor het milieu het grootst, zeker ook omdat deze nanodeeltjes dermate geconstrueerd zijn, dat ze langere tijd als nanodeeltje in het milieu kunnen verblijven. Dit is in tegenstelling tot de meeste andere nanodeeltjes, die niet met opzet in het milieu worden gebracht, en snel niet meer beschikbaar zullen zijn als nanodeeltje (zie hoofdstuk 5). Het meest genoemd bij dit soort toepassingen worden ijzeroxide en titaniumdioxide. Een compleet overzicht van dit toepassingsgebied is te vinden in hoofdstuk 5.
6. **Zelfreinigend glas.** Het fotokatalytisch vermogen van vooral titaniumdioxide is een eigenschap die snel zijn toepassingen vindt in glas van gebouwen, maar ook bijvoorbeeld bij auto's. Daarnaast zijn er al middelen op de markt die zorgen voor het eerder genoemde 'Lotuseffect' op autoramen, zie bijvoorbeeld 'Kampioen' van februari 2007. De eerste categorie van nanodeeltjes is geïncorporeerd in het glas en emissies zullen alleen in de afvalfase een rol spelen. Bij de tweede categorie van toepassingen zal het materiaal door slijtage langzaam van de ruit verwijderd worden en in het milieu terecht komen. In hoeverre in dit geval nog sprake is van werkelijke nanodeeltjes is echter nog maar de vraag. De nanodeeltjes zijn namelijk reeds verwerkt in een matrix.
7. **Dieselbrandstof.** Het gebruik van ceriumoxide als katalysator in diesel. Hiermee wordt de efficiëntie van de verbranding van diesel verhoogd, wordt de motor schoon gehouden en wordt tevens de uitstoot van broeikasgassen verlaagd ([http://www.oxonica.com/energy/energy\\_envirox\\_intro.php](http://www.oxonica.com/energy/energy_envirox_intro.php)). Deze toevoeging aan diesel wordt de laatste tijd steeds vaker toegepast, voornamelijk in de UK, en is daar ook als veelbelovende technologie voor het behalen van milieuwinst aangemerkt (Oakdene Hollins, 2007). Bij deze toepassing is dan ook in nabije toekomst een toenemende emissie naar het milieu, en uiteindelijk het water, te verwachten.
8. **Verpakkingsmateriaal.** Hierbij worden nanodeeltjes toegepast om de permeabiliteit van gassen te beperken cq. af te remmen, waardoor de houdbaarheid van allerlei producten wordt verhoogd. Hierbij worden vooral nanoclays genoemd, een samenstelling tussen minerale kleideeltjes van nanometerafmetingen en polymeren ([http://www.research.bayer.com/ausgabe\\_15/15\\_polyamid.pdf](http://www.research.bayer.com/ausgabe_15/15_polyamid.pdf)). Emissies naar het watercompartiment zijn alleen in beperkte mate in de afvalfase te verwachten, omdat er geen toepassingen zijn die direct met het water in aanraking komen.
9. **Carbon NanoTubes (CNT).** Deze vinden vooral hun toepassing in een effectievere opslag van elektrische energie en van waterstof, en worden eveneens in de UK aangemerkt als technologieën waar veel milieuwinst te halen is (Oakdene Hollins, 2007). Verder worden hun toepassingen in elektrische geleidbaarheid verder onderzocht, wat een breed veld aan allerlei toepassingen zou kunnen genereren. Dit soort toepassingen bevindt zich op dit moment nog in de R&D-fase. De combinatie van CNT's met polymeercomposieten kan weer andere voordelen opleveren. Emissies naar het oppervlaktewater toe, zijn alleen beperkt in de afvalfase te verwachten.
10. **Fullerenen of buckyballs.** Deze hebben slechts beperkte toepassingen in zogenaamde drug-delivery systems. Zij zouden er in de toekomst voor kunnen zorgen dat de dosering van medicamenten verminderd zou kunnen worden. Toepassingen worden echter niet in de eerste tien jaar verwacht. Er is zelfs een dalende trend te zien in het aantal publicaties over buckyballs (Nanoroad SME, 2006). Andere auteurs spreken echter van een enorme toename van de productie van buckyballs (Borm et al., 2006). Via excretie zouden deze nanodeeltjes uiteindelijk het watercompartiment kunnen bereiken, mits ze nog intact zijn. Aangezien het hier een klein toepassingsgebied betreft, wordt deze route op dit moment niet als zeer relevant aangemerkt.
11. **Bestrijdingsmiddelen.** Tevens wordt er geëxperimenteerd met pesticiden in nanogrootte enerzijds, of pesticiden die ingekapseld worden in nanodeeltjes anderzijds (ETC group, 2004). Deze laatste

toepassing is vergelijkbaar met de drugs-delivery systems waarvoor de fullerenen worden gebruikt (zie eerder). Het toedienen van de pesticiden in nanogrootte of ingekapseld biedt volgens de industrie een aantal voordelen, zoals een langere biologische activiteit, mindere binding aan bodem, lagere blootstelling voor agrariërs, minder verlies aan pesticiden door verdamping en degradatie, minder schade aan gewas en andere organismen en minder gebruik van hulpmiddelen ([http://www.syngenta.com/en/day\\_in\\_life/microcaps.aspx](http://www.syngenta.com/en/day_in_life/microcaps.aspx)). In het algemeen kan gesteld worden dat de nanodruppelgrootte the effectiviteit van het bestrijdingsmiddel vergroot, waardoor minder actieve ingrediënt nodig is. De ingekapselde bestrijdingsmiddelen kunnen zo ontworpen worden, dat ze onder van tevoren vastgestelde condities hun actieve ingrediënt ‘loslaten’ (ETC group, 2004). Naast de genoemde voordelen zijn er ook nadelen te verwachten, waarvan een verhoogde emissie en daaropvolgende blootstelling van nanodeeltjes naar het milieu er één is (ETC group, 2004). Deze toepassingen bevinden zich op dit moment nog in een dermate experimentele fase, dat deze route voor de nabije toekomst niet als relevant wordt beschouwd.

12. **Textiel.** Het gebruik van nanodeeltjes in de textiel, zodat dit vuil en waterafstotend wordt, zie bijvoorbeeld [www.nano-tex.com](http://www.nano-tex.com). Bij het gebruik van dit textiel (dragen, wassen) is de kans aanwezig dat de deeltjes in het milieu terechtkomen.

## 4.4 Emissies naar water

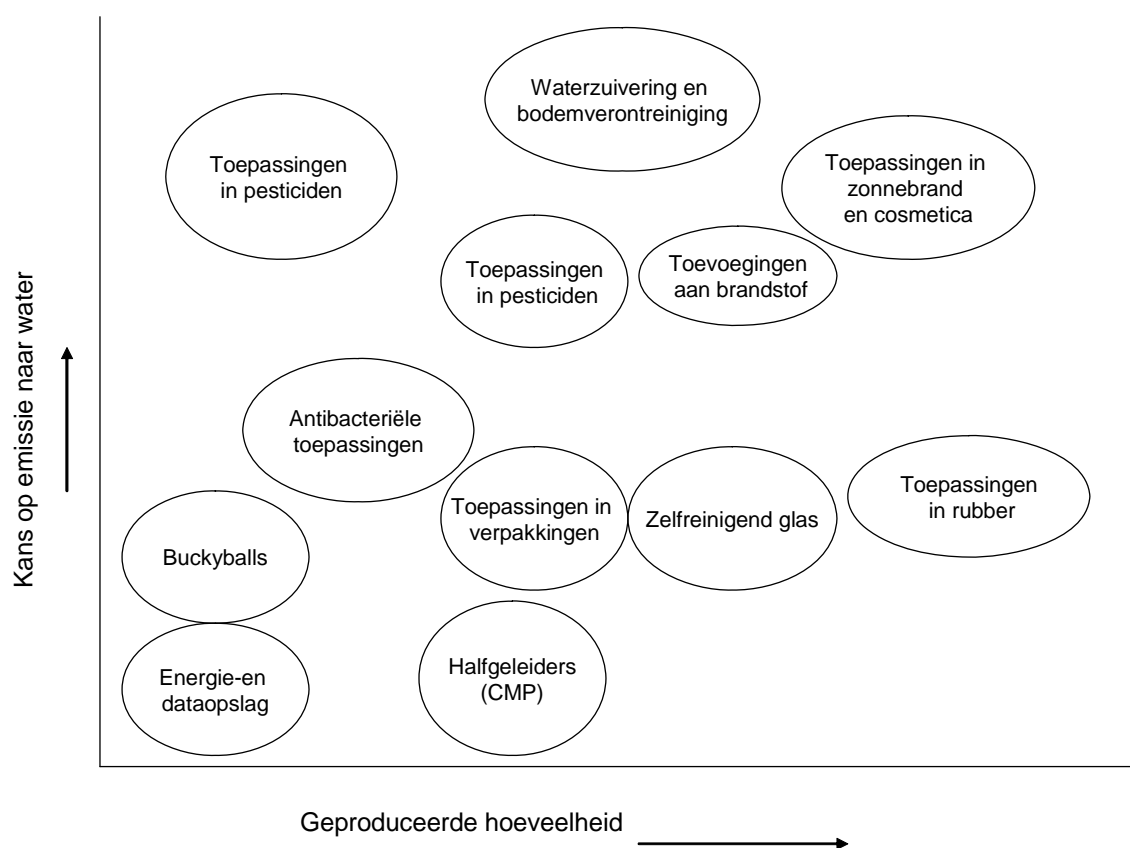
In Tabel 4.1 wordt een inschatting gegeven van de huidige en toekomstige productie van de verschillende soorten nanodeeltjes bij verschillende toepassingen, weergegeven in tonnen per jaar, gebaseerd op een schatting van de Royal Society (2004). Hier is te zien dat bij de meeste toepassingen, behalve cosmetica en zonnebrandmiddelen, een forse groei in de nabije toekomst wordt verwacht. De categorie die nu qua volume het grootst is, cosmetica en zonnebrandmiddelen, zou over 10-15 jaar tot de kleinere kunnen behoren.

*Tabel 4.1 Geschatte wereldproductie van verschillende nanodeeltjes voor verschillende tijdsperiodes (Royal Society, 2004).*

Toepassing	Materiaal	geschatte productie volume (ton/jaar)		
		nu	2005–2010	2011–2020
Structurele toepassingen	katalysatoren, coatings, dunne films, poeders, metalen	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup>
Cosmetica, zonnebrandmiddelen	metaaloxides (titanium dioxide, zinkoxide, ijzeroxide)	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> of minder
ICT	single walled nanotubes, nano electronics, opto-electro materialen (titaniumdioxide, zink oxide, ijzeroxide), organic light-emitting diodes (OLEDs)	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup> of meer
Biotechnologie	nano encapsulates, fullerenes, targeted drug delivery, bio-compatible, quantum dots, composites, biosensors	< 1	1	10
Instrumenten, sensoren	elektronenmicroscopie lithografie	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> - 10 <sup>3</sup>
Milieutoepassingen	nanofiltratie, adsorptie	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>

Dit betekent dat er nu ook al duidelijk aandacht voor risico's bij de andere categorieën moet zijn. Bij deze tabel moet worden aangetekend dat de hoeveelheden zijn weergegeven in tonnen/jaar. Verschillende auteurs geven aan dat het weergeven van productiecijfers op massabasis misleidend kan zijn (UNEP, 2007). Zoals aangegeven in paragraaf 2.6, heeft de geproduceerde massa slechts betekenis als daarbij ook de vorm en grootte van de deeltjes betrokken worden.

Emissies worden doorgaans geschat door productievolumina te combineren met emissiefactoren. Zulke emissiefactoren voor toepassing van nanomaterialen zijn nog niet ontwikkeld. Op grond van wat nu bekend is over de toepassingen als bovenvermeld kunnen alleen heel ruwe schattingen worden gemaakt van de waarschijnlijkheid dat bij de genoemde toepassingen emissie naar water optreedt.



*Figuur 4.1 Indicatie van de mogelijke emissies van nanodeeltjes naar water bij verschillende toepassingen van nanotechnologie. Grote emissies worden verwacht bij combinatie van hoge productievolumina en grote kans op emissie.*

Op basis van de productievolumina uit Tabel 4.1 en een inschatting van de emissie naar het oppervlaktewater is Figuur 4.1 ontstaan. De inschatting van de emissies is deels gebaseerd op bestaande literatuur, deels op 'expert judgement'. Links onder in deze figuur bevinden zich de toepassingen met een klein volume en een kleine kans om het oppervlaktewater te bereiken. Rechts boven de toepassingen met een groot volume en een relatief grote kans om het oppervlaktewater te bereiken. Zo is te zien dat vooral cosmetica en zonnebrandmiddelen op dit moment een potentieel hoge kans bevatten om in het oppervlaktewater aangetroffen te worden. In de toekomst zal dit plaatje er anders uit gaan zien. Zo zullen de milieutoepassingen (waterzuivering, bodembescherming) in de nabije toekomst een groter potentieel risico gaan vormen. Deze milieutoepassingen hebben, vanwege hun toepassing, ook positieve effecten op het milieu, zoals de toepassingen bij waterzuivering en bodemverontreiniging en als toevoeging aan brandstoffen.

Bij Figuur 4.1 moet in het achterhoofd gehouden worden dat de meeste toepassingen vooral nanodeeltjes zullen bevatten die verwerkt zijn, of zich in een matrix bevinden. In hoeverre de nanodeeltjes nog hun specifieke nano-eigenschappen bevatten, zoals genoemd in hoofdstuk 2 wanneer ze in het aquatisch milieu

terecht komen, is de vraag. Plotseling onbedoelde uitstoot van nanodeeltjes (calamiteiten) kan echter wel degelijk een enorme blootstelling aan nanodeeltjes tot gevolg hebben.

## 4.5 Conclusies

1. Er zijn geen analyses bekend op grond waarvan goede schattingen van emissies van nanodeeltjes naar water kunnen worden gemaakt.
2. Verwacht wordt dat de grootste emissies optreden tijdens de gebruiks- en afvalfasen van nanomaterialen. In het algemeen zal het dan gaan om diffuse emissies. Of daarbij vrije, enkelvoudige nanodeeltjes in het milieu vrijkomen is echter zeer de vraag. Emissies in de productiefase worden klein verondersteld. Echter, de waarschijnlijkheid dat deze emissies uit vrije nanodeeltjes bestaan, is groter dan voor emissies tijdens gebruik en afvalverwerking.
3. Toepassingen van nanotechnologie die mogelijk tot relatief grote emissies naar water kunnen leiden zijn de toepassing van nanodeeltjes als UV-blocker in zonnebrandmiddelen, toepassing bij waterzuivering en bodemsanering, additieven voor dieselbrandstof en wellicht nieuwe toepassingen als bestrijdingsmiddel in de landbouw.



## 5 Gedrag van nanodeeltjes in water

### 5.1 Inleiding

Dit hoofdstuk behandelt de onderzoeksvragen:

- 4.1 Hoe is het gedrag van nanodeeltjes in water (in relatie tot chemische stoffen, colloïdchemie?)
- 4.2 Kan de aanwezigheid van nanodeeltjes het gedrag van andere stoffen beïnvloeden in het milieu, of bij de zuivering van afvalwater en drinkwater?

Nanodeeltjes kunnen op verschillende manieren in het oppervlaktewater terechtkomen: via rechtstreekse emissies van afvalstromen naar water, of via intercompartimentaal transport (atmosferische depositie, afspoeling uit de bodem). In dit hoofdstuk gaat het erom in welke mate dit leidt tot het vóórkomen van vrije nanodeeltjes in water.

Conventionele chemische stoffen ontleen hun gedrag in water aan het feit dat ze zuivere oplossingen vormen in water. De oplosbaarheid van stoffen in water bepaalt wat er met de stof gebeurt en in welke mate er schadelijke effecten zijn te verwachten. Immers:

- opname in organismen en de daaruit volgende effecten worden veelal gereguleerd door de concentraties in oplossing. In dit verband wordt de concentratie in oplossing veelal aangeduid met de term ‘biologisch beschikbare concentratie’.
- concentraties in de opgeloste fase bepalen ook hoe lang stoffen overleven in water. Het zijn de moleculaire activiteiten die reguleren hoe snel stoffen worden omgezet/afgebroken via abiotische en biologische processen. Ook zijn het de activiteiten in oplossing die bepalen hoe snel ze vervluchtigen, adsorberen, etc.

Voor opgeloste moleculen gelden goed bekende wetmatigheden voor de verhoudingen van concentraties tussen opgeloste en geadsorbeerde fasen in evenwicht: de (evenwichts)partiticoëfficiënten. Oplosbaarheid in water, persistentie in het milieu en ecotoxiciteit van chemische stoffen zijn daarom nauw gerelateerd. De milieurisicoanalyse voor gewone chemische stoffen is ook in belangrijke mate gefocust op beschouwing van de in water opgeloste (‘biologisch actieve’) concentraties in water en de processen waardoor deze wordt bepaald.

Hoe anders is dit voor nanodeeltjes! Deze lossen niet op. Per definitie niet, het zijn deeltjes. Het oplossen in water is voor nanodeeltjes een verdwijnproces: na oplossen in water bestaan ze immers niet meer in hun hoedanigheid van deeltje. Synthetische nanodeeltjes zijn ontworpen om te overleven in natuurlijke (dus waterige) milieus. Ze bestaan doorgaans uit materialen die niet of nauwelijks oplossen in water. Bijgevolg zijn nanodeeltjes in water als persistent te beschouwen. Echter, als er veel water is in vergelijking met de hoeveelheid nanodeeltjes (wat in schone milieus in het algemeen zo is), zullen zelfs deeltjes met geringe wateroplosbaarheid geheel kunnen oplossen. De levensduur van nanodeeltjes in natuurlijke milieus wordt bepaald door de snelheid van oplossen. Omdat we bij processen in het milieu doorgaans lange tijdschalen beschouwen (jaren), kunnen zelfs geringe oplossnelheden in dit opzicht van betekenis zijn. Bekend is dat de oplossnelheden van verschillende chemische materialen sterk verschillen. In plaats van oplossingen vormen nanodeeltjes in water colloïdale systemen. De centrale plaats van oplosbaarheid in water van gewone chemische stoffen wordt bij nanodeeltjes in genomen door het begrip colloïdstabiliteit. In de chemische- en voedingsmiddelentechnologie is heel veel bekend over het uitvlokgedrag van colloïdale dispersies van kleine onoplosbare deeltjes (micro-emulsies). In deze vakgebieden is meestal het doel om de deeltjes in suspensie te houden (stabiele systemen), wat bij deeltjes groter dan 100 nm in de praktijk vrijwel altijd een probleem is. Het in de colloïdchemie ontwikkelde gedachtegoed is vervat in de Derjaguin, Landau, Verwey en Overbeek -theorie (Birdi, 2003; zie ook kader). Deze theorie kan als uitgangspunt worden gebruikt bij het beschrijven en voorspellen van het gedrag van nanodeeltjes in water, die we immers kunnen opvatten als ‘nano-emulsies’.

Bij nanodeeltjes gaat het om de uiteindelijke concentratie van vrije (enkelvoudige) deeltjes in de waterfase. Dat is de feitelijke blootstellingsconcentratie die bepalend is voor de effecten op aquatische organismen. Nanodeeltjes (of clusters daarvan) in sedimenten worden zeker ingenomen door sedimentbewonende organismen. Maar net zoals dit geldt voor aan deeltjes geadsorbeerde gewone moleculen, zullen alleen vrije enkelvoudige deeltjes kunnen worden opgenomen en effecten veroorzaken.

## 5.2 Processen die de concentratie in water bepalen

Het schatten van de blootstellingsconcentratie aan vrije en biologisch beschikbare nanodeeltjes is één van de grootste uitdagingen in de toxicologie. Dit bleek eens te meer tijdens een wetenschappelijke sessie over risicobeoordeling van nanodeeltjes (SETAC congres in Porto, 24 mei 2007). Onbegrip over gedrag van nanodeeltjes in water gaf toen aanleiding tot misverstanden en misinterpretaties bij het bepalen van ecotoxische effecten.

Bepalend voor de concentratie van vrije enkelvoudige nanodeeltjes in de waterfase van oppervlaktewatersystemen zijn in principe:

- a) emissie en andere vormen van aanvoer;
- b) afvoer door meevoering met water;
- c) oplossing in water en andere eventuele verdwijmechanismen;
- d) aggregatie van enkelvoudige nanodeeltjes tot grotere (flocculatie, coagulatie) en desaggregatie;
- e) bezinking en resuspensie.

De eerste drie procesvormen blijven hier buiten beschouwing. De reden is dat bij homogene dispersies van nanodeeltjes in water de processen emissies en afvoer met water op een wijze beschreven kunnen worden die we al kennen van conventionele chemicaliën. Over het oplossen in water werd ten aanzien van nanodeeltjes geen informatie gevonden. Vooralsnog kan worden aangenomen dat wanneer nanodeeltjes wateroplosbaar zijn, ze als gewone chemicaliën beschouwd kunnen worden. We richten ons hier op wat er bekend is over aggregatie van colloïdale dispersies, op het vakgebied van de colloïdchemie en op bezinking.

## 5.3 Colloïdale suspensies

In de colloïdchemie is bekend dat het al dan niet aggregeren van deeltjes afhangt van het oplosmiddel, de elektrostatistische kracht en de van der Waals-kracht. Dit staat bekend als de DLVO-theorie (Birdi, 2003; zie ook kader).

De DLVO-theorie suggereert dat de stabiliteit van een colloïdaal systeem wordt bepaald door de som van deze Van der Waals-aantrekkingsenergie en de elektrostatistische afstotingsenergie. Beide krachten werken op de deeltjes wanneer ze elkaar naderen als gevolg van de Brownse-beweging. De DLVO-theorie leert dat het ontstaan van een energetische barrière als gevolg van de afstotingskracht, voorkomt dat ze aan elkaar kleven wanneer ze elkaar naderen (Figuur 5.1). Maar als de deeltjes voldoende kracht hebben om die barrière te overwinnen, zal de aantrekkende kracht hen sterk en onomkeerbaar doen samenkleven. Deeltjes met een voldoende hoge elektrostatistische afstoting zullen niet aan elkaar kleven. Het colloïdaal systeem is dan stabiel. Als echter dit afstotingsmechanisme afwezig is, zal uiteindelijk uitvlokking en coagulatie plaatsvinden.

In bepaalde situaties, bijvoorbeeld bij hoge zoutconcentraties, is er een tweede minimum mogelijk waar een veel zwakkere en mogelijk reversibele aantrekking tussen deeltjes bestaat (Figuur 5.2). Deze vlokken met een zwakke bindingsenergie zijn stabiel genoeg om niet uit elkaar te vallen door de Brownse-beweging, maar kunnen wel uit elkaar vallen door een externe kracht, zoals door rigoureus schudden.



De DLVO-theorie leert dat de stabiliteit van een deeltje in oplossing afhankelijk is van zijn totale potentiële energie,  $V_T$ . Deze bestaat uit de volgende termen:

$$V_T = V_A + V_R + V_S$$

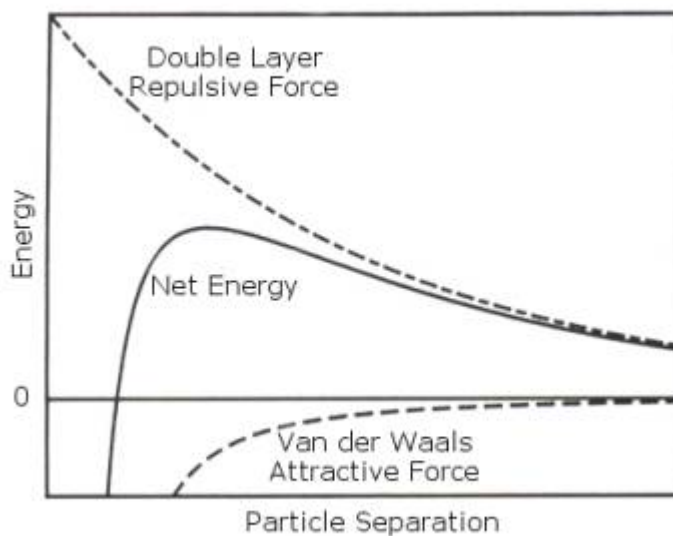
$V_S$  is de potentiële energie, toe te schrijven aan het oplosmiddel, welke meestal slechts een marginale bijdrage levert aan de totale potentiële energie en dan uitsluitend wanneer de deeltjes nog maar een paar nanometer van elkaar gescheiden zijn. Veel belangrijker is de balans tussen de energie  $V_A$  (als gevolg van de Van der Waals-kracht) en  $V_B$ , de energie als gevolg van aantrekkende en afstotende krachten.  $V_A$  en  $V_R$  zijn veel groter dan  $V_S$  en werken over een veel grotere afstand.  $V_A$  hangt af van de geometrie. Voor het systeem van twee bollen met straal  $R$  met middelpunten die op een afstand van  $D + 2R$  van elkaar verwijderd zijn, geldt dat de attractie energie gelijk is aan:

$$V_A = -A r / 12 D$$

$A$  is de Hamaker-constante en  $D$  is de afstand tussen deeltjes. De repulsie energie  $V_R$  is exponentieel afhankelijk van  $D$ :

$$V_R = 2 \pi \epsilon R \xi^2 e^{-\kappa D}$$

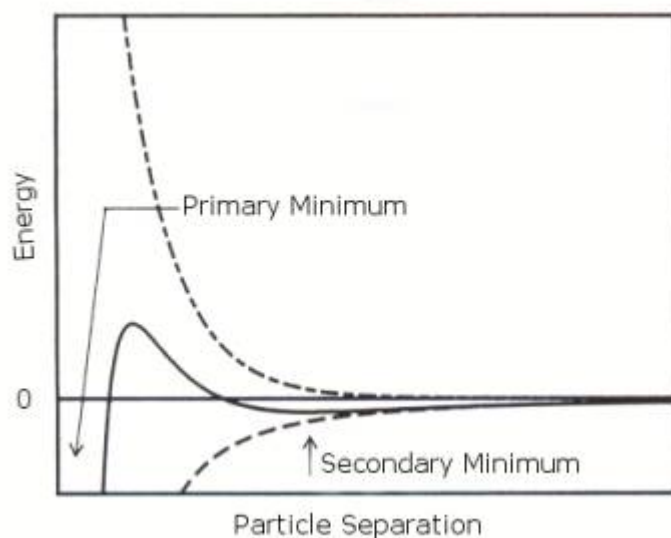
Hier is  $R$  weer de straal van het deeltje,  $\pi$  is de permeabiliteit van het oplosmiddel,  $\kappa$  is een functie van de ionensamenstelling en  $\xi$  is de zèta-potentiaal.



*Figuur 5.1 Diagram van de vrije energie als functie van de deeltjesafstand volgens de DLVO-theorie. De 'Net Energy' staat voor de som van de elektrostatische afstotingsenergie en de Van der Waals-aantrekkingsenergie die op de deeltjes uitgeoefend worden als ze elkaar naderen. Figuur ontleend aan [http://www.malvern.com/LabEng/industry/colloids/dlvo\\_theory.htm](http://www.malvern.com/LabEng/industry/colloids/dlvo_theory.htm).*

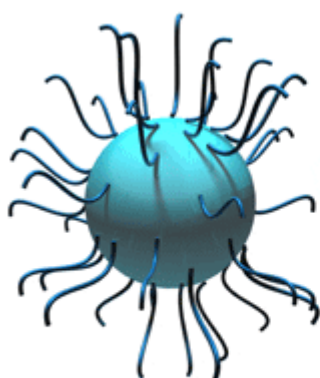
Om een stabiel colloïdaal systeem te krijgen moeten de afstotingskrachten domineren. Er zijn twee fundamentele mechanismen om een stabiel colloïdaal systeem te creëren (Figuur 5.3):

- sterische verhinderende (afstoting), hierbij adsorbeert een polymeer aan de oppervlakten van de deeltjes, waardoor ze niet met elkaar in contact kunnen komen. Als er voldoende polymere moleculen aan de deeltjes geadsorbeerd zijn, zal de afstand tussen de deeltjes zo groot zijn dat de Van der Waals-kracht te klein is om de deeltjes aan elkaar te laten kleven.
- elektrostatische of ladingstabilisatie, dit is het effect op interacties tussen de deeltjes door de verdeling van geladen deeltjes in het systeem.

