

Veidekker: Svestøv og helse

Rapport laget på oppdrag fra Statens Vegvesen,
Vegdirektoratet i samarbeid mellom Berg- og geoteknikk,
NTNU/Sintef og Avdeling for luftforurensning og støy,
Folkehelseinstituttet

Rapport 2004:4
Nasjonalt folkehelseinstitutt

Tittel:

Veidekker: Svevestøv og helse

Forfattere:

Marit Låg, Tom Myran, Magne Refsnes,
Per E. Schwarze og Johan Øvrevik

Publisert av :

Nasjonalt folkehelseinstitutt
Postboks 4404 Nydalen
NO-0403
Norway

Tel: 22 04 22 00

E-mail: folkehelseinstituttet@fhi.no
www.fhi.no

Omslag:

Per Kristian Svendsen

Forsidebilde:

E. Grønsdal, Statens vegvesen

Trykk:

Statens vegvesen

Opplag:

400

Bestilling:

publikasjon@fhi.no
Faks: 23 40 81 05
Tlf: 23 40 82 00

ISSN:1503-1403

ISBN 82-8082-086-8 trykt utgave

ISBN 82-8082-087-6 elektronisk utgave

Forord

Denne rapporten ble laget av Marit Låg¹, Tom Myran², Magne Refsnes¹, Per E. Schwarze¹ og Johan Øvrevik¹ fra Avdeling for luftforurensning og støy, Nasjonalt folkehelseinstitutt (1) og Berg- og geoteknikk, Sintef/NTNU (2) på oppdrag fra Statens vegvesen, Vegdirektoratet.

Veistøv bidrar til tider til høye nivåer av svevestøv i byområder. Dette støvet fører til at folk føler seg plaget og klager. Slitasje av veidekke fører til dannelse av veistøv og i tillegg bidrar sandstrøing mye til en økning av svevestøvet i grovfraksjonen av PM₁₀. I fastsettelse av grenseverdier har man ikke skilt mellom ulike typer partikler i svevestøv og effekt på menneskers helse, men WHO anbefaler å bruke ulike risikoestimat for forskjellige partikkelstørrelser. I sin systematiske gjennomgang har WHO ikke funnet grunnlag for å se bort fra effekten av grovfraksjonen av PM₁₀. Det er viktig å få kunnskap om eventuelle egenskaper ved ulike steintyper i asfalten som kan gi vesentlig større helseskadelig potensial enn andre. Ved å klassifisere steintyper etter egenskaper vil det kunne være mulig å legge asfalt som inneholder stein med minst helseskadelig potensial i byområder.

Oslo, 23. april 2004

Innhold

Innledning	6
Svevestøvdannelse	6
Svevestøvkarakteristika	6
Helseeffekter - befolkningsundersøkelser	6
Helseeffekter - eksperimentelle undersøkelser	7
Helseeffekter og partikkelegenskaper	9
Delmål	10
Hovedmål	10
Resultater	11
Konklusjoner	12
Vedlegg 1 Sintef rapport	13
Vedlegg 2 Rapport fra Folkehelseinstituttet	45

Innledning

Svevestøvforurensningen i byer og tettsteder kan til tider være betydelig i perioden fra omtrent slutten av oktober til slutten av april. Store deler av forurensningen stammer fra trafikkeksos, vedfyring og langtransportert forurensning. Også i veitunneler kan svevestøv oppleves som en belastning i form av redusert sikt og ubehag. I episoder med høy svevestøvforurensning kan mineralpartikler fra veidekkeslitasje dominere i støvet. Det er derfor viktig å finne fram til steintyper som foruten å ha de ønskede mekaniske egenskaper, også gir så lite støv som mulig og som samtidig gir støv som har lite potensiale til å utløse helseeffekter. I rapporten benyttes en del uttrykk som forklares i vedlegg til rapporten fra Folkehelseinstituttet.

Svevestøvdannelse

Under episoder med spesielt høy svevestøvforurensning utgjør mineralpartikler fra veidekkeslitasje en betydelig andel. Opptil 90 % av svevestøvet kan komme fra oppvirvlet veistøv, enten ved direkte slitasje av veidekket eller ved oppvirvling av deponert støv i og langs veibanen. Produksjonen av veislitasjegenerert svevestøv avhenger av en rekke faktorer:

- Piggdekktype (metall/plast/vekt/antall)
- Trafikkmengde (ÅDT)
- Gateutforming (tunneleffekter)
- Gaterengjøring
- Kjøretøytype (lett/tung)
- Kjørehastighet (maling/knusing)
- Klima og kjøreforhold
- Salting og fuktighet i veibanen
- Kvaliteten på veidekket (mekaniske egenskaper)
- Type tilslagsmateriale

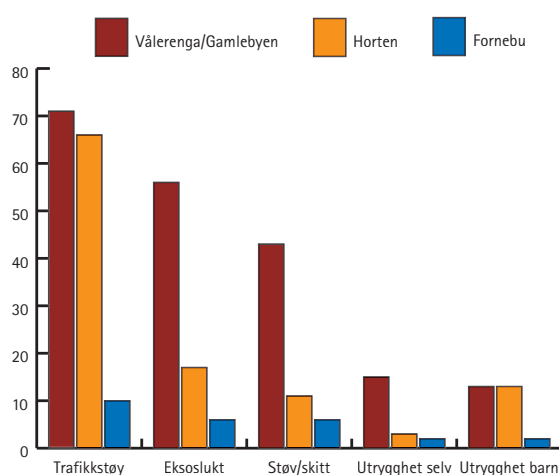
Flere av aspektene nevnt ovenfor ble omhandlet i Veigrepsprosjektet under ledelse av Jon Krokeborg (VD). Steinmaterialet i asfalten, som bidrar med mesteparten av partiklene ved veislitasje, varierer betydelig i sammensetning av mineraler. Det kan igjen bidra til vesentlige forskjeller i hvor lett materialet knuses og danner støv av ulike størrelser. Det kan også ha betydning for mekaniske egenskaper som er viktige med hensyn til trafiksikkerhet.

Svevestøvkarakteristika

Svevestøv karakteriseres ved ulike størrelsesfraksjoner. De vanligst brukte fraksjonene er "Particulate Matter" <math><10 \mu\text{m}</math> (PM_{10}), $\text{PM}_{2,5}$ og $\text{PM}_{0,1}$. Stort sett finner man de fleste forbrenningspartikler i fraksjonen $\text{PM}_{2,5}$ eller mindre, mens mesteparten av mineralpartikler finnes i fraksjonen som er større enn $\text{PM}_{2,5}$. Svevestøvet inneholder komponenter som kan være mer eller mindre godt festet til ikke-løselige komponenter av svevestøvet, deriblant metaller og organiske forbindelser som polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH, i hovedsak tjærestoffer). Både innholdet av løselige metaller og PAH varierer avhengig av kilden til svevestøvet. For mineralpartikler er metaller en viktig komponent som kan bidra til effekter.

Helseeffekter - befolkningsundersøkelser

Befolkningen oppfatter svevestøvforurensningen som plagsom og støvet minsker deres trivsel (se Vålerengaundersøkelsen; Samferdsel nr 3, 1991)



Figur 1: Vålerenga-undersøkelsen, plagethet av støv/skitt

Utenlandske studier viser assosiasjoner mellom eksponering for luftforurensning og helseeffekter som økt forekomst av dødsfall og økt sykkelighet på grunn av lunge- eller hjerte/kar sykdom.

Tabell 1: Økt antall for tidlige dødsfall blant nederlandske menn ved en økning i $10 \mu\text{g}/\text{m}^3 \text{PM}_{10}$ (årsgjennomsnitt) etter økende alder (tall fra WHO).

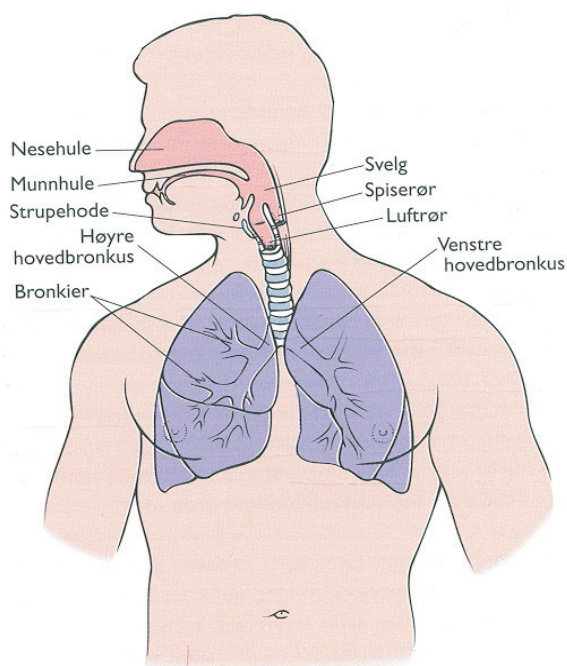
Alder (år)	50	60	70
Antall ekstra dødsfall	383	1250	3148

To studier i Drammen viste også en sammenheng mellom eksponering for luftforurensning og innleggelse på sykehus. Det var imidlertid ingen klar sammenheng med svevestøv. I en nyere studie om luftforurensning og forekomst av dødsfall ble ikke svevestøv tatt med som eksponeringsparameter (Nafstad et al., 2003 (Folkehelseinstituttet)). I mange av de utenlandske studiene dominerer forekomsten av forbrenningspartikler og i de fleste studier finner man sammenhenger mellom eksponering for svevestøv og helseeffekter inkludert dødsfall på grunn av luftveis- eller hjerte/kar - lidelser. Det finnes også studier på tilsvarende sammenhenger med noen typer mineralpartikler. Det finnes ingen befolkningsundersøkelser som har vist at mineralpartikler fra veidekkeslitasje kan gi helseeffekter. Imidlertid er helseeffekter av mineralpartikler for øvrig godt kjent fra arbeidsmiljøet. Best beskrevet er eksponering for asbest og kvarts som gir utvikling av ulike lungesykdommer. Foreløpige data tyder på at arbeidere i steinbrudd og gruver kan få støv-lungesykdom som følge av eksponeringen i arbeidsmiljø (Tom Myran, foreløpig upublisert materiale).

Helseeffekter - eksperimentelle undersøkelser

Eksperimentelle undersøkelser med mennesker og dyr har vist at innåndet svevestøv når ulike deler av luftveier og lunger avhengig av partiklenes egenskaper, som f. eks. størrelse, form og overflateegenskaper. Om individene puster gjennom munn eller nese, om dette skjer under anstrengelse eller ikke, om ulike sykdommer endrer luftstrømmene eller ikke, påvirker inntaket, avsetningen i lunger og luftveier og fjerning av støvet fra lungene. Ved pusting i hvile gjennom nesen vil så og si alle partikler større enn $10 \mu\text{m}$ avsettes i de øvre luftveier. Mange av de øvrige partiklene vil følge luftstrømmene ned i lungene og avsettes der i ulik grad. En betydelig andel av partiklene på $4 \mu\text{m}$ eller mindre avsettes i de nederste luftveier og i gassutvekslingssonen, der de antas å kunne gjøre størst skade. Fjerning av partikler fra dette området skjer betydelig senere enn fra andre områder i luftveiene.

Betennelsesreaksjoner (inflammasjon) synes å være en fellesnevner for skadelige helseeffekter av ulike støvpartikler og andre luftforurensningskomponenter. Betennelsesreaksjoner er viktige for å stanse mikrobielle infeksjoner ved å ødelegge organismene, men disse reaksjoner kan også medføre skade på vevet omkring, og da særlig epitelcellene.



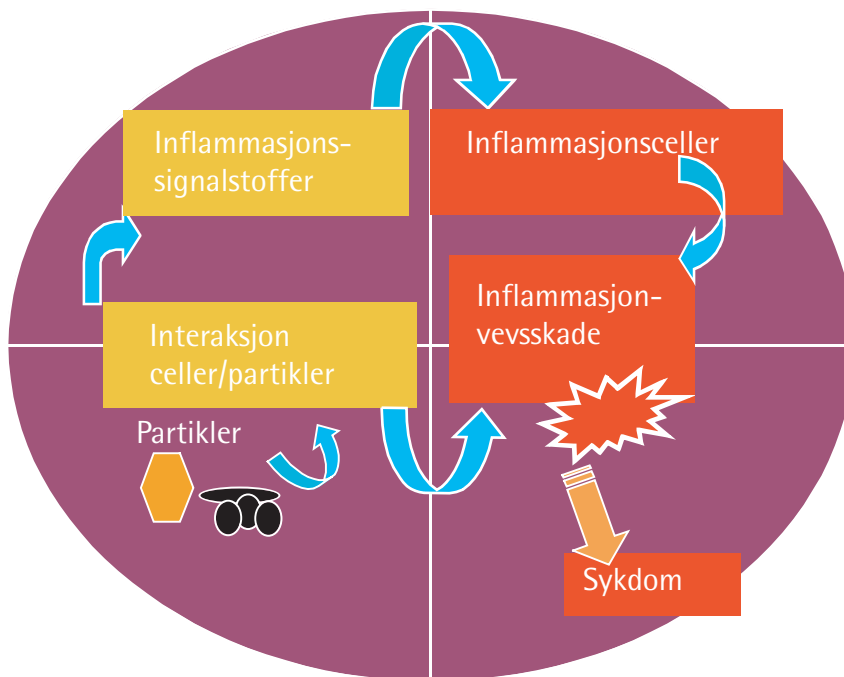
Figur 2:

Øvre luftveier:

Avsetning av partikler hovedsakelig større enn $10 \mu\text{m}$.