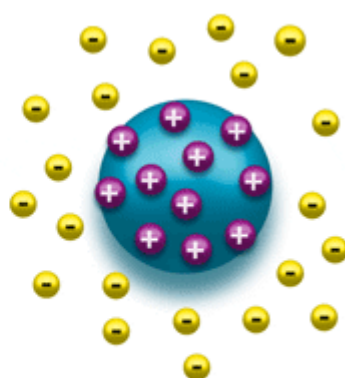


*Figuur 5.2 Het schematische diagram van de vrije energie tegen de deeltjesafstand bij hoge zoutconcentraties maakt een tweede energetisch minimum mogelijk. Figuur ontleend aan [http://www.malvern.com/LabEng/industry/colloids/dlvo\\_theory.htm](http://www.malvern.com/LabEng/industry/colloids/dlvo_theory.htm).*

Beide mechanismen hebben voordelen bij bepaalde systemen. Sterische hindering is simpel en vereist enkel adsorptie van een geschikt polymeer. Het kan echter moeilijk zijn om het systeem (indien gewenst) te laten uitvlokken wanneer het polymeer eenmaal aan het oppervlak vastzit.



**Steric stabilization**



**Electrostatic stabilization**

*Figuur 5.3 Twee typen colloïdale stabilisatie. Figuur ontleend aan [http://www.malvern.com/LabEng/industry/colloids/dlvo\\_theory.htm](http://www.malvern.com/LabEng/industry/colloids/dlvo_theory.htm).*

## 5.4 Gedrag van nanodeeltjes in water

In de praktijk blijken nanodeeltjes in water (nano-emulsies) zich afwijkend te kunnen gedragen van normale colloïdale systemen (micro-emulsies).

Ten eerste is het als gevolg van de kleine afmetingen mogelijk dat nanodeeltjes een dubbellaag hebben die dikker is dan de diameter van het deeltje. Bij een botsing van twee van zulke nanodeeltjes kan mogelijk een overlappende dubbellaag ontstaan, hierdoor geldt het DLVO -principe niet meer (Kallay en Zalac, 2002).

Dit effect is vooral te verwachten bij lage ionconcentraties (bijvoorbeeld drinkwater) waar de dubbellaag het dikst is, tot wel 100 nm.

Ten tweede is voor heel kleine deeltjes al bij lage massaconcentraties sprake van een heel groot aantal concentraties (zie Tabel 2.2): een tien keer kleiner deeltje heeft bij dezelfde massaconcentratie een duizend keer hogere deeltjesconcentratie. Het belang hiervan is dat de botsingskans zich in het kwadraat verhoudt tot de deeltjesconcentratie (een miljoen keer hoger). Het aantal botsingen dat een agglomeratie van deeltjes tot gevolg heeft, zal hierdoor ook sterk toenemen. Dit wordt beschreven door de Smoluchowski en Fuks-theorie. Dit maakt het vormen van een stabiel systeem in suspensie moeilijk of onmogelijk zonder de toevoegingen van bijvoorbeeld oppervlakte actieve-stoffen (Kallay en Zalac 2002).

Net als in normale colloïdale systemen, geldt bij nanodeeltjes in water dat het gedrag (stabiliteit) in de eerste plaats wordt bepaald door de oppervlakte-eigenschappen (coating). De chemische vorm waarin de nanodeeltjes in het milieu terechtkomen is daarom van allesoverheersend belang voor het uiteindelijke gedrag (Cohen Stuart, 2007).

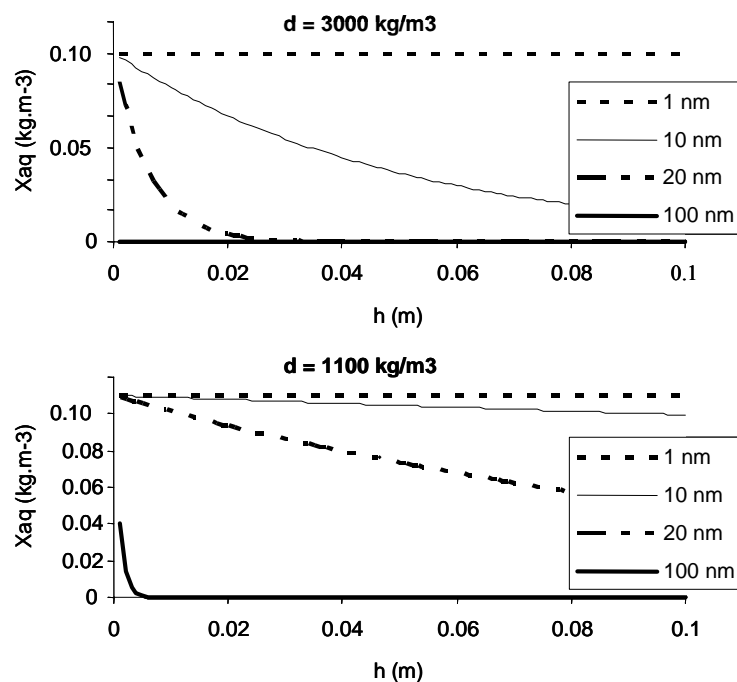
In een studie over de invloed van natuurlijk organisch materiaal (NOM) op koolstof nanodeeltjes blijkt dat dit een positief effect op de colloïdstabiliteit heeft. De nanobuisjes gebruikten bij deze studie, werden toegevoegd aan gedeïoniseerd water, waaraan al dan niet 1 % natrium dodecyl sulfaat (SDS, een veel gebruikt surfactant) oplossing of 100 mg Suwannee River Natuurlijk Organisch Materiaal (SR-NOM) werd toegevoegd. Nanobuisjes in gedeïoniseerd water alleen sloegen direct neer. De suspensie van nanobuisjes in 1% SDS verkleurde van een donkere tot een lichtgrijze suspensie binnen vier dagen, wat duidt op het verdwijnen van nanobuisjes in gesuspendeerde vorm. De suspensie met SR-NOM zag er eerst donker en troebel uit na het toevoegen van de nanobuisjes, de suspensie werd daarna lichter maar werd na vier dagen weer donker van kleur. Dit bleek het gevolg van nanobuisjes in gesuspendeerde vorm. Met het natuurlijke organisch materiaal in water werd dus een hogere stabiliteit nanobuisjes in suspensie bereikt dan met het surfactant (Hyung et al. 2007). Dit laat zien dat ondanks de tendens van nanodeeltjes om te aggregeren, er ook rekening mee moet worden gehouden dat stabiele suspensies in natuurlijk water kunnen voorkomen.

Net als dat het geval is bij gasmoleculen in de atmosfeer, geldt voor stabiele suspensies van deeltjes in water dat de deeltjesconcentratie afhangt van de hoogte (diepte). En wel om precies dezelfde reden: de deeltjesconcentratie is het gevolg van dynamisch evenwicht tussen bezinking onder invloed van de zwaartekracht en Brownse-(warmte)beweging. Als gevolg hiervan ontstaat een exponentieel verloop van de concentratie met de diepte: hoe dichter bij de bodem, hoe groter de deeltjesconcentratie (Mackay et al., 2006). Deze zogenaamde Boltzmann-verdeling wordt gekenmerkt door de verhouding van thermische energie ter grootte van  $k \cdot T$  ( $T$  de absolute temperatuur en  $k$  de Boltzmann-constante) en de potentiële energie, gelijk aan  $m \cdot g \cdot h$  waarbij  $m$  de massa van het deeltje is (volume maal dichtheid),  $g$  de gravitatieconstante en  $h$  de hoogte ten opzicht van het grondniveau:

$$c = c_0 \cdot e^{-\left(\frac{mg}{kT}\right) \cdot h}$$

Voor grote deeltjes met een grote massa  $m$  verloopt de deeltjesconcentratie  $c$  veel sneller met de diepte  $h$  dan voor kleine deeltjes met een kleine  $m$ . De verhouding  $(kT/mg)$  heeft de dimensie van lengte en mag worden uitgelegd als een karakteristieke sedimentatielengte. De sedimentatielengte is een eigenschap van de deeltjes. Deze is omgekeerd evenredig met de deeltjesmassa en dus sterk afhankelijk van de deeltjesdiameter. De sedimentatielengte geeft aan over welke afstand van het sediment-water grensvlak de deeltjesconcentratie met 37% ( $1/e$ ) afneemt (Figuur 5.4).

In Tabel 2.2 wordt de waarde van de sedimentatielengte gegeven voor nanodeeltjes met de gegeven fysische eigenschappen. Op grond daarvan moet worden verwacht dat kleine nanodeeltjes (diameter  $<10$  nm) zich grotendeels in suspensie zullen bevinden. Grotere deeltjes en clusters van kleine nanodeeltjes zullen zich onder invloed van de zwaartekracht in het sediment of tenminste in de buurt van het sediment-water grensvlak bevinden.



Figuur 5.4. De concentratie van nanodeeltjes in de waterkolom uitgezet tegen de afstand  $h$  vanaf de bodem (of het sediment-water grensvlak). De maximale concentratie (bij  $h = 0 \text{ m}$ ) is gelijk gesteld aan de dichtheid van het nanomateriaal. Maximale concentratie van de suspensie is 0,1 g/L.

## 5.5 Invloed op gedrag van andere stoffen

De aanwezigheid van nanodeeltjes in water zou in beginsel het gedrag van andere stoffen kunnen beïnvloeden. Daarvoor zijn ten minste twee mechanismen denkbaar: (i) adsorptie en (ii) katalyse. Beide mechanismen kunnen een rol spelen vanwege het grote specifieke oppervlak van kleine deeltjes.

Vanwege dat grote specifieke oppervlak worden nanodeeltjes toegepast in de zuivering van afvalwater en de bereiding van drinkwater (zie paragraaf 6.2.2), met name voor verwijdering van metalen. Dezelfde interacties tussen opgeloste stoffen en nanodeeltjes zouden in natuurlijk oppervlaktewater moeten optreden. Tenminste, indien het oppervlak van de nanodeeltjes in oppervlaktewater hetzelfde is als dat in het te behandelen afvalwater of drinkwater, wat in principe goed denkbaar is. Bij voldoende grote concentraties van nanodeeltjes in oppervlaktewater zou deze adsorptie in principe een rol van betekenis kunnen spelen. Hierover zijn geen serieuze schattingen bekend. In deze studie zijn dergelijke schattingen ook niet gemaakt, hoewel in principe de gepubliceerde gegevens dit wél mogelijk maken.

Adsorptie van metaalionen aan deeltjes vermindert in het algemeen de beschikbaarheid van metalen voor aquatische organismen, omdat metaalionen alleen vanuit de opgeloste fase celmembranen kunnen passeren. Of dit op dezelfde manier geldt voor aan nanodeeltjes gebonden metaalionen is echter niet bekend.

Er zijn geen vergelijkbare experimentele aanwijzingen gevonden voor adsorptie van organische stoffen aan nanodeeltjes. Het adsorptief vermogen van koolstofdeeltjes voor organische moleculen is echter voldoende bekend. Actieve kool wordt veel toegepast bij verwijdering van verontreinigingen in water. Op grond van de literatuur over adsorptie van hydrofobe organische stoffen aan natuurlijke 'black carbon'-deeltjes in sedimenten moet worden vermoed dat hydrofobe koolstof nanodeeltjes (single-walled carbon nanotubes en fullerenen) een belangrijke rol zouden kunnen spelen in het milieuchemische gedrag van organische stoffen en de biologische beschikbaarheid ervan. Onderzoek op dit gebied is de auteurs echter niet bekend.

Het grote specifieke oppervlak geeft ook aanleiding tot katalytische activiteit, een mechanisme dat eveneens wordt toegepast in de waterbehandeling (zie paragraaf 6.2.3). Dezelfde katalytische effecten zouden ook kunnen optreden in natuurlijk oppervlaktewater. Maar dat zal waarschijnlijk alleen een rol van

betekenis spelen bij voldoende hoge concentraties van nanodeeltjes. Verdere kwantitatieve informatie hierover is echter niet bekend.

## 5.6 Conclusies

1. Nanodeeltjes zijn in het algemeen slecht oplosbaar in water en als zodanig te beschouwen als persistente verontreinigingen. Alleen door interactie met elkaar of met andere in water aanwezige deeltjes kunnen ze uit water verdwijnen.
2. Kleine nanodeeltjes zullen slecht bezinken uit water. Alleen grote (clusters van) deeltjes met typische diameters  $> 1$  micrometer zullen sedimenteren.
3. Er wordt in de literatuur vrijwel niets vermeld over de mate waarin nanodeeltjes in natuurlijk water klonteren/uitvlokken en sedimenteren. Het is daarom onbekend welke consequenties emissies naar water kunnen hebben voor het vóórkomen van vrije enkelvoudige nanodeeltjes in water.
4. Nanodeeltjes in water zouden zich moeten gedragen volgens de regels van de colloïdchemie (DLVO-theorie). Schaarse experimenten geven aanleiding te vermoeden dat de bekende wetmatigheden wellicht niet zonder meer toepasbaar zijn op de nanoschaal. Vooral nog is de toepasbaarheid van de colloïd-chemische wetmatigheden voor beschrijving/voorspelling van het (uitvlok)gedrag van nanodeeltjes in water gering.
5. Door hun grote specifieke oppervlak hebben nanodeeltjes grote potentie als adsorbens voor in water opgeloste stoffen en als katalysator voor in water optredende reacties. Deze eigenschappen worden benut in de waterbehandeling.  
Of dezelfde eigenschappen van nanodeeltjes het gedrag van opgeloste stoffen in natuurlijke watersystemen kunnen beïnvloeden, is nog geheel onduidelijk.



## 6 Nanodeeltjes bij de behandeling van drink- en afvalwater

### 6.1 Inleiding

Dit hoofdstuk behandelt de onderzoeksvragen:

- 5.1 Welke mogelijkheden zijn er voor het gebruik van nanodeeltjes bij de zuivering van afvalwater en/of in de drinkwaterbereiding? En hoe staat het met octrooien en patenten op dit gebied?
- 5.2 Kan de eventuele toepassing van nanodeeltjes bij de zuivering van afvalwater en/of drinkwater ook nadelige gevolgen hebben?

Veilig en schoon drinkwater is essentieel voor de volksgezondheid. Ook voor een groot aantal industriële afnemers is een goede waterkwaliteit van groot belang. De belangrijkste aspecten waaraan drinkwater moet voldoen zijn (Wessels, 2006):

- microbiologisch veilig: voldoende desinfectie en biologisch stabiel (geen *Legionella* groei);
- vrij van microverontreinigingen: zware metalen, bestrijdingsmiddelen, hormoonverstorende stoffen, persoonlijke verzorgingsmiddelen, industriële stoffen etc.;
- vrij van deeltjes en zwevende stof.

Ondanks dat de bescherming van de drinkwaterbronnen steeds verder gaat (Kaderrichtlijn Water, 2000), komen ook steeds meer verontreinigingen aan het licht. Enerzijds komt dit door de continue stroom van nieuwe producten en chemicaliën, anderzijds ook door steeds betere analysetechnieken die meer stoffen kunnen 'zien'.

Om deze stoffen bij de drinkwaterproductie (zie kader) te verwijderen, zijn steeds geavanceerdere zuiveringstechnieken nodig. De verwachting is dat nanodeeltjes en nanotechnologie op termijn een belangrijke rol bij zullen gaan spelen.

#### *De drinkwaterproductie in Nederland*

De omvang van de drinkwaterproductie in Nederland is ongeveer 1.200 miljoen m<sup>3</sup> per jaar. Ongeveer twee derde daarvan is afkomstig van grondwater, de rest, een derde, wordt bereid uit oppervlaktewater. Grondwater is in de meeste gevallen anaëroob en bevat opgelost ijzer, mangaan en ammonium. Daarnaast is koolzuur en vaak methaan en waterstofsulfide in het water aanwezig. Ook organische microverontreinigingen komen in grondwater voor; meestal gaat het dan om één of enkele specifieke stoffen. Grondwaterzuivering is meestal betrekkelijk eenvoudig. De basis voor de grondwaterzuivering is een beluchting en een snelle zandfiltratie. In de beluchting worden vluchtige componenten, zoals methaan en waterstofsulfide, verwijderd en worden ijzer en mangaan geoxideerd. De oxidatie verloopt verder in het snelfilter waar ook de oxides die daarbij neerslaan worden verwijderd. Bij hoge ijzer- en mangaanconcentraties wordt meestal een dubbele beluchting en filtratie toegepast. Aanvullende zuivering met actieve kool is nodig als organische microverontreinigingen aanwezig zijn. Daarnaast wordt het water vaak onthard met een pelletontharding (Hofman et al., 2007). Oppervlaktewater daarentegen bevat een groot scala aan verontreinigingen in diverse categorieën: zwevende stof, pathogene micro-organismen, organische stof, zware metalen en organische microverontreinigingen. Om uit oppervlaktewater drinkwater te maken is een grote zuiveringsinspanning met meerdere stappen nodig. Zwevende stof en een deel van de organische stoffen worden verwijderd door coagulatie met ijzerzouten en filtratie. De zwevende deeltjes worden gedestabiliseerd door de ijzerzouten en vormen grote vlokken, die verwijderd worden door bezinking en filtratie. Het water wordt gedesinfecteerd door toepassing van ozon of met UV-licht en organische microverontreinigingen worden verwijderd door toepassing van oxidatieprocessen en/of adsorptie aan actieve kool. De verwachting is dat in de toekomst meer en meer geavanceerde processen, zoals membraanfiltratie en oxidatie met UV en waterstofperoxide, een steeds grotere rol zullen gaan spelen. Daarnaast wordt veel onderzoek gedaan naar ontwikkeling van nieuwe technologieën.

Toepassing van nanodeeltjes is vanwege een aantal redenen interessant. Nanotechnologie maakt een nauwkeurige beheersing van de chemie van de oppervlakken van de deeltjes mogelijk. Bij nanodeeltjes van 3 nm ligt ongeveer 50 % van de atomen aan het oppervlak. Ook hebben nanodeeltjes een zeer hoog specifiek oppervlak: 1 gram 'single walled carbon nanotubes' heeft bijvoorbeeld een oppervlak van 10 m<sup>2</sup>. Een tweede belangrijke eigenschap is dat quantummechanica bepalend wordt voor de elektronenmobiliteit. Op nanoschaal beginnen de eigenschappen van de individuele atomen merkbaar te worden. Daardoor kunnen elektronen zich alleen in discrete energieniveaus bevinden. Nanomaterialen zullen daarom straling van een specifieke golflengte kunnen absorberen of bij specifieke golflengtes fluoresceren (Quantum dots). Deze eigenschap maakt nanodeeltjes geschikt om toe te passen in de sensortechnologie.

De wetenschappelijke literatuur in peer-reviewed tijdschriften blijkt zeer uitgebreid te zijn. De overgrote meerderheid is echter nog zeer fundamenteel van karakter – echte praktijktoepassingen zijn maar zeer sporadisch te vinden. Wel wordt regelmatig melding gemaakt van ontwikkeling naar commerciële producten. Een doorbraak van het gebruik van nanotechnologie is binnen enkele jaren te verwachten.

Savage en Diallo (2005) zien in de toepassing van nanotechnologie ongeëvenaarde mogelijkheden om goedkopere en milieuvriendelijkere zuiveringsprocessen te ontwikkelen. In hun artikel geven zij een overzicht van de mogelijkheden die ze zien voor de verwijdering van zware metalen, radionucliden, organische en anorganische stoffen, en bacteriën en virussen. Zij vinden de ontwikkelingen voor nieuwe ontzoutingstechnologieën de meest belangrijke.

Ook Bottero et al. (2005) beschrijven toepassing van nanodeeltjes als belangrijke hulpmiddelen voor het creëren van duurzame technologie voor waterbehandeling. Ze beschrijven de toepassing van nanodeeltjes voor de bereiding van membranen met een veel hogere selectiviteit. Ook geven ze een overzicht van de inzet van nanodeeltjes bij oxidatie-, reductie en desinfectieprocessen. Daarnaast vragen Bottero et al. (2005) zich af welke milieuconsequenties het gebruik en de productie van nanodeeltjes met zich meebrengen. Zij geven aan dat de overmatige aandacht voor gezondheidskundige en milieueffecten de discussie over de vaak exotische productiemethodes overschaduwet. Ze geven daarbij wel aan dat er een trend wordt waargenomen dat de productiemethodes steeds 'groener' worden (Robichaud et al., 2005).

De toepassing van nanodeeltjes bij de behandeling van drink-, industrie-, en afvalwater kan worden ingedeeld in een aantal categorieën. Onderscheid kan gemaakt worden op basis van de eigenschappen en toepassing: nanodeeltjes als adsorbens, nanodeeltjes als katalysator of met redox reactiviteit, nanostructured en reactieve membranen en ten slotte microbiologisch actieve nanodeeltjes. In de volgende paragrafen zal een overzicht gegeven worden van deze toepassingen op basis van gepubliceerde wetenschappelijke literatuur.

## 6.2 Toepassingen van nanodeeltjes bij de behandeling van drink-, industrie- en afvalwater

De toepassingen die in deze paragraaf worden behandeld richten zich primair op de behandeling van drinkwater. Daarnaast wordt in enkele gevallen ingegaan op de behandeling van industriële afvalstromen. Het gaat daarbij om bijzondere afvalstromen die relatief schoon zijn en een zeer specifieke component bevatten, bijvoorbeeld water met edelmetalen voor de bereiding van katalysatoren.

### 6.2.1 Membraanprocessen

Bij toepassing van nanodeeltjes bij membraanfiltratie onderscheiden we een viertal mogelijkheden.



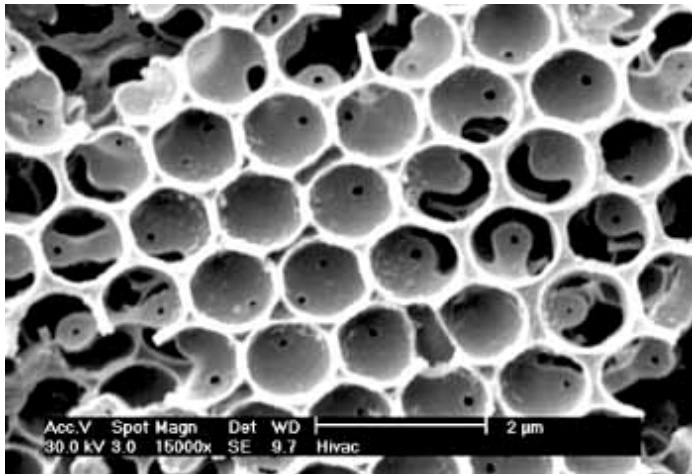
### a) Keramische membranen

Keramische membranen bieden voor de drinkwaterproductie aantrekkelijke perspectieven. De membranen zijn zeer duurzaam en hebben een hoge productiviteit. Ook kunnen rigoureuze reinigingsprocedures worden gevolgd, die bij conventionele polymere membranen vaak tot schade aan het membraan leiden (Bichii, 2007).

Bottero et al. (2005) beschrijven onder andere de toepassing van nanodeeltjes voor de bereiding van een geheel nieuwe generatie keramische membranen gebaseerd op alumoxanen en ferroxanen. Door gebruik te maken van nanodeeltjes is het mogelijk om een zeer goed gedefinieerde oppervlakte- en poriestructuur te maken. Een brede range aan membranen van micro- tot nanofiltratie kan zo worden gemaakt. Het voordeel van deze methode is dat voor de productie geen exotische syntheseroutes nodig zijn. De nanodeeltjes worden gemaakt uit 'normale' bulkchemicaliën. Op deze wijze is een uitermate goede beheersing van de poriegrootteverdeling mogelijk en ontstaat een membraan met zeer selectief scheidend vermogen.

### b) Nanocasting

Ook kunnen nanomaterialen worden gebruikt als 'gietmallen' op nanoschaal voor polymere membranen. Hierdoor kunnen membranen met een zeer regelmatige, open en uniforme poriestructuur worden gemaakt. Deze productiestrategie levert membranen op met zeer hoge selectiviteit.



Figuur 6.1. Nanocasted membraan (Bron: Wiesner et al., 2003.)

### c) Hybride organische/anorganische membranen

Kwak et al. (2001) rapporteren over de ontwikkeling van reverse osmose (RO) membranen met bactericide anti-fouling eigenschappen. Daarvoor maken ze gebruik van een polyamide membraan, waar ze de positief geladen  $\text{TiO}_2$ -nanodeeltjes aan laten adsorberen. Het idee is dat de fotokatalytische activiteit van de  $\text{TiO}_2$  in staat is om bacteriën en andere micro-organismen te doden, waardoor biofouling van de membranen kan worden voorkomen. De effectiviteit van het  $\text{TiO}_2$  is getest met *E. Coli* bacteriën met en zonder toepassing van UV-licht. Onder toepassing van UV-licht bleek een volledige inactivatie te hebben plaatsgevonden. In een later paper (Kim et al., 2003) wordt de reductie van de membraanvervuiling bevestigd.

Ook Bae en Tak (2005) maken melding van de toepassing van  $\text{TiO}_2$ -nanodeeltjes om vervuiling van membranen in bioreactorsystemen (MBR) tegen te gaan. Zij hebben twee systemen onderzocht: 'entrapped' en 'deposited'  $\text{TiO}_2$  op ultrafiltratiemembranen (beide zonder toepassing van UV-licht). Ook zij komen tot de conclusie dat  $\text{TiO}_2$  de vervuiling van de membranen duidelijk vermindert.

Yang et al. (2007) hebben  $\text{TiO}_2$  gebruikt om polysulfon ultrafiltratie membranen meer hydrofiel te maken. Door het mengen van  $\text{TiO}_2$ -nanodeeltjes en natrium laurylsulfaat door de polysulfonoplossing konden UF-membranen met verschillende  $\text{TiO}_2$  gehalten worden gemaakt. De verwachting van de auteurs is dat daardoor het membraan minder gevoelig zal zijn voor vervuiling. Ook de treksterkte van het membraan nam toe.

De ontwikkeling van anti-fouling membranen op basis van nanodeeltjes wordt onder andere door de Amerikaanse National Science Foundation gestimuleerd. Directe aanleiding daartoe was de noodzaak voor nooddrinkwatervoorziening in de getroffen gebieden van de orkaan Katrina (Snyder, 2005).

Hoek en medewerkers hebben een nieuw RO-membraan ontwikkeld voor ontzoutingstoepassingen (Abraham, 2006). Doordat de nanodeeltjes en het polymeer op een unieke wijze gecrosslinked zijn, ontstaat een nanostructuur van moleculaire tunnels, die watermoleculen makkelijker laten passeren dan opgeloste componenten. Daardoor heeft het membraan een hoge retentie voor opgeloste stoffen en raakt het minder snel vervuild, terwijl het energieverbruik met 50 % kan dalen. Hoek verwacht dat de membranen binnen een jaar of twee commercieel op de markt worden geïntroduceerd.

#### **d) Bewaking van de integriteit**

Door gemakkelijk detecteerbare nanodeeltjes te doseren aan te desinfecteren waterstromen kan eenvoudig on-line worden gedetecteerd of membraanfiltratiesystemen lekken. Het tijdig opsporen van lekkages en het bewaken van de integriteit van de membranen is dus van groot belang voor deze toepassing.

Gitis et al. (2006a, 2006b) hebben een methode ontwikkeld op basis van gouddeeltjes en fluorescerend gelabelde MS2 bacteriofagen voor het vaststellen en bewaken van de integriteit van de membranen. Hun methode blijkt een zeer goede en gevoelige methode voor het bewaken van de integriteit die voldoet aan alle stringente drinkwaterregelgeving.

Conventionele directe integriteitstesten hebben veelal als nadeel dat ze niet on-line kunnen worden toegepast of niet in staat zijn lekkages in de membranen kleiner dan 2–3 µm vast te stellen. Indirecte testen (particle counting, surrogate challenge tests) zijn handig voor het monitoren van een installatie, maar de vertaling naar de daadwerkelijke verwijdering van pathogene micro-organismen is lastig.

### **6.2.2 Adsorptie**

Een veelbelovende toepassing van nanodeeltjes in de waterzuivering is de inzet als adsorbens. Met name hun hoge specifieke oppervlak biedt grote voordelen. Bovendien zijn de oppervlakte-eigenschappen van de nanodeeltjes zodanig dat ze een zeer selectief adsorptiemedium vormen, dat wil zeggen dat alleen de aanwezige verontreinigingen adsorberen en andere stoffen niet.

In de literatuur wordt veel gerapporteerd over verwijdering van zware metalen door adsorptie. Vaak wordt ook gebruikgemaakt van magnetische eigenschappen van deeltjes om de twee fasen weer te scheiden na het adsorptieve proces.

Over de adsorptie van organische stof en organische microverontreinigingen op nanodeeltjes is geen literatuur gevonden. Toch mag verwacht worden dat de nanodeeltjes op dit vlak ook effectief kunnen worden ingezet. Het is aan te bevelen om verder onderzoek naar de toepassing van nanoadsorbentia voor de verwijdering van NOM en organische microverontreinigingen verder te onderzoeken.

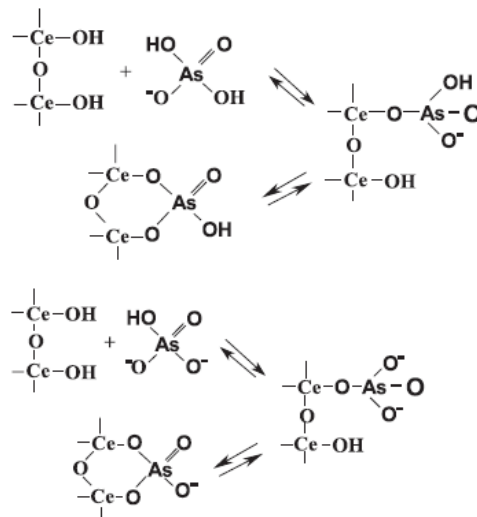
#### Arseen

Veel aandacht is er voor de verwijdering van arseen uit water. Het gaat daarbij om de adsorptie van arseniet (As(III)) en arsenaat (As(V)). Arseen in lage concentraties vormt een noodzakelijk sporenelement, maar bij langdurige blootstelling aan hoge concentraties is arseen carcinogeen. Arseenverontreinigingen in grondwater komen veelvuldig voor op de wereld, maar het bekendst zijn de extreme arseenconcentraties in Bangladesh.

DeMarco et al. (2003) hebben een hybride ionenwisselaar (HIX) ontwikkeld op basis van sferische macroporeuze ionenwisselaars, waarin agglomeraten van gehydrateerde ijzeroxide deeltjes (HFO) zijn verankerd. De HFO-deeltjes hebben een sterke adsorptieve affiniteit voor oxyzuren en oxyanionen van arseniet (As(III)) en arsenaat (As(V)) via liganduitwisseling rondom de ijzeratomen. Het voordeel om de HFO-deeltjes te immobiliseren in een macroporeuze ionenwisselaar is dat er gebruik kan worden gemaakt van een gepakte kolom.

Peng et al. (2005) rapporteren over de ontwikkeling van een adsorbens voor de verwijdering van As(V). Het adsorbens bestaat uit carbon nanotubes, gemodificeerd met cerium (CNT-CeO<sub>2</sub>). Het grote voordeel van het toepassen van CNT als drager is het grote specifieke oppervlak (189 m<sup>2</sup>/g). Dit materiaal blijkt een hoge adsorptiecapaciteit te bezitten voor As(V) (10 – 20 mg/g). Adsorptie van As(V) aan het cerium vindt plaats zoals aangegeven in

Figuur 6.2.



Figuur 6.2. Mechanisme van arsenaat adsorptie aan ceriumoxide (Peng et al., 2005)

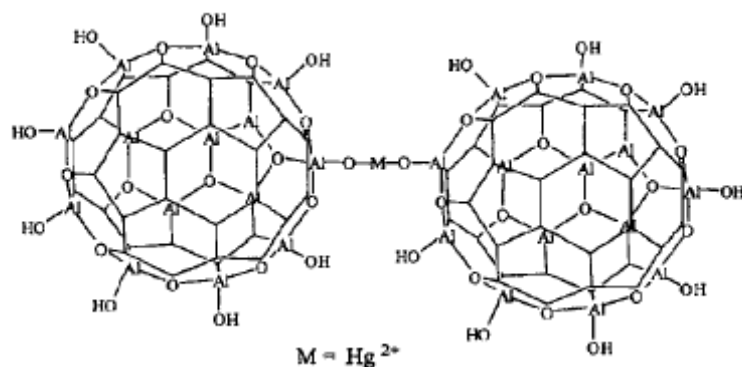
Ook Yean et al. (2005) rapporteren over de verwijdering van As(III) en As(V). Hun onderzoek was gericht op magnetiet nanodeeltjes en de invloed van de deeltjesgrootte op het adsorptie- en desorptiegedrag. Uit hun onderzoek blijkt dat kleine deeltjes die volledig in water gedispergeerd zijn, tot tweehonderd maal meer adsorptiecapaciteit vertonen dan grote deeltjes. Ook blijkt dat bij kleine deeltjes het arseen veel moeilijker desorbeert, waardoor een significant voordeel ontstaat bij het storten van deze deeltjes. De kans is veel kleiner dat het arseen weer vrij komt. Ten slotte lijken de magnetiet nanodeeltjes magnetische eigenschappen te bezitten, waardoor ze vrij eenvoudig kunnen worden afgescheiden met lage veldsterkten. Wei en Viadero (2007) hebben een veelbelovende synthesroute onderzocht voor de productie van magnetiet nanodeeltjes uit ijzerhoudend drainagewater uit de mijnbouw. Op basis van hun onderzoek geven zij aan dat het mijnwater een goede grondstof is voor een goedkope productie van magnetiet nanodeeltjes.

#### Chroom, kwik en cadmium

De verwijdering van hexavalent chroom (Cr(VI)) is onderzocht door Hu et al. (2005a, 2005b, 2005c). Toepassing van op ijzer gebaseerde nanodeeltjes (10 nm) bleek bijzonder effectief voor de verwijdering van Cr(VI). Bij magnetiet ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) bleek het chroom gechemosorbeerd te worden, waardoor regeneratie onmogelijk werd. Maghemiet ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) en oppervlaktegemodificeerd Jacobsiet ( $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ ) bleken eveneens goede en snelle adsorbentia te zijn. Deze laatste twee materialen zijn wel effectief te regenereren. Aanwezigheid van andere ionen beïnvloedt de adsorptiecapaciteit van deze ijzeroxides niet significant; adsorptie is zeer selectief. De gebruikte deeltjes zijn magnetisch, waardoor ze na gebruik eenvoudig te scheiden zijn van het water. Door de grote selectiviteit, de snelle adsorptie en de eenvoudige magnetische scheiding is een veel goedkoper en milieuvriendelijker alternatief beschikbaar voor behandeling van chroomhoudend afvalwater. Dit vergeleken met de conventionele reductie- en precipitatie methode.

Pacheco et al. (2006a) hebben de inzet van aluminanodeeltjes voor de verwijdering van anorganisch kwik onderzocht. Het blijkt dat deze aluminadeeltjes de kwikionen goed kunnen binden. Hierdoor ontstaat een brugvorming tussen de aluminadeeltjes, waardoor deze grotere vlokken vormen (Figuur 6.3). Als de vlokken groot genoeg zijn, zullen ze uiteindelijk bezinken en kunnen ze worden afgescheiden van het verontreinigde water. Op deze wijze is het mogelijk om de kwikconcentratie in water in één stap terug te brengen van 100 ppm naar minder dan 1 ppb (EU-norm).

In een ander onderzoek hebben Pacheco et al. (2006b) de verwijdering van cadmium met behulp van gestructureerde alumumina-silicanodeeltjes onderzocht in een vergelijkbaar precipitatieproces. Met name de Si-core Al-shell deeltjes waren effectief voor de verwijdering van cadmium. Concentraties konden van 125 ppm worden teruggebracht tot minder dan 5 ppb.



*Figuur 6.3 Schematische weergave van de mogelijke brugvorming bij flocculatie van alumina sol met kwik (Pacheco et al., 2006a)*

### Palladium, rhodium, platina

Palladium(II), rhodium (III) en platina(IV) zijn veel voorkomende katalysatoren. Bij het productieproces van deze katalysatoren ontstaan afvalwaterstromen waarin deze edelmetalen zijn opgelost. Behandeling van dit afvalwater is noodzakelijk. Uheida et al. (2006) hebben aangetoond dat magnetiet ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) nanodeeltjes goede adsorptieve eigenschappen hebben om deze metalen te adsorberen uit verdunde zoutzuuroplossingen. Na adsorptie kunnen de deeltjes weer in een magnetisch veld gescheiden worden. Door gebruik te maken van verschillende elutie-oplossingen kunnen de drie metalen gescheiden worden teruggewonnen. Toepassing van het proces maakt hergebruik van deze metalen mogelijk en voorkomt emissie naar het milieu.

### **6.2.3 (Foto)katalyse en redox reactiviteit**

Een derde belangrijke toepassing van nanodeeltjes bij de behandeling van water is de inzet als reactief deeltje. We maken daarbij onderscheid tussen deeltjes die reducerende reactiviteit vertonen en de deeltjes die ingezet worden in fotokatalytische oxidatieprocessen. Van beide processen worden hieronder enkele voorbeelden genoemd.

#### (Bi)metallische ijzerdeeltjes

Metallische ijzerdeeltjes en bimetallische deeltjes van ijzer en een edelmetaal ( $\text{Fe}^0/\text{Pt}$ ,  $\text{Fe}^0/\text{Pd}$  etc.) blijken goede reductiemiddelen. Het zijn goede elektronendonoren, omdat de aanwezigheid van een edelmetaal zoals palladium op de deeltjes de oxidatie van het ijzer bevordert. Laboratoriumonderzoek met deze metallische nanodeeltjes heeft aangetoond dat ze zeer geschikt zijn om allerlei gechloreerde koolwaterstoffen te reduceren (Wang en Zhang, 1997; Zhang et al., 1998; Lien en Zhang, 1999). Door hun grote specifieke oppervlak zijn deze deeltjes zeer reactief.

Elliot en Zhang (2001) rapporteren over een praktijkproef met  $\text{Fe}^0/\text{Pd}$  deeltjes voor de in-situ omzetting van trichlooretheen (TCE). Ongeveer 17 kg van de nanodeeltjes zijn in een met TCE vervuild grondwaterpakket ingebracht. Op basis van de resultaten concluderen de auteurs dat de nanodeeltjes zeer geschikt zijn voor behandeling van lokale verontreinigingen, maar dat verder onderzoek nodig is voor optimalisering van de methodiek.

Een andere toepassing van reductieve nanodeeltjes is de verwijdering van lindaan ( $\gamma$ -hexachloorcyclohexaan,  $\gamma$ -HCH). Paknikar et al. (2005) maken gebruik van  $\text{FeS}$ -deeltjes die gestabiliseerd zijn met een biopolymeer afkomstig van schimmels. Na de ontchloring van lindaan door de nanodeeltjes, werden de resulterende afbraakproducten (metaboliëten) en het biopolymeer biologisch afgebroken. De gebruikte  $\text{FeS}$ -nanodeeltjes agglomereren tot vlokken en worden verwijderd door filtratie. In dit proces konden de  $\text{FeS}$ -nanodeeltjes agglomereren en worden verwijderd door filtratie. Op deze wijze kan worden voorkomen dat de nanodeeltjes in het drinkwater terecht komen. Het proces is in staat om lindaanconcentraties van 5 mg/l in ongeveer 9 uur af te breken.

Ook de verwijdering en reductie van zware metalen kan worden gerealiseerd met een fotokatalytische reductie met  $\text{TiO}_2$  (Skubal et al., 2002). Door adsorptie van  $\text{Cd}^{2+}$  aan een met 2-mercaptopropionzuur (thiomelkzuur) gemodificeerd anataas deeltjes (40-60 Å) en belichting met UV-licht (253,7 nm) kon onder anaërobe en anoxische omstandigheden ongeveer 90 % cadmium worden verwijderd als metallisch cadmium ( $\text{Cd}^0$ ). Zonder toepassing van UV-licht, bleek ongeveer 20 % van het cadmium te adsorberen aan het gemodificeerde  $\text{TiO}_2$ . De auteurs vermelden echter niet of het Cd ook teruggewonnen kan worden.

#### Fotokatalytische oxidatie met UV en $\text{TiO}_2$

Selvam et al. (2007) rapporteren over de omzetting van een chloortriazine azo kleurstof door toepassing van fotokatalytische omzetting met een combinatie van ijzeroxalaat en  $\text{TiO}_2$ -nanodeeltjes. Door additie van ijzeroxalaat en  $\text{TiO}_2$  kon de ontkleuring worden verhoogd tot 93 % en de afbraak tot 60 %. Op basis van hun onderzoek geven ze aan dat de methode snel ingezet kan worden in de praktijk voor de behandeling van afvalwater met kleurstoffen.

In een aantal gevallen wordt een combinatie gemeld van  $\text{TiO}_2$  met zichtbaar licht of zonlicht. Li et al. (2007) gaan in op de omzetting van kleurstoffen in afvalwater met 1-dimensionale  $\text{TiO}_2$ -nanodeeltjes ('nanorods') en P25-nanodeeltjes. De nanorods hebben een hoge fotokatalytische activiteit en zijn na de reactie eenvoudiger te verwijderen uit de suspensie. Liu et al. (2006) gebruiken een stikstofdotering om de katalytische activiteit in het zichtbare gebied te vergroten. Zij hebben met hun onderzoek aangetoond dat de N- $\text{TiO}_2$  goed in staat is om zowel *E. Coli* goed te inactiveren als ook een forse mineralisatie van een organische kleurstof te bewerkstelligen onder invloed van zonlicht.

Ook Bae en Choi (2003) hebben een  $\text{TiO}_2$ -katalysator ontwikkeld die actief is bij instraling van zichtbaar licht. Zij maken daarbij gebruik van kleurstoffen en edelmetalen om de activiteit in het zichtbare golflengtebereik te verhogen. De katalysator is getest op de afbraak van trichloorazijnzuur en tetrachloormethaan. De aanwezigheid van zuurstof in het water blijkt een belangrijke remmende werking op het proces te hebben. Onder zuurstofloze omstandigheden is een goede afbraak van de twee stoffen mogelijk.

### **6.2.4 Analyse en sensoren**

Nanotechnologie en nanodeeltjes vormen een belangrijk element in de ontwikkeling van nieuwe sensoren. Deze kunnen worden toegepast bij de productie van drinkwater en bewaking van de kwaliteit van het product. Met name de 1-dimensionale deeltjes – de kleinste structuren voor efficiënt elektronentransport – zijn bijzonder geschikt om deze sensoren te bouwen (Wanekaya et al., 2006). Voorbeelden van 1-dimensionale nanodeeltjes zijn de carbon nanotubes, de silicium nanotubes en geleidende polymere nanoraden. Door het specifiek functionaliseren van deze nanodeeltjes kunnen sensoren gemaakt worden waarmee biologische structuren zoals proteïnen, nucleïnezuuren en virussen kunnen worden gedetecteerd.

Nanodeeltjes kunnen ook worden ingezet als indicatoren voor kwantitatieve analyse van zware metalen. De kleurstoffen worden in het te analyseren water gemengd waarin ze complexeren met de aanwezige metalen. Hierbij ontstaan precipitaten die kunnen worden gefilterd op een cellulose filter. De kleurintensiteit is een maat voor de concentratie. Takahashi et al. (2006) gebruiken deze methode voor bijvoorbeeld zink en kwik. De detectielimiet bedraagt voor deze metalen respectievelijk 1 en 10 ppb.

## **6.3 Verwijdering van nanodeeltjes in de zuivering**

Verwijdering van deeltjes in de waterzuivering vindt in het algemeen op twee manieren plaats. In de eerste plaats door coagulatie. Deeltjes kunnen worden gedestabiliseerd, waardoor ze agglomereren tot grotere vlokvormige deeltjes. Deze kunnen dan vervolgens uit het water worden verwijderd door bezinking of flotatie. Voor destabilisatie wordt in het algemeen een ijzer(III)- of Al(III)-zout gebruikt. Vaak worden ook polymeren ingezet om de deeltjes te destabiliseren en de gevormde vlokken te versterken.

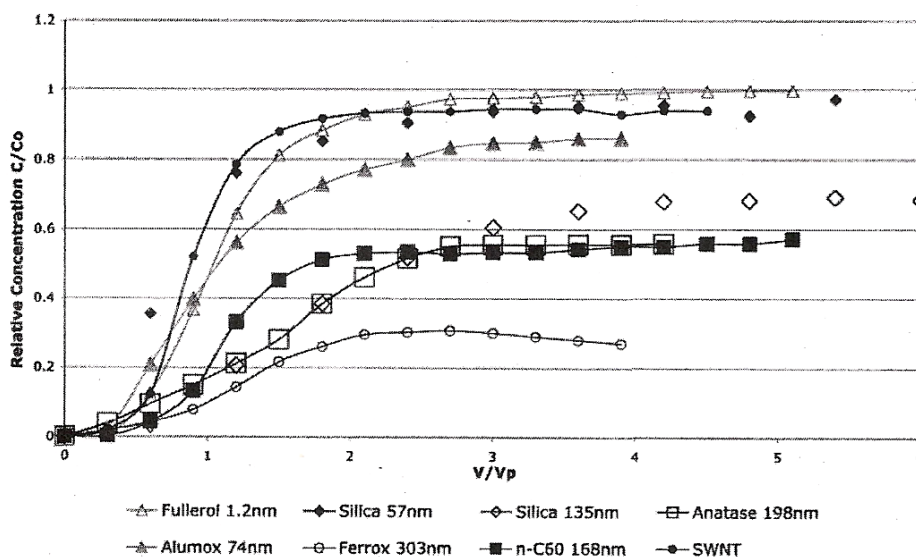
De tweede wijze van deeltjesverwijdering is de filtratietechniek, waarbij onderscheid gemaakt moet worden tussen zandfiltratie en membraanfiltratie.

### Coagulatie

Bij coagulatie worden de deeltjes gedestabiliseerd door dosering van een driewaardig ijzer- of aluminiumzout. Door de toevoeging van deze ionen wordt de elektrostatische repulsie tussen de deeltjes weggenomen. Er blijven alleen aantrekkende krachten over en de deeltjes zullen samenklonteren. Vanwege hun grootte en hun specifieke oppervlakte-eigenschappen zullen nanodeeltjes zich mogelijk anders gedragen tijdens een coagulatieproces. In veel gevallen zullen nanodeeltjes kleiner of in dezelfde grootteorde van de elektrische dubbellaag zijn. Bovendien zal de aanwezige lading klein zijn ten opzichte van grotere (colloïdale) deeltjes. Ook zijn nanodeeltjes klein of in dezelfde grootteorde ten opzichte van polymeren en macromoleculen, zoals humusverbindingen. De verwachting is dat nanodeeltjes snel de omgeving van grotere deeltjes en moleculen opzoeken en niet als vrije deeltjes in het water aanwezig zullen zijn. Coagulatie is naar verwachting daardoor een goede wijze van verwijdering van nanodeeltjes. Momenteel is weinig informatie over dit onderwerp beschikbaar. Wel zijn er publicaties die agglomeratie van nanodeeltjes en adsorptie aan natuurlijk organisch materiaal beschrijven (zie verder hoofdstuk 5).

### Zandfiltratie

Een tweede optie voor de verwijdering van deeltjes is zandfiltratie. Door de kleine afmetingen van de nanodeeltjes zullen de filtratiemechanismen echter geheel anders zijn. De beweging van de deeltjes zal worden gedomineerd door de Brownse-beweging. Daarnaast blijven Londen-Van der Waals-krachten en elektrostatische krachten een rol spelen bij het invangen van deeltjes en zijn ook hydrodynamische effecten van belang. Ook de kans dat nanodeeltjes aan de korrels van het zandbed blijven hangen (botsingsefficiëntie) is moeilijk te voorspellen. Relatief simpele modellen gebaseerd op DLVO-theorie blijken geen goede beschrijving te geven van de botsingsefficiëntie van deeltjes in het filterbed. Ze voorspellen dat het invangen van deeltjes sterk wordt beïnvloed door de deeltjesdiameter en de ionsterkte. Bovendien beschrijven ze interacties over afstanden van nanometers, in dezelfde orde als de deeltjesgrootte.



Figuur 6.4 Doorbraakcurves van nanodeeltjes in zandfilters (Lecoanet et al., 2004)

Lecoanet et al. (2004) hebben de mobiliteit van acht verschillende nanodeeltjes in poreuze media experimenteel vastgesteld. In plaats van een theoretische benadering, gaan zij uit van een empirische benadering van de botsingsefficiëntie. Onder nauwkeurig vastgelegde laboratoriumcondities hebben ze de doorbraakcurves van de deeltjes bepaald in een filtratieopstelling. Het blijkt dat hydrofobe interacties het invangen van deeltjes bevordert. In de categorie fullerenen blijken het gemodificeerde fullerol (gehydroxyleerd C<sub>60</sub>) sneller door te breken dan de hydrofobe single walled carbon nanotubes (SWNT) en geclusterde fullerene deeltjes (n-C<sub>60</sub>). Deze hydrofobiciteit voorkomt ook dat deze deeltjes in water kunnen

dispergeren, waardoor ze een lage mobiliteit in het milieu hebben. Door modificatie zal de mobiliteit echter toenemen. Bij de doorbraakcurves (Figuur 6.4) van anorganische nanodeeltjes, zoals silica, alumoxaan, ferroxaan en anataas, bleek in het onderzoek van Lecoanet et al. dat de mobiliteit in het poreuze materiaal toenam in de tijd door verzadiging (blokkering van actieve adsorptielocaties). Dit betekent dat de mobiliteit van de deeltjes toeneemt inde loop van de tijd.

Lecoanet et al. gebruiken hun resultaten om de indringdiepte in een aquifer te bepalen. Ze berekenen daarbij de afstand die de suspensie moet afleggen om een reductie met een factor 1000 in de concentratie halen. Voor de hydrofiele fulleroldeeltjes blijkt de indringdiepte op te lopen tot 14 m, terwijl onder dezelfde omstandigheden hydrofobe anorganische deeltjes niet verder komen dan 0,1 m.

## 6.4 Conclusies

1. De ontwikkelingen op het gebied van nanotechnologie hebben nog niet geleid tot grootschalige praktijktoepassingen. Uit het overzicht in dit hoofdstuk blijkt echter dat het laatste decennium veel onderzoek is gedaan naar toepassing van nanodeeltjes. Onderzoek heeft wel aangetoond dat nanodeeltjes een grote potentie hebben. Een doorbraak mag binnen een aantal jaren verwacht worden. Een aantal toepassingen springt daarbij in het oog:
  - Ontwikkeling van nieuwe membraanmaterialen waarin nanodeeltjes zijn toegepast. Membraanfiltratie wordt al op relatief grote schaal toegepast in de waterzuivering. Membraanfiltratie kent echter een aantal belangrijke nadelen: vervuiling, hoog energieverbruik en concentraat. Door toepassing van nanodeeltjes kan voor de eerste twee nadelen een belangrijke verbetering worden verwacht. De ontwikkeling van op nanodeeltjes gebaseerde ontzoutingsmembranen tot commercieel product is inmiddels op gang gekomen. De marktintroductie wordt over 1 à 2 jaar verwacht (Abraham, 2006). Inmiddels wordt voorgesteld om toepassing van dit membraan voor zeewaterontzouting te onderzoeken (WDR, 2007).
  - Nanodeeltjes als adsorbens voor zware metalen zijn eveneens veelbelovend. Inzet van magnetische ijzeroxidedeeltjes voor verwijdering van arseen, kan op vele plaatsen op de wereld worden ingezet om problemen met arseen te verminderen. In Nederland is arseen geen groot probleem, maar op wereldschaal zal zeker een doorbraak op dit vlak plaatsvinden.
  - Katalytisch actieve deeltjes, zowel oxidatief als reductief, zijn veelbelovend. Hoewel er veel onderzoek plaatsvindt naar toepassingen van fotochemische oxidatie met UV en  $\text{TiO}_2$ , verwachten wij dat dit proces niet zal worden ingezet voor grootschalige drinkwaterproductie. De efficiëntie van het proces is naar verwachting vrij laag, waardoor erg grote reactoren en veel energie nodig zijn. Voor kleinschalige en meer specifieke toepassing heeft het proces echter wel potentie. Reductieve deeltjes, zoals metallisch ijzer, hebben veel potentie voor de verwijdering van gechloreerde koolwaterstoffen. Deze deeltjes kunnen daardoor mogelijk worden ingezet voor de verwijdering van nevenproducten van chemische desinfectieprocessen, zoals trihalomethanen en bromaat V.
2. Nanodeeltjes in het ruwe water zullen vermoedelijk goed verwijderd worden. De verwachting is dat nanodeeltjes niet stabiel zijn in de bronnen voor drinkwaterproductie. Ze zullen meestal gebonden zijn aan aanwezige organische stof of voorkomen als grotere clusters, die de zuivering niet kunnen passeren. Hierdoor kunnen ze niet in het geproduceerde drinkwater terecht komen.
3. Toepassing van nanodeeltjes in de drinkwaterproductie en afvalwater kan een bron zijn van nanodeeltjes in het geproduceerde drinkwater. Indien de nanodeeltjes geïmmobiliseerd zijn in andere materialen, zoals membranen of ionenwisselaars, is de kans echter gering dat uitloging naar het water plaatsvindt. Bij toepassing van 'vrije' nanodeeltjes, zoals ijzeroxiden als adsorbens, is het wel van belang om een goede afscheiding van de deeltjes te bewerkstelligen. Aandacht hiervoor bij het ontwerp en de ontwikkeling van nieuwe zuiveringsprocessen waarbij nanodeeltjes worden toegepast, is daarom van groot belang.

4.



## 7 Effecten op het aquatische ecosysteem

### 7.1 Inleiding

Dit hoofdstuk behandelt de onderzoeksvraag:

- 6.1 Welke effecten kunnen nanodeeltjes veroorzaken bij aquatische organismen?

Het aanbod van wetenschappelijke artikelen over ecotoxicologisch onderzoek naar de effecten van nanomaterialen op (delen van) ecosystemen begint te groeien. Helaas blijkt de ecotoxicologie van nanodeeltjes nog in de kinderschoenen te staan. Het aantal kwantitatieve gegevens is nog beperkt en in veel literatuurverwijzingen is sprake van crossreferentie in de breedste zin. Klassieke dosis-respons relaties voor effecten van nanomaterialen zijn nog nauwelijks toepasbaar op de gevonden toxiciteitspatronen en het ontbreekt vooralsnog aan duidelijke alternatieven. Zelfs zijn de gemeten dosis-effect relaties niet in alle gevallen gekoppeld aan de aanwezigheid van nanodeeltjes *sec.* Een voorbeeld hiervan zijn studies waarbij de geteste suspensies van nanodeeltjes op verschillende manieren zijn bereid.

Een groot probleem bij de interpretatie van studies naar de effecten van nanodeeltjes is dat de geteste suspensies vaak niet goed gekarakteriseerd zijn. Veelal ontbreekt informatie over essentiële omstandigheden, zoals vorming van stabiele en instabiele aggregaten, interacties van nanodeeltjes met opgelost en particulier organisch materiaal (zowel natuurlijk organisch materiaal als synthetische oppervlakteactieve stoffen), en de invloed van de testorganismen op aggregaatvorming *c.q.* verbreken van aggregaten. Als gevolg daarvan is het dikwijls onduidelijk in welke vorm en concentratie de nanodeeltjes in het geteste medium aanwezig waren. Dit betekent helaas dat er veel onduidelijkheid blijft omtrent de daadwerkelijke blootstelling van organismen en over de wijze waarop nanodeeltjes door organismen worden opgenomen. Het is niet eens duidelijk hoe dit afhangt van de feitelijke interacties van de nanodeeltjes met biologische membranen.

Een beperking is verder het ontbreken van analytisch-chemische technieken voor het karakteriseren van de vorm waarin nanodeeltjes in de testmedia aanwezig zijn.