Nedre luftveier:

Avsetning av partikler i PM_{10} fraksjonen, mest av partikler på $4 \mu\text{m}$ eller mindre.

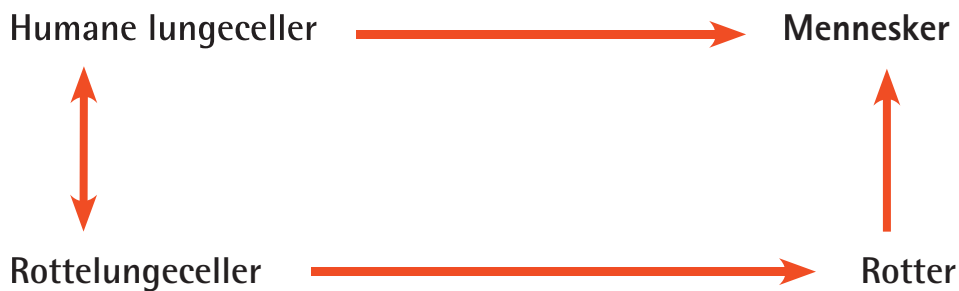


Figur 3: Betennelsesreaksjon

Betennelsesreaksjoner har vært observert i kliniske forsøk med mennesker, og i dyre- og celforsøk etter eksponering for partikler. Indikatorer på slike betennelsesreaksjoner er at cellene skiller ut forskjellige signalmolekyler, cytokiner, som er viktige for betennelsesprosessene. Flere studier har vist at epiteliale lungeceller i kultur, skiller ut betennelsesfremmende cytokiner etter eksponering for kvarts-, asbest- og dieselseksos-partikler. Blant cytokinene som er undersøkt, synes blant annet et par medlemmer av undergruppen cxc-kjemokiner, interleukin (IL)-8 og makrofag inflammatorisk protein (MIP)-2 å være viktige for utviklingen av betennelsesreaksjoner. IL-8 og MIP-2 produseres av epitelceller fra henholdsvis menneske og rotte, og har analoge funksjoner. Begge er viktige for rekruttering og aktivering av celler i immunsystemet, og studier har vist at blokkering av disse kjemokinene langt på vei hemmer betennelsen.

I et samarbeidsprosjekt mellom Franzefoss Bruk AS, Folkehelseinstituttet ved Avdeling for luftforurensning og støy og NTNU/SINTEF med støtte fra Forskningsrådet og Statens vegvesen, Vegdirektoratet, ble noen utvalgte steintyper knust, støv av størrelseskategori PM₁₀ samlet opp og karakterisert, og testet i celforsøk (TOMS-prosjektet og tilknyttede prosjekter).

I tillegg ble det samlet støv i Hell-tunnelen på E 6, der det stort sett fantes bare en type stein i asfalten. Støv av denne type stein ble også generert og undersøkt i laboratorieforsøk. Hypotesen var at steinstøv av denne typen ville ha lav evne til å fremkalle betennelsesreaksjoner, dersom det ikke inneholdt en stor andel kvarts eller asbestfibre. Forsøkene viste imidlertid at noen av støvtypene var meget potente til å utløse frigjøringen av cytokiner fra celler. I senere studier ble resultatene bekreftet i forsøk med rotter som fikk en langt sterkere betennelsesreaksjon i lungene ved ek-



Figur 4 viser hvordan man ved bruk av ulike testsystemer kan vise om partikler kan ha et potensiale til å utløse helseeffekter hos mennesker.

sponering for noen støvprøver enn ved eksponering for andre. Det forble uklart om spesifikke mineraler eller metaller i steinen kunne være utslagsgivende for effekten. Prøven fra Hell-tunnelen viste en effekt nokså lik den man fikk med rent steinstøv av samme type stein. Forsøkene viste også at støvet fra laboratoriet hadde samme egenskaper som borkaksstøvet i steinbruddet som arbeidere kunne bli eksponert for. I senere forsøk viste man at Hell-tunnelstøvet hadde omtrent samme evne til å utløse cytokinfrigjøring fra lungeceller som bystøv fra St. Louis (USA) og $PM_{2,5}$ -fraksjonen av forbrennings-dominert støv fra Bilthoven (Nederland).

Helseeffekter og partikkelegenskaper

I ulike studier med intakte dyr eller lungeceller fra mennesker og dyr har man undersøkt betydningen av forskjellige typer partikkelegenskaper for å fremkalle betennelsesreaksjoner. For ulike forbrenningspartikler har man funnet at PAH eller enkelte tungmetaller var assosiert med effektene. For mineralpartikler har man funnet at både løselige og ikke-løselige komponenter har betydning. Mineralsammensetning, overflate og metallinnhold og -løselighet ansees derfor for å være viktige parametre i videre undersøkelser.

Hovedmål

Slitasje på veidekket fører til støvdannelse som kan ha potensiale til å utløse helseeffekter. Hovedmål med prosjektet er å finne ut:

- om det er noen steintyper som ikke bør legges i tettbebygde strøk
- om man ut fra egenskaper som mineralsammensetning kan klassifisere stein etter hvor stort potensiale det har til å utløse helseeffekter, samtidig som man ønsker best mulige mekaniske egenskaper

Delmål

For å kunne ha mulighet til lage en slik klassifisering ble det planlagt en rekke undersøkelser:

- Støv av størrelsesfraksjonene PM_{10} og $PM_{2,5}$ produseres i laboratoriet av knust stein fra 8 forskjellige forekomster. Fra et sted produseres det støv fra to ulike bergartstyper.

- Støvproduksjon måles i forhold til materialets sprøhet (LA-verdi).
- Støvet karakteriseres med hensyn til mineral-sammensetning, størrelsesfordeling, overflateareal og metallinnhold.
- Utlekking av metaller måles for å vurdere mulig betydning av løselige komponenter.
- Støvpartiklene testes i lungeceller fra mennesker og rotte. Det benyttes både en cellelinje fra human lunge og primære lungeepitelceller preparert fra små luftveier fra menneske i tillegg til primære rotte-lungeceller. Det måles cytokinutskillelse.
- Resultatene sees i sammenheng med mineralsammensetning, overflateareal, metallinnhold.
- Steintypene forsøkes rangert i forhold til potensiale for cytokinutskillelse.
- Ovenfor nevnte rangering relateres til støvproduksjon og materialsprøhet.

Resultater

Steinstøvet varierte forholdsvis lite i størrelsesfordeling og overflateareal, mens det var vesentlige forskjeller i mineralsammensetning og metallinnhold. Det ser ikke ut til å være noen enkel sammenheng mellom materialets sprøhet og dets potensiale til å utløse betennelsesreaksjoner eller mellom sprøhet og støvproduksjon. Resultatene fra denne studien bekrefter tidligere funn som viser at enkelte typer partikler fra stein brukt i veidekket kan indukere kraftige cytokinresponser i epiteliale lungeceller. Dette indikerer et potensiale til å kunne gi betennelsesreaksjoner i lungene på eksponerte individer. Støv fra kvartsdioritt (prøve $V_{2,5}$), fin/grov basalt (VI_{10} , $VI_{2,5}$ og $VII_{2,5}$) og hornfels ($VIII_{10}$ og $VIII_{2,5}$), samt jaspis (IX_{10}), ser ut til å representere spesielt potente støvtyper som bør undersøkes videre (for figurer og mer resultatbeskrivelse se vedleggene). Det er imidlertid for tidlig å kategorisk konkludere at stein fra de andre lokalitetene ikke kan gi opphav til potente partikler, og å konkludere at de potente partiklene er representative for forekomsten de er tatt fra. Partikkelstørrelse synes ikke å være en avgjørende faktor for steinpartiklers evne til å indukere cytokinutskillelse fra epiteliale lungeceller. Det er derfor grunn til å tro at kvalitative partikkelegenskaper er av langt større betydning for partiklenes bioaktivitet. Vi tar her et forbehold for ultrafine partikler som ikke er blitt testet

i denne studien, men det er lite sannsynlig at disse vil bli dannet ved piggdekkslitasje på veidekket. Det er imidlertid viktig å være klar over at partikkelstørrelse er avgjørende for hvor partiklene deponeres i lungene, og størrelsen vil derfor ha betydning for sykdoms-/skadebildet ved en reell eksponering.

Partiklenes bioaktivitet synes først og fremst å avhenge av den totale sammensetningen av mineraler og muligens metaller, og i mindre grad av innholdet av enkelte mineraler eller elementer. Unntaket er at partikler med høyt innhold av plagioklas har lavt potensiale for å utløse betennelsesreaksjoner. Det forblir allikevel usikkert hva som gjør en partikkel potent, og den initielle virkningsmekanismen (hva som skjer når en partikkel kommer i kontakt med en celle) er ennå ikke kjent. Derfor er det fremdeles vanskelig å forutsi partiklers potensielle bioaktivitet basert på kunnskap om element- og mineralsammensetning. Per i dag kan bare biologiske analyser gi oss god informasjon om partiklers bioaktivitet. Økt kunnskap om virkningsmekanismer vil kanskje kunne endre dette i fremtiden.

Studien tyder imidlertid på at mineralet plagioklas trolig er lite potent mht. cytokin-induksjon. Resultatene bekrefter dermed tidligere funn fra både celledsystemer og dyreforsøk som viser at partikler med høyt innhold av plagioklas er lite bioaktive.

Konklusjoner

- Resultatene viser at ingen mineraltyper kan forklare alle variasjoner i biologiske effekter i lungeceller og dyr. Totalt innhold av enkelte metaller eller innholdet av løselige metaller korrelerer ikke med effektene.
 - Av de mineraler som er undersøkt er plagioklas det mineralet som gir lavest reaksjon i celledsystemer. Pyroxen-innholdet synes til en viss grad å ha sammenheng med effektene, men ingen andre mineraler alene peker seg ut som spesielt potente til å fremkalle reaksjoner. Et lavt potensiale for effekter i rottelunge etter eksponering for feltspat tyder på at plagioklas-holdige mineraler har lav evne til å utløse betennelses-reaksjoner i dyr. Det indikerer at bruk av steintyper med mye plagioklas vil gi lavere risiko for helseeffekter enn andre mineraler.
 - Ingen enkeltmetaller kan forklare de effektene som observeres. I andre parallelle studier med svevestøv dominert av forbrenningspartikler fra ulike steder finner man heller ingen entydige svar på hvilke metaller eller organiske komponenter som har størst potensiale til å utløse uønskede effekter.
- Det er ingen enkel sammenheng mellom sprøhet (LA-verdi) og støvproduksjon. Det er heller ingen slike åpenbare sammenhenger mellom sprøhet eller støvproduksjon og evne til å fremkalle betennelses-reaksjoner. Ut fra de begrensede undersøkelser som er gjort synes det som at slitasje av en type stein gir moderate støvmengder (målt som PM_5 eller $PM_{2,5}$ andel av PM_{10}). Den har også liten evne til å utløse frigjøring av betennelsesmarkører. En annen type stein ser derimot ut til å gi større støvmengder og samtidig å ha større potensiale til å utløse frigjøring av betennelsesmarkører. De andre steintypene ligger i mellom disse to.
 - Det ble tatt en prøve fra nesten alle forekomster. Disse prøvene behøver ikke å være representative, materialet kan variere fra område til område og over tid. Derfor er det mulig, at stein fra noen forekomster med lavt potensiale til effekter kan vise andre egenskaper i nye prøver og omvendt. Det endrer imidlertid ikke på konklusjonen at stein med høyt innhold av plagioklas vil gi støv med lavt potensiale til å utløse effekter.

Vedlegg 1

Sintef rapport

**SINTEF****SINTEF Bygg og miljø**
Berg og geoteknikk

Postadresse: 7465 Trondheim

Besøksadresse: Rich Birkelands vei 3
Telefon: 73 59 46 00
Telefaks: 73 59 71 36Besøksadresse: Høgskoleringen 7a
Telefon: 73 59 46 00**SINTEF RAPPORT**

TITTEL

**SVEVESTØVPRODUKSJON OG VEGDEKKER
- VEGDEKKER OG HELSE**

FORFATTER(E)

Tom Myran

OPPDRAGSGIVER(E)

Vegdirektoratet, Overbyg og Miljøkontoret

RAPPORTNR.