In dit hoofdstuk wordt een beknopt overzicht gegeven van informatie over de ecotoxiciteit van nanodeeltjes. *A priori* wordt er geen onderscheid gemaakt tussen metaaloxide-nanodeeltjes (voornamelijk ZnO, SiO<sub>2</sub> en TiO<sub>2</sub>) en nanodeeltjes op basis van koolstof (voornamelijk nanobuizen, dendrimeren, fullerenen). Er zijn wel typische verschillen in interacties tussen deze groepen van nanodeeltjes én binnen deze groepen.

### 7.2 Resultaten standaardtoetsen

Er zijn standaardtests beschikbaar voor het vaststellen van effecten van stoffen op delen van ecosystemen. Een aantal van deze testen is gestandaardiseerd en gecertificeerd, bijvoorbeeld de OECD- of ISO-test. Het toepassen van deze internationaal geaccepteerde tests levert een eerste verkenning op van de ecotoxiciteit van nanodeeltjes. Dit is onder andere gedaan door Van Hoecke (2006) en Velzeboer (2006). Het betrof in beide gevallen acute toxiciteitstoetsen. In Tabel 7.1 wordt een overzicht gegeven van de door Velzeboer gebruikte materialen, de uitgevoerde toxiciteitstesten, en de gevonden effectniveaus. De conclusie is dat de geteste materialen in geen van de standaardtests duidelijke effecten te zien gaven bij concentraties aan nanodeeltjes van 100 mg/L. Velzeboer vermeldt dat neerslagvorming in de geteste media veelal met het blote oog kan worden vastgesteld. Vergelijkbare resultaten zijn door Van Hoecke gerapporteerd.

Tabel 7.1. Overzicht effectniveaus van negen nanodeeltjes in vier aquatische toxiciteitstoetsen. PMMA = PolyMethylMethacrylate (getal tussen haakjes geeft de deeltjesgrootte weer), SWCNT = Single Walled Carbon NanoTube

Nanoparticle	Microtox	PAM	Chydotox	Biolog
	EC50 15min, mg/L	EC50 4.5h, mg/L	LC50 48h, mg/L	EC50 7d, mg/L
TiO <sub>2</sub>	> 100	> 100	>100	>100
ZrO <sub>2</sub>	> 100	> 100		
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	> 100	> 100	> 100	
CeO <sub>2</sub>	> 100	> 100	> 100	
Cn (SWCNTs)	> ? *			
C <sub>60</sub>	> 1			
PMMA (0.06)	> 100	> 100	> 100	
PMMA (0.41)	> 100	> 100	> 100	
PMMA (1.08)	> 100	> 100	> 100	

De ervaringen van Velzeboer en Van Hoecke worden door vele onderzoekers gedeeld. Dat blijkt uit informele gesprekken tijdens wetenschappelijke ontmoetingen (personal communications). Slechts zelden (Klaine, 2007) worden hierover openbare meldingen gemaakt.

### 7.3 Resultaten overige toetsen

Testen met colloïdale fullerenen (C<sub>60</sub>) geven een 48-hr EC50 aan van 0,8 mg/L voor *Daphnia magna* (Oberdörster, 2004a). In de forelbaars (*Micropterus salmoides*) werd na blootstelling aan 0,5 mg/L nC60 gedurende 48 uur geen sterfte waargenomen. Wel werd er lipide peroxidatie in de hersenen vastgesteld en een uitputting van de glutathionvoorraad in de kieuwen (Oberdörster, 2004b). Fullerenen bleken ook toxisch te zijn voor bacteriën en worden nu getoetst aan het potentieel gebruik ervan als antimicrobieel agens (Yamakoshi et al., 2003).

Het gebruik van C<sub>60</sub> als antimicrobieel agens wordt ook vermeld door Lyon et al. (2005). Om de milieu-impact van fullerenen na te gaan werd een C<sub>60</sub>-suspensie bereid (nano-C<sub>60</sub>) en getest op toxische effecten op de bacteriën *Escherichia coli* en *Bacillus subtilis*. De gebruikte C<sub>60</sub>-moleculen kwamen voor als aggregaten in een stabiele suspensie, aangeduid met nano-C<sub>60</sub>, in een mengsel van water en tetrahydrofuran, waarbij verschillende diameters werden waargenomen naargelang het gebruikte groeimedum. Voor de nano-C<sub>60</sub>-suspensie werd een Microtox (*Vibrio fischeri*) EC50-waarde van 1 mg/L gevonden. Het resultaat moet echter met enig voorbehoud geïnterpreteerd worden, aangezien de deeltjes zich in een geaggregeerde toestand bevonden. Hierdoor is een grote fractie van de massa aan C<sub>60</sub> volgens de auteurs niet beschikbaar voor interactie met de cellen.

Ter vergelijking: de EC50-waarden van paraquat en benzeen bedragen respectievelijk 603 en 2 mg/L. Voor *E. coli* en *B. subtilis* werden minimal inhibitory concentrations (MIC) tussen 0,5 en 3 mg/L gevonden.

Minimal bactericidal concentrations (MBC) lagen tussen 1,5 en 4 mg/L. Belangrijke factoren die de toxiciteit beïnvloedden, waren de zout- en de eiwitconcentraties van het groeimedum. Een hogere zout- en/of eiwitconcentratie leidde tot meer aggregatie van de C<sub>60</sub>-deeltjes en tevens tot een daling van de toxiciteit. De auteurs speculeren dat dit te wijten is aan een verlies van biobeschikbaarheid. Verder toonde het onderzoek aan dat er een zekere mate van associatie optrad tussen bacteriën en de nano-C<sub>60</sub> deeltjes. Aan de hand van deze resultaten werd gepostuleerd dat nano-C<sub>60</sub>-deeltjes zich in het milieu snel zullen hechten aan targetcellen en bovendien op kleine ruimtelijke schaal werkzaam zullen zijn. Opvallend is ook de waarneming dat na derivatiseren van nano-C<sub>60</sub> naar C<sub>60</sub>(OH)<sub>22-26</sub>, de deeltjes wateroplosbaar worden en geen toxisch effect meer veroorzaken. Hydroxylering van nano-C<sub>60</sub>-deeltjes wijst op een mogelijk detoxificatiemechanisme.

Lovern en Klaper (2006) hebben de toxiciteit van fullereen en TiO<sub>2</sub>-nanodeeltjes voor *Daphnia magna* onderzocht. Opmerkelijk in dit onderzoek is de bereiding van de suspensie van nanodeeltjes. Die werd uitgevoerd op twee verschillende manieren, namelijk:

1. **filtratie.** Hierbij werd C<sub>60</sub> in tetrahydrofuran gebracht, een nacht lang geroerd en vervolgens gefiltreerd over een 0,22 µm filter. Daarna werd het tetrahydrofuran verwijderd. Dit werd toegepast voor de fullerenen. De suspensies van TiO<sub>2</sub>-nanodeeltjes werden bereid zonder gebruik te maken van tetrahydrofuran.
2. **soniceren.** Te testen nanopreparaten werden overgebracht naar gedeïoniseerd water, waarna de suspensie getrild werd in een trilbad.

De gefiltreerde C<sub>60</sub>-nanodeeltjes bleken 10 tot 20 nm groot, de gesoniceerde C<sub>60</sub>-deeltjes waren 20 tot 100 nm. Gefiltreerde TiO<sub>2</sub>-nanodeeltjes hadden een gemiddelde diameter van 30 nm, terwijl de aggregaten in de gesoniceerde TiO<sub>2</sub>-suspensies 100 tot 500 nm groot waren. De watervlo *Daphnia magna* werd blootgesteld aan verschillende concentraties van de vier nanodeeltjes-suspensies in 48-uurs acute toxiciteitstesten. Deze werden uitgevoerd volgens protocollen van de US EPA. De resultaten van de testen zijn weergegeven in Tabel 7.2.

Tabel 7.2 Toxicologische parameters voor *Daphnia magna* blootgesteld aan fullerenen en TiO<sub>2</sub> nanodeeltjes (Lovern en Klaper, 2006; Oberdörster, 2004a). De nanodeeltjes werden op twee verschillende manieren bereid. N.v.t. = niet van toepassing.

	Diameter (nm)	LC <sub>50</sub> (mg/L)	100% mortaliteit	LOEC (mg/L)	NOEC (mg/L)
TiO <sub>2</sub> (gesoniceerd)	100-500	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
TiO <sub>2</sub> (gefiltreerd)	30	5,5	10	2	1
Fullerenen (gesoniceerd)	20-100	7,9	n.v.t.	0,5	0,2
Fullerenen (gefiltreerd)	10-20	0,46	0,88	0,26	0,18

Hieruit blijkt dat de door Lovern en Klaper bepaalde LC<sub>50</sub>-waarde voor fullerenen niet overeenkomt met de EC<sub>50</sub>-waarde van 0,8 mg/L gevonden door Oberdörster (2004a). Dit is mogelijk te wijten aan een verschillende partikeldiameter en/of bereidingsmethode. Opvallend is bovendien het feit dat voor gesoniceerde TiO<sub>2</sub>-nanodeeltjes zowel voor de hoogste als voor de laagste concentratie 9 procent mortaliteit werd verkregen. Door het ongewone verloop van de effectcurve konden geen LC<sub>50</sub>, NOEC en LOEC bepaald worden. De onderzoekers verbinden drie belangrijke conclusies aan deze resultaten:

1. De C<sub>60</sub>-deeltjes waren toxischer dan TiO<sub>2</sub>-deeltjes. Dit is in overeenstemming met de hypothese dat kleinere deeltjes schadelijker zijn dan grotere. Hierbij moet echter opgemerkt worden dat het om twee verschillende stoffen gaat en dat het verschil in toxiciteit ook veroorzaakt kan worden door een intrinsiek verschil in reactiviteit.
2. De bereidingswijze van de nanodeeltjes had invloed op de toxiciteit. De gesoniceerde suspensies vertoonden een veel grotere mate van aggregatie dan de gefiltreerde suspensies. Aan de aggregaten werd een lagere reactiviteit toegeschreven dan aan individuele nanodeeltjes. Deze conclusie is in lijn met de conclusie van Lyon et al. (2005). De auteurs stelden een lagere bacteriële toxiciteit vast bij grotere nano-C<sub>60</sub>-aggregaten en zij weten dit aan het minder beschikbaar zijn van de geaggregeerde partikels.
3. Standaard toxiciteitstesten zoals voorgeschreven door bijvoorbeeld de US EPA, kunnen als protocol gebruikt worden voor het onderzoek naar de toxiciteit van nanodeeltjes. Hierbij moet vermeld dat deze conclusie niet unaniem gedeeld wordt door andere wetenschappers.

Een belangrijk mechanisme van door nanodeeltjes veroorzaakte toxiciteit is de zogenaamde oxidatieve stress. Dat is het resultaat van de vorming van reactieve oxidatoren, zoals (hydroxyl)radicalen. In een studie van Yang en Watts (2005) werden vijf plantensoorten blootgesteld aan een suspensie van de nanodeeltjes in water. Hierbij werd de wortelgroei geregistreerd. Het bleek dat toevoeging van DMSO (een stof die radicalen wegvangt) de fytotoxiciteit van alumina nanodeeltjes kan remmen. Ook het bedekken van de deeltjes met fenantreen verminderde de toxiciteit van de deeltjes. Dit effect wordt door de auteurs toegeschreven aan het afdekken van vrije hydroxylgroepen. De opzet van de experimenten was dusdanig dat geen dosis-effect relatie kon worden afgeleid uit de verkregen gegevens over de wortelgroei. Niet uit te

sluiten is ook dat er een heel andere verklaring is voor de waargenomen effecten: de nanodeeltjes zouden nutriënten aan hun oppervlak kunnen binden. Dat zou de reden kunnen zijn van de waargenomen remming van wortelgroei. Het bedekken van de nanodeeltjes met fenantreen zou die adsorptie van nutriënten en het negatieve effect ervan op de wortelgroei kunnen tegenwerken. De eindconclusie van de auteurs moet worden ondersteund dat er meer werk nodig is om het werkingsmechanisme op te helderen en de invloed van oppervlaktekarakteristieken op wortelgroei vast te stellen.

Resultaten van vissenstudies zijn nog slechts beperkt gerapporteerd. In een recente studie van Smith et al. (2007) zijn de effecten onderzocht van single-walled carbon nanotubes (SWCNT) op de regenboogforel. Ze gebruikten gesoniceerde suspensies die gestabiliseerd werden door natriumlaurylsulfaat. Smith et al. vonden:

- dosis-gerelateerde toename van de ademhaling via de kieuwen;
- pathologische effecten;
- versterkte slijmproductie van de kieuwen die gepaard ging met precipitatie van SWCNT-deeltjes op het slijm van de kieuwen;
- afwezigheid van hematologische effecten en veranderingen in de bloedsamenstelling (zoals het aantal rode en witte bloedlichaampjes, en veranderingen in K/Na-gehaltenes);
- afwezigheid van effect op de gehalten aan spoorelementen in het vissenweefsel. Wél was er enige dosis-gerelateerde verandering in gehalten aan Zn en Cu in hersen- en kieuwweefsels zichtbaar. Maar deze kunnen mogelijk worden toegeschreven aan de toevoeging van natriumlaurylsulfaat;
- veranderingen in enkele biochemische parameters, zoals hete glutathion en het gehalte aan thiobarbituurzuur-actieve stoffen in de kieuwen en lever.

De auteurs concluderen dat SWCNT's voornamelijk de ademhaling beïnvloeden, terwijl de vissen in staat zijn om goed om te gaan met de oxidatieve stress en effecten op de regulatie van de osmose die mogelijk door de nanodeeltjes wordt veroorzaakt. Maar er zijn daarnaast toch zorgen over effecten op de celpathologie en nog niet geïdentificeerde bloedgerelateerde factoren die tot sterfte kunnen leiden. Alhoewel de resultaten van deze studie kunnen duiden op de noodzaak van deeltjes- en organisme-specifieke effecten van nanodeeltjes, is het duidelijk dat nog onvoldoende studies met hogere organismen zijn uitgevoerd om eenduidige conclusies hieromtrent te kunnen trekken.

De wenselijkheid van nader onderzoek wordt onderstreept door tal van voorlopige rapportages. Bijvoorbeeld die van Rasmussen en collega's (2006), die de rol van nanodeeltjes als drager voor xenobiotische organische stoffen hebben onderzocht. Waarnemingen van de opname en toxiciteit van pentachloorfenol en fenantreen in aanwezigheid van C<sub>60</sub>-nanodeeltjes leverden vooralsnog geen eenduidige patronen: zowel verhoogde als verminderde opname c.q. toxiciteit werden waargenomen in zebrafissen, watervlooien en algen.

## 7.4 Conclusies

1. Het onderzoek naar de ecotoxiciteit van nanodeeltjes staat nog in de kinderschoenen. De onderzoeksresultaten zijn schaars en er worden schijnbaar tegenstrijdige resultaten gerapporteerd van studies waarop veel inhoudelijke kritiek wordt gegeven.
2. Experimenteel waargenomen ecotoxiciteit van nanodeeltjes lijkt afhankelijk van de manier waarop de preparaten worden behandeld. Kennelijk zijn de feitelijke blootstellingsconcentraties in de onderzochte media door de onderzoekers nog niet goed in te schatten.
3. De beschikbare laboratoriumwaarnemingen geven aan dat effecten op aquatische organismen vooralsnog niet moeten worden uitgesloten.
4. Op basis van de in de literatuur beschikbare informatie kan niet worden gezegd óf, en zo ja, in welke mate, er onder natuurlijke omstandigheden daadwerkelijke effecten van nanodeeltjes op (delen van) ecosystemen kunnen optreden.

## 8 Toxiciteit van nanodeeltjes in drinkwater

### 8.1 Inleiding

Dit hoofdstuk behandelt de onderzoeksvraag:

- 6.2 Welke effecten kunnen nanodeeltjes veroorzaken bij de mens in relatie met drinkwaterconsumptie?

Om de risico's van nanodeeltjes voor de mens en het milieu goed in kaart te brengen, is informatie over de effecten en dosis-respons relaties van nanodeeltjes nodig. Ook informatie over de absorptie, distributie, metabolisme en excretie (ADME) van de nanodeeltjes is nodig voor verschillende extrapolaties (cross dose, cross species, route-to-route). Voor veel bestaande chemische stoffen zijn deze toxicodynamische en toxicokinetische gegevens wel voorhanden, of ze kunnen goed geschat worden op basis van analogie. Voor nanodeeltjes is deze informatie echter niet of nauwelijks aanwezig. Hierdoor wordt gedegen risicoschatting bemoeilijkt en onzeker. Het is van belang om voor nanodeeltjes *case-by-case* de kinetische en toxische studies uit te voeren om het veilige gebruik van de deeltjes te garanderen.

Veel studies met nanodeeltjes rapporteren voornamelijk de externe dosis-respons relaties. De externe dosis beschrijft de totale dosis (ingeslikt, dermaal of ingeademd) waaraan een organisme is blootgesteld. De interne dosis is het gedeelte van de externe dosis dat na blootstelling door het lichaam wordt opgenomen en de centrale bloedcirculatie en organen bereikt. Vanuit toxicologisch oogpunt ontstaat een toxisch effect alleen als een voldoende hoeveelheid materiaal of deeltjes een specifiek doelorgaan of cel bereikt heeft. Dit is wel afhankelijk van de concentratie en duur van de interne blootstelling.

### 8.2 De verschillende blootstellingsroutes

Een nanodeeltje kan via verschillende blootstellingsroutes het lichaam binnenkomen. Via de lucht kunnen nanodeeltjes worden ingeademd (inhalatoire blootstelling). Nanodeeltjes kunnen in contact komen met de huid (dermale blootstelling). Nanodeeltjes kunnen via water of voedsel worden ingeslikt (orale blootstelling). Ook kunnen medische toepassingen een route zijn voor nanodeeltjes om in contact te komen met het menselijke lichaam (parenterale blootstelling).

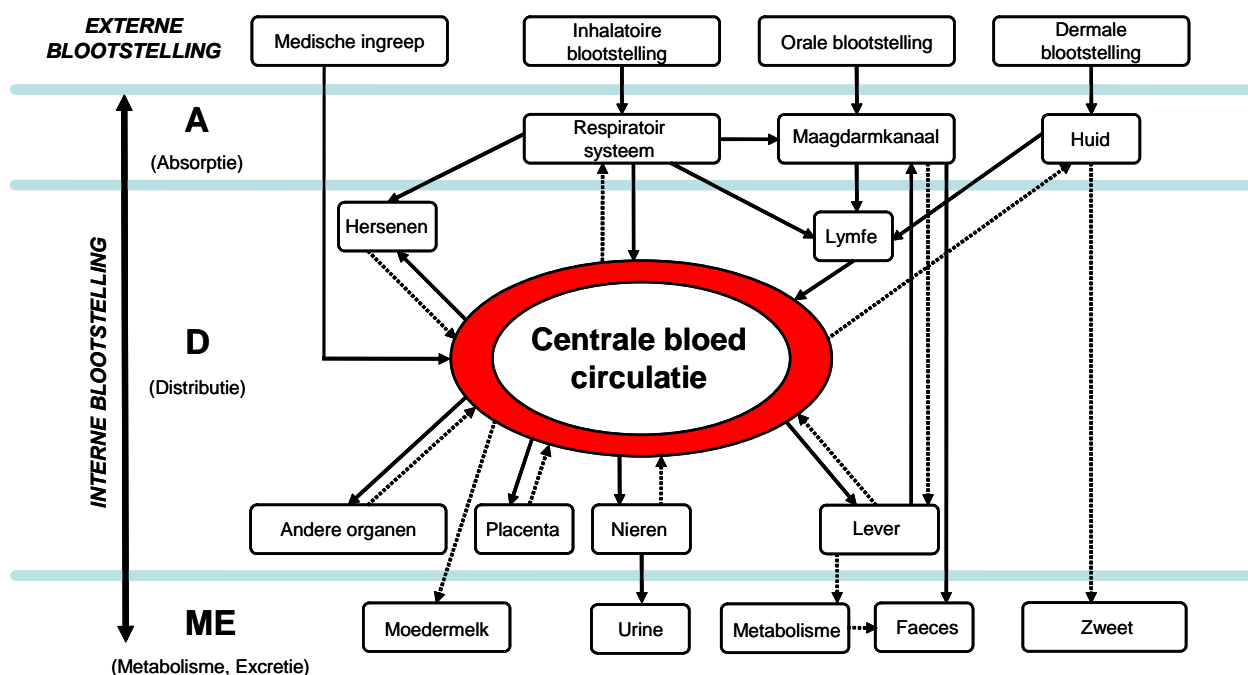
Het kan voorkomen dat een deeltje via verschillende routes het lichaam binnendringt. Als een nanodeeltje ingeademd wordt, kan dit deeltje via het slijm ook worden ingeslikt en zorgen voor orale blootstelling. De meeste informatie over de potentiële toxiciteit van nanodeeltjes in proefdieren en mensen is beschikbaar voor de inhalatoire route.

In dit rapport gaat het vooral over de aanwezige nanodeeltjes in (drink)water. De orale blootstelling is voor deze deeltjes de meest belangrijke route. De volgende paragrafen geven een overzicht van de beschikbare informatie over de kinetiek van nanodeeltjes die via de orale route in het lichaam worden geïntroduceerd. Om het beeld compleet te maken zal er ook enige aandacht worden gegeven aan de andere blootstellingsroutes. Ten slotte worden de beschikbare gegevens over toxiciteit na acute en herhaalde orale blootstelling beschreven.

### 8.3 Kinetiek

De kinetiek van nanodeeltjes kan in de 4 ADME-processen (absorptie, distributie, metabolisme, excretie) worden onderverdeeld. Figuur 8.1 geeft een overzicht van deze processen in het menselijke lichaam. Deze figuur laat zien dat een deeltje via verschillende blootstellingsroutes uiteindelijk in hetzelfde orgaan kan belanden. Als bijvoorbeeld nanodeeltjes aangetroffen worden in het maagdarmkanaal, dan kunnen ze afkomstig zijn van ingeslikte producten. Maar het is ook mogelijk dat deze deeltjes het maagdarmkanaal bereikt hebben via een indirecte route. Na inademing kunnen de deeltjes worden opgenomen in het bloed

en gedistribueerd naar de lever, opgenomen worden door de levercellen en uitgescheiden via galzouten in het maagdarmkanaal.



Figuur 8.1 De verschillende ADME-processen (absorptie, distributie, metabolisme en excretie) van nanodeeltjes in het lichaam.

De interne blootstelling is het gedeelte van de externe blootstelling dat de centrale bloedcirculatie bereikt. De ononderbroken zwarte lijnen representeren routes die aangetoond zijn. De gestippelde lijnen geven routes weer die waarschijnlijk ook aanwezig zijn, maar die nog niet gerapporteerd zijn (hypothetische routes). Ook zijn de transportsnelheden tussen de compartimenten en de retentietijden in de compartimenten van de deeltjes in het lichaam niet bekend. (Andere organen: milt, hart, geslachtsorganen e.d.; figuur in gewijzigde vorm overgenomen van Oberdörster et al., 2005)

### 8.3.1 Absorptie

Opname vanuit het maagdarmkanaal is de belangrijkste blootstellingsroute voor nanodeeltjes in het lichaam afkomstig uit water, voeding en medicijnen.

Na orale blootstelling van nanodeeltjes kan het intestinaal epithelium door twee processen gepasseerd worden. De paracellulaire route en de transcellulaire route. De paracellulaire route is de route door de 'tight junctions'. Deze 'tight junctions' vormen maar 0.1 % van de totale oppervlakte van het intestinaal epithelium en daarom is deeltjestransport via deze route minimaal. De andere route, transcellulair transport van nanodeeltjes, is het proces van opname van deeltjes door endocytose aan de apicale kant van het intestinale epithelium, het transport door de cel heen en de afgifte van het deeltje aan de basolaterale kant van het epithelium. Verschillende studies hebben aangetoond dat de M-cellen (gespecialiseerde fagocyterende enterocyten) bij de opname van deeltjes (50 nm – 20 µm) door de transcellulaire route betrokken zijn. Deze cellen liggen in de speciale plekken op de darm, de zogenaamde 'Peyer's Patches' van de dunne darm. Niet alleen de gespecialiseerde M-cellen, maar ook de intestinale enterocyten kunnen deeltjes absorberen, transporteren en uitscheiden. Deze enterocyten vertegenwoordigen de grote meerderheid van cellen in het maagdarmkanaal (Florence, 2005; Hussain et al., 2001; Des Rieux et al., 2006)

De fysisch-chemische eigenschappen (grootte, lading en coating) van de nanodeeltjes beïnvloeden de mate van absorptie van de deeltjes.

Geladen nanodeeltjes kunnen een lagere biobeschikbaarheid hebben. Dit kan komen door elektrostatische afstoting en het vast komen zitten in de slijmlaag die aanwezig is in het maagdarmkanaal. Neutrale deeltjes hebben hier minder last van (Des Rieux et al., 2006).

Het koppelen van liganden aan de nanodeeltjes en het coaten van de deeltjes met oppervlaktemoleculen kan de opname in het maagdarmkanaal veranderen (Hoet et al., 2004).

Ook de grootte van de nanodeeltjes heeft een effect op de absorptie van de deeltjes over het lichaam. Van een dosis polystyreen nanodeeltjes van 50 nm werd 34 % geabsorbeerd door het maagdarmkanaal. Van een dosis polystyreen nanodeeltjes van 100 nm werd 26% geabsorbeerd (Jani et al., 1990). Deeltjes van 100 nm lieten een 15-250 maal hogere opname zien vergeleken met microdeeltjes (Desai et al., 1996).

Transportstudies met nanodeeltjes zijn voornamelijk uitgevoerd met proefdiermodellen of met in vitro-modellen (Caco-2 celsystemen). Door de variëteit aan gebuikte nanodeeltjes (alle met andere fysisch-chemische eigenschappen), de heterogeniteit in de experimentele protocollen en de hogere dichtheid van M-cellen in de Peyer's Patches regionen van de gebruikte knaagdiermodellen ten opzichte van de humane situatie, is het moeilijk om de in vivo en in vitro data te extrapoleren naar de mens. Klinische transportstudies met nanodeeltjes in de mens zijn helaas niet voor handen (Des Rieux et al., 2006).

### 8.3.2 Distributie

Nadat nanodeeltjes het lichaam zijn binnengekomen door een van de mogelijke blootstellingsroutes (Figuur 8.1), zorgt de bloedcirculatie voor een verdere verspreiding over (de organen van) het lichaam.

Verschillende studies hebben een verdeling laten zien van deeltjes naar onder andere de lever, milt, hart en hersenen (Ji et al., 2006; Nemmar et al., 2002; Hillyer en Albrecht, 2001). In vijf kaders hieronder worden de verschillende distributieroutes weergegeven.

#### *Distributie van nanodeeltjes na orale blootstelling*

In Figuur 8.1 is schematisch weergegeven dat vrijwel alle organen door de oraal opgenomen nanodeeltjes te bereiken zijn. Hillyer en Albrecht (2001) hebben in een studie met orale toediening van nanogouddeltjes van verschillende grootte (4, 10, 28 en 58 nm) laten zien dat de kleinste gouddeeltjes (4 nm) naar de lever, nier, milt long en zelfs naar de hersenen werden gedistribueerd. De deeltjes van 58 nm bleven vrijwel geheel in het maagdarmkanaal. Een andere distributiestudie, waarbij nanogoud van verschillende grootte intraveneus werd geïnjecteerd, resulteerde in een verdeling over meer organen bij de kleinere deeltjes (10 nm) ten opzichte van de grotere gouddeeltjes (100 en 250 nm) (De Jong et al., 2007). Deze beide bevindingen suggereren dat zowel absorptie als distributie van nanodeeltjes afhankelijk is van de grootte.

#### *Distributie van nanodeeltjes na inhalatie*

De belangrijkste en meest bestudeerde blootstellingsroute voor nanodeeltjes is de inhalatoire route. Na inhalatie en absorptie van de nanodeeltjes kunnen deze deeltjes de centrale bloedcirculatie bereiken en van daaruit zich verspreiden over het gehele lichaam. Een inhalatiestudie met radioactief geladen nanodeeltjes in gezonde vrijwilligers liet een snelle opname en verdeling zien, voornamelijk naar de lever (Nemmar et al., 2002). Echter, de resultaten van de studie van Nemmar konden niet worden herhaald in vergelijkende studies met radioactief geladen nanodeeltjes (Brown et al., 2002; Mills et al., 2006). Weer andere studies met andere radioactief geladen nanodeeltjes lieten zien dat een klein gedeelte van de externe dosis werd verdeeld over het lichaam, voornamelijk naar lever, milt, hart en hersenen. Ook werden twee verschillende grootten gebruikt waaruit bleek dat kleinere deeltjes (15 nm) een 10 maal grotere verdeling lieten zien dan de 80 nm deeltjes (Kreyling et al., 2002). Dit laat zien dat de grootte belangrijk is voor distributie van ingeademde deeltjes.

*Systemische bloedsomloop*

Wanneer nanodeeltjes, na absorptie, de systemische bloedsomloop hebben bereikt, dan kunnen ze een interactie aangaan met de in het bloed aanwezige plasma-eiwitten, coagulatiefactoren, bloedplaatjes en rode en witte bloedcellen. In het bijzonder de binding van nanodeeltjes met plasma-eiwitten kan een groot effect hebben op de distributie, het toxische effect en de uitscheiding van de deeltjes. In een in vitro studie resulteerde de toevoeging van serum aan silica nanodeeltjes in een vermindering van het geïnduceerde toxische effect. Een specifieke serumcomponent, apolipoproteïne –A1 (apo-A1), werd geïdentificeerd om zijn silica-bindende capaciteit. Apo-A1 kan niet alleen silicadeeltjes binden, maar ook andere deeltjes zoals asbest en titanium oxide (TiO<sub>2</sub>) (Barett et al., 1999). In een andere studie, waar quantum dots (QDs) werden voorbehandeld met serum albumine, werd een verlaging gezien van de celdodende werking in vitro (Lorvic et al., 2005). Een verklaring voor dit effect van de verlaging van toxiciteit in de aanwezigheid van albumine kan zijn, dat albumine de nanodeeltjes kan binden (scavenger receptoren) (Moosmann en Behl et al., 2002). De aanwezigheid van apo-A1 en albumine in humaan serum kan ervoor zorgen dat de toxische effecten van nanodeeltjes in bloed verminderd zijn. Op dit moment is het niet bekend of de interactie tussen nanodeeltjes en de serum-eiwitten reversibel is. Wat ook van belang is voor de toxiciteit van nanodeeltjes, is de fractie van de concentratie in bloed die niet gebonden is aan de eiwitten. De ongebonden fractie geeft wellicht een betere correlatie met de gevonden toxiciteit en daarom zou deze ongebonden fractie bepaald moeten worden. Dit laat duidelijk zien dat er nog meer onderzoek gedaan moet worden naar de interactie tussen de verschillende nanodeeltjes en serum-eiwitten. Ook laat dit zien dat in vitro experimenten niet goed vertaald kunnen worden naar de in vivo-situatie als invloed van serum-eiwitten niet onderzocht is.

Verschillende soorten nanodeeltjes (goud, titanium oxide) zijn bij experimenten gevonden binnenin humane rode bloedcellen (Rothen-Rutishauser et al., 2006). Deze cellulaire opname van deeltjes gaat niet via endocytose (Geiser et al., 2005), omdat rode bloedcellen niet de fagocyterende receptoren bezitten (Rothen-Rutishauser et al., 2006). Deze experimenten suggereren dat nanodeeltjes de cel kunnen binnendringen onafhankelijk van fagocytose en endocytose. Diffusie, transmembraan kanalen of andere nog niet geïdentificeerde transportprocessen kunnen een rol spelen in de cellulaire opname van nanodeeltjes door cellen. Ook is aangetoond dat de intracellulaire nanodeeltjes niet membraangebonden zijn. Deze deeltjes kunnen in de cel direct contact hebben met intracellulaire eiwitten en organellen. Ook zou de celmembraan gepasseerd kunnen worden zodat de deeltjes direct in contact komen met het DNA (Geiser et al., 2005).

*Trans-placentale distributie*

Er zijn nog geen gegevens bekend over de distributie van nanodeeltjes naar voortplantingscellen. Ook zijn er weinig experimentele gegevens over de verdeling van nanodeeltjes in de foetus bekend. Een in vivo-studie met drachtige muizen, waarbij intraperitoneale C<sub>60</sub>-fullerenen ('koolstofnanobolletjes') werden geïnjecteerd liet toxische effecten zien. Bij concentraties van 137 mg fullerenen per kg muis gingen alle embryo's dood. Bij lagere concentraties (25-50 mg/kg, werden voornamelijk afwijkingen geconstateerd aan de hoofdregio (Tsuchiya et al., 1996). Deze studie laat zien dat de fullerenen via transplacentale passage vanuit het bloedsysteem van de moeder naar het embryo kunnen worden getransporteerd. Een in vitro-studie met muizenembryo's liet opname van polystyreen nanodeeltjes zien binnen in het embryo. De in vitro-ontwikkeling van het embryo werd hierbij niet geremd (Bosman et al., 2005). Deze twee studies, met beide een verschillende uitkomst, laten zien dat fysisch-chemische eigenschappen en de concentratie van het nanodeeltje belangrijk zijn voor de embryonale toxiciteit.

*Bloed-hersensbarrière*

De bloed-hersensbarrière (BHB) reguleert de passage van stoffen vanuit het bloed naar het centrale zenuwstelsel. De permeabiliteit van deze barrière is strikt gereguleerd. Alleen moleculen die of enigszins lipofiel zijn en/of actief getransporteerd worden en/of kleiner zijn dan 500 Dalton, kunnen de barrière passeren. Het is niet bekend in hoeverre onoplosbare nanodeeltjes vanuit het bloed door de BHB de hersenen kunnen bereiken. Er zijn aanwijzingen dat deze distributie naar de hersenen relevant kan zijn, omdat na orale toediening kleine hoeveelheden goud in de hersenen werd aangetroffen (Hillyer en Albrecht, 2001).



### 8.3.3 Metabolisme

Na opname door het maagdarmkanaal zullen nanodeeltjes via de poortader direct naar de lever getransporteerd worden. De lever is een orgaan dat actief lichaamsvreemde stoffen uit het bloed kan halen en deze stoffen metaboliseert en/of uitscheidt via gal. Voor nanodeeltjes is het niet bekend of dit 'first pass effect' ook een grote rol van betekenis speelt. In het algemeen heeft dit eliminatiemechanisme van de lever gevolgen voor de biobeschikbaarheid van geabsorbeerde stoffen in het lichaam.

Tot op heden zijn er geen studies gerapporteerd waar melding wordt gedaan van metabolisme van nanodeeltjes. Het is dan ook onwaarschijnlijk dat inerte nanodeeltjes, zoals goud en zilver nanodeeltjes, fullerenen en carbon nanotubes, effectief gemetaboliseerd kunnen worden door enzymen in het lichaam. Het is echter wel denkbaar dat nanodeeltjes met functionele groepen kunnen worden gemetaboliseerd. De eiwitmantel van een specifieke quantum dot zou effectief kunnen worden geknipt door proteasen (Hardman, 2006). Ook de metallische basis van quantum dots zou wellicht door metallothioninen kunnen worden gebonden en uitgescheiden. Metallothioninen zijn enzymen uit de lever en nier die specifiek een metaal kunnen binden om zo de cellulaire metaalconcentratie te reguleren (Coyle et al., 2002).

### 8.3.4 Excretie

Een geabsorbeerd nanodeeltje dat zich bevindt in de systemische bloedcirculatie kan langs verschillende routes worden uitgescheiden. Ze kunnen worden getransporteerd naar de lever, worden opgenomen door hepatocyten en worden uitgescheiden via de gal in het maagdarmkanaal. Excretie via deze route is aangetoond voor intraveneus toegediende polystyreen nanodeeltjes. Een gedeelte van de IV toegediende polystyreen nanodeeltjes

(50 nm) werd opgenomen door kupffercellen, de residente macrofagen van de lever, en een deel werd opgenomen door hepatocyten in de lever (Ogawara et al., 1999a). Na 24 uur was 4 % van de dosis via de gal uitgescheiden (Furumoto et al., 2001; Ogawara et al., 1999a). Grotere polystyreen deeltjes (500 nm) werden voornamelijk door niet-parenchymcellen in de lever opgenomen (kupffercellen, endotheelcellen) (Ogawara et al., 1999b). Deze bevinding suggereert dat de grootte van het deeltje bepalend is of het door kupffercellen en endotheelcellen wordt opgenomen, of door hepatocyten wordt opgenomen en via de gal wordt geëxcreteerd. Het is niet bekend of metabolisme ook een rol speelt bij de excretieroute van polystyreen nanodeeltjes uit het lichaam

Een andere mogelijke route voor de excretie van nanodeeltjes kan de renale klaring zijn. Deze route speelt een rol bij de excretie van fullerenen en single walled carbon nanotubes (SWCNT) uit het lichaam (Rajagopalan et al., 1996; Singh et al., 2006).

Andere excretieroutes voor nanodeeltjes die waarschijnlijk aanwezig zijn, zijn de zweetklieren en moedermelk. Op dit moment is excretie van nanodeeltjes via een van deze routes nog niet gerapporteerd. Voor de meeste nanodeeltjes die nu bekend zijn, zijn de excretieroutes niet bekend. Het is ook mogelijk dat van de nanodeeltjes die zijn geabsorbeerd, niet alle deeltjes het lichaam weer verlaten. De accumulatie van nanodeeltjes kan plaatsvinden op verschillende plaatsen in het lichaam, zoals de longen, hersenen en de lever (Oberdorster et al., 2005; Kreyling et al., 2003). Bij een lage concentratie of bij een eenmalige blootstelling, zouden de toxische gevolgen voor het lichaam wel mee kunnen vallen. Echter, de accumulatie van nanodeeltjes na een hoge dosis of chronische blootstelling zou een extra risico kunnen betekenen voor het lichaam. Voldoende informatie over de accumulatie van nanodeeltjes in het lichaam ontbreekt echter op dit moment.

## 8.4 Toxiciteit van nanodeeltjes na orale blootstelling

De openbare gegevens over orale toxiciteit van (onoplosbare) nanodeeltjes zijn veelal beperkt tot acute toxiciteitsstudies. Slechts in een tweetal studies is de toxiciteit van nanodeeltjes na herhaalde orale blootstelling bestudeerd. Er zijn geen gegevens bekend over mogelijke nadelige gezondheidseffecten na herhaalde orale blootstelling aan koolstof nanobuisjes, anorganische en organische nanodeeltjes, nanocapsules, nanobolletjes, nanovezels of andere vormen van nanomaterialen.

*Acute toxiciteit*

Een enkelvoudige blootstelling aan kationische polyamidoamine (PAMAM) dendrimeren had sterfte tot gevolg bij een dosering van 45 milligram per kilogram lichaamsgewicht. Na herhaalde dosering werd levertoxiciteit waargenomen (Roberts et al., 1996).

In een studie met C<sub>60</sub>-polyalkylsulfonaat in ratten door Chen et al. (1998) werd geen sterfte waargenomen na acute orale blootstelling aan doseringen tot 2500 milligram per kilogram lichaamsgewicht (mg/kg lg). Het geteste C<sub>60</sub>-polyalkylsulfonaat is echter een zeer goed wateroplosbaar fullereen-derivaat zodat de representativiteit van deze studie voor niet-oplosbare nanodeeltjes waarschijnlijk beperkt is.

Nanodeeltjes ijzer ('nano-magnetic ferrofluid') werden door Xia et al. (2005) toegediend aan muizen. Tot een dosering van 320 milligram/kilogram lichaamsgewicht werden geen effecten waargenomen. De dosering waarbij 50% van de dieren na acute blootstelling stierf (LD50) was hoger dan 2 gram/kilogram lichaamsgewicht. Er werd na blootstelling geen degeneratie of necrose van slijmvliezen geconstateerd (Xia et al., 2005).

Door Zhang et al. (2001) werd aangetoond dat nanodeeltjes seleen (20~60 nm), in vergelijking met seleniet, een lagere acute toxiciteit hebben in muizen. De LD50 (dosis waarbij 50% sterfte optrad) bedroeg respectievelijk 113 en 15 mg/kg lg. Opmerkelijk was dat, gebaseerd op de upregulatie van seleenenzymen, de biobeschikbaarheid in beide gevallen vergelijkbaar was (Zhang et al., 2001).

In een acute studie in muizen werden geen indicaties voor weefselveranderingen of andere effecten gezien na orale toediening van 'pure' en 'N-doped carbon multi-walled nanotubes' (Carrero-Sanchez et al., 2006).

De acute toxiciteit van nanodeeltjes koper (23,5 nm) werd door Chen et al. in muizen bestudeerd (Chen et al., 2006). Naast de bepaling van de LD50 werden de dieren onderzocht op morfologische, pathologische en klinisch-chemische veranderingen. De effecten van nanodeeltjes koper zijn vergeleken met de effecten van microdeeltjes koper (17 micrometer) en koper-ionen (CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O). De LD50 voor de kopernanodeeltjes, microdeeltjes en ionen was respectievelijk 413, >5000 en 110 mg/kg lg. Ernstige effecten van nanodeeltjes koper werden waargenomen in de nieren, de lever en de milt. Dit betrof histopathologische afwijkingen en klinisch chemische veranderingen in het bloed bij doseringen vanaf 158 milligram per kilogram lichaamsgewicht. Mannelijke dieren bleken hierbij gevoeliger dan vrouwelijke dieren. Een vergelijkbare dosis microdeeltjes, op massa basis, induceerde deze effecten niet.

De acute orale toxiciteit van nanodeeltjes zink is door Wang et al. bestudeerd in muizen (Wang et al., 2006). Bij een vaste dosering van 5 gram per kilogram lichaamsgewicht werden de effecten van nanodeeltjes zink (58 nanometer) vergeleken met die van microdeeltjes zink (1080 nanometer) en een vehikel controlegroep. De deeltjes werden in een suspensie eenmalig per gavage toegediend. Na toediening werden symptomen en mortaliteit opgetekend. Twee weken na toediening werden de effecten van de deeltjes op hematologische parameters, biochemische parameters in het serum en bloedstolling bestudeerd. Tevens werden organen verzameld voor histopathologisch onderzoek. De muizen die aan nanodeeltjes zink waren blootgesteld vertoonden de eerste dagen na blootstelling groeivertraging en ernstige symptomen van lusteloosheid, braken en diarree dan de muizen die aan microdeeltjes zink waren blootgesteld. Twee van de twintig dieren in de nanogroep stierven na enkele dagen als gevolg van obstructie in de darmen door stapeling van nanodeeltjes zink. In het serum werden biochemische veranderingen indicatief voor leverschade gevonden in zowel muizen die met nanodeeltjes als die met microdeeltjes waren behandeld. Ofschoon geen renale biochemische veranderingen in het serum werden waargenomen na blootstelling aan nanodeeltjes zink, werden ernstige histopathologische veranderingen in de nieren van deze dieren geconstateerd. Ook werden anemische veranderingen in het bloed waargenomen na blootstelling aan zink nanodeeltjes. Naast pathologische veranderingen in de lever, de nieren en het hart, werd geringe maag- en darmontsteking gezien in alle met zinkdeeltjes behandelde groepen, zonder dat significante veranderingen in andere organen (longen, alvleesklier, milt, testis, baarmoeder, hersenen) werden gezien.

In een studie met vergelijkbare opzet werd de acute toxiciteit van titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) deeltjes onderzocht in volwassen muizen (Wang et al., 2007). Hiertoe werd de toxiciteit van nanodeeltjes TiO<sub>2</sub> van 25 en 80 nanometer vergeleken met de toxiciteit van fijne TiO<sub>2</sub>-deeltjes van 155 nanometer. Een vaste hoge dosering van 5 gram per kilogram lichaamsgewicht met gesuspendeerde TiO<sub>2</sub>-deeltjes werd door de onderzoekers enkelvoudig oraal toegediend (gavage). In de periode van twee weken na toediening werd geen duidelijke acute toxiciteit waargenomen. In vrouwelijke muizen werd een significant toegenomen relatief levergewicht geconstateerd in beide 'nano-groepen' (25 and 80 nm). Ook werden geringe biochemische veranderingen in het serum waargenomen en werden pathologische veranderingen (necrose)

geconstateerd die indicatief zijn voor leverschade als gevolg van de blootstelling aan nanodeeltjes  $\text{TiO}_2$ . Tevens werden biochemische en pathologische veranderingen in de nieren waargenomen. Hoewel biochemische veranderingen in het serum duiden op schade aan het hart, werden in het hart geen pathologische veranderingen geconstateerd. Ook werden geen pathologische veranderingen waargenomen in de longen, testis, eierstokken en milt.  $\text{TiO}_2$  werd in deze studie voornamelijk terug gevonden in de lever, milt, nieren en longen. Omdat titanium dioxide een inerte en slecht oplosbare stof is, lijken bovenstaande gegevens relevant voor het beoordelen van de toxiciteit van onoplosbare nanodeeltjes.

#### *Toxiciteit na herhaalde blootstelling*

De toxiciteit van nanodeeltjes seleen werd ook na kortdurende herhaalde blootstelling in muizen bestudeerd (Zhang et al., 2005). Gedurende 12 dagen werd een orale dosis van 6 milligram per kilogram lichaamsgewicht nanodeeltjes seleen of seleniet toegediend. Tevens was een vehikel controlegroep toegevoegd. In beide blootgestelde groepen werd groeivertraging en oxidatieve stress geconstateerd en werd op basis van veranderingen in serum biochemische parameters een afwijkende leverfunctie vastgesteld. Seleniet blootstelling resulteerde in ernstiger veranderingen dan blootstelling aan nanodeeltjes seleen. Dagelijkse orale doseringen van 2 of 4 milligram per kilogram lichaamsgewicht gedurende een periode van 15 dagen, resulteerde in vergelijkbare resultaten als na 12 dagen blootstelling aan 6 milligram per kilogram lichaamsgewicht (Zhang et al., 2005).

In een subchronische studie met nanodeeltjes seleen (20~60 nm) werden ratten middels hun dieet gedurende 13 weken blootgesteld aan 0, 2, 3, 4 en 5 ppm seleen (Jia et al., 2005). In andere groepen werden dieren blootgesteld aan dezelfde doseringen middels seleniet en hoog-seleen eiwit. Naast dagelijkse klinische waarnemingen werden lichaamsgewicht en voedselconsumptie wekelijks gemeten. Aan het einde van de studie werd een volledige necropsie gedaan en werd bloed verzameld voor hematologische en klinische bepalingen. Uit de resultaten blijkt dat in alle blootgestelde groepen kwalitatief dezelfde effecten worden gevonden, waarbij de nanodeeltjes seleen het minst toxisch bleken. De effecten werden gevonden op groei, hematologie, klinische chemie, relatieve orgaan gewichten en histopathologische parameters. De bevindingen in bovenstaande studies met herhaalde orale blootstelling lijken derhalve toe te schrijven aan seleen en niet direct of indirect aan de nanodeeltjes. De resultaten zijn daardoor niet representatief voor blootstelling aan 'onoplosbare nanodeeltjes'.

## 8.5 Conclusies

1. Er zijn nog geen gevalideerde meetmethoden beschikbaar voor het meten van de interne concentraties van nanodeeltjes (organen, bloed). Zonder deze kunnen essentiële kinetische gegevens (absorptie, distributie, metabolisme en excretie) niet worden bepaald.
2. Nanodeeltjes kunnen in principe door de darmwand worden opgenomen en zo het lymfesysteem bereiken. Vanaf daar kunnen nanodeeltjes in de bloedcirculatie terecht komen en zich verspreiden over het lichaam. In de beschikbare studies zijn deeltjes teruggevonden in diverse organen zoals hart, lever, milt, nieren en beenmerg. Er zijn aanwijzingen dat nanodeeltjes biologische barrières, zoals de bloed-hersen-barrière, kunnen passeren. Ook moet worden aangenomen dat nanodeeltjes door de placenta in de foetus terecht kunnen komen. Het lijkt erop dat op cellulair niveau het celmembraan geen barrière vormt voor het binnendringen van nanodeeltjes. Eenmaal binnen de cel is een groot aantal interacties met subcellulaire structuren denkbaar.
3. Biologisch afbreekbare nanodeeltjes worden gemetaboliseerd en uitgescheiden. Over het lot van niet biologisch afbreekbare nanodeeltjes is echter weinig bekend.
4. Het is niet duidelijk of en in welke mate het voorkomen van nanodeeltjes op diverse plaatsen in het menselijk lichaam leidt tot ongewenste (gezondheids)effecten. Een aanmerkelijk effect van nanodeeltjes is de inductie van reactieve zuurstofradicalen gevolgd door oxidatieve stress in cellen en organen. De resultaten van de beschikbare orale studies laten zien dat, afhankelijk van de deeltjesgrootte en chemische samenstelling van de nanodeeltjes, effecten worden waargenomen na acute hoge blootstelling. Veranderingen werden voornamelijk waargenomen in de lever en de nier, maar ook in het bloed, het hart en de milt. Er is geen relevante informatie beschikbaar over acute of langdurige orale blootstelling aan lagere, meer relevante concentraties nanodeeltjes.



## 9 Beleid en maatschappelijke ontwikkelingen

### 9.1 Inleiding

Dit hoofdstuk behandelt de onderzoeksvragen:

- 7.1 Zijn beoordelingsmethoden voor stoffen van de EU toepasbaar op nanodeeltjes?
- 7.2 Hoe geschikt is de huidige wet- en regelgeving voor toelating van nanodeeltjes ?
- 7.3 Waar en hoe is er aandacht voor de nadelige effecten van nanodeeltjes voor mens en milieu (water)? (onderzoeksprojecten (inter)nationaal, politieke aandacht milieubeweging/actiegroepen.) Valt er iets te leren vanuit de discussie in het verleden omtrent biotechnologie?
- 7.4 Welke activiteiten zijn er en hoe is de stand van zaken binnen de EU? (zogenaamde green/white paper, onderzoeksprojecten, standpunt Europese Raad, standpunt Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks.)

Gezien de snelle ontwikkeling van toepassingsmogelijkheden, wordt de vraag actueel of de huidige regelgeving voor chemische stoffen in de EU voldoende bescherming biedt tegen mogelijke gevaren van nanodeeltjes. Deze vraag spitst zich toe op de informatie over de nanodeeltjes die volgens de huidige regelgeving overlegd dient te worden. Is die wel toereikend? Datavereisten voor stoffen zijn destijds opgesteld om risicobeoordeling van bulkstoffen, bestrijdingsmiddelen, medische hulpstoffen en geneesmiddelen en andere stoffen mogelijk te maken.

### 9.2 Zijn beoordelingsmethoden voor stoffen van de EU toepasbaar op nanodeeltjes?

EU beoordelingsmethoden voor chemische stoffen zijn beschreven in de Technical Guidance Documents (TGD). Bij het beantwoorden van de vraag of deze ook op nanodeeltjes toegepast kunnen worden is het nuttig te bezien hoe de TGD omgaat met conventionele stoffen (bulkchemicaliën). De EU-beoordelingsmethoden zijn niet direct toepasbaar op alle bulk-chemicaliën. Er is een categorie 'moeilijke chemicaliën' die maatschappelijk zeer relevant is, onder andere vanwege het feit dat ze onmisbaar zijn of tot de high production volume chemicals (HPVC) behoren (bijvoorbeeld detergents). 'Moeilijk' heeft hier betrekking op gedrag in water. Kenmerkend voor de moeilijke stoffen is dat bepaalde eigenschappen, zoals wateroplosbaarheid of octanol-water partiticoëfficiënt ( $K_{ow}$ , een maat waarmee een stof oplost in vetten ofwel lipofiel is), niet gemakkelijk bepaald kunnen worden. Of het blijkt een ongeschikte parameter voor het schatten van het gedrag van een stof in het aquatisch milieu of in organismen. Naast de oppervlakteactieve stoffen (detergents) zijn dat kleurstoffen en metalen. Vaak speelt ook nog een rol dat het niet om enkelvoudige verbindingen gaat, maar om complexe mengsels. Bij sommige van de organische 'moeilijke stoffen' of stofmengsels wordt de onzekerheid in de risicobeoordeling tot een aanvaardbaar niveau verlaagd wanneer een bepaalde stoffeigenschap dominant is voor de blootstelling, bijvoorbeeld gemakkelijke biologische afbreekbaarheid. De detergentenindustrie maakt hiervan gebruik waardoor de milieuvreemde synthetische surfactanten (die behoren tot de HPVC's) toch veilig in omloop kunnen worden gebracht. Bij de metalen spelen weer andere omstandigheden een rol, zoals het natuurlijke achtergrondniveau dat per regio of milieucompartiment (zoet- versus zeewater) kan verschillen. Ook het gegeven dat sommige metalen zowel een toxisch als essentieel nutriënt voor organismen zijn. De vorm waarin de metalen in het milieu voorkomen (metallisch of in verscheidene vormen ionogeen opgelost, met of zonder (an)organische liganden of als colloïd) is veelal bepalend voor het gedrag en effect van metalen. Uitgebreid onderzoek heeft na vele jaren voor metalen nog altijd niet algemeen geldende wetmatigheden opgeleverd voor lotgevallen van metalen in water. De risicobeoordeling van nanodeeltjes moet in dit perspectief worden bezien.

De in de TGD beschreven beoordelingsmethoden zijn in belangrijke mate gericht op het beschrijven en voorspellen van de snelheden waarmee stoffen uit het water worden verwijderd. Dominante veronderstelling hierbij is dat stoffen neigen tot een evenwichtsverdeling tussen waterfase (opgelost) en andere media (lucht, sediment, organismen). Schatting van de bijbehorende evenwichtsverdelingsconstanten is daarbij essentieel. Voor veel gewone in water opgeloste organische stoffen is daarvoor de octanol-water partiticoëfficiënt  $K_{ow}$  een goede indicator. Voor nanodeeltjes lijkt dat niet het geval. Nanodeeltjes vallen daarmee zeker in de bovenbeschreven categorie 'moeilijke stoffen'. De verdelingscoëfficiënten van nanopartikeltjes kunnen niet gebruikt worden om het gedrag ervan in het watercompartiment te schatten. Zonder bruikbare modellen is eliminatie van het enkelvoudige nanodeeltje uit het watercompartiment door afbraak of door associatie moeilijk te voorspellen en zal voorlopig *case-by-case* geëvalueerd moeten worden. Systematische studies zijn nog dermate schaars dat algemene regels voor transport en distributie in het watercompartiment nog niet kunnen worden opgesteld.

Onlangs wees Moore (2007) op het feit dat levende organismen gedurende de evolutie niet de selectie hebben ondergaan waardoor ze nu aangepast zijn om met blootstelling aan *engineered* nanodeeltjes om te gaan. Dit zou volgens Moore (2007) voor milieutoxicologen en pathologen een reden tot zorg zijn. Dezelfde overwegingen gelden ook voor de categorie van *xenobiotics*, de milieuvreemde stoffen. Vooralsnog kan worden vastgesteld dat tot nu toe het stoffenbeoordelingssysteem niet heeft gefaald omdat een chemische stof xenobiotisch van aard is. Wanneer over een bulkstof onvoldoende gegevens beschikbaar zijn om als input voor het stoffenbeoordelingssysteem te dienen, wordt dikwijls gebruikgemaakt van QSAR's (quantitative structure-activity relationships), een uit de farmacologie afkomstige methodiek om op grond van de moleculaire structuur, de lotgevallen en effecten van een chemische stof te voorspellen. Bij het schatten van het werkingsmechanisme van een onbekende stof wordt gebruik gemaakt van analogieën. Er bestaat een aantal goed omschreven biologische werkingsmechanismen die aan moleculaire structuren kunnen worden toegekend. Dergelijke schattingsmethoden zijn er (nog) niet voor de verschillende soorten nanodeeltjes.