STF22 F03163

GRADERING

Fortrolig

OPPDRAGSGIVERS REF.

Prosjektnr. 30880, Jørn Arntsen/Sigmund Dørum

GRADER. DENNE SIDE

Fortrolig

ISBN

PROSJEKTNR.

22205300

ANTALL SIDER OG BILAG

17s. + 8 vedl.

ELEKTRONISK ARKIVKODE

F03163. Vegstøv og helse. Okt 03

PROSJEKTLÉDER (NAVN, SIGN.)

Tom Myran

VERIFISERT AV (NAVN, SIGN.)

ARKIVKODE

571

DATO

2003-10-31

GODKJENT AV (NAVN, STILLING, SIGN.)

Arnstein Watn, Forskningsjef

SAMMENDRAG

Rapporten inngår som del av forskningsprosjektet *Svevestøvproduksjon og vegdekker – vegdekker og helse*. Studien er gjennomført på oppdrag for Vegdirektoratet, Overbyg og Miljøkontoret. Hovedmålet med studien har vært å finne ut om 1) det er noen steintyper som ikke bør benyttes som dekketilslag i tettbebygde strøk, og 2) om man ut fra ulike mineralogiske egenskaper kan klassifisere stein etter hvor stort potensiale det har til å utløse helseeffekter, samtidig som man ønsker best mulig mekaniske egenskaper.

Studien omfatter undersøkelser av ni typiske steinmaterialer fra åtte ulike lokaliteter. SINTEF/NTNU har undersøkt materialtekniske og mineralogiske egenskaper, mens Folkehelsa har vurdert de helsemessige aspektene.

Mekanisk påkjenning av steinmaterialene er foretatt ved Los Angeles-test. Fra dette materialet er foretatt uttak av finstøvfraksjonene PM_{10} og $PM_{2,5}$ som deretter er karakterisert ved bl.a følgende parametre: partikkelstørrelse, kornkurver, spesifikk partikkeloverflate, mineralogisk sammensetning og element/metallanalyser. Etter ønske fra Folkehelsa er også foretatt utlekkingsforsøk på finstøvfraksjoner fra fire utvalgte steinprøver, samt bestemmelse av kornkurve og spesifikk overflate for kvartstypen (Min-U-Sil 5) som Folkehelsa benytter som referansemateriale.

STIKKORD	NORSK	ENGELSK
GRUPPE 1	Bergteknikk	Rock and Mineral Engineering
GRUPPE 2	Vegteknikk	Highway Engineering
EGENVALGTE	Asfalt	Asphalt
	Støv	Dust
	Helse	Health

INNHOLDSFORTEGNELSE

	Side
FORORD	3
1 INNLEDNING	4
2 BAKGRUNN. TIDLIGERE UNDERSØKELSER	4
2.1 Bakgrunn	4
2.2 Tidligere undersøkelser. Dokumentasjon.....	6
2.2.1 <u>Svevestøv og dekketyper. Erfaringer fra TOMS-prosjektet</u>	6
2.2.2 <u>Slitasje og støvproduksjon</u>	8
2.2.3 <u>Salting og strøing</u>	9
2.2.4 <u>Renhold</u>	10
3 PRØVEMATERIALE	10
3.1 Prøveutvalgelse	10
3.2 Metoder for nedknusing og støvkarakterisering.....	11
3.3 Lagring av prøver	12
4 RESULTATER	13
4.1 LA-verdi og spesifikk vekt.....	13
4.2 Uttak av PM ₁₀ - og PM _{2,5} fraksjon	13
4.3 Partikkelfordeling (Coulteranalyse)	14
4.4 Mineralogisk sammensetning (XRD).....	16
4.5 Spesifikk overflate (BET-analyse)	17
4.6 Elementanalyse (ICP-AES).....	19
4.7 Tilleggsundersøkelser.....	19
4.7.1 <u>Utlekkingstester</u>	19
4.7.2 <u>Kornkurve og spesifikk overflate kvarts (Min-U-Sil)</u>	19
5 SAMMENDRAG	19

8 stk vedlegg

SVEVESTØVPRODUKSJON OG VEGDEKKER - VEGDEKKER OG HELSE

FORORD

De senere årene er det i forsknings- og forvaltningsmiljøene satt fokus på de høye svevestøvnivåene som forekommer i våre høytrafikkerte byer, tettsteder og vegtunneler om vinteren. Denne fokus har ofte hatt sin bakgrunn i medieoppslag og klager fra publikum og trafikkanter knyttet til helse og trivsel. Som en konsekvens av dette skjerpes luftkvalitetskriteriene knyttet til svevestøv.

Svevestøvet, som består både av forbrenningsprodukter fra kjøretøy og mineralpartikler fra vegslitasje, kan bidra til økt sykkelighet og utvikling av skade i luftveiene. Nevnes må også støv fra for eksempel slitasje av bildekk og bremses. I tillegg til helse kommer opplevelser knyttet til ubehag, smuss og trivsel blant publikum på grunn av støvnedfall, vegstøvdepot og svevestøv.

Denne studien har hatt som mål å undersøke og beskrive ulike mineral- og materialkarakteristika som kan være relevante for helseeffekter av støv fra bergarter som benyttes som tilslagsmateriale til asfalt.

I en annen studie har Nasjonalt folkehelseinstitutt (Folkehelsa) ved hjelp av cellekulturforsøk sett på hvordan mineralpartikler virker, og hvilke signaler de kan utløse i cellene.

1 INNLEDNING

Rapporten presenterer de undersøkelser som er foretatt for karakterisering av svevestøv fra mineraler og bergarter. Undersøkelsene er lagt opp etter stort sett samme mal som ved tidligere studier foretatt i NORMIN og TOMS-prosjektene. Et ønske har vært at undersøkelsene så langt mulig skal være sammenlignbare med den helserelevante delen av TOMS-prosjektet.

Innledningsvis i rapporten (kap.2) er foretatt en gjennomgang av bakgrunn, dokumentasjon og tidligere undersøkelser knyttet til svevestøvproduksjon og vegdekker – vegdekker og helse.

Bergartsprøvene som skulle inngå i denne studien var i utgangspunktet basert på materiale fra 10 forekomster (pukkverk). Men materiale fra kun 8 av disse pukkverkene ble mottatt, hvorav to ulike bergartsprøver fra ett av disse pukkverkene. Undersøkelsen har derfor omfattet til sammen 9 stk ulike bergartsprøver. Mottatt prøvemengde var 30-50 kg.

Rekvirering/innhenting av prøvemateriale er foretatt av Statens vegvesen Vegdirektoratet.

2 BAKGRUNN. TIDLIGERE UNDERSØKELSER

2.1 Bakgrunn

Støvplagen i flere norske byer og tettsteder, og også i vegtunneler (støv og sikt), har de senere årene stadig vært fokusert i forsknings- og forvaltningsmiljøene. Også Verdens Helseorganisasjon har satt fokus på høye svevestøvkonsentrasjoner og trafikkforurensning, med reduserte/skjerpede luftkvalitetskriterier som konsekvens. I denne sammenheng har det kommet nye retningslinjer fra EU som landene i Europa skal oppfylle innen år 2005.

En fellesnevner for skadelige helseeffekter av luftforurensninger er utvikling av betennelsesreaksjoner (inflammasjon). Tidligere har det vært hevdet at støv, med enkelte unntak som kvarts og asbest, kan gi redusert lungefunksjon, men ikke sykdom. Undersøkelser av arbeidstakere i bergverk, smelteverk og elektromontører eksponert for ulike typer av luftforurensning viser utvikling av lungeskader, men også begynnende hjerte/karsykdom ved høye nok eksponeringsnivå. Hos de bergverksansatte kan man se samme tendens i utvikling av betennelsesreaksjoner, begynnende lungeforandring (som ofte overses), kronisk lungesykdom, begynnende hjerte/karsykdom og støvlungesykdom i bergverk med svært ulik mineralsammensetning. Det er liten kunnskap om hvilke mineraltyper som bidrar til disse skadene (Myran & Furuseth, foreløpig upublisert materiale, pers. med. 2003).

Vegtrafikk og fyring er de to kildene som står for den største andelen av luftforurensning i norske byer på vinterstid når problemet er størst. Vegtrafikken står for 30 – 47 % av svevestøvet i Oslo, Bergen, Drammen og Lillehammer, mens vedfyring i 1997 stod for ca 47 % av svevestøvet i Oslo (Statistisk sentralbyrå, 2000). Selv om andelen svevestøv fra vegtrafikken og vedfyring er omtrent like stor i Oslo, er det utslippet fra vegtrafikken som i størst grad påvirker befolkningen. Dette

skyldes at svevestøv fra vedfyring blir sluppet ut såpass høyt, og partiklene er så små og lette, at fortynningen og spredningen blir bedre.

Svevestøvet som består både av forbrenningsprodukter (organisk andel) fra kjøretøy og fyring, og mineralpartikler fra vegslitasje (uorganisk andel), kan bidra til økt sykkelighet og utvikling av skader i luftveiene. I begge tilfeller er det snakk om partikler av svært forskjellig type og opprinnelse, og det er lite kunnskap om hvilke egenskaper ved f.eks. mineralpartiklene som bidrar til disse skadene. Sammenhengene mellom veislitasje, veistøvdepot og svevestøv er kompliserte og sammensatte. Ikke minst piggdekkbruken gjør at problematikken knyttet til svevestøv i Norge er av en helt annen karakter, og mye mer sammensatt enn i land hvor piggdekk ikke benyttes. Man regner med at ca 90 % av slitasjen skjer på 10 % vegnettet hvor det er høytrafikkerte områder.

Mange undersøkelser er foretatt, og betydelig dokumentasjon er fremskaffet. Men bare i mindre grad er satt på dagsorden en systematisk gjennomgang og en statusvurdering av svevestøvproblemet knyttet til dagens dokumentasjon og kunnskap, og ikke minst årsaks- og virkningssammenhenger.

Dokumentasjonen på hvilke nivå av svevestøv (f.eks. PM₁₀ og PM_{2,5}) og støvnedfall som er representative for våre byer og tettsteder på de forskjellige årstider er rimelig god. En typisk tendens i denne sammenheng er at de høyeste nivåer av svevestøv over året opptrer på nyttårs- og julaften, noe som har sammenheng med fyrverkeri, fakler og brenning av kirkegårdslys. Innslaget av mineralpartikler i disse perioder er av helt sekundær betydning. Derimot er dokumentasjonen omkring svevestøvpotensialet knyttet opp mot konkrete typer bergarter/tilslagsmaterialer som benyttes i veg i Norge mer beskjedent.

Bruken av piggdekk startet tidlig på 60-tallet, samtidig som legging av asfaltdekker ekspanderte. Siden den gang har trafikkmengden økt betraktelig, og man så tidlig at bruken av piggdekk var en faktor som i stor grad påvirket slitasjen på vegnettet. Utviklingen innen nye slitesterke dekker, pigger og dekk, samt reguleringer og restriksjoner på bruk av piggdekk har redusert slitasjen de senere år. I dag ligger den spesifikke piggdekksslitasjen på ca 10 gram pr kjørt km for en personbil med piggdekk på alle fire hjul, men dette vil naturlig nok variere avhengig av flere ulike faktorer.

Slitelaget på asfaltdekker består av ca 90 % pukk, ca 5 % filler og ca 5 % bindemiddel (bitumen), dvs. at ca 95 % av vegdekket er steinmaterialer.