Tabel 9.1 Samenvatting van relevante richtlijnen en verordeningen in de EU

Richtlijn/verordening	Naam	Nano?
67/548/EEG	Stoffen Richtlijn (nieuwe stoffen)	impliciet
EEG nr. 793/93	Bestaande Stoffen Verordening	impliciet
1999/45/EG	Preparaten Richtlijn	impliciet
EG nr. 1907/2006	REACH Verordening	impliciet
76/769/EEG	Verbodsrichtlijn	niet
76/768/EEG	Cosmetica Richtlijn	impliciet
2006/12/EG	Afvalstoffen Richtlijn	niet
91/414/EEG	Gewasbeschermingsmiddelen Richtlijn	impliciet
98/8/EG	Biociden Richtlijn	impliciet
2001/83/EG	Geneesmiddelen Richtlijn	impliciet
2004/28/EG	Diergeneesmiddelen Richtlijn	impliciet
90/385/EEG, 93/42/EEG, 98/79/EG	Medische hulpmiddelen Richtlijnen	niet
EEG nr. 258/97	Novel Foods Verordening	impliciet/niet
EEG nr. 89/107	Voedseladditieven Verordening	niet
88/388/EEG en 91/71/EEG	Smaakstoffen Richtlijn	niet
EG nr. 1831/2003	Veevoederadditieven Verordening	niet
EG nr. 1935/2004	Verpakkingsmaterialen en -artikelen Verordening	niet

### 9.3 Hoe geschikt is de huidige wet- en regelgeving voor toelating van nanodeeltjes?

De regels omtrent de productie, import en het gebruik van stoffen zijn vastgelegd binnen verschillende wettelijke kaders, die elkaar deels overlappen. Om te kunnen bepalen of de huidige wet- en regelgeving van toepassing is op nanodeeltjes moet duidelijk worden of stoffen in nanovorm als een aparte stofgroep, met

bijzondere karakteristieken, beschouwd worden of zoals iedere andere fysieke verschijningsvorm van stoffen. Een overzicht van de belangrijkste regelingen wordt gegeven in Tabel 9.1. In vrijwel geen van genoemde wet- en regelgeving zijn specifieke eisen opgenomen als het gaat om de productie, toepassing, verkoop of het gebruik van nanodeeltjes of producten die nanodeeltjes bevatten. In de meeste wordt het gebruik van nanodeeltjes wel impliciet gereguleerd door middel van een zorgplicht (bijvoorbeeld het voorkomen van schade aan de gezondheid van mens en milieu).

### **9.3.1 Stoffen Richtlijn (nieuwe stoffen) (67/548/EEG), Bestaande Stoffen Verordening (EEG nr. 793/93) en Preparaten Richtlijn (1999/45/EG)**

De productie, import en het gebruik van industriële chemicaliën worden geregeld in de Stoffen Richtlijn (nieuwe stoffen) en de Bestaande Stoffen Verordening (in Nederland geïmplementeerd in de Wet Milieugevaarlijke Stoffen). Nieuwe stoffen zijn chemische stoffen die niet zijn opgenomen in de zogenaamde 'European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances' (EINECS). Dit is een lijst van alle chemische stoffen die vóór 18 september 1981 in de Europese Unie (EU) in de handel zijn gebracht. De stoffen die wel voorkomen op deze lijst vallen onder de bestaande stoffenregelgeving.

Stoffen zijn gedefinieerd als: 'chemische elementen en hun verbindingen, zoals zij voorkomen in natuurlijke toestand of bij de productie ontstaan, met inbegrip van alle additieven die nodig zijn voor het behoud van de stabiliteit van het product en alle onzuiverheden ten gevolge van het productieproces, doch met uitzondering van elk oplosmiddel dat kan worden afgescheiden zonder dat de stabiliteit van de stof wordt aangetast of de samenstelling ervan wordt gewijzigd' (67/548/EEG). Nanodeeltjes vallen binnen bovenstaande definitie van stoffen en strikt genomen is er geen reden om nanodeeltjes anders te behandelen dan andere stoffen. Aangezien de huidige chemicaliënregelgeving onderscheid maakt tussen nieuwe en bestaande stoffen, moet duidelijk zijn of verschillende verschijningsvormen (nano of niet-nano) van een stof beschouwd worden als één stof of als aparte stoffen. Oftewel, valt een nanovorm van een al bestaande stof (niet-nano) onder de nieuwe of de bestaande stoffenregelgeving?

Recent hebben de Europese Commissie en de competente autoriteiten (CA's) van de EU lidstaten hun standpunt hierover ingenomen. Dit is vermeld in de 'Manual of Decisions for implementation of the sixth and seventh amendments to Directive 67/548/EEC on dangerous substances' (Directives 79/831/EEC AND 92/32/EEC) (EG, 2006a). Voor een vertaling hiervan: zie kader 'Stoffen in nanovorm'.

De achtergrond van dit standpunt is dat nanodeeltjes vaak geproduceerd worden uit bestaande stoffen, waarbij grootte en eigenschappen aangepast worden om de beoogde functie te kunnen vervullen. Dit wordt vergelijkbaar geacht met een metaal waarvan verschillende vormen (bijvoorbeeld blok of poeder) bestaan met verschillende karakteristieken, effecten en risico's, maar dat toch dezelfde bestaande stof is. Omdat de stof waaruit de nanodeeltjes gemaakt worden al op EINECS is vermeld, vallen de nieuwe nanodeeltjes onder de bestaande stoffenregelgeving.

#### **Stoffen in nanovorm**

De vraag is opgeworpen of stoffen in nanovorm beschouwd moeten worden als nieuwe of bestaande stoffen.

Overeengekomen is dat het doorslaggevende criterium of een nanomateriaal een nieuwe of bestaande stof is hetzelfde is als voor andere stoffen, dat wil zeggen of een stof wel of niet in EINECS is opgenomen.

Oftewel, stoffen in nanovorm die opgenomen zijn in EINECS (bijvoorbeeld titaniumdioxide) worden beschouwd als bestaande stoffen. Stoffen in nanovorm die niet in EINECS staan (bijvoorbeeld koolstof allotropen anders dan die zijn opgenomen in EINECS) worden beschouwd als nieuwe stoffen.

Nieuwe informatie over bestaande stoffen, inclusief stoffen in nanovorm, moet worden ingediend overeenkomstig Art. 7 van Verordening (EEG) nr. 793/93.

Nieuwe informatie over al kennisgegeven nieuwe stoffen, inclusief stoffen in nanovorm, moet worden ingediend overeenkomstig Art. 14 van Richtlijn 67/548/EEG.

Voor koolstof zijn wel verschillende vormen opgenomen in EINECS. Destijds was al bekend dat hiervan verschillende vormen met verschillende eigenschappen bestonden (bijvoorbeeld grafiet en diamant).

Nanodeeltjes hebben meestal ook andere eigenschappen dan de bulkstof, maar deze zijn niet opgenomen in EINECS, omdat deze deeltjes pas recent ontwikkeld zijn.

#### *Aanvullende informatie voor bestaande stoffen*

Wanneer een nanodeeltje als bestaande stof is ingedeeld, geldt artikel 7 van de Bestaande Stoffen regelgeving voor het aanvullen van eerder gerapporteerde informatie. De relevante punten uit dit artikel staan in het kader 'Artikel 7'.

#### Artikel 7

Actualisering van de verstrekte informatie en verplichting om bepaalde informatie uit eigen beweging te verstrekken

1. Fabrikanten en importeurs die overeenkomstig de artikelen 3 en 4 over een bepaalde stof informatie hebben verstrekt, actualiseren de aan de Commissie toegezonden informatie.

In het bijzonder stellen zij haar in voorkomend geval in kennis van:

- a) de nieuwe toepassingen van de stof waardoor de aard, vorm, hoogte of duur van de blootstelling van de mens of van het milieu aan deze stof op een essentiële wijze verandert;
- b) de nieuwe gegevens over de fysisch-chemische eigenschappen of de toxicologische dan wel de ecotoxicologische effecten wanneer deze relevant zijn voor de beoordeling van het potentiële risico van de stof;
- c) de wijziging van de voorlopige indeling volgens Richtlijn 67/548/EEG.

Zij moeten tevens de in de artikelen 3 en 4 bedoelde informatie met betrekking tot de geproduceerde of ingevoerde hoeveelheid om de drie jaar actualiseren, indien deze hoeveelheid niet langer in het in de overeenkomstig bijlage III of IV opgegeven bereik ligt.

2. Indien een fabrikant of importeur van een bestaande stof bekend raakt met gegevens op basis waarvan kan worden geconcludeerd dat de betreffende stof mogelijk een ernstig risico voor mens of milieu vormt, dient hij de Commissie en de Lidstaat waar hij is gevestigd onmiddellijk van deze informatie op de hoogte te brengen.

In artikel 7.1 staat dat alleen fabrikanten en importeurs die conform artikelen 3 en 4 gegevens over een bepaalde stof hebben verstrekt, de informatie moeten actualiseren. Dit houdt in dat de actualisering van data beperkt wordt tot fabrikanten en importeurs die in de drie jaar vóór de vaststelling van de verordening en/of in het jaar daarna ten minste eenmaal een bestaande stof als zodanig of in een preparaat in een hoeveelheid groter of gelijk aan 10 ton per jaar hebben geproduceerd of ingevoerd. Voor nanodeeltjes is deze drempelwaarde van 10 ton erg hoog gezien het feit dat bij gelijke massa het aantal nanodeeltjes over het algemeen 1000 maal groter is vergeleken bij 10 maal grotere deeltjes van dezelfde compositie. Het is dan ook de vraag of een drempelwaarde op basis van gewicht wel bruikbaar is voor nanodeeltjes.

Artikel 7.1a gaat over nieuwe toepassingen van de stof, die betrekking kunnen hebben op nanodeeltjes (bijvoorbeeld: zinkoxide is een bestaande stof, maar nanodeeltjes van zinkoxide is een nieuwe toepassing). Op dit moment worden stoffen ingedeeld op basis van industriële en gebruikscategorieën. Echter, deze categorieën zijn zodanig breed gedefinieerd dat nieuwe applicaties van stoffen, bijvoorbeeld in nanovorm, aan de aandacht ontsnappen waardoor deze door de mazen van de regelgeving glippen.

De nieuwe gegevens waarvan gesproken wordt in artikel 7.1b bevatten niet de specifieke eigenschappen van nanodeeltjes, zoals informatie over de deeltjesgrootte, oppervlakte of specifieke toxicologische informatie relevant voor nanodeeltjes.

In artikel 7.1c wordt verwezen naar de classificatie en labelling van stoffen. Deze is gebaseerd op eigenschappen zoals  $\log K_{ow}$  (octanol-water partiticoëfficiënt) en toxicologische gegevens gebaseerd op massa, welke mogelijk minder relevant zijn voor nanodeeltjes.

Afgezien van bovenstaande situaties waarin aanvullende informatie geleverd moet worden, moet een fabrikant of importeur van een bestaande stof onmiddellijk de autoriteiten inlichten wanneer blijkt dat de stof een ernstig risico voor de mens of het milieu vormt. Dit is vastgelegd in artikel 7.2.



*Aanvullende informatie voor nieuwe stoffen*

Stoffen in nanovorm die niet vermeld zijn in EINECS worden beschouwd als nieuwe stoffen. De datavereisten hangen af van het volume dat geproduceerd of geïmporteerd wordt (zie Wet Milieugevaarlijke Stoffen (67/548/EEG)). Voor al kennisgegeven nieuwe stoffen geldt artikel 14 van Richtlijn 67/548/EEG voor het verstrekken van aanvullende gegevens:

**Artikel 14****Bijwerken van de informatie**

1. Elke kennisgever van een stof waarvan reeds overeenkomstig artikel 7, lid 1, of artikel 8, lid 1, kennisgeving is gedaan, moet de bevoegde instantie waarbij de oorspronkelijke kennisgeving is ingediend, uit eigen beweging en onder zijn verantwoordelijkheid schriftelijk op de hoogte brengen van:

- veranderingen in de hoeveelheid per jaar of in het totaal van de hoeveelheden die door hem of, indien het om een buiten de Gemeenschap vervaardigde stof gaat en de kennisgever hiervoor als alleenvertegenwoordiger is aangewezen, door hem en/of door anderen in de handel worden gebracht;
- nieuwe kennis van de gevolgen van de stof voor mens en/of milieu waarvan ook de kennisgever redelijkerwijze kennis moet hebben gekregen;
- nieuwe gebruiksdoeleinden waarvoor de stof in de handel wordt gebracht en waarvan hij redelijkerwijze kennis moet hebben gekregen;
- wijzigingen in de samenstelling van de stof als bedoeld in bijlage VII A, VII B of VII C, punten 1.3;
- elke verandering in zijn hoedanigheid van bijvoorbeeld fabrikant of importeur.

2. Iedere importeur van een stof die door een buiten de Gemeenschap gevestigde fabrikant is vervaardigd en die deze stof invoert in het kader van een kennisgeving gedaan door een persoon die overeenkomstig artikel 2, lid 1, onder d), als enige vertegenwoordiger optreedt, moet zich ervan vergewissen dat die vertegenwoordiger over bijgewerkte gegevens beschikt over de hoeveelheden van de stof die de importeur in de Gemeenschap in de handel heeft gebracht.

Voor nanodeeltjes is van belang dat kennisgevers de autoriteiten moeten informeren wanneer nieuwe gegevens betreffende de effecten en gebruiken van de stof beschikbaar komen. Hiervoor gelden dezelfde opmerkingen als gemaakt voor bestaande stoffen, dat wil zeggen dat moet blijken of de huidige wijze van rapporteren van stoffeigenschappen en industriële en gebruikscategorieën bruikbaar is voor nanodeeltjes of dat specifieke gegevens voor stoffen in nanovorm gevraagd moeten worden.

Samenvattend kan gesteld worden dat de huidige regelgeving voor industriële chemicaliën (nieuwe en bestaande stoffen) afdoende zou moeten zijn om eventuele risico's van nanodeeltjes op te merken. De industrie moet de productie/import van relevante nanodeeltjes melden bij de autoriteiten en alle relevante informatie, benodigd voor het doen van een risicobeoordeling, verstrekken. Het is echter niet duidelijk in hoeverre de huidige datavereisten geschikt zijn voor nanodeeltjes. Ook is onduidelijk in hoeverre de industrie informatie over al geproduceerde/geïmporteerde nanodeeltjes daadwerkelijk geleverd heeft.

*Classificatie en labelling*

Binnen de EU worden stoffen geïdentificeerd op grond van hun intrinsieke gevaarseigenschappen. Richtlijn 67/548/EEG bevat bepalingen over de indeling, verpakking en etikettering van gevaarlijke stoffen die op de Europese markt gebracht zijn. De Preparaten Richtlijn 1999/45/EG (in Nederland geïmplementeerd in de Wet Milieugevaarlijke Stoffen) beschrijft methoden voor het indelen van mengsels van stoffen (preparaten). Annex I van Richtlijn 67/548/EEG is een openbare lijst van stoffen (niet van preparaten) met hun wettelijk verplichte indeling en etikettering (risico-, veiligheidszinnen en gevaarsymbolen). De lijst wordt regelmatig bijgewerkt (indelingen worden aangepast, stoffen worden toegevoegd of verwijderd).

Het indexnummer in Annex I wordt vaak gebruikt om onderscheid te maken tussen stoffen met een identiek EINECS/CAS nummer, maar die vanwege hun verschillende verschijningsvormen andere gevaarseigenschappen hebben (bijvoorbeeld metalen en metaalpoeder of stoffen en hun hydraten). De classificatie- en labellingmethodiek is dus wel geschikt voor stoffen met verschillende fysieke verschijningsvormen. Dit systeem zal waarschijnlijk ook toepasbaar zijn op nanodeeltjes met andere eigenschappen dan de bulkstof waar de deeltjes uit gemaakt zijn. Echter, de bruikbaarheid van de huidige

regels voor classificatie van nanodeeltjes moet geëvalueerd worden, alvorens duidelijk wordt of additionele richtlijnen ontwikkeld moeten worden.

### 9.3.2 REACH Verordening (EG nr. 1907/2006)

Per 1 juni 2007 is REACH (Registratie, Evaluatie, Autorisatie en Restricties van Chemische stoffen) van kracht. Hierdoor zal de huidige wetgeving voor nieuwe en bestaande stoffen per 1 juni 2008 ingetrokken worden en vervangen worden door REACH. De nieuwe verordening vervangt een deel van de Stoffen Richtlijn, de gehele Bestaande Stoffen Verordening en ook de gehele Verbodsrichtlijn met alle onderliggende richtlijnen en verordeningen. Met REACH ontstaat één enkel geïntegreerd systeem en zal het wettelijke verschil tussen nieuwe en bestaande stoffen verdwijnen. Een belangrijk verschil met de huidige regelgeving is dat de verantwoordelijkheid voor het veilig produceren, importeren en gebruiken van stoffen verschuift van de overheden naar de industrie.

In REACH zijn geen specifieke bepalingen voor nanodeeltjes opgenomen. Net als voor alle andere stoffen hebben producenten, importeurs of gebruikers zelf de verantwoordelijkheid om aan te tonen dat hun stof of nanodeeltje veilig gebruikt wordt. Hiertoe moeten zij voor elke stof die geproduceerd, geïmporteerd, of gebruikt wordt in hoeveelheden van 1 ton per jaar of meer (de stof zelf of in een preparaat), een registratiedossier opstellen en indienen bij de Europees Agentschap voor Chemische Stoffen in Helsinki, Finland. Dit dossier bevat een technisch dossier en een chemisch veiligheidsrapport (dit laatste alleen voor stoffen die de 10 ton per jaar per producent of importeur overschrijden).

Wanneer een stof als gevaarlijk wordt geclassificeerd volgens Stoffen Richtlijn 67/548/EEG of als PBT (persistent, bioaccumulerend en toxisch) of vPvB (zeer persistent en zeer bioaccumulerend), vraagt REACH producenten en importeurs om een blootstellingsscenario en een risicokarakterisatie op te stellen voor alle gebruikers van hun chemicaliën. Deze bevatten een beoordeling van het risico van het produceren en werken met de stof en welke maatregelen nodig zijn om dit op een voor mensen en het milieu veilige manier te kunnen doen. Of een specifiek scenario voor nanodeeltjes opgesteld moet worden, of dat kan worden volstaan met een meer generiek scenario dat bruikbaar is voor zowel de bulk als de nanovorm, is de verantwoordelijkheid van de producent of de leverancier. Echter, aangezien nog onduidelijk is of de PBT-beoordeling toepasbaar is op nanodeeltjes, is het nog maar de vraag of nanodeeltjes daadwerkelijk beoordeeld zullen worden op grond van blootstelling en risico. Gezien de hiaten in specifieke kennis van nanodeeltjes voor wat betreft hun toxicologische eigenschappen, is het mogelijk dat zij niet apart beoordeeld zullen worden als de bulkstof ongevaarlijk is.

Een ander belangrijke verschil met de Stoffen Richtlijn is de ondergrens voor de notificatie van nieuwe stoffen. Deze is 10 kg per jaar per producent of importeur onder de Stoffen Richtlijn, tegenover 1 ton per jaar onder REACH. Bezien moet worden of de drempelwaarde op basis van gewicht geschikt is voor nanodeeltjes, omdat een kleine massa nanodeeltjes nog steeds een groot aantal deeltjes betekent vergeleken bij deeltjes van grotere omvang.

In het concept 'Technical Guidance Document for identification and naming of substances in REACH' van november 2006 (EG, 2006b), opgesteld in het kader van REACH Implementation Project 3.10, is een tekst over nanodeeltjes opgenomen. Een vertaling hiervan is hieronder gegeven:

De huidige ontwikkelingen in nanotechnologie en inzichten in de gerelateerde effecten kunnen in de toekomst reden zijn voor additionele datavereisten over de deeltjesgrootte van de stoffen. De huidige staat van kennis is nog niet voldoende ontwikkeld om een richtsnoer voor de identificatie van stoffen in nanovorm in deze TGD op te nemen.

Hieruit blijkt dat nog niet duidelijk is of onder REACH stoffen in de nanovorm anders zullen worden behandeld dan de overige stoffen.

### **9.3.3 Verbodsrichtlijn (76/769/EEG)**

In deze richtlijn zijn de verboden of beperkingen bij het op de markt brengen en gebruiken van gevaarlijke stoffen en preparaten beschreven. Hierin zijn geen specifieke bepalingen voor nanodeeltjes opgenomen.

### **9.3.4 Cosmetica Richtlijn (76/768/EEG)**

In de Cosmetica Richtlijn zijn geen bepalingen speciaal voor nanodeeltjes opgenomen. Artikel 2 van deze richtlijn is net zo goed van toepassing op nanodeeltjes als op alle andere stoffen: 'Kosmetische producten die binnen de Gemeenschap in de handel worden gebracht, mogen de gezondheid van de mens niet schaden wanneer zij onder normale of redelijkerwijze te voorziene gebruiksvoorwaarden worden aangewend, met name rekening houdend met de aanbiedingsvorm van het product, de etikettering, de eventuele aanwijzingen voor het gebruik en de verwijdering ervan, alsmede elke andere aanwijzing of informatie die wordt verstrekt door de fabrikant of zijn gevolmachtigde of door ieder ander die verantwoordelijk is voor het op de gemeenschappelijke markt brengen van deze producten.'

### **9.3.5 Afvalstoffen Richtlijn (2006/12/EG)**

De Afvalstoffen Richtlijn bevat geen teksten die speciaal op nanodeeltjes van toepassing zijn.

### **9.3.6 Gewasbeschermingsmiddelen Richtlijn (91/414/EEG)**

Bij de toelating van bestrijdingsmiddelen zijn geen speciale dataverenisten voor middelen die nanodeeltjes bevatten. Wel moet altijd de deeltjesgrootteverdeling gerapporteerd worden (voor chemische preparaten en preparaten op basis van micro-organismen en virussen), waardoor de evaluerende instantie opmerkzaam gemaakt wordt op het gebruik van nanodeeltjes.

### **9.3.7 Biociden Richtlijn (98/8/EG)**

In de Biociden Richtlijn staan geen aparte voorschriften voor de evaluatie van nanodeeltjes. De deeltjesgrootteverdeling moet alleen gerapporteerd worden voor biociden op basis van preparaten van micro-organismen (inclusief schimmels en virussen) en niet voor chemische stoffen.

### **9.3.8 Geneesmiddelen Richtlijn (2001/83/EG)**

Het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (CBG) beoordeelt of een geneesmiddel op de Nederlandse markt mag worden gebracht. Volgens bijlage 1, deel 2, C, 1.3 moet de afmeting van de deeltjes, eventueel na verpulvering, gerapporteerd worden, echter alleen als verwacht wordt dat deze eigenschap de biologische beschikbaarheid beïnvloedt. Dit kan verwacht worden bij nanodeeltjes en daarom zal uit het dossier kunnen blijken wanneer nanodeeltjes gebruikt worden in een geneesmiddel.

### **9.3.9 Diergeneesmiddelen Richtlijn (2001/82/EG)**

De registratie van diergeneesmiddelen verloopt volgens de Diergeneesmiddelen Richtlijn (in Nederland uitgewerkt in de Diergeneesmiddelenwet). Hierin is vastgelegd hoe risico's voor mens en milieu door het achterblijven van diergeneesmiddelen en hun afbraakproducten in dierlijke producten (inclusief mest) worden beoordeeld. Afgaande op Artikel 2 van Titel II is de richtlijn evenzogoed van toepassing op nanodeeltjes als op bulkstoffen: 'Deze richtlijn is van toepassing op geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik die op de markt zullen worden gebracht met name in de vorm van geneesmiddelen, voorgemaakte geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik of voormengsels voor diervoeders met medicinale werking.' Evenals voor geneesmiddelen is ook voor diergeneesmiddelen de afmeting van deeltjes, eventueel na verpulvering, een datavereniste wanneer verwacht wordt dat dit invloed heeft op de biologische beschikbaarheid (bijlage 1, Titel I, Deel 2, C, 1.3). Dit is waarschijnlijk het geval bij nanodeeltjes. Wanneer stoffen in nanovorm toegepast worden in een diergeneesmiddel zal dat uit het dossier blijken.

De risicobeoordeling voor het milieu is opgedeeld in twee fasen. Fase 1 wordt gebruikt voor diergeneesmiddelen die toegepast worden op dieren die het hele jaar op stal staan. De concentratie van de stof in de bodem als gevolg van het uitrijden van de mest op het land wordt berekend en wanneer deze onder de drempelwaarde van 100 µg/kg droge stof blijft, is geen beoordeling voor de overige milieucompartmenten nodig. Wanneer de drempelwaarde wordt overschreden wordt wel een volledige

risicobeoordeling gedaan (fase 2). Dit geldt ook voor geneesmiddelen die gebruikt worden op dieren die het hele jaar of een deel van het jaar in de wei staan. De drempelwaarde op basis van massa kan een probleem vormen voor nanodeeltjes. Door de lage massa van nanodeeltjes zou het kunnen dat de drempelwaarde in de bodem vrijwel nooit wordt overschreden, terwijl het aantal deeltjes groot is. Overigens geldt voor bepaalde stoffen (bijvoorbeeld ontwormingsmiddelen), dat altijd een volledige risicobeoordeling (fase 2) uitgevoerd moet worden.

### **9.3.10 Medische hulpmiddelen Richtlijnen (90/385/EEG, 93/42/EEG en 98/79/EG)**

De Richtlijnen 90/385/EEG, 93/42/EEG en 98/79/EG zijn respectievelijk van toepassing op actieve implanteerbare medische hulpmiddelen, medische hulpmiddelen en medische hulpmiddelen voor in vitro-diagnostiek. In geen van deze richtlijnen zijn bepalingen opgenomen die specifiek van toepassing zijn op nanodeeltjes.

### **9.3.11 Novel Foods Verordening (EG nr. 258/97)**

Novel foods zijn in deze verordening gedefinieerd als ‘voedingsmiddelen en voedingsingrediënten die voor 15 mei 1997 niet in een significante mate voor menselijke voeding zijn gebruikt en die vallen onder de volgende categorieën:

- a) voedingsmiddelen en voedselingrediënten die genetisch gemodificeerde organismen in de zin van Richtlijn 90/220/EEG bevatten of die uit dergelijke organismen bestaan;
- b) voedingsmiddelen en voedselingrediënten die zijn geproduceerd met genetisch gemodificeerde organismen maar deze niet bevatten;
- c) voedingsmiddelen en voedselingrediënten met een nieuwe of doelbewust gemodificeerde primaire molecuulstructuur;
- d) voedingsmiddelen en voedselingrediënten bestaande of geïsoleerd uit micro-organismen, schimmels of algen;
- e) voedingsmiddelen en voedselingrediënten bestaande of geïsoleerd uit planten alsmede voedselingrediënten die uit dieren zijn geïsoleerd, met uitzondering van voedingsmiddelen en voedselingrediënten die volgens traditionele vermeerderings- of teeltmethodes zijn verkregen en die sinds lang veilig voor voedingsdoeleinden worden gebruikt;
- f) voedingsmiddelen en voedselingrediënten waarop een weinig gebruikt productieprocédé is toegepast, voor zover dit procédé wijzigingen in de samenstelling of de structuur van de voedingsmiddelen of voedselingrediënten veroorzaakt die significant zijn voor hun voedingswaarde, hun metabolisme of hun gehalte aan ongewenste stoffen.’

In de verordening worden geen specifieke eisen aan nanodeeltjes gesteld. Het is de vraag of de nanovorm van een stof die al langer in voeding gebruikt wordt als een nieuwe stof beschouwd zal worden. Wel zou categorie f van toepassing kunnen zijn op nanodeeltjes, omdat ze geproduceerd worden met een nieuwe technologie om nieuwe, karakteristieke eigenschappen te verkrijgen.

### **9.3.12 Voedseladditieven Richtlijn (EEG nr. 89/107) en Smaakstoffen Richtlijn (88/388/EEG)**

Voedseladditieven zijn gedefinieerd als ‘elke stof met of zonder voedingswaarde die op zichzelf gewoonlijk niet als voedsel wordt geconsumeerd en gewoonlijk niet als kenmerkend voedselingrediënt wordt gebruikt, en die om technische redenen bij het vervaardigen, verwerken, bereiden, behandelen, verpakken, vervoeren of opslaan van levensmiddelen bewust aan deze levensmiddelen wordt toegevoegd, met als gevolg of redelijkerwijs te verwachten gevolg dat de stof zelf dan wel de derivaten ervan, direct of indirect, een bestanddeel van die levensmiddelen worden.’ Smaakstoffen worden in een aparte richtlijn behandeld (Richtlijn 88/388/EEG). In geen van deze voorschriften zijn aanvullende bepalingen met betrekking tot nanodeeltjes opgenomen.