Produksjon og oppvirvling av svevestøv avhenger av en rekke faktorer:

- Piggdekktype (metall/plast/vekt)
- Trafikkmengde (ÅDT)
- Gateutforming (tunneleffekter)
- Gaterengjøring
- Kjøretøytype (lett/tung)
- Kjørehastighet (maling/knusing)
- Klima og kjøreforhold
- Kvaliteten på vegdekket (mekaniske egenskaper)
- Type tilslagsmateriale

I Japan ble det innført forbud mot bruk av piggdekk tidlig på 1990-tallet. Studier av virkningene av forbudet har vist (Takagi og Horita, 1994):

- Det alminnelige trafikksikkerhetsbildet lite påvirket av overgangen til piggfrie dekk
- Personskader og dødsfall i trafikken relativt stabilt
- Karosseriskader har økt
- Luftkvaliteten er forbedret
- Veislitasjen er redusert
- Utvikling og forskning på piggfrie dekk har økt

2.2 Tidligere undersøkelser. Dokumentasjon

I 1992-1995 ble Veggrepsprosjektet gjennomført i regi av Statens vegvesen. Her ble det satt fokus på piggdekkbruk, veggrep, trafikksikkerhet, fremkommelighet, salting og strøing, miljøeffekter og samfunnsøkonomi

Ved SINTEF Bygg og miljøteknikk, avd. Bergteknikk ble problemstillingen ”Miljøvennlige tilslagsmaterialer” tatt opp i 1995/96 som del av forskningsprogrammet NORMIN 2000 og hovedprosjektet ”Helse, miljø og sikkerhet i bergindustrien” (1993-2001). Finansiering: Forskningsrådet, SND og bergindustrien. Her ble foretatt undersøkelser av materialkarakteristika for et utvalg bergarter med ulike slitasjeegenskaper og ulik evne til støvdannelse. Med bakgrunn i disse undersøkelsene supplerte Statens vegvesen Sør-Trøndelag i tilknytning til Miljødagene 1997 med ytterligere noen bergarter. Til sammen 11 bergarter og bergartsvariasjoner var med i disse undersøkelsene.

I tilknytning til forskningsprosjektet TOMS (Trafikk- og miljømessige støvbelastninger) ble det fra dette utvalget på 11 bergarter valgt ut 3 bergarter som skulle supplere bildet med materialkarakteristika (kulemølleverdi, abrasjon, sprøhet, mineralstruktur og kornstørrelse) med parametre som angir potensiale til støvdannelse (mineralogi, kornkurve, PM₁₀-fraksjon, spesifikk overflate, overflateladning m.m.). Deltagende bedrifter i TOMS var Franzefoss (hovedsponsor), SINTEF/NTNU, Folkehelse og Statens vegvesen. Forskningsrådet deltok i finansieringen. Målsettingen med prosjektet var å få økt kunnskap om helseaspektet ved slitasjestøv fra vegdekker på grunn av piggdekk, og gjennom dette finne fram til reviderte kravspesifikasjoner for dekketilslag. SINTEF/NTNU undersøkte nøkkelparametre for ulike bergartstyper. Folkehelse undersøkte inflammatoriske effekter (helseeffekter) av partikler fra ulike typer bergarter. SINTEF-rapporten ”Støvkaraktistikk” forelå i juli 1998. Folkehelse har presentert sine undersøkelser om ”effekter” i forhold til støvkaraktistika i flere publikasjoner.

2.2.1 Svevestøv og dekketyper. Erfaringer fra TOMS-prosjektet

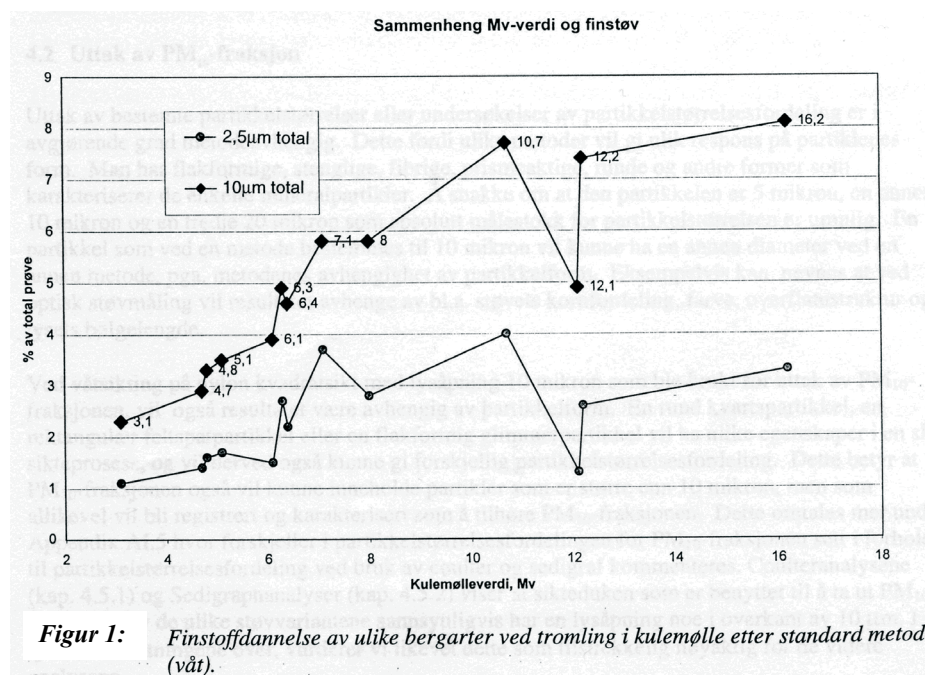
Ved valg av dekkemateriale i Norge har det tidligere i stor grad vært fokusert på materialtekniske egenskaper og dekkeøkonomi. Men de senere år har helse- og miljømessige konsekvenser av material- og metodevalg for dekketyper blitt tillagt stadig større vekt. Med denne erkjennelsen som utgangspunkt, og med bakgrunn i de undersøkelser som er foretatt og den dokumentasjon som er fremskaffet, har Statens vegvesen Vegdirektoratet sett det som naturlig og nødvendig at ytterligere dokumentasjon ble fremskaffet omkring ”det miljøvennlige vegdekke”.

Det har vært naturlig å sikte mot steinmaterialer som benyttes i vegdekker i våre større byer og tettsteder, der en betydelig del av befolkningen eksponeres for svevestøvet fra dekkematerialet. Det var også naturlig å basere seg på, og videreføre de erfaringer og den dokumentasjon som er fremskaffet bl.a. i de prosjekter som er omtalt over.

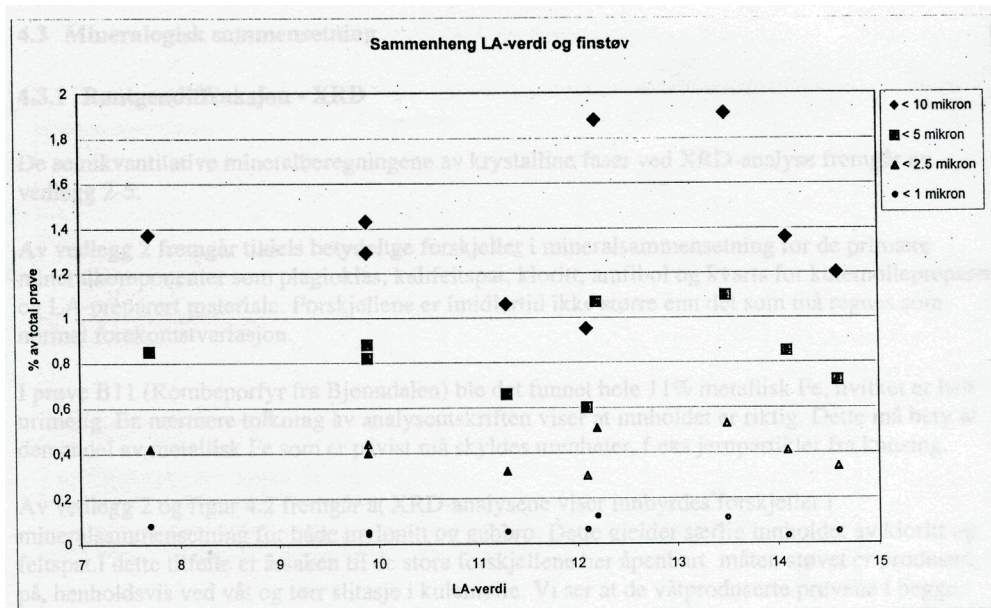
Hensikten med TOMS-prosjektet var å fremskaffe data for steinmaterialenes fysiske egenskaper, og deres mineralogiske og kjemiske sammensetning, og se dette i sammenheng med mulige helseeffekter ved eksponering for svevestøv.

Støvet fra utvalgte bergarter ble produsert ved mekanisk påkjenning i laboratoriet. Dermed kunne man rendyrke egenskapene for støv som ikke er forurenset fra andre kilder, men som likevel kunne ha sammenlignbare karakteristika som støv fra vegslitasje.

Bergartenes potensiale til å danne finstøv (PM₁₀ og PM_{2,5}) ved mekanisk påkjenning ble undersøkt både ved kulemølleforsøk, Los Angeles-forsøk og på borkaks fra felten (fast fjell). Her ble det ikke funnet noen entydig sammenheng mellom bergartenes mekaniske påkjenning og evne til å danne svevestøv. Ved kulemølleforsøket var det imidlertid en tydelig tendens til at bergarter med høy mølleverdi også ga en høyere andel finstøv. Se figur 1.



Los Angeles-forsøket viste ingen slik sammenheng. Se figur 2. Her var det tydelig at andre faktorer som for eksempel mineralsammensetning og mineralkornbinding hadde større betydning for støvgenereringen enn LA-verdien.



Figur 2: Finstoffdannelse av ulike bergarter ved tromling i kulemølle etter Los Angeles metoden.

Med bakgrunn i undersøkelser av partikkelfordelingen for svevestøv i vegtunneler (ref. undersøkelser SINTEF Bergteknikk har foretatt for Vegdirektoratet og Statens vegvesen Sør-Trøndelag), ble det konkludert med at støv produsert i Los Angeles-trommel hadde en kornkurve som var nærmere kornkurven for støv fra støvdepot i Helltunnelen (støv i felt) enn kulemøllestøvet. Dette er en viktig forutsetning for at det støvet som undersøkes videre av Folkehelsa har tilnærmet samme fysiske egenskaper som støv fra vegslitasje i felt.

2.2.2 Slitasje og støvproduksjon

Undersøkelser av svevestøv og slitasjestøv i vegtunneler og i dagen har vist variasjoner innen vide grenser når det gjelder kornkurve, mineralsammensetning, elementinnhold og organisk innhold. Dette må sees i sammenheng med ÅDT, andel tunge kjøretøy og ikke minst kjørehastighet. Undersøkelser viser at ved kjørehastigheter på opptil 30-40 km/time er det de malende egenskaper som dominerer vegslitasjen, mens ved høy hastighet (90 km/time) dominerer de knusende egenskaper. Lave hastigheter vil derfor kunne favorisere dannelse av en relativ høyere andel små partikler (av respirabel størrelse), mens relativ andel grove partikler øker med kjørehastigheten.

Når det gjelder dekkleslitasje og svevestøv er dette per i dag primært et vinterproblem knyttet til piggbruken. Dette kommer også til uttrykk ved en langt høyere mineralandel i svevestøvet om vinteren enn om sommeren. Undersøkelser SINTEF Bergteknikk har foretatt i vegtunneler viser at mineralandelen i svevestøvet (TSP – Total Suspended Particles) kan utgjøre av størrelsesorden 70-80% om vinteren, mot bare 15-25% om sommeren. Med andre ord så dominerer mineralandelen (uorganisk fraksjon) i svevestøvet om vinteren og forbrenningsprodukter og annet organisk materiale om sommeren.

Et springende punkt i diskusjonen om piggdekkbruk og piggdekkavgift er hvilken piggfriandel som er nødvendig for å tilfredsstille de etablerte luftkvalitetskriterier for svevestøv under gitte forutsetninger.

I høytrafikkerte tunneler med trafikk i begge retninger er på tørre, kalde vinterdager målt konsentrasjoner av total mengde svevestøv (TSP) på opptil 18-20 mg/m³ (milligram totalstøv pr kubikkmeter luft) mot 0,5-1,0 mg/m³ om sommeren (Helltunnelen, 1995). Etter tiltak som salting (2002) og mer optimal vasking, samt redusert piggdekkandel er de høye konsentrasjonene av svevestøv i Helltunnelen om vinteren betydelig redusert.

Til sammenligning kan nevnes at undersøkelser SINTEF Bergteknikk har foretatt inne i flybussen mellom Trondheim og Værnes vinteren 1999 viste partikkelkonsentrasjoner av totalstøv på av størrelsesorden 0,2 mg/m³ på dager med høye svevestøvkonsentrasjoner. Flybussen passerer mellom Trondheim og Værnes fire høytrafikkerte tunneler, med Helltunnelen på 4 km som den lengste. Konsentrasjonen av totalstøv inne i bussen lå på av størrelsesorden 1/50 – 1/100 av det som f.eks. var maks. totalstøvkonsentrasjon i Helltunnelen i samme måleperiode. Det må her gjentas at med totalstøv menes total mengde svevestøv i luften (Total Suspended Particles TSP), som ikke må forveksles med finere partikkelfraksjoner som for eksempel PM₁₀ (dvs. partikler mindre enn 10 mikrometer).