### 9.3.13 Veevoederadditieven Verordening (EG nr. 1831/2003)

Onder deze verordening vallen stoffen die doelbewust aan veevoerders worden toegevoegd om de kwaliteit en/of eigenschappen van het voer te verbeteren. Stoffen zijn toegelaten tot een bepaald maximumgehalte. De verordening bevat geen speciale bepalingen voor nanodeeltjes.

### 9.3.14 Verpakkingsmaterialen en -artikelen Verordening (EG nr. 1935/2004)

Met verpakkingsmaterialen en -artikelen worden in deze richtlijn verpakkingen bedoeld die gebruikt worden voor het verpakken van voedsel en drank voor humane consumptie. Deze worden beoordeeld op hun veiligheid in overeenstemming met drie Europese richtlijnen (in Nederland uitgewerkt in de Warenwet). Voor nanodeeltjes gelden geen specifieke eisen.

### 9.3.15 Overige initiatieven met betrekking tot wet- en regelgeving

Het OECD bestuur heeft recent een werkgroep voor nanodeeltjes opgericht (Working Party on Manufactured Nanomaterials, WPMN) als een ondersteunend orgaan voor het Chemicaliën Comité. De leden van het WPMN werd gevraagd een inventarisatie te maken van de ontwikkelingen op het gebied van nationale regelgeving voor de gezondheid van de mens en het milieu. De inventarisatie betrof ook aanbevelingen voor of discussies over het aanpassen van bestaande regelgeving of het opstellen van wetten, regelgeving of richtlijnen. De inventarisatie bracht geen ontwikkelingen binnen de EU-lidstaten op het gebied van regelgeving voor nanodeeltjes naar boven (OECD, 2006).

## 9.4 Aandacht voor negatieve effecten: wetenschap en publiek

Vanuit de wetenschap is er dus volop belangstelling voor deze nieuwe technologie in relatie tot negatieve effecten. De vraag is in hoeverre dit geleid heeft tot internationale samenwerking in onderzoeksprojecten. In de EU worden in het 6<sup>e</sup> en 7<sup>e</sup> Kaderprogramma projecten uitgevoerd waarin ook aandacht besteed wordt aan risicoschatting ten aanzien van nanotechnologie. Tijdens het laatste SETAC Europe congress (20 – 24 mei 2007, Porto) werd een exponentiële groei vermeld van het aantal sessies, platform- en posterpresentaties over nanotoxicologie vanaf 2004.

Publieke aandacht voor nanotechnologie is er eveneens, wellicht mede als gevolg van de beroemde publicatie van Drexler (1986) 'Engines of Creation: the coming era of nanotechnology.' Actiegroepen besteden ruim aandacht aan nanomaterialen. De milieuorganisaties ETC-group (2002, 2003, 2004) en Greenpeace (Arnall, 2003) hebben aandacht gevraagd voor de risico's van nanotechnologieën. De organisatie Friends of the Earth waarschuwde 16 mei 2006 tegen zonnebrandcrème waarin nanotechnologie verwerkt is (FoE, 2006a). Kort daarna riep FoE, in navolging van de ETC-group, op tot een moratorium van nanoprodukten (FoE, 2006b) en op 20 april was er een persbericht waarin een rapport aangekondigd werd dat waarschuwde tegen toepassing van nanozilver (FoE, 2007). Zilver is een zeer giftig element dat al in de Romeinse tijd als desinfectans werd toegepast, nanozilver is zeer waarschijnlijk aanzienlijk giftiger. Dit heeft tot de behoefte geleid om de maatschappelijke inbedding van nanotechnologieën beter ter hand te nemen dan destijds bij de biotechnologie is gebeurd. Met dit oogmerk hebben onder meer de COGEM (Kampers, 2004) en de KNAW (KNAW, 2004) rapporten uitgebracht en spant het Rathenau Instituut zich in om het publiek te informeren en te betrekken bij een discussie over deze onderwerpen (Kern et al., 2007).

Internationaal besteden milieuministeries en agentschappen veel aandacht aan nanotechnologie en *risk governance*, zoals blijkt uit de White Paper Nanotechnology van het U.S. Environmental Protection Agency (USEPA, 2007). In Nederland heeft de regering haar standpunt in deze kenbaar gemaakt (Kabinet, 2006).

## 9.5 Het standpunt binnen de EU: activiteiten en de positie van de Europese Raad

De Europese Commissie doet een beroep op de lidstaten om a) een inventarisatie te maken van het gebruik van en blootstelling aan nanomaterialen, b) de nationale wetgeving te beoordelen en, waar nodig, aan te passen, c) met nanodeeltjes rekening te houden bij handhaving van de kennisgevingsregeling voor nieuwe stoffen (Richtlijn 67/548/EEG) en d) steun te verlenen aan de vaststelling van de universeel erkende registratienummers van de Chemical Abstract Service en aan de veiligheidsinformatiebladen (Material Safety Datasheets) voor nanomaterialen.

### *De opinie van SCENIHR*

In maart 2007 publiceerde de SCENIHR (2007) als opinie dat voor de gezondheidsrisico's de huidige methodieken beschreven in de TGD's over het algemeen waarschijnlijk geschikt zijn om de gevaren van nanodeeltjes te signaleren. Voor blootstelling van het milieu is het onduidelijk of de huidige methodieken valide of geschikt zijn. Zoals het voor bulk- chemicaliën mogelijk is om op basis van algemene wetmatigheden een predicted Environmental Concentration (PEC) af te leiden waarin rekening gehouden wordt met intercompartimentaal transport en afbraak, is dat voor nanodeeltjes op dit moment niet mogelijk.

## 9.6 Conclusies

1. Nanodeeltjes zijn in de zin van de EU-regelgeving normale chemische stoffen. Beoordeling van de milieu- en gezondheidsrisico's zou binnen de bestaande kaders moeten worden uitgevoerd. De hiervoor in de Technical Guidance Documents (TGD) beschikbare methoden lijken echter niet zonder meer toepasbaar op nanodeeltjes. Nanodeeltjes behoren daarmee minstens tot de categorie 'moeilijke stoffen', die *case-by-case* beoordeling vergen.
2. Regels voor de productie, import en het gebruik van stoffen, en dus ook stoffen in nanovorm, zijn in meerdere wettelijke kaders vastgelegd. Dit zou autoriteiten de mogelijkheid moeten geven om potentiële risico's van nanodeeltjes te voorkomen. Het is echter de vraag of altijd duidelijk is dat het om nanodeeltjes gaat, aangezien niet altijd de deeltjesgrootteverdeling gerapporteerd moet worden. Ook is er een drempelwaarde voor verscherpte regelgeving bij een productie van 10 ton per jaar, wat voor nanodeeltjes nogal hoog is.
3. De nieuwe gegevens die in artikel 7.1b van de Bestaande Stoffen regelgeving genoemd worden, zouden wellicht uitgebreid moeten worden om de specifieke eigenschappen van nanodeeltjes af te dekken. Gedacht kan worden aan informatie over de deeltjesgrootte, oppervlakte, of specifieke toxicologische informatie relevant voor nanodeeltjes.
4. In de regelgeving opgenomen drempelwaarden zijn doorgaans uitgedrukt als (massa) dosis of concentratie. Voor nanodeeltjes is dat niet afdoende. Vermelding van vorm, grootte en mogelijk andere relevante eigenschappen van de deeltjes zouden daarbij moeten worden opgenomen, bijvoorbeeld als aantal deeltjes of oppervlakte van belang zijn voor beoordeling van de risico's. Ondanks het feit dat geen specifieke eisen aan nanodeeltjes gesteld worden, is in veel regelingen een zorgplicht opgenomen. Fabrikanten en importeurs hebben daardoor de verantwoordelijkheid om in actie te komen wanneer ze vermoeden dat hun stof schade toebrengt aan mens of milieu. Dit zou in principe eventuele risico's van nanodeeltjes moeten ondervangen.

## 10 Conclusies

De in de verschillende hoofdstukken geformuleerde antwoorden op de onderzoeksvragen worden hier samengenomen.

### Analyses

- Welke methodes zijn er om nanodeeltjes te meten in water?
- 1. Er zijn nog geen routinematig toepasbare methoden om de gehalten aan nanodeeltjes in watermonsters te bepalen.
- 2. Een groot scala aan specifieke en aspecifieke analysemethodieken is in potentie beschikbaar, maar deze methodieken zijn op dit moment op zijn best geschikt voor een kwalitatieve bepaling van het al dan niet aanwezig zijn van (geaggregeerde) nanodeeltjes in watermonsters.

### Bronnen en emissies

- Wat zijn de bronnen?
- Hoe (groot) zijn de emissies (route)?
- Welke nanodeeltjes zijn te verwachten in het aquatisch milieu, in drinkwater, afvalwater?
- 3. Er zijn geen analyses bekend op grond waarvan goede schattingen van emissies van nanodeeltjes naar water kunnen worden gemaakt.
- 4. Verwacht wordt dat de grootste emissies optreden tijdens de gebruiks- en afvalfasen van nanomaterialen. In het algemeen zal het dan gaan om diffuse emissies. Of daarbij vrije, enkelvoudige nanodeeltjes in het milieu vrijkomen is echter zeer de vraag. Emissies in de productiefase worden klein verondersteld. Echter, de waarschijnlijkheid dat deze emissies uit vrije nanodeeltjes bestaan is groter dan voor emissies tijdens gebruik en afvalverwerking.
- 5. Toepassingen van nanotechnologie die mogelijk tot relatief grote emissies naar water aanleiding kunnen geven zijn de toepassing van nanodeeltjes als UV-blocker in zonnebrandmiddelen, toepassing bij waterzuivering en bodemsanering, additieven voor dieselbrandstof en wellicht nieuwe toepassingen als bestrijdingsmiddel in de landbouw.

### Gedrag in het aquatisch milieu

- Hoe is het gedrag van nanodeeltjes in water (in relatie tot chemische stoffen, colloïd- chemie)?
- Kan de aanwezigheid van nanodeeltjes het gedrag van andere stoffen beïnvloeden in het milieu, of bij de zuivering van afvalwater en drinkwater?
- 6. Nanodeeltjes zijn in het algemeen slecht oplosbaar in water. Alleen door interactie met elkaar of met andere in water aanwezige deeltjes kunnen ze uit water verdwijnen.
- 7. Kleine nanodeeltjes zullen slecht bezinken uit water. Alleen grote (clusters van) deeltjes met typische diameters > 1 micrometer zullen sedimenteren.
- 8. Er wordt in de literatuur vrijwel niets vermeld over de mate waarin nanodeeltjes in natuurlijk water klonteren/uitvlokken en sedimenteren. Het is daarom onbekend welke consequenties emissies naar water kunnen hebben voor het voorkomen van vrije enkelvoudige nanodeeltjes in water.
- 9. Nanodeeltjes in water zouden zich moeten gedragen volgens de goed bekende regels van de colloïdchemie. Schaarse experimenten geven aanleiding te vermoeden dat de bekende wetmatigheden wellicht niet zonder meer toepasbaar zijn op nanoschaal. Vooral nog is de toepasbaarheid van de colloïdchemische wetmatigheden voor beschrijving/voorspelling van het (uitvlok)gedrag van nanodeeltjes in water gering. In de wetenschap is het namelijk nog de vraag of nanodeeltjes niet te klein zijn om met de gangbare wetmatigheden uit de colloïdchemie te kunnen worden beschreven.
- 10. Door hun grote specifieke oppervlak hebben nanodeeltjes grote potentie als adsorbens voor in water opgeloste stoffen en als katalysator voor in water optredende reacties. Deze eigenschappen worden benut in de waterbehandeling.  
Of dezelfde eigenschappen van nanodeeltjes het gedrag van opgeloste stoffen in natuurlijke watersystemen kunnen beïnvloeden is nog geheel onduidelijk.

### Toepassingen

- Welke mogelijkheden zijn er voor het gebruik van nanodeeltjes bij de zuivering van afvalwater en/of in de drinkwaterbereiding. En hoe staat het met octrooien en patenten op dit gebied?
  - Kan de eventuele toepassing van nanodeeltjes bij de zuivering van afvalwater en/of drinkwater ook nadelige gevolgen hebben?
11. De ontwikkelingen op het gebied van nanotechnologie hebben nog niet geleid tot grootschalige praktijktoepassingen. Uit het overzicht in dit hoofdstuk blijkt echter dat het laatste decennium veel onderzoek gedaan is naar toepassing van nanodeeltjes. Onderzoek heeft wel aangetoond dat de nanodeeltjes een grote potentie hebben. Een doorbraak mag binnen een aantal jaren verwacht worden. Een aantal toepassingen springt daarbij in het oog:
- Ontwikkeling van nieuwe membraanmaterialen waarin nanodeeltjes zijn toegepast. Membraanfiltratie wordt al op relatief grote schaal toegepast in de waterzuivering. Membraanfiltratie kent echter een aantal belangrijke nadelen: vervuiling, hoog energieverbruik en concentraat. Door toepassing van nanodeeltjes kan voor de eerste twee nadelen een belangrijke verbetering worden verwacht. De ontwikkeling van op nanodeeltjes gebaseerde ontzoutingsmembranen tot commercieel product is inmiddels op gang gekomen. De marktintroductie wordt over 1 à 2 jaar verwacht (Abraham, 2006). Inmiddels wordt voorgesteld om toepassing van dit membraan voor zeewaterontzouting te onderzoeken (WDR, 2007)
  - Nanodeeltjes als adsorbens voor zware metalen zijn eveneens veelbelovend. Inzet van magnetische ijzeroxide-deeltjes voor verwijdering van arseen kan op vele plaatsen op de wereld worden ingezet om problemen met arseen te verminderen. In Nederland is arseen geen groot probleem, maar op wereldschaal zal zeker een doorbraak op dit vlak plaatsvinden.
  - Katalytisch actieve deeltjes, zowel oxidatief als reductief zijn veelbelovend. Hoewel er veel onderzoek plaatsvindt naar toepassingen van fotochemische oxidatie met UV en TiO<sub>2</sub>, verwachten wij dat dit proces niet zal worden ingezet voor grootschalige drinkwaterproductie. De efficiëntie van het proces is naar verwachting vrij laag, waardoor erg grote reactoren en veel energie nodig zijn. Voor kleinschalige en meer specifieke toepassing heeft het proces echter wel potentie. Reductieve deeltjes zoals metallisch ijzer, hebben veel potentie voor de verwijdering van gechloreerde koolwaterstoffen. Deze deeltjes kunnen daardoor mogelijk worden ingezet voor desinfecteernevenproducten, zoals trihalomethanen en bromaat V.
12. Nanodeeltjes in het ruwe water zullen vermoedelijk goed verwijderd worden. De verwachting is dat nanodeeltjes niet stabiel zijn in de bronnen voor drinkwaterproductie. Ze zullen hechten aan grotere deeltjes of met macromoleculaire organische stof uitvlokken en zodoende voorkomen als grotere clusters die de zuivering niet kunnen passeren, zodat ze niet in het geproduceerde drinkwater terechtkomen.
13. Toepassing van nanodeeltjes in de drinkwaterproductie en afvalwater kan een bron zijn van nanodeeltjes in het geproduceerde drinkwater. Indien de nanodeeltjes geïmmobiliseerd zijn in andere materialen, zoals membranen of ionenwisselaars, is de kans echter gering dat uitloging naar het water plaatsvindt. Bij toepassing van 'vrije' nanodeeltjes, zoals ijzeroxiden als adsorbens, is het wel van belang om een goede afscheiding van de deeltjes te bewerkstelligen. Aandacht hiervoor bij het ontwerp en de ontwikkeling van nieuwe zuiveringsprocessen waarbij nanodeeltjes worden toegepast, is daarom van groot belang.

### Effecten eco

- Welke effecten kunnen nanodeeltjes veroorzaken bij aquatische organismen?
14. Het onderzoek naar de ecotoxiciteit van nanodeeltjes staat nog in de kinderschoenen. De onderzoeksresultaten zijn schaars en er worden schijnbaar tegenstrijdige resultaten gerapporteerd van studies waarop veel inhoudelijke kritiek wordt gegeven.
15. Experimenteel waargenomen ecotoxiciteit van nanodeeltjes lijkt afhankelijk van de manier waarop de preparaten worden behandeld. Kennelijk zijn de feitelijke blootstellingsconcentraties in de onderzochte media door de onderzoekers nog niet goed in te schatten.
16. De beschikbare laboratoriumwaarnemingen geven aan dat effecten op aquatische organismen vooralsnog niet moeten worden uitgesloten.
17. Op basis van de in de literatuur beschikbare informatie kan niet worden gezegd óf, en zo ja, in welke mate, er onder natuurlijke omstandigheden daadwerkelijke effecten van nanodeeltjes op (delen van) ecosystemen kunnen optreden.



### Effecten mens

- Welke effecten kunnen nanodeeltjes veroorzaken bij de mens in relatie tot drinkwaterconsumptie?
18. Er zijn nog geen gevalideerde meetmethoden beschikbaar voor het meten van de interne concentraties van nanodeeltjes (organen, bloed). Zonder deze kunnen essentiële kinetische gegevens (absorptie, distributie, metabolisme en excretie) niet worden bepaald.
  19. Nanodeeltjes kunnen in principe door de darmwand worden opgenomen en zo het lymfesysteem bereiken. Vanaf daar kunnen nanodeeltjes in de bloedsomloop terecht komen en zich verspreiden over het lichaam. In de beschikbare studies zijn deeltjes teruggevonden in diverse organen zoals hart, lever, milt, nieren en beenmerg. Er zijn aanwijzingen dat nanodeeltjes biologische barrières, zoals de bloed-hersen-barrière, kunnen passeren. Ook moet worden aangenomen dat nanodeeltjes door de placenta in de foetus terecht kunnen komen. Het lijkt erop dat op cellulair niveau het celmembraan geen barrière vormt voor het binnendringen van nanodeeltjes. Eenmaal binnen de cel is een groot aantal interacties met subcellulaire structuren denkbaar.
  20. Biologisch afbreekbare nanodeeltjes worden gemetaboliseerd en uitgescheiden. Over het lot van niet-biologisch afbreekbare nanodeeltjes is echter weinig bekend.
  21. Het is niet duidelijk of en in welke mate het voorkomen van nanodeeltjes op diverse plaatsen in het menselijk lichaam leidt tot ongewenste (gezondheids)effecten.  
Een aannemelijk effect van nanodeeltjes is de inductie van reactieve zuurstofradicalen gevolgd door oxidatieve stress in cellen en organen. De resultaten van de beschikbare orale studies laten zien dat, afhankelijk van de deeltjesgrootte en chemische samenstelling van de nanodeeltjes, effecten worden waargenomen na acute hoge blootstelling. Veranderingen werden voornamelijk waargenomen in de lever en de nier, maar ook in het bloed, het hart en de milt. Er is geen relevante informatie beschikbaar over acute of langduriger orale blootstelling aan lagere, meer relevante concentraties nanodeeltjes.

### Beleid, maatschappelijke ontwikkelingen

- Zijn beoordelingsmethoden voor stoffen (EU) toepasbaar op nanodeeltjes?
  - Wet- en regelgeving, ontwikkelingen in toelatingsbeleid (wordt er al aandacht aan besteed, hoe vindt toelating plaats, in hoeverre is huidige regelgeving voor stoffen 'toepasbaar' op nanodeeltjes?)
  - Waar en hoe is er aandacht voor de nadelige effecten voor mens en milieu (water) van nanodeeltjes; onderzoeksprojecten (inter)nationaal, politieke aandacht (milieubeweging/actiegroepen). Valt er iets te leren vanuit de discussie in het verleden omtrent biotechnologie?
  - Welke activiteiten zijn er en hoe is de stand van zaken binnen de EU (zogenaamde green/white paper, onderzoeksprojecten, standpunt Europese Raad, standpunt Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks)?
22. Nanodeeltjes zijn in de zin van de EU-regelgeving normale chemische stoffen. Beoordeling van de milieu- en gezondheidsrisico's zou binnen de bestaande kaders moeten worden uitgevoerd. De hiervoor in de Technical Guidance Documents (TGD) beschikbare methoden lijken echter niet zonder meer toepasbaar op nanodeeltjes. Nanodeeltjes behoren daarmee minstens tot de categorie 'moeilijke stoffen', die *case-by-case* beoordeling vergen.
  23. Regels voor de productie, import en het gebruik van stoffen, en dus ook stoffen in nanovorm, zijn in meerdere wettelijke kaders vastgelegd. Dit zou autoriteiten de mogelijkheid moeten geven om potentiële risico's van nanodeeltjes te voorkomen. Er is echter een drempelwaarde voor verscherpte regelgeving bij een productie van 10 ton per jaar, wat voor nanodeeltjes nogal hoog is.
  24. De nieuwe gegevens die in artikel 7.1b van de Bestaande Stoffen regelgeving genoemd worden, zouden wellicht uitgebreid moeten worden om de specifieke eigenschappen van nanodeeltjes af te dekken. Gedacht kan worden aan informatie over de deeltjesgrootte, oppervlakte of specifieke toxicologische informatie relevant voor nanodeeltjes.  
In de Diergeneesmiddelen Richtlijn (2001/82/EG) wordt bepaald dat voor bepaalde stoffen (bijvoorbeeld ontwormingsmiddelen) altijd een volledige risicobeoordeling
  25. (fase 2) uitgevoerd moet worden. Zo'n uitzondering zou ook voor nanodeeltjes gemaakt kunnen worden.
  26. In de regelgeving opgenomen drempelwaarden zijn doorgaans uitgedrukt als (massa) dosis of concentratie. Voor nanodeeltjes is dat niet afdoende. Vermelding van vorm, grootte en mogelijk andere relevante eigenschappen van de deeltjes zou daarbij moeten worden opgenomen, bijvoorbeeld als het aantal deeltjes of de oppervlakte van belang zijn voor beoordeling van de risico's. Ondanks het feit dat geen specifieke eisen aan nanodeeltjes gesteld worden, is in veel regelingen een zorgplicht opgenomen.

Fabrikanten en importeurs hebben daardoor de verantwoordelijkheid om in actie te komen wanneer ze vermoeden dat hun stof schade toebrengt aan mens of milieu. Dit zou in principe eventuele risico's van nanodeeltjes moeten ondervangen.

## Literatuur

- Abraham, M. (2006). Today's seawater is tomorrow's drinking water: UCLA engineers develop nanotech water desal membrane, Internet, UCLA Engineering News Center. URL: [http://www.engineer.ucla.edu/news/2006/Desal\\_Membrane.htm](http://www.engineer.ucla.edu/news/2006/Desal_Membrane.htm)
- Allen TM en Cullis PM (2004). Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science* 303 1818-1822.
- Allianz (2005). Small sizes matter: Opportunities and risk of Nanotechnologies. München: Report in cooperation with the OECD International Future Programme.
- Arnall AH. (2003). Future Technologies, Today's Choices. Nanotechnology, Artificial Intelligence and Robotics; a technical, political and institutional map of emerging technologies. Londen, Greenpeace Environmental Trust.
- Bae, E. en Choi, W. (2003). Highly enhanced photoreductive degradation of perchlorinated compounds on dye-sensitized metal/TiO<sub>2</sub> under visible light, *Environmental Science & Technology* 37, 147-152.
- Bae, T. en Tak, T. (2005). Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on fouling mitigation of ultrafiltration membranes for activated sludge filtration, *J. Membr. Sci.* 249, 1-8.
- Barrett EG, Johnston C, Oberdorster G, Finkelstein J N (1999). Silica binds serum proteins resulting in a shift of the dose-response for silica-induced chemokine expression in an alveolar type II cell line. *Toxicol Appl Pharmacol* 161, 111-22.
- Bichii, A. K. (2007). Application of ceramic microfiltration membranes for surface water treatment, Master's thesis, Unesco-IHE, Kiwa Water Research Report BTO 2007.005(s).
- Birdi, KS. 2003. Chemical Physics of Colloid Systems and Interfaces, 5.4 Surface Forces. In Birdi, KS (ed) *Handbook of surface and colloid chemistry*, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. pp 189-214.
- Borm PJA, Robbins D, Haubold S, Kuhlbusch T, Fissan H, Donaldson K, Schins R, Stone V, Kreyling W, Lademann J, Krutmann J, Warheit D, Oberdorster E. (2006). The potential risks of nanomaterials; a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology*, 3, 11.
- Bosman SJ, Nieto SP, Patton WC, Jacobson JD, Corselli JU, Chan PJ (2005). Development of mammalian embryos exposed to mixed-size nanoparticles. *Clin Exp Obstet Gynecol* 32, 222-224.
- Bottero, J.; Rose, J. en Wiesner, M. R. (2005), 'Nanotechnologies: Tools for Sustainability in a New Wave of Water Treatment Processes', *Integrated Environmental Assessment and Management* 2(4), 391-395.
- Brown JS, Zeman KL, Bennett WD (2002). Ultrafine particle deposition and clearance in the healthy and obstructed lung. *Am J Respir Crit Care Med* 166, 1240-1247.
- Carrero-Sanchez JC, Elias AL, Mancilla R, et al. (2006). Biocompatibility and toxicological studies of carbon nanotubes doped with nitrogen. *Nano-Letters*. 6 1609-1616.
- Chen HH, Yu C, Ueng TH, et al. (1998). Acute and subacute toxicity study of water-soluble polyalkylsulfonated C<sub>60</sub> in rats. *Toxicol Pathol* 26, 143-151.
- Chen Z, Meng H, Xing G, et al. (2006) Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicology Letters* 163, 109-120.

CHM (2006). Committee on Human Medicines. The toxicology of nanoparticles used in healthcare products. 14 September 2006: Note for CHM information and advice from Sandra Costigan, Device Technology & Safety (DTS).

Cohen Stuart M (2007). Interview met J. Struijs en J. Quik op 21 juni 2007 te Wageningen.

Coyle P, Philcox JC, Carey LC, Rofe AM (2002). Metallothionein: the multipurpose protein. *Cell Mol Life Sci* 59, 627-47.

Davies JM (2007). Citaat van W.H. Rumsfeld. How to Assess the Risks of Nanotechnology: Learning from Past Experience. *J. Nanosci and Nanotechnol.*, 7, 402-409.

De Hollander AEM en Hanemaaijer AH (2003). Nuchter omgaan met risico's. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. Bilthoven. RIVM rapport 251701047.

De Jong WH, Krystek P, Hagens W I, de la Fonteyne LJJ, Verharen HW, Burger MC, Riool-Nesselaar G, Geertsma RE, Sips AJAM (2007). Size effects of gold nanoparticles on organ distribution as determined by ICP-MS. (Article in preparation)

DEFRA (2005). Characterising the potential risks posed by engineered nanoparticles. A first UK Government research report. London.

DeMarco, M. J.; SenGupta, A. K. en Greenleaf, J. E. (2003). Arsenic removal using polymeric/inorganic hybrid sorbent. *Water Research* 37, 164-176.

Des Rieux A, Fievez V, Garinot M, Schneider YJ, Preat V (2006). Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines : a mechanistic approach. *J Control Release* 116, 1-27

Desai MP, Labhasetwar V, Amidon GL, Levy RJ (1996). Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. *Pharm Res* 13, 1838-1845.

Dreher KL (2004). Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles. *Toxicological Sciences* 77, 3-5.

Drexler KE (1986). *Engines of Creation: the coming era of Nanotechnology*. New York: Anchor Books.

EEG (1967). Richtlijn 67/548/EEG van de Raad van 27 juni 1967 betreffende de aanpassing van de wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen inzake de indeling, de verpakking en het kenmerken van gevaarlijke stoffen (PB 196 van 16.08.1967, blz. 1). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31967L0548:NL:HTML> [Benaderd: 5 juni 2007].