I høytrafikkerte byer og tettsteder er konsentrasjonene av svevestøv langt lavere enn i vegtunneler. Dette må ses i sammenheng med den mye større fortynningseffekten man har på svevestøv i dagen enn i en tunnel. Men også i byer kan man måle svært høye konsentrasjoner av svevestøv (PM₁₀-nivå opp til 0,7-0,8 mg/m³ (700-800 mikrogram/m³)). Her ser man også samme systematiske tendens som i vegtunneler at mineralandelen i svevestøvet dominerer om vinteren og forbrenningsprodukter om sommeren.

Mineralfraksjonen i, og beskaffenheten til svevestøvet er avhengig av hvilke utgangsbergarter som er brukt i vegdekket. Dette vil variere fra sted til sted, ettersom produsenten som regel henter sine råstoffer fra lokale forekomster. Bergartens kvalitet (hardhet, flisighet, struktur, tekstur osv.) har klar betydning for mengden slitasjeprodukter som dannes. Med den varierende sammensetning av tilslagsmaterialene, er det naturlig at også sammensetningen av svevestøvet etter vegslitasje vil variere.

Når det gjelder støv fra betongdekker viser SINTEF's undersøkelser fra 1980-tallet (Holmestrandtunnelen, Hamangtunnelen og "Veisliter'n") at dette generelt ga finere støv enn fra asfaltdekker. Svevestøv fra betongdekker har høyere spesifikk egenvekt enn asfaltstøv hvilket indikerer annen og mindre kornform.

2.2.3 Salting og strøing

Effekter av salting og sandstrøing på vegslitasje og svevestøvproduksjon lå utenfor rammen av TOMS-prosjektet, men kommenteres allikevel.

Vegsalt brukes hovedsakelig til to formål i sammenheng med veg. Det er i forbindelse med avising av vegbanen, og støvbinding ved høye konsentrasjoner av støv. Salting gjør at snø og is forsvinner, og at veibanen holdes bar over lengre tid. Salting gjør også at veibanen holdes våt når det er kaldt. Våt veibane kan slites fra tre til fem ganger mer enn tørr veibane (ref. NORCEM), samtidig som en økning av fuktkonsentrasjon på vegbanen vil senke friksjonsegenskapene til vegdekket. Dette har sammenheng med at tørre bergarter er mekanisk sterkere enn våte bergarter. Bruk av salt fører til at veibanen holdes fuktig over lengre tid, samtidig som det også fører til at det elektriske potensialet (zetapotensialet) endres. Det er også kjent at salt kan påvirke bindingene

mellom mineralkornene. Salt kan derfor føre til utilsiktede effekter som økt slitasje og støvproduksjon. Støvet kan ”lagres/deponeres” og vil kunne virvles opp når effekten av fukting eller salting opphører. Denne effekten er bl.a. påvist i Helltunnelen (Sveen, 2002).

Økt bruk av strøsand vil kunne føre til at den del av strøstanden som over tid blir liggende i veibanen vil males ned til små partikler, og representere et tillegg til svevestøvet som har sin bakgrunn i slitasje på vegdekket.

Bakgrunnen for at dette nevnes er at det er uklart hvorvidt effekter knyttet til salting og klassifiseringseffekter av strøsand kan resultere i at støv produsert i lab kan ha andre egenskaper enn støv produsert i felt. Det direkteproduserte støvet må antas å være likt det som produseres i lab, mens det resuspenderte vil kunne ha andre egenskaper.

2.2.4 Renhold

Høye svevestøvnivå har medført endrede rutiner for salting og renhold (vasking, feiing). Undersøkelser viser imidlertid at feimaskinene ikke er særlig effektive på de minste partikkelfraksjonene (PM_{2,5}). Saltløsninger holder vegen fuktig. Bruk av salt som støvdempingsmiddel kan gi en høy andel finpartikler bundet i en fuktig hinne på vegbanen. Disse kan frigjøres når effekten av salting avtar (magnesiumkloridbelegget tørker ut etter 2-3 døgn). Dette kan føre til betydelig oppvirvling av finstøv, særlig ved stor trafikkbelastning. Dette er påvist ved undersøkelser i Helltunnelen og i Trondheim.

3 PRØVEMATERIALE

3.1 Prøveutvelgelse.

I TOMS-prosjektet ble utvelgelse og uttak av aktuelle og representative steinmaterialer foretatt for å dekke en størst mulig spennvidde av bergartstyper som er aktuelle som dekketilslag. Her ble valgt to bergarter som representerte henholdsvis sure og basiske bergarter ved en gabbro og en kvartsrik dioritt. I tillegg ble det også valgt to rene mineraler, kvarts og feltspat. Disse representerer de mest dominerende mineralene i våre bergarter, og er også tverrpunkter mineralogisk og kjemisk. Dette utvalget dannet basis for videre undersøkelser på ”helseeffekter” ved Folkehelsa.

I den nye studien (som presenteres i denne rapport) ble det tatt utgangspunkt i bergarter fra ca 10 forekomster. Steinmaterialene skulle velges ut ifra de som anvendes i våre større byer og tettsteder, dvs. der et flertall av befolkningen er eksponert for støvet. Steinmaterialene burde også være anvendt både på motorvei (høy kjørehastighet) og i områder med kjørehastigheter 30-50 km/time. Det var også et ønske at de utvalgte bergarter hadde en representativ variasjonsbredde når det gjelder mineralogiske og mekaniske egenskaper (harde og myke bergarter), og ikke minst variasjon i helserisiko knyttet til steinmaterialenes mineralsammensetning. Utvelgelsen ble foretatt med utgangspunkt i Statens vegvesen Vegdirektoratets prioriteringer. Forslaget ble diskutert med Folkehelsa og SINTEF/NTNU. De aktuelle produsenter av steinmaterialene ble orientert om at prøvene måtte være så representative som mulig.

Prøvene er nummerert fra 1 til 9, og denne nummereringen benyttes gjennom hele rapporten. Lokalitet og bedriftsnavn er anonymisert, kun bergartsnavn er oppgitt.

Følgende bergarter ble mottatt av SINTEF for videre behandling og analyse:

1. Syenittporfyr
2. Basalt
3. Kvartsitt
4. Syenittporfyr
5. Kvartsdioritt (referanse TOMS)
6. Basalt (grov)
7. Basalt (fin)
8. Hornfels
9. Jaspis

I det opprinnelige valget av prøvemateriale inngikk også en hornfels og kvartsdioritt, men av ulike grunner utgår disse. Til gjengjeld inngår to ulike bergartskvaliteter fra en og samme lokalitet. Den ene er en finkornet basalt, og den andre en noe grovkornet variant med mer epidot.

Når det gjelder mineralet/kiselsyrevarianten jaspis er dette en opak kalsedon. Navnet kalsedon (kjemisk formel SiO_2) blir brukt på kompakte kiselvarianter, og består av meget små kvartskrystaller med submikroskopiske porerom (kryptokrystallinsk). I mikroskop fremgår jaspis som et opakt mineral, tilsvarende en amorf substans med ikke utviklet krystallinsk struktur. Hvorvidt de opake og kryptokrystallinske egenskaper påvirker toksikologien i forhold til alfa-kvarts, som er den vanligste krystallinske kvartsmodifikasjonen, er usikkert. Det er ikke funnet entydig dokumentasjon som bekrefter eller avkrefter dette. Generelt indikerer de litteraturreferanser som er gjennomgått at de krystallinske kvartsmodifikasjonene alfa-kvarts, tridymitt og kristobalitt er mer biologisk aktive enn kryptokrystallinsk og amorf silika (inkl. jaspis). (Myran, 1999).

Rekvirering og innhenting av prøvemateriale ble foretatt av Statens vegvesen Vegdirektoratet. Mottatt prøvemengde fra hver lokalitet var 30-50 kg.

3.2 Metoder for nedknusing og støvkarakterisering

Mekanisk påkjenning av steinmaterialene ble foretatt ved Los Angeles-test (europeisk prEN 1097-2 standard). Testmetoden er beskrevet i vedlegg 1, kap.1.

Spesifikk vekt av materialet ble bestemt for samtlige prøver.

Uttak av støvfraksjonen PM_{10} ble foretatt ved våtsikting, mens uttak av $\text{PM}_{2,5}$ -fraksjon ble foretatt ved sedimentasjonsanalyse basert på spesifikk vekt. Uttak av både PM_{10} og $\text{PM}_{2,5}$ ble foretatt på totalstøvprøve etter tromling ved Los Angeles-test.

De utvalgte støvfraksjoner (PM_{10} og $\text{PM}_{2,5}$) ble deretter karakterisert ved følgende parametre:

- Mineralogisk sammensetning ved røntgendiffraksjon (XRD)
- Partikkelstørrelse/kornkurve ved Coulteranalyse (COULTER LS 230)
- Partikkeloverflate ved BET
- Elementanalyse ved ICP-AES (ca 30 elementer)

I august 2003 ble det foretatt følgende tilleggsanalyser etter ønske fra Folkehelsa.:

- Utlekkingsforsøk av elementer/metaller på fraksjonene PM_{10} og $PM_{2,5}$ fra 4 stk av prøvematerialet.
- Kornkurve (Coulter LS 230) og spesifikk overflate (BET) for kvarts (Min-U-Sil 5) som Folkehelsa bruker.

Avhengig av formål og målorgan kan utlekkings- og ekstraksjonstester gjennomføres på ulike måter. I dette tilfelle var målorganet luftveiene. Som testmedium ble derfor valgt dyrkningsmediumet PBS (fosfatbufret saltvann for cellekulturer) ved pH 7. Elementanalysen ble foretatt ved HR-ICP-MS (Høyoppløselig Indusert Koblet Plasma – Massespektrometer).

I vedlegg 1 (7 sider) beskrives og omtales mer detaljert analysemetodene for støvkarakterisering. Metodenes prinsipper og begrensninger, samt feilkilder er også omtalt. Også andre aktuelle karakteriseringsmetoder for partikler er omtalt i vedlegg 1. Dette fordi andre typer partikkelkarakterisering på prøvematerialet ble diskutert (mikroskopering, tynnslipsanalyse, elektrisk overflateladning/zetapotensiale) under planleggingen av prosjektet, men ble valgt å holde utenfor i denne omgang.

3.3 Lagring av prøver

Den del av det resterende prøvemateriale som ikke ble sendt til Folkehelsa ble etter avtale forseglett og lagret. I utgangspunktet ble det forutsatt en lagringstid på 1-3 år uten forringelse av støvets karakteristikk og egenskaper. Etter diskusjoner med bl.a. Folkehelsa og Institutt for farmakologi og toksikologi, NTNU ble det valgt å lagre prøvene i spesialrør lagt i lynlåsposer innpakket i aluminiumsfolie, og oppbevart isolert og stabilt i et mørkt skap ved romtemperatur.

4 RESULTATER

4.1 LA-verdi og spesifikk vekt

Bestemmelse av LA-verdi (etter prosedyre prEN 1097-2) og spesifikk vekt ga følgende resultat, tabell 1:

Tabell 1. LA-verdi og spesifikk vekt.

Prøve	LA-verdi	Spesifikk vekt
1. Syenittporfyr	15,8	2,71
2. Basalt	9,9	2,84
3. Kvartsitt	10,4	2,89
4. Syenittporfyr	14,0	2,64
5. Kvartsdioritt	10,8	2,79
6. Basalt, grov	8,1	2,91
7. Basalt, fin	9,9	2,94
8. Hornfels	15,0	2,92
9. Jaspis	14,3	2,79

Det er stor variasjon i LA-verdi (metodens sprøhetstall) for de 9 undersøkte pukktypene. Nærmere beskrivelse om LA-metoden og LA-verdien er gitt i vedlegg 1, punkt 1.

4.2 Uttak av PM₁₀- og PM_{2,5} fraksjon

Uttak av bestemte partikkelstørrelser eller undersøkelser av partikkelstørrelsesfordeling er i avgjørende grad metodeavhengig. Dette fordi ulike metoder vil gi ulik respons på partiklens form. Man har flakformige, stenglige, fibrige, prismeaktige, runde og andre former som karakteriserer de enkelte mineralpartikler. Å snakke om at den partikkelen er 5 mikron, en annen 10 mikron og en tredje 20 mikron som absolutt målestokk for partikkelstørrelsen er umulig. En partikkel som ved en metode bestemmes til 10 mikron vil kunne ha en annen diameter ved en annen metode, pga. metodenes partikkelavhengighet. Eksempelvis kan nevnes at ved optisk støvmåling vil resultatet avhenge av bl.a. støvets kornstørrelsesfordeling, farge, overflatestruktur samt lysets bølgelengde.

Ved våtsikting på nylon kvadratsikt med lysåpning 10 mikron som ble brukt for uttak av PM₁₀-fraksjonen, vil også resultatet være partikkelavhengig. En rund kvartspartikkel, en rektangulær feltspatpartikkel eller en flakformig glimmerpartikkel vil ha ulike egenskaper i en slik sikteprosess, og vil derved også kunne gi forskjellig partikkelstørrelsesfordeling. Dette betyr at PM₁₀-fraksjonen også vil kunne inneholde partikler som er større enn 10 mikron, men som allikevel vil bli registrert og karakterisert som å tilhøre PM₁₀-fraksjonen.

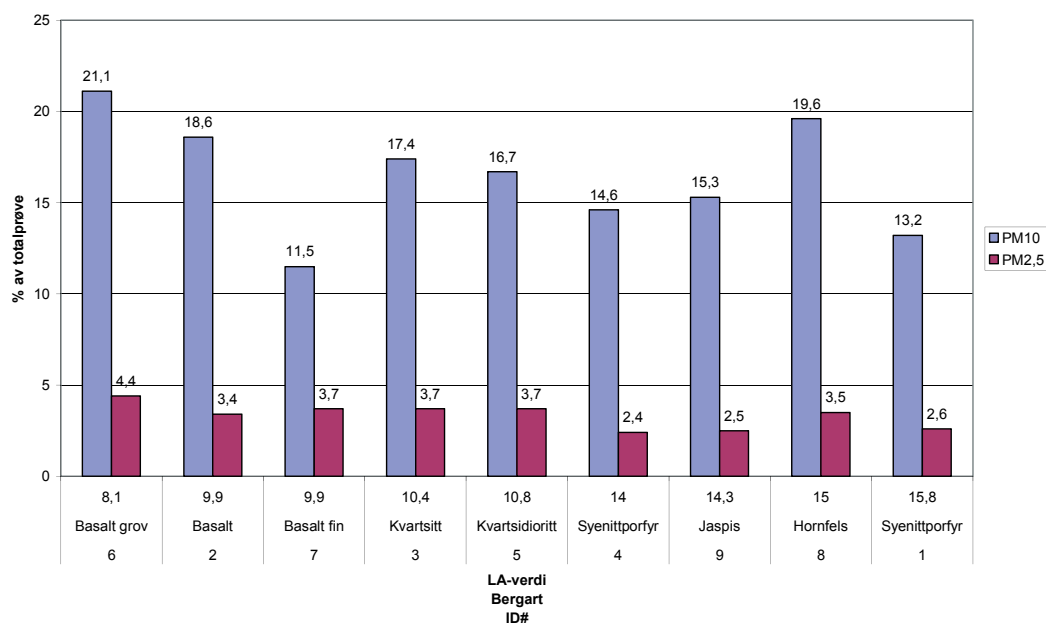
Uttak av PM_{2,5} ble foretatt ved sedimentasjon i vannkolonne basert på prøvens spesifikke vekt. Avhengig av egenvekten vil de ulike partikkelfraksjoner synke ned i vannkolonnen med ulik hastighet basert på beregnet settlingshastighet for de ulike prøver.

4.3 Partikkelfordeling (Coulteranalyse)

I vedlegg 2 (20 sider) er vist kornkurvene (partikkelfordelingen) for PM_{10} og $PM_{2,5}$ for samtlige 9 materialprøver. Disse er merket vedlegg 2, prøve 1 a og b til prøve 9 a og b. Her refererer prøve a til fraksjon PM_{10} og prøve b til $PM_{2,5}$.

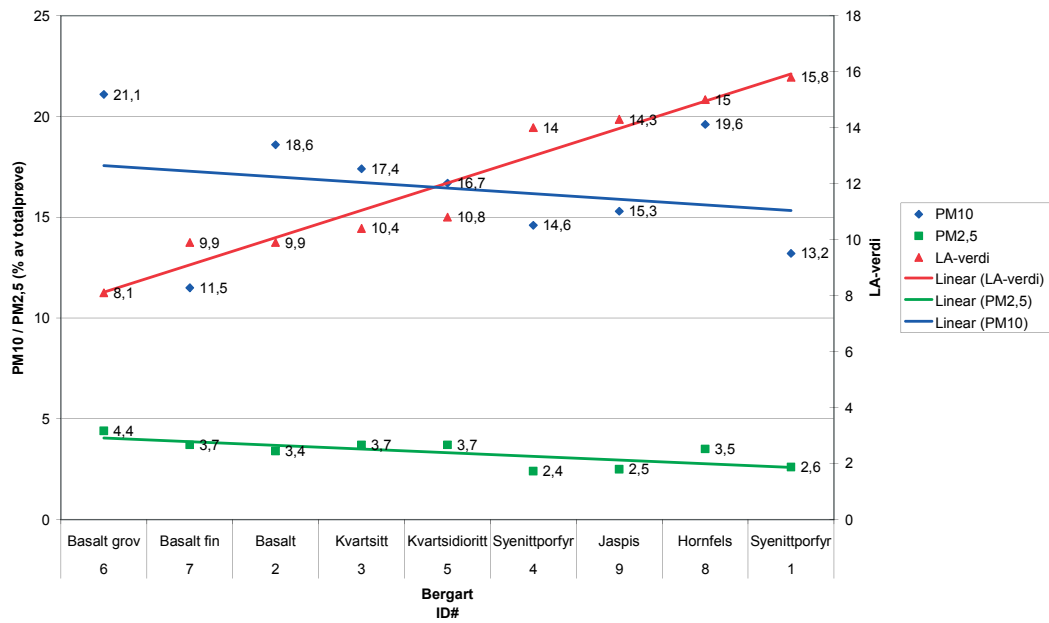
I tillegg til de 9 opprinnelige prøvene ble det senere også kjørt Coulteranalyse på en ”ferskprøve” av mylonitt. Denne prøven ble sendt Folkehelse ekspress den 17.01.03. Denne kornkurven er også vist i vedlegg 2, og er merket prøve 10 a og b.

Figur 3 indikerer bergartenes evne til å danne finstøv ved Los Angeles-forsøk. Her er vist finstøvdannelsen (PM_{10} og $PM_{2,5}$) i totalprøve etter tromling ved Los Angeles-metoden som funksjon av LA-verdien for de ni bergartene som inngår i studien. Her kan det sees en tendens til at bergarter med høy LA-verdi ga en mindre andel finstøv.



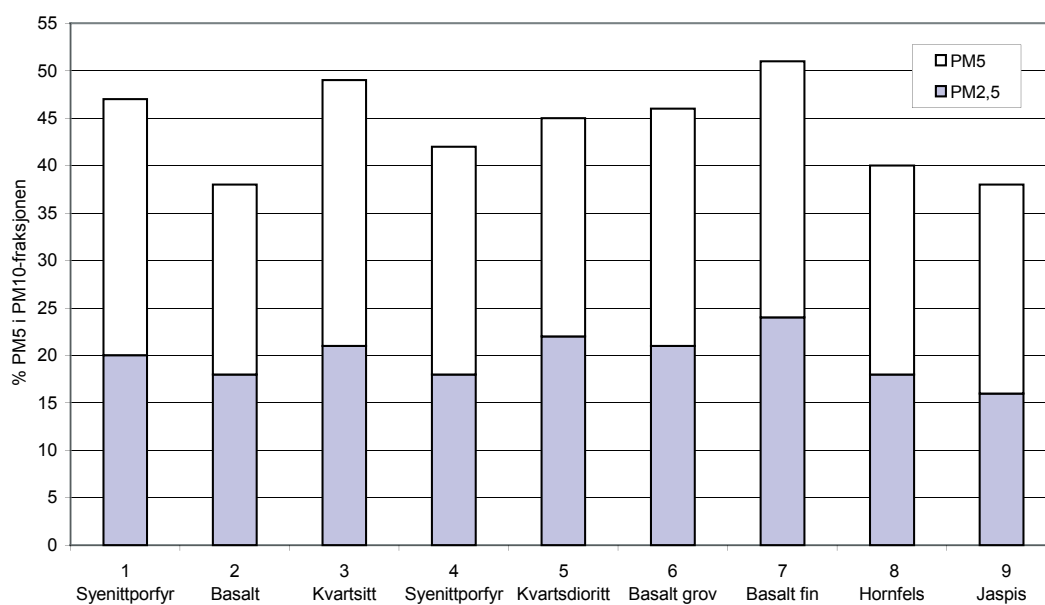
Figur 3. Finstøvdannelse (PM_{10} og $PM_{2,5}$) i totalprøve etter tromling ved Los Angeles-metoden.

I figur 4 er det foretatt en regresjonsanalyse basert på dataene fra figur 3. Her fremgår sammenhengene mellom LA-verdi og finstøvdannelse klarere enn i figur 3.



Figur 4. Finstøvdannelse (PM_{10} og $PM_{2,5}$) i totalprøve etter tromling ved Los Angeles-metoden.

Figur 5 viser %-fordelingen av fraksjon PM_5 respektive $PM_{2,5}$ i PM_{10} -fraksjonen.



Figur 5. %-andel av PM_5 resp. $PM_{2,5}$ i PM_{10} -fraksjon i totalprøve etter tromling ved LA.

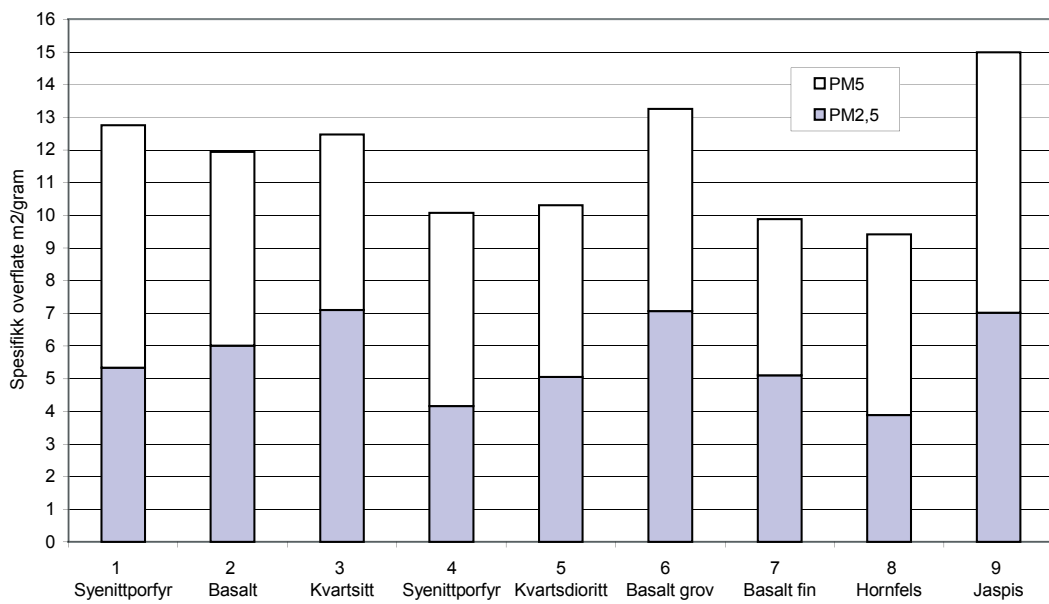
4.4 Mineralogisk sammensetning (XRD)

De semikvantitative mineralberegningene av krystalline faser i fraksjonene PM_{10} og $PM_{2,5}$ for de 9 materialprøvene er foretatt ved XRD-analyse (røntgendiffraksjon). Resultatet fremgår av vedlegg 3.

4.5 Spesifikk overflate (BET-analyse)

Resultatet av BET-analysene på fraksjonene PM₁₀ og PM_{2,5} for de 9 materialprøvene er vist i vedlegg 4.

Figur 6 viser hvordan spesifikk overflate (m²/g) for de 9 prøvene varierer for partikkelfraksjonene PM₁₀ og PM_{2,5}.



Figur 6. Spesifikk overflate (m^2/g) for PM_{10} og $PM_{2,5}$ -fraksjonen.

Spesifikk overflate er av størrelsesorden dobbel så stor for $PM_{2,5}$ som for PM_{10} -fraksjonen.

4.6 Elementanalyse (ICP-AES)

Det er foretatt kjemisk analyse og bestemmelse av 30 stk elementer (grunnstoffer) i de 9 steinprøvene. Resultatene fremgår av vedlegg 5 a og b.

4.7 Tilleggsundersøkelser

4.7.1 Utlekkingstester

I august 2003 ble det etter ønske fra Folkehelsa foretatt utlekkingsstester på fraksjonene PM₁₀ og PM_{2,5} fra fire av steinprøvene. Som testmedium ble valgt dyrkningsmediumet PBS (fosfatbufret saltvann for cellekulturer) ved pH 7. Elementanalysene ble foretatt ved HR-ICP-MS (Høyoppløselig Indusert Koblet Plasma – Massespektroskopi). Resultatene av utlekkingsstestene fremgår av vedlegg 6.