EEG (1976a). Richtlijn van de Raad van 27 juli 1976 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake cosmetische producten (76/768/EEG) (PB L 262 van 27.9.1976, blz. 169). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1976/L/01976L0768-20060809-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EEG (1976b). Richtlijn van de Raad van 27 juli 1976 betreffende de onderlinge aanpassing van de wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen der Lid-Staten inzake de beperking van het op de markt brengen en van het gebruik van bepaalde gevaarlijke stoffen en preparaten (76/769/EEG) (PB L 262 van 27.9.1976, blz. 201). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1976/L/01976L0769-20060224-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EEG (1988). Richtlijn van de Raad van 22 juni 1988 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake aroma's voor gebruik in levensmiddelen en de uitgangsmaterialen voor de bereiding van die aroma's (88/388/EEG) (PB L 184 van 15.7.1988, blz. 61). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1988/L/01988L0388-20031120-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EEG (1989). Richtlijn van de Raad van 21 december 1988 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake levensmiddelenadditieven die in voor menselijke voeding bestemde waren mogen worden gebruikt (89/107/EEG) (PB L 40 van 11.2.1989, blz. 27). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1989/L/01989L0107-20031120-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EEG (1990). Richtlijn van de Raad van 20 juni 1990 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen van de Lid-Staten inzake actieve implanteerbare medische hulpmiddelen (90/385/EEG) (PB L 189 van 20.7.1990, blz. 17). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1990/L/01990L0385-20031120-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EEG (1991). Richtlijn van de Raad van 15 juli 1991 betreffende het op de markt brengen van gewasbeschermingsmiddelen (91/414/EEG) (PB L 230 van 19.8.1991, blz. 1). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1991/L/01991L0414-20060801-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EEG (1993a). Verordening (EEG) Nr. 793/93 van de Raad van 23 maart 1993 inzake de beoordeling en de beperking van de risico's van bestaande stoffen (PB L 84 van 5.4.1993, blz. 1). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1993/R/01993R0793-20031120-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EEG (1993b). Richtlijn 93/42/EEG van de Raad van 14 juni 1993 betreffende medische hulpmiddelen (PB L 169 van 12.7.1993, blz. 1). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1993/L/01993L0042-20031120-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (1997). Verordening (EG) nr. 258/97 van het Europees Parlement en de Raad van 27 januari 1997 betreffende nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedselingredienten (PB L 43 van 14.2.1997, blz. 1). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1997/R/01997R0258-20040418-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (1998a). Richtlijn 98/8/EG van het Europees Parlement en de Raad van 16 februari 1998 betreffende het op de markt brengen van biociden (PB L 123 van 24.4.1998, blz. 1). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1998/L/01998L0008-20060619-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (1998b). Richtlijn 98/79/EG van het Europees Parlement en de Raad van 27 oktober 1998 betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek (PB L 331 van 7.12.98, blz. 1). Beschikbaar op: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/1998/l\\_331/l\\_33119981207nl00010037.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/1998/l_331/l_33119981207nl00010037.pdf) [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (1999). Richtlijn 1999/45/EG van het Europees Parlement en de Raad van 31 mei 1999 betreffende de onderlinge aanpassing van de wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen van de lidstaten inzake de indeling, de verpakking en het kenmerken van gevaarlijke preparaten (PB L 200 van 30.7.1999, blz. 1). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/1999/L/01999L0045-20060213-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (2001). Richtlijn 2001/83/EG van het Europees Parlement en de Raad van 6 november 2001 tot vaststelling van een communautair wetboek betreffende geneesmiddelen voor menselijk gebruik (PB L 311 van 28.11.2001, blz. 67). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/2001/L/02001L0083-20030701-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (2003). Verordening (EG) Nr. 1831/2003 van het Europees Parlement en de Raad van 22 september 2003 betreffende toevoegingsmiddelen voor diervoeding (Voor de EER relevante tekst) (PB L 268 van 18.10.2003, blz. 29). Beschikbaar op: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/consleg/2003/R/02003R1831-20050325-nl.pdf> [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (2004a). Richtlijn 2004/28/EG van het Europees Parlement en de Raad van 31 maart 2004 tot wijziging van Richtlijn 2001/82/EG tot vaststelling van een communautair wetboek betreffende geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik (PB L 136 van 30.4.2004, blz. 58). Beschikbaar op: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/2004/l\\_136/l\\_13620040430nl00580084.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/2004/l_136/l_13620040430nl00580084.pdf) [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (2004b). Verordening (EG) nr. 1935/2004 van het Europees Parlement en de Raad van 27 oktober 2004 inzake materialen en voorwerpen bestemd om met levensmiddelen in contact te komen en houdende intrekking van de Richtlijnen 80/590/EEG en 89/109/EEG (PB L 338 van 13.11.2004, blz. 4). Beschikbaar op: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/2004/l\\_338/l\\_33820041113nl00040017.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/2004/l_338/l_33820041113nl00040017.pdf) [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (2006a). Manual of Decisions for implementation of the sixth and seventh amendments to Directive 67/548/EEC on dangerous substances (Directives 79/831/EEC AND 92/32/EEC) (non-confidential version). Update van 3 juli 2006. Beschikbaar op: [http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/New-Chemicals/Manual\\_of\\_decisions.pdf](http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/New-Chemicals/Manual_of_decisions.pdf) [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (2006b). Europese Commissie (2006), CWG/43/2006 Annex. Technical Guidance Document for identification and naming of substances in REACH. Draft for CWG consultation 22-24/11/2006. REACH Implementation Project 3.10. Beschikbaar op: [http://ecb.jrc.it/documents/REACH/RIP\\_FINAL\\_REPORTS/RIP\\_3.10\\_SUBSTANCE\\_IDENTITY/CWG-43-2006-ANNEX\(RIP-3-10\\_TGD-Substance-Identity\).pdf](http://ecb.jrc.it/documents/REACH/RIP_FINAL_REPORTS/RIP_3.10_SUBSTANCE_IDENTITY/CWG-43-2006-ANNEX(RIP-3-10_TGD-Substance-Identity).pdf) [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (2006c). Richtlijn 2006/12/EG van het Europees Parlement en de Raad van 5 april 2006 betreffende afvalstoffen (PB L 114 van 27.4.2006, blz. 9). Beschikbaar op: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/2006/l\\_114/l\\_11420060427nl00090021.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/2006/l_114/l_11420060427nl00090021.pdf) [Benaderd: 5 juni 2007].

EG (2006d). Verordening (EG) nr. 1907/2006 van het Europees Parlement en de Raad van 18 december 2006 inzake de registratie en beoordeling van en de autorisatie en beperkingen ten aanzien van chemische stoffen (REACH), tot oprichting van een Europees Agentschap voor chemische stoffen, houdende wijziging van Richtlijn 1999/45/EG en houdende intrekking van Verordening (EEG) nr. 793/93 van de Raad en Verordening (EG) nr. 1488/94 van de Commissie alsmede Richtlijn 76/769/EEG van de Raad en de Richtlijnen 91/155/EEG, 93/67/EEG, 93/105/EG en 2000/21/EG van de Commissie (PB L 396 van 30.12.2006, blz. 1). Beschikbaar op: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/2006/l\\_396/l\\_39620061230nl00010848.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/nl/oj/2006/l_396/l_39620061230nl00010848.pdf) [Benaderd: 5 juni 2007].

EINECS. European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances. Beschikbaar op: <http://ecb.jrc.it/esis/index.php?PGM=ein> [Benaderd: 5 juni 2007].

Elliot, D. W. en Zhang, W. (2001). 'Field assessment of nanoscale bimetallic particles for groundwater treatment. *Environ. Sci. Technol.* 35, 4922-4926.

ETC (2002). No Small Matter! Nanotech Particles Penetrate Living Cells and Accumulate in Animal Organs. ETC Group, May/June 2002. <http://www.etcgroup.org>

ETC (2003). Size Matters! No Small Matter II: The Case for a Global Moratorium. Occasional Paper Series Volume 7, No. 1, April 2003. <http://www.etcgroup.org>

ETC (2004). The Little Big Down: A Small Introduction to Nano-scale Technologies. ETC Group, June 2004. <http://www.etcgroup.org>

ETC group (2004). Down on the farm: The impact of nano-scale technologies on food and agriculture. Nov 23, 2004. <http://www.etcgroup.org>

Florence AT (2005). Nanoparticle uptake by the oral route: Fulfilling its potential? *Drug Discovery Today: Technologies* 2, 75-81.

FoE (2006a). <http://www.foe.org/new/releases/may2006/nanorelease5162006.html>

FoE (2006b). <http://nanotechlaw.blogspot.com/2006/07/friends-of-earth-called-for-moratorium.html>

FoE (2007). [http://action.foe.org/dia/organizationsORG/foe/pressRelease.jsp?press\\_release\\_KEY=214](http://action.foe.org/dia/organizationsORG/foe/pressRelease.jsp?press_release_KEY=214)

Furumoto K, Ogawara K, Yoshida M, Takakura Y, Hashida M, Higaki K, Kimura T (2001). Biliary excretion of polystyrene microspheres depends on the type of receptor-mediated uptake in rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1526, 221-6.

Geiser M, Rothen-Rutishauser B, Kapp N, Schurch S, Kreyling W, Schulz H, Semmler M, Im Hof V, Heyder J, Gehr P (2005). Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. *Environ Health Perspect* 113, 1555-60.

Gezondheidsraad (2006). Betekenis van nanotechnologieën voor de gezondheid. Den Haag: Gezondheidsraad publicatie nr 2006/06.

Gitis, V.; Haught, R. C.; Clark, R. M.; Gun, J. en Lev, O. (2006a). Application of nanoscale probes for the evaluation of the integrity ultrafiltration membranes. *Journal of Membrane Science* 276, 185-192.

Gitis, V.; Haught, R. C.; Clark, R. M.; Gun, J. en Lev, O. (2006b). Nanoscale probes for the evaluation of the integrity of ultrafiltration membranes. *Journal of membrane science* 276, 199-207.

Glotzer SC, Solomon MJ en Kotov NA (2005). Self-Assembly: From Nanoscale to Microscale Colloids. *AICHe Journal* 50, 2978-2985.

Hardman R (2006). A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors. *Environ Health Perspect* 114, 165-72.

Hillyer JF, Albrecht RM (2001). Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *J Pharm Sci* 90, 1927-36.

Hoet PHM, Brüske-Hohfeld I, Salata OV (2004). Nanoparticles- known and unknown health risks. *J of Nanobiotechnology* 2, 12-26.

- Hofman, J.; Hoek, J. P. v. d.; Nederlof, M. en Groenendijk, M. (2007). Twenty years of experience with centralised softening in The Netherlands: water quality, environmental benefits, and costs. *Water21*, February 2007, 21-24.
- Hristovski K, Baumgardner A, Westerhoff P (2007). Selecting metal oxide nanomaterials for arsenic removal in fixed bed columns: From nanopowders to aggregated nanoparticle media. *J. Haz. Materials*. In press
- Hu, J.; Chen, G. & Lo, I. (2005b). Removal and recovery of Cr(VI) from wastewater by maghemite nanoparticles. *Water Research* 39, 4528-4536.
- Hu, J.; Lo, I. & Chen, G. (2005c). Fast removal and recovery of Cr(VI) using surface-modified Jacobsite (MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles. *Langmuir* 21, 11173-11179.
- Hu, J.; Lo, M. & Chen, C. (2005a). Adsorption of Cr(VI) by magnetite particles. *Water Sci. Technol.* 50, 139-146.
- Hussain N, Jaitley V, Florence AT (2001). Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics. *Adv Drug Deliv Rev* 50, 107-142.
- Hyung H, Fortner JD, Hughes JB, Kim J-H (2007). Natural organic matter stabilizes carbon nanotubes in the aqueous phase. *Environ. Sci. Technol.* 41, 179-184.
- Jani P, Halbert GW, Langridge J, Florence AT (1990). Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency. *J Pharm Pharmacol* 42, 821-826.
- Ji ZQ, Sun H, Wang H, Xie Q, Liu Y, Wang Z. (2006). Biodistribution and tumor uptake of C<sub>60</sub>(OH)<sub>x</sub> in mice. *Journal of Nanoparticle Research* 8, 53-63.
- Jia X, Li N, and Chen J (2005). A subchronic toxicity study of elemental Nano-Se in Sprague-Dawley rats. *Life Sciences* 76, 1989-2003.
- Kabinet (2006). Kabinetsvisie Nanotechnologieën, Van Klein Naar Groot.
- Kaderrichtlijn Water, 2000. Publicatieblad der Europese Gemeenschappen, 2000/60/EG, 22 december 2000, <http://www.kaderrichtlijnwater.nl/download-document.php?id=249>.
- Kallay N, Zalac S (2002). Stability of Nanodispersion: A Model for Kinetics of Aggregation of Nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science* 253, 70-76.
- Kampers F (2004). Potentiële risico's van bio-nanotechnologie voor mens en milieu. Oriëntatierapport in opdracht van de COGEM. Wageningen: Wageningen UR.
- Kern S, Versleijen A en Van Est R (2007). Nanotechnologie: van agendering tot innovatie. Rathenau Instituut, Den Haag.
- Kim, S. H.; Kwak, S.; Sohn, B. & Park, T. H. (2003). Design of TiO<sub>2</sub> nanoparticle self-assembled aromatic polyamide thin-film-composite (TFC) membrane as an approach to solve biofouling problem. *Journal of Membrane Science* 211, 157-165.
- Klaine S. (2007). Lezing tijdens Nanotox2007, 19-21 april 2007, Venetië, Italië.
- KNAW (2004). Hoe groot kan klein zijn? Enkele kanttekeningen bij onderzoek op nanometerschaal en mogelijke gevolgen van nanotechnologie. Amsterdam. KNAW werkgroep Gevolgen Nanotechnologie.



- Kreyling WG, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenaka S, Schulz H, Oberdorster G, Ziesenis A (2002). Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low. *J Toxicol Environ Health A* 65, 1513-1530.
- Kwak, S.; Kim, S. S. & Kim, S. H. (2001). Hybrid organic/inorganic reverse osmosis (RO) membrane for bactericidal antifouling. 1. Preparation and characterization of TiO<sub>2</sub> nanoparticle self-assembled aromatic polyamide thin-film-composite (TFC) membrane. *Environmental Science & Technology* 35, 2388-2394.
- Lecoanet, H. F.; Bottero, J. & Wiesner, M. R. (2004). Laboratory assessment of the mobility of nanomaterials in porous media. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5164-5169.
- Li, J.; Ma, W.; Chen, C.; Zhao, J.; Zhu, H. & Gao, X. (2007). Photodegradation of dye pollutants on one-dimensional TiO<sub>2</sub> nanoparticles under UV and visible irradiation. *J. Molec. Catalysis A: Chemical* 261, 131-138.
- Lien, H. & Zhang, W. (1999). Transformation of Chlorinated Methanes by Nanoscale Iron Particles. *Journal of Environmental Engineering* 125, 1042-1047.
- Liu, Y.; Li, J.; Qiu, X. & Burda, C. (2006). Novel TiO<sub>2</sub> nanocatalysts for wastewater purification: tapping energy from the sun. *Water Practice and Technology* 1, 47-54.
- Lovern SB en Klaper R. (2006). Daphnia magna mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene C60 nanoparticles. *Environmental Toxicology Chemistry* 25, 1132-1137.
- Lovric J, Bazzi HS, Cuie Y, Fortin GR, Winnik FM, Maysinger D (2005). Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots. *J Mol Med* 83, (5) 377-85.
- Lyon DY, Fortner JD, Sayes CM, Colvin VL en Hughes JB (2005). Bacterial cell association and antimicrobial activity of a C60 water suspension. *Environmental Toxicology Chemistry* 24, 2757-2762.
- Mackay, CE, Johns, M, Salatas, JH, Bessinger, B and Perri, M. (2006). Stochastic probability modeling to predict the environmental stability of nanoparticles in aqueous suspension. *Integrated Environmental Assessment and Management* 2, 293-298.
- Maynard AD, Aitken RJ, Butz T, Colvin V, Donaldson K, Oberdörster G, Philbert MA, Ryan J, Seaton A, Stone V, Tinkle S, Lang Tran, Walker NJ, Warheit DB (2006). Safe handling of nanotechnology. *Nature* 444, 267-269.
- Michel T, Paillet M, Poncharal P, Zahab A, Sauvajol J-L, Meyer JC, Roth S (2006). Raman spectroscopy of isolated single-walled carbon nanotubes. In: V.N. Popov, P. Lambin (Eds.) *Carbon nanotubes*. Springer Netherlands.
- Mills NL, Amin N, Robinson SD, Anand A, Davies J, Patel D, de la Fuente JM, Cassee FR, Boon NA, Macnee W, Millar AM, Donaldson K, Newby DE (2006). Do inhaled carbon nanoparticles translocate directly into the circulation in humans? *Am J Respir Crit Care Med* 173, 426-31.
- Moore MN (2007). Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environment International* 32, 967-976.
- Moosmann B, Behl C (2002). Secretory peptide hormones are biochemical antioxidants: structure-activity relationship. *Mol Pharmacol* 61, 260-268.

Nanoroad SME (2006). Overview on promising nanomaterial for industrial applications. EU Sixth Framework Programme.

Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, Vanbilloen H, Mortelmans L, Nemery B (2002). Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation* 105, 411-4.

Oakdene Hollins (2007). Environmentally Beneficial Nanotechnologies. Barriers and opportunities. A report for the Department for Environment, Food and Rural Affairs. DEFR01 098 report.

Oberdörster E (2004a). Toxicity of nC60 fullerenes to two aquatic species: Daphnia and largemouth bass (abstract). In: 227th American chemical society national meeting, 27 march-1 april 2004, Anaheim, CA. Washington, DC: American Chemical Society, IEC 21

Oberdörster E (2004b). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in brain of juvenile largemouth bass. *Environmental Health Perspectives* 112, 1058-1062.

Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 113, 823-39.

OECD (2006). Current developments/activities on the safety of manufactured nanomaterials - Tour de Table at the 1st Meeting of the Working Party on Manufactured Nanomaterials. Londen, Verenigd Koninkrijk, 26 - 27 oktober 2006. ENV/JM/MONO(2006)35. Beschikbaar op: [http://apli1.oecd.org/olis/2006doc.nsf/43bb6130e5e86e5fc12569fa005d004c/2c85fa0de094c81dc1257235004c16af/\\$FILE/JT03218801.PDF](http://apli1.oecd.org/olis/2006doc.nsf/43bb6130e5e86e5fc12569fa005d004c/2c85fa0de094c81dc1257235004c16af/$FILE/JT03218801.PDF) [Benaderd: 5 juni 2007].

Ogawara K, Yoshida M, Furumoto K, Takakura Y, Hashida M, Higaki K, Kimura T (1999a). Uptake by hepatocytes and biliary excretion of intravenously administered polystyrene microspheres in rats. *J Drug Target* 7, 213-221.

Ogawara K, Yoshida M, Higaki K, Kimura T, Shiraishi K, Nishikawa M, Takakura Y, Hashida M (1999b). Hepatic uptake of polystyrene microspheres in rats: effect of particle size on intrahepatic distribution. *J Control Release* 59, 15-22.

Owen R, Depledge M (2005). Nanotechnology and the environment: Risks and rewards. *Marine Pollution Bulletin* 50, 609-612.

Pacheco, S.; Medina, M.; Valencia, F. & Tapia, J. (2006a). Removal of inorganic mercury from polluted water using structured nanoparticles. *J. Environ. Eng.* 132, 342-349.

Pacheco, S.; Tapia, J.; Medina, M. & Rodriguez, R. (2006b). Cadmium ions adsorption in simulated wastewater using structured alumina-silica nanoparticles. *J. Non-Cryst. Solids* 352, 5475-5481.

Paknikar, K.; Nagpal, V.; Pethkar, A. & Rajwade, J. (2005). Degradation of lindane from aqueous solutions using iron sulfide nanoparticles stabilized by biopolymers. *Science and Technology of Advanced Materials* 6, 370-374.

Peng, X.; Luan, Z.; Ding, J.; Di, Z.; Li, Y. & Tian, B. (2005). Ceria nanoparticles supported on carbon nanotubes for the removal of arsenate from water. *Materials Letters* 59, 399-403.

Rajagopalan P, Wudl F, Schinazi RF, Boudinot FD (1996). Pharmacokinetics of a water-soluble fullerene in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 40, 2262-2265.

Rasmussen RF, Sørensen SN, Petersen G, Baun A (2006). Toxicity and uptake of xenobiotic organic compounds in the presence of C60 nanoparticles. Presentation during the conference "Environmental effects of nanoparticles and nanomaterials", 18-19 September 2006, SETAC-UK, London.

Reijnders L (2006). Cleaner nanotechnology and hazard reduction of manufactured nanoparticles. *Journal of Cleaner Production* 14, 124-133.

Roberts JC, Bhalgat MK, and Zera RT (1996). Preliminary biological evaluation of polyamidoamine (PAMAM) Starburst dendrimers. *J-Biomed-Mater-Res.*30, 53-65.

Robichaud, C.; Tanzil, D.; Wellenmann, U. & Wiesner, M. (2005). Relative risk analysis of several manufactured nanomaterials: an insurance industry context. *Environmental Science and Technology* 39, 394-400.

Rothen-Rutishauser BM, Schurch S, Haenni B, Kapp N, Gehr P (2006). Interaction of fine particles and nanoparticles with red blood cells visualized with advanced microscopic techniques. *Environ Sci Technol* 40, 4353-4359.

Royal Society (2004). Nanoscience and nanotechnologies Report of the Royal Society & the Royal Academy of Engineering.

Savage, N. & Diallo, M. S. (2005). Nanomaterials and Water Purification: Opportunities and Challenges. *Journal of Nanoparticle Research* 7, 331-342.

SCENIHR (2007). Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risk. Opinion on: The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risk associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General. The SCENIHR approved this opinion for public consultation at the 17th plenary on 29 March 2007.

Selvam, K.; Muruganandham, M.; Sobana, N. & Swaminathan, M. (2007). Enhancement of UV-assisted photo-Fenton degradation of reactive orange 4 using TiO<sub>2</sub>-P25 nanoparticles. *Sep. Purif. Technol.* 54, 241-247.

Singh R, Pantarotto D, Lacerda L, Pastorin G, Klumpp C, Prato M, Bianco A, Kostarelos K (2006). Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 3357-62.

Skubal, L.; Meshkov, N.; Rajh, T. & Thurnauer, M. (2002). Cadmium removal from water using thiolactic acid modified titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 148, 393-397.

Smith CJ, Shaw BJ, Handy RD (2007). Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology* 82, 94-109.

Snyder, G. (2005). UCF Researchers to develop water purification system for hurricane relief. Internet. URL: <http://www.watercenter.org/blog/WCorgposts/00000180.html>.

Takahashi, Y.; Kasai, H.; Nakanishi, H. & Suzuki, T. M. (2006). Test strips for heavy-metal ions fabricated from nanosized dye compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45, 913-916.

Tran CL, Donaldson K, Stone V, Fernandes T, Ford A, Christofi N, Ayres JG, Steiner M, Hurley JF, Aitken RJ, Seaton A (2005). A scooping study to identify hazard data needs for addressing the risks presented by nanoparticles and nanotubes. Research Report Institute of Occupational Medicine. Edinburgh

Tsuchiya T, Oguri I, Yamakoshi YN, Miyata N (1996). Novel harmful effects of C60 fullerenes on mouse embryos in vitro and in vivo. FEBS Lett 393, 139-145.

UBA (2006). Nanotechnology: Opportunities and Risks for Humans and the Environment. Background Paper. August 2006, Federal Environment Agency (UBA). Berlin

Uheida, A.; Iglesias, M.; Font's, C.; Hidalgo, M.; Salvadó, V.; Zhang, Y. & Muhammed, M. (2006). Sorption palladium(II), rhodium (III) and platinum(IV) on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. J. Colloid Interf. Sci. 301, 402-408.

UNEP (2007). GEO Year Book 2007. Emerging challenges. Nanotechnology and the Environment. Edinburgh

USEPA (2007). U.S. Environmental Protection Agency Nanotechnology White Paper. Washington, DC: Report EPA 100/B-07/001, February 2007.

Van Hoecke K (2006). Ecotoxicologie van nanopartikels. Afstudeerscriptie Universiteit Gent.

Velzeboer I. 2006. Fate and effects of nanoparticles in aquatic environments. MSc-scriptie. Radboud Universiteit Nijmegen.

Verschoor A (2007). Leaching of zinc from rubber infill on artificial turf (football pitches). Bilthoven: RIVM rapport 601774001.

Wanekaya, A. K.; Chen, W.; Myung, N. V. & Mulchandani, A. (2006). Nanowire-Based Electrochemical Biosensors. Electroanalysis 18, 533-550.

Wang B, Feng WY, Wang TC, et al. (2006). Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. Toxicology Letters 161, 115-123

Wang J, Zhoua G, Chena C, et al. (2007). Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. Toxicology Letters 168, 176-185

Wang, C. & Zhang, W. (1997). Synthesizing Nanoscale Iron Particles for Rapid and Complete Dechlorination of TCE and PCBs. Environmental Science and Technology 31, 2154-2156.

Warenwet (1935). Beschikbaar op:

<http://wetten.overheid.nl/cgi-bin/sessioned/browsercheck/continuation=23414-002/session=025221708049370/action=javascript-result/javascript=yes> [Benaderd: 5 juni 2007].

WDR (2007). Slant well intake recommended. Water Desalination Report 43, 1.

Wei, X. & Viadero, R. C. (2007). Synthesis of magnetite nanoparticles with ferric iron recovered from acid mine drainage: Implications for environmental engineering. Colloids and Surfaces: Physicochemical and Engineering Aspects 294, 280-286.

Wentzel B (2007). Veilig werken met nanotech. Chemisch 2-Weekblad, 3 Februari 2007, p 25-27.

Wessels P., (2006). Integrale Zuivering!, Rapport Kiwa Water Research, BTO 2006.034.

Wiesner, M. R.; Lecoanet, H. and Cortalezzi, M. (2003). Nanomaterials, sustainability and risk minimization, in M. Boller & W. Pronk, ed., Selected Proceedings of the IWA 2nd International Specialised Conference on Nano and Microparticles in Water and Wastewater Treatment. IWA Publishing.

Wilding A, Liu R, Zhou JL (2004). Validation of cross-flow ultrafiltration for sampling of colloidal particles from aquatic systems. *J. Coll. Interface Sci.* 280, 102-112.

Willems en Van den Wildenberg (2006). Roadmap Report on Nanoparticles. EU Sixth Framework Programme.

Xia Z, Wang G, Tao K, et al. (2005). Preparation and acute toxicology of nano-magnetic ferrofluid. *J. Huazhong-Univ-Sci-Technol-Med-Sci.* 25, 59-61.

Xiao H, Zoua H, Pan C, Jiang X, Le XC, Yang L (2006). Quantitative determination of oxidized carbon nanotube probes in yeast by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta* 580, 194-199.

Yamakoshi Y, Umezawa N, Ryu A, Arakane K, Miyata N, Goda Y, Masumizu T, Nagano T (2003). Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C60) as potential medicines. *J. Amer. Chem. Soc.* 125, 12803-12809.

Yang L, Watts DJ (2005). Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicol. Letters* 158, 122-132.

Yang, Y.; Zhang, H.; Wang, P.; Zheng, Q. and Li, J. (2007). The influence of nano-sized TiO<sub>2</sub> fillers on the morphologies and properties of PSF UF membrane. *Journal of Membrane Science* 288, 231-238.

Yean, S.; Cong, L.; Yavuz, C.; Mayo, J.; Yu, W.; Kan, A.; Colvin, V. and Tomson, M. (2005). Effect of magnetite particle size on adsorption and desorption of arsenite and arsenate. *J. Mater. Res.* 20, 3255-3264.

Zhang J, Gao X, Zhang L, and Bao Y (2001). Biological effects of a nano red elemental selenium. *BioFactors* 15, 27-38.

Zhang J, Wang H, Yang X, and Zhang L (2005). Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. *Life Sciences* 76, 1099-1109

Zhang, W.; Wang, C. and Lien, H. (1998). Treatment of chlorinated organic contaminants with nanoscale bimetallic particles. *Catalysis Today*, 40, 387-395.