4.7.2 Kornkurve og spesifikk overflate kvarts (Min-U-Sil)

Det ble også etter ønske fra Folkehelsa foretatt bestemmelse av kornkurve (Coulter LS 230) og spesifikk overflate (BET) for kvarts (Min-U-Sil 5) som Folkehelsa bruker som referanse. Resultatene fremgår av vedlegg 7 og 8.

5 SAMMENDRAG

Steinmaterialenes som ble valgt skulle ha en representativ variasjonsbredde i mineralogiske og mekaniske egenskaper (harde og myke bergarter), og variasjon i helserisiko knyttet til steinmaterialenes mineralsammensetning. De skulle også ha en anvendelse i større byer og tettsteder, og anvendes både på motorvei (høy kjørehastighet) og i områder med 30-50 km/time.

Utvalget av prøver foretatt med utgangspunkt i Statens vegvesen Vegdirektoratets prioriteringer, og i samråd med Folkehelsa og SINTEF/NTNU.

Steinmaterialene som inngår i denne studien varierte betydelig i mineralsammensetning og element/metallinnhold. Eks. kvarts 2-26 vekt%, plagioklas 11-73 %, kloritt 1-14 %. Epidot ble påvist bare i tre av prøvene.

Generelt lavere kvartsinnhold i PM_{2,5} enn i PM₁₀. Har sammenheng med kvartsmineralets hardhet.

Forholdsvis liten variasjon i partikkelstørrelsesfordeling og overflateareal.

Tendens til at bergarter med høy LA-verdi ga en mindre mengde finstøv.

Variasjon i LA-verdi: 8,1 - 15,8.

Variasjon i spesifikk vekt: 2,64 - 2,94.

Variasjon i spesifikk overflate: PM₁₀ = 3,88 - 7,1 m²/gram, PM_{2,5} = 9,42 - 14,99 m²/gram.

Variasjon i % finstøvmengde i total prøve etter LA-tromling: $PM_{10} = 11,5 - 21,1 \%$,
 $PM_{2,5} = 2,4 - 4,4 \%$.

VEDLEGG 1

PROSJEKT "SVEVESTØVPRODUKSJON OG DEKKETYPEN"

Beskrivelse av undersøkelsesmetoder for støvkarakterisering.

1 Los Angeles-metoden

For å vurdere kvaliteten på steinmaterialer trengs testmetoder som er mest mulig nøyaktige og pålitelige. Los Angeles-metoden er opprinnelig amerikansk, men har i dag stor internasjonal utbredelse, og er innført som standard metode i flere europeiske land. Uttestingen kan utføres etter den amerikanske standardprosedyren ASTM C131 (fin pukkk) og ASTM C535 (grov pukkk), eller etter den europeiske CEN-prosedyren prEN 1097-2. Den siste prosedyren er anvendt i denne studien.

Etter CEN-prosedyren siktes 5 kg av steinmaterialet ut i fraksjonen 10,0-14,0 med mer. Testmaterialet legges sammen med 11-12 stålkuler i en trommel som roterer om en horisontal akse. I trommelen finnes en metallflens som løfter kuler og materiale for hver omdreining opp til et bestemt nivå, før alt faller ned. Prøvematerialet utsettes for både slagpåkjenning og slitasje under denne prosessen. Etter 500 omdreininger med en gitt hastighet siktes materialet. Den produserte finstoffmengden $\leq 1,6$ mm i vektprosent av totalt prøvemateriale, Los Angeles-metodens "sprøhetstall" (LA-verdien). Materialet deles inn i kategorier avhengig av LA-verdien:

Kategorier	LA-verdi
A	≤ 15
B	≤ 20
C	≤ 25
D	≤ 30
E	≤ 40
F	≤ 50
G	Ingen krav

LA-metoden er kjent for å gi pålitelige resultater med liten spredning, og er den av metodene som synes å være best egnet til å bestemme mekanisk styrke hos inhomogent grusmateriale. Grunnet metodens virkemåte blir de svake kornene ikke beskyttet på samme måte som tilfellet ved fallprøven og abrasjonstesten. Kornene bidrar til finstoffproduksjon ($\leq 1,6$ mm) og analyseverdien er i større grad representativ for bergartens "sanne" styrke. Siden materialet blir utsatt for både knusing og abrasjon får LA-verdien bidrag fra begge prosesser.

2 Uttak av PM₁₀ og PM_{2,5}

Uttak av PM₁₀-fraksjon utføres ved våtsikting av prøvemateriale med destillert vann på nylon kvadratduksikt med lysåpning 10 μ m i ultralyd. Uttak av PM_{2,5}-fraksjon foregår ved sedimentasjonsanalyse i vann basert på spesifikk vekt.

Uttatt fraksjon blir tørket i begerglass i tørkeskap på svak varme (50 – 100 °C), og deretter overført til prøveglass med prøvenavn og partikkelstørrelse. Nøyaktigheten for

partikkelkarakterisering (< 10 mikron) ved våtsikting avhenger bl.a. av siktedukens beskaffenhet og partiklenes form (runde, fibrige, flakige). Dette er tidligere omtalt under kap. 4.2.

3 Røntgendiffraksjon - XRD

XRD eller røntgendiffraksjon bestemmer mineralogien til krystalline faser. Metoden baseres på at ulike mineraler har forskjellig avstand mellom gitterplatene slik at diffraksjon av røntgenstrålen vil være forskjellig.

Apparaturen som er brukt er Philips PW 1830. Prøvematerialet ble preparert ved å legge det på en glassplate, dryppe sprit over, og gni det utover med en glasstav til en tynn hinne. Denne prepareringsmetoden er vanlig ved små prøvemengder og har sine begrensninger da kvantitative analyser blir vanskelige. Metoden er å oppfatte som semi-kvantitativ.

4 Kornkurve. Partikkelstørrelsesfordeling/partikkelkarakterisering.

Analyser av partikkelstørrelsesfordeling utføres med Coulter LS, og kan suppleres med Sedigraf.

Coulter LS

Det benyttes to typer Coulter. Coulter LS 230 er basert på våt analyse, og har et måleområde fra 0,04 til 2000 mikrometer. Coulter 200 LS 200 er basert på tørr analyse, og har et måleområde på 0,4 til 2000 mikrometer.

Coulter fungerer etter prinsippet om laserdiffraksjon. Spredningen av laserstrålen som treffer partiklene øker med minkende partikkelstørrelse. Lysspredningsmønsteret som avtegner seg på detektoren tilsvarer dermed en gitt partikkelfordeling. Prøvene blir først løst opp i 10 ml calgon (0,5 %) dispergeringsmiddel og satt i ultralydbad i 10 minutter før de blir analysert.

Teorien bak coulter-analysen er at når en partikkel bestråles av en lyskilde (laser), vil lyset opptre på ulike måter. Dette avhenger av partikkelens form, størrelse og homogenitet, lysets bølgelengde, og i hvilken grad partikkelen kan gjennomlyses.

Coulter-analysen gir som resultat diameteren til kuler av samme volum som målte partikler. Den gitte størrelse er som nevnt relatert til volum av kuleformede partikler. Dersom formen på partiklene i prøvematerialet avviker mye fra kuleform, vil dette innvirke på resultatet.

Med partikler som ikke er kuleformede vil det være av betydning hvorledes de ulike partiklene er orientert når de diffrakterer lyset. Det diffrakterte lyset vil variere om det opprinnelig treffer en bredsida eller en langsida på partikkelen.

Coulter (laserteknikken) er følsom for variasjoner i innhold av grove partikler. En tilblending på 2 vektprosent i materiale med partikler større enn 20 mikron til materiale med partikler mindre enn 20 mikron gir tydelige utslag. Coulteren er også følsom for variasjon i innholdet av partikler mindre enn 1,2 mikron.

Sedigraf

Sedigrafanalysen er en nøyaktig målemetode for kvantitativ bestemmelse av mikropartikler helt ned til 0,2 mikron. Som resultat av analysen fås en kumulativ siktekurve av det analyserte materialet. Analysen bygger på størrelsesbestemmelse av partikler ut ifra ulik

sedimentasjonshastighet for partiklene i en viskøs væske avhengig av prøvematerialets densitet. Deretter blir materialet rørt ut i isopropanol og plassert i ultralydbad i ca. 15 minutter, for det plasseres i sedigrafen. Instrumentet er av type Sedigraf 5000 D. For hver prøve tegnes ut en kornfordelingskurve.

Da en sjelden finner kuleformede partikler, benyttes en ekvivalent diameter (Stoke's diameter). Partikler med samme fallhastighet antas da å ha samme ekvivalente størrelse. Størrelsen til partikkelen angis dermed som diameteren til en kuleformet partikkel av samme materiale med samme fallhastighet.

Densiteten inngår som en bestemmende faktor for apparaturinnstillingen. Det er derfor viktig med en mest mulig nøyaktig densitet for å få et best mulig resultat.

Dersom det analyserte materiale ikke er skikkelig dispergert i væsken, kan agglomerater av finere partikler bli betraktet som en større partikkel.

Luftbobler i målecellen vil bli målt som grove partikler, og derved virke inn på måleresultatet.

Partiklene vil falle saktere ved celleveggen enn midt i cellen. "Feil" sedimentasjonshastighet vil gi "feil" diameter på målte partikler.

Viskositeten i væsken er avhengig av temperaturen. Ved temperatursvingninger kan viskositeten endres slik at sedimentasjonshastigheten ikke er representativ.

Sammenlignet med sedigraf er det påvist at:

- Laserteknikken gir en grovere kornfordeling, bortsett fra prøver med tilnærmet runde partikler.
- Forskjellen er avhengig av partikkelstørrelse, kornform og egenvekt til mineralet.

5 Spesifikk overflate (BET)

Ved BET-analysen måles den spesifikke overflaten til en pulverprøve ved at det registreres en kvantitativ gassmengde som absorberes som et enkelt lag av molekyler (monomolecular layer) på partikkeloverflaten. Ved denne metoden fås et uttrykk for det totale arealet av en partikkel. Også porer og ujevnheter i overflaten blir med i det totale areal pr. vektenhet.

Det blir benyttet apparatur av type Flowsorb II 2300 som foretar en automatisk utregning av spesifikk overflate.

Prøvematerialet veies inn på en Mettler P 1200 N-vekt med en veienøyaktighet på 0,01 g, og overføres til en prøvesylinder. Under prøveprepareringen (100 °C) gjennomstrømmes prøven av en gassblanding (70 % He og 30 % N) som trekker med seg fukt og eventuelle andre gasser i prøven. Prøvebeholderen overføres til analyseringsposisjon. Der blir den senket ned i flytende nitrogen, hvor nitrogenet i gassblandingen absorberes av prøven. Apparaturen gir arealet (m²) på display. Ved hjelp av innveid vekt av prøvematerialet beregnes spesifikk (overflate) i m²/g.

En nøyaktig kalibrering av analyseutstyret er nødvendig for at de kalkulerte verdier skal være riktige.

Nøyaktig innveining av prøvematerialet er også viktig for å få et riktig resultat.

Det er viktig at det bygges opp et enkelt lag av gassmolekyler på partikkeloverflaten. Ved trykk- og temperaturforhold der det bygges opp mer eller mindre enn et lag av gassmolekyler, vil ikke målingen bli korrekt.

Spesifikk overflate gir et mål for hvor stor flaten til en partikkel er i forhold til massen (m^2/g). Den spesifikke overflaten er avgjørende for mengden av andre forurensningskomponenter som kan sette seg på partikkeloverflaten, og er derfor interessant i helsesammenheng. Det er f.eks. et kjent fenomen at SO_2 -komponenter som setter seg på støvpartikler gir synergistiske helseeffekter. Det betyr at effekten ved eksponering er større enn summen av effektene hver for seg.

6 Elementinnhold

Elementanalysene er en kjemisk analyse av prøvene som viser innholdet av ulike elementer (grunnstoffer). Undersøkelsen er basert på ICP-AES, etter partiell ekstrahering i kongevann (ca. 0,5 gram oppluttes i 3 ml 3:1:2 HCL: $HNO_3:H_2O$ (Aqua Regia) ved 90 °C i en time). Løsningen fortynnes deretter i 10 ml vann. ICP-AES kan benyttes i samsvar med NS 4770 for undersøkelse av geologisk materiale.

Ved ønske om større nøyaktighet (lavere deteksjonsgrenser) kan HR-ICP-MS (Høyoppløselig Indusert Koblet Plasma – Massespektroskop).

Antallet av elementer som bestemmes kan variere fra 30 til over 40 etter behov.

Begge ICP-metodene ble benyttet i denne studien.

7 Overflateladning. Elektroforesemålinger

Denne analysen er ikke benyttet i denne studien. Men da metoden ble anvendt i TOMS-prosjektet, og også diskutert i forkant av denne studien, kommenteres derfor testmetoden.

Overflaten til mineralpartikler i vann er elektrisk ladet. Ladningen kan være både positiv og negativ, avhengig av kjemisk miljø, og da spesielt pH. Den ladede partikkeloverflaten forårsaker at motsatt ladede ioner fra vannet blir trukket mot partikkeloverflaten.

Zetapotensialet uttrykker det elektriske potensialet mellom de vandrende partiklene og vannfasen. Zetapotensialet er av stor betydning i mange ulike sammenhenger. Der partikler av ulike slag er dispergert i en væske, vil partiklenes zetapotensial være av betydning for om f.eks. partiklene fnokker eller ikke. Zetapotensialet kan derved også ha betydning når det gjelder støv og den potensielle helseisriko.

Zetapotensialet for partikkelen er relatert til væsken, og blir målt som forskjellen mellom partikkelens overflateladning kontra væskens ladning. Zetapotensialet for væsken er null når den inneholder et likt antall av positive og negative ioner, og har dermed ingen ladning. Zetapotensialet vil være knyttet til hvilke krefter, og i hvilke avstander partiklene kan motstå hverandre og dermed hindre ansamlinger. Når zetapotensialet går mot null, vil det skje en fnokking. Zetapotensialet oppgis i millivolt (mv).

Målinger av overflateladning, eller såkalte elektroforesemålinger, gjøres i en apparatur som i hovedsak består av en målecelle og et mikroskop. En suspensjon av det oppknuste materialet i destillert vann helles i målecellen. Det plasseres elektroder på hver side av målecellen, slik at det blir dannet et elektrisk felt. I mikroskopet vil man se at partiklene beveger seg.

Ioner i vannet vil i betydelig grad kunne påvirke zetapotensialet. Egenskaper til partikkeloverflatene vil endres med tiden. Derfor er tiden fra preparering av prøvematerialet til måling, avgjørende for resultatet.

Til dette benyttes instrumentet Rank Bros, Mark II. Ved elektroforesemåling av partikler i vann måler man horisontal bevegelse av partikler i en målecelle.

Ved målingene benyttes følgende fremgangsmåte:

Ca 0,2 gram av prøven føres over i en kolbe sammen med 125 ml destillert vann. Etter settling av gods blir prøven dekantert til et mindre begerglass. pH måles i dette begerglasset. Blandingen står i ca 15 minutter før overføring til målecellen. Det bør nevnes at egenskapene til partikkeloverflatene endres med tiden. I målecellen er det to elektroder. Spenning settes på og man registrerer tiden partiklene bruker på å tilbakelegge en viss avstand. Dette gjøres også ved reversert polaritet. Zetapotensial er beregnet etter Smoluchowskis formel. Det tas ikke hensyn til variasjon i ionekonsentrasjon.

8 Glødetap

Før prøver som er trafikkprodusert, og som inneholder både en mineralsk (uorganisk) fraksjon og en organisk fraksjon (bl.a. sotpartikler/carbon black og gummipartikler) utføres glødetapsanalyser. Dette vil gi forholdet mellom de to ulike partikkelfraksjonene angitt i vekt-%.

Prøvematerialet blir overført til porselens- eller evt. platinadigler, og deretter satt i eksikator i 24 timer. Diglene med prøvematerialet blir deretter veid og så brent i ovn ved 700 °C i én time. Diglene blir så avkjølt i 24 timer i eksikator på nytt, hvoretter diglene med prøvematerialet veies på nytt. Diglenes vekt før og etter gløding (glødetapet) gir et samlet uttrykk for prøvens innhold av hovedsakelig organisk materiale og vann.

9 Utlekkingstester

Avhengig av formålet kan utlekkings- og ekstraksjonstester gjennomføres på ulike måter. Det kan benyttes sterke eller svakere mineralsyrer eller ulike typer medium/serum/buffere.

Utlekkingsforsøkene kan ha som formål å vurdere utlekking fra for eksempel et deponi eller fra mineral- og bergartspartikler til jord eller vann, eller det kan være knyttet opp mot biologisk tilgjengelighet for utlekking til for eksempel munnhule, luftveier, lungesystem, mave eller tarm.

Det er to prinsipielle måter å ta tak i dette på:

- Mest mulig aggressive utløsningsmidler
- Midler som mest mulig ligner på de potensielle biologiske omgivelsene

Et aktuelt testmedium for utløsning av elementer i luftveiene kan være bruk av dyrkningsmedium PBS (fosfatbufret saltvann) for cellekulturer tilsatt f.eks 10 % serum. Et slikt mildt medium kunne eventuelt suppleres med citratbuffer eller EDTA som ville ha forsterket utlekkingen.

Folkehelse ønsket utlekkingsstestene foretatt i PBS ved pH 7.

Uttak, preparering og analyser av de aktuelle støvprøver er foretatt ved SINTEF Bygg og miljø Berg og geoteknikk.

Ekstraksjonen av prøvematerialet er foretatt ved Det Medisinske fakultet, Institutt for farmakologi og toksikologi, NTNU etter følgende metode:

Som testmedium ble benyttet PBS (fosfatbufret saltvann) ved pH 7.

Prøvene ble veid inn i sentrifugerør av plast. Sentrifugerørene ble så tilsatt det aktuelle testmedium (5 ml), tilkorket og satt i roterende mikser i 24 timer, og deretter sentrifugert. Det ble laget to paralleller av hver prøve. Temperaturen var satt til romtemperatur, 22-23 grader Celsius. Supernatantene ble overført til nytt sentrifugerør og tilkorket.

Utstyr:

Vekt : Mettler AT 250

Pipette : Finnpipette 1-5 ml

Mikser : Rotary Mixer 34526, Breda Scientific

Sentrifuge: Kubota 5100, rotor 5100: RS-720 (3500 rpm, 5 min, 2 ganger)

Elementanalysene ble utført ved Norsk institutt for naturforvaltning (NINA) ved HR-ICP-MS.

10 Tynnslipanalyse (polarisasjonsmikroskopi)

Heller ikke denne analyse er foretatt i denne studien, men omtales da den ble anvendt i TOMS-prosjektet.

Alle mineraler har karakteristiske optiske egenskaper som kan bestemmes og beskrives ved tynnslipmikroskopering. Bergarten/mineralet som skal undersøkes prepareres til et egnet slip etter spesielle prosedyrer. Det preparerte mineralslip kan observeres på 2 måter:

- 1) I plant polarisert lys. De optiske egenskapene som kan studeres er: egenfarge, pleokroisme og relieff.
- 2) Under dobbelt polarisert lys (også kalt kryssede nichols). De optiske egenskapene som kan studeres i dette tilfellet er: interferensfarger (dobbeltbrytning), optiske akser, optisk tegn, elongasjon og utslukningsvinkel.
 - a) Gjennom tynnslipanalyser kan fremskaffes informasjon om mineralinnhold og mineralsammensetning for ulike typer bergarter som bare i begrenset grad kan fremskaffes ved andre mineralogiske metoder. Analysen er kostbar og tidkrevende.
 - b) Tynnslipanalyser kan også benyttes for å vurdere korngrenser og metakrystalldannelser. Disse observasjonene kan benyttes til å vurdere en bergarts slitasjeegenskaper og styrke.

Resultatene av tynnslipanalysen kan brukes til:

- kvalitetssikring og evaluering av mineralinnhold etter XRD-analyser.

- vurdering av årsak til variasjoner i støvemisjon fra ulike bergarter, og forklaring på uventede variasjoner i mengde støv/slitasje.

11 Mikroskopering. Kornform. Tekstur

Ulike fraksjoner av prøvematerialet kan etter behov bli studert og karakterisert ved bruk av mikroskop. For de rene bergarts-/mineralpøvene kan man finne ut hvilke mineraler eller mineralaggregater som er representert. I hovedsak er dette basert på farge, krystallform, og bruddflater. Nærmere kjemisk analyse av enkeltpartikler kan foretas, slik at mikroskopkarakteriseringen kan anses som orienterende, men som et nyttig supplement til XRD og tynnslipanalysene for karakterisering av mineralinnhold.

Det kan anvendes både lysmikroskop og mer avansert utstyr av type Scanning Elektronmikroskop (SEM) med tilleggsutstyr.

VEDLEGG 3
Tabell 1 – Mineralanalyse av partikkelfraksjonene PM₁₀ og PM_{2,5}. Verdiene er i %.

Partikkel	kvarts	plagioklas	k-feldspat	Glimmer	kloritt	kalsitt	epidot	pyroksen	amfibol	granat
1A	8	59	30	-	1	2	-	-	<1	-
2A	13	43	17	-	4	2	-	20	1	-
3A	14	73	7	<1	3	2	-	-	1	-
4A	7	54	25	-	-	-	-	14	<1	-
5A	26	45	10	-	6	-	12	-	1	-
6A	15	31	14	5	6	1	7	17	4	-
7A	17	28	18	-	8	3	-	25	1	-
8A	5	11	14	3	2	12	-	41	2	10
9A	56	7	-	5	2	1	26	-	3	-

Partikkel	kvarts	plagioklas	k-feldspat	Glimmer	kloritt	kalsitt	epidot	pyroksen	amfibol	granat
1B	2	55	36	2	1	1	-	-	3	-
2B	4	45	23	6	2	1	-	9	10	-
3B	6	56	7	17	3	-	-	-	11	-
4B	2	46	37	2	-	-	-	9	4	-
5B	25	36	9	-	14	1	9	-	6	-
6B	4	36	11	5	9	2	14	12	7	-
7B	11	20	14	9	9	3	-	26	8	-
8B	4	11	16	4	1	7	-	38	1	18
9B										

VEDLEGG 4
TabellTabell 1. Partikkelstørrelse og gjennomsnittsstørrelse for fraksjonene PM₁₀ og PM_{2,5}.

Partikkel nr	Fraksjon	Gj.snittsstørrelse (µm)	Overflate (m ² /g)	Steinprøve
1A / 1B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	7,44 / 1,54	5,33 / 12,16	
2A / 2B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	6,99 / 1,58	6,01 / 11,94	
3A / 3B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	6,96 / 1,46	7,1 / 12,47	
4A / 4B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	7,99 / 1,50	4,16 / 10,07	
5A / 5B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	7,48 / 1,49	5,05 / 10,3	
6A / 6B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	7,42 / 1,34	7,07 / 13,25	
7A / 7B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	6,84 / 1,24	5,16 / 9,88	
8A / 8B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	8,05 / 2,31	7,02 / 14,99	
9A / 9B	PM ₁₀ / PM _{2,5}	8,73 / 1,92	3,88 / 9,42	

VEDLEGG 5 a
Tabell 1 – Elementanalyse av PM₁₀ fraksjoner. Verdier er i mg/kg.

Partikkel	Si	Al	Fe	Ti	Mg	Ca	Na	K	Mn	P	Cu	Zn	Pb	Ni	Co
1A	214	16700	38800	5010	14000	23100	1970	4010	799	2210	76,5	92,8	<5	18,7	9,84
2A	<100	21900	31300	6110	20100	20400	2470	4890	1310	1280	46,5	202	9,2	21,4	26,2
3A	<100	33700	36300	8650	33100	24800	2700	8280	1290	1310	75,3	153	<5	42,2	44,4
4A	<100	16700	14100	2490	8080	10300	4920	7100	976	818	38,6	203	13,6	7,43	6,91
5A	<100	35500	47200	3760	26700	18900	1130	1650	741	530	119	117	<5	60,1	22,5
6A	<100	33300	46400	9820	30500	29300	1990	3590	887	2490	61	89,5	<5	32,3	34,9
7A	<100	31900	52100	10800	19500	27100	3880	2390	688	2180	151	115	<5	12,3	25,9
8A	<100	23400	24900	2530	21900	94800	969	3070	1080	153	52,9	104	24,6	57,3	11,4
9A	<100	8740	52800	657	7370	19000	585	817	894	480	71,2	79,6	10,2	32,3	6,94

Partikkel	V	Mo	Cd	Cr	Ba	Sr	Zr	Ag	B	Be	Li	Sc	Ce	La	Y
1A	60,1	7,58	<1	20,7	125	162	138	<1	12,7	9,37	15,8	6,29	272	127	27,3
2A	98,2	2,5	<1	13,8	86,8	117	125	<1	7,84	7,01	19,9	7,56	215	94	39,6
3A	155	<1	<1	28,1	150	142	49,6	<1	9,19	7,18	27,1	10,1	56,7	18,7	19,6
4A	33,2	4,03	<1	5,8	44,4	44,1	104	<1	<5	4,19	19,4	7,51	616	331	41,5
5A	91,1	1,03	<1	96,1	22,2	113	14,9	<1	5,41	8,78	22,2	6,52	50,8	19,4	9,8
6A	166	1,37	<1	32,6	39,7	168	51,8	<1	<5	8,38	24,8	8,16	80,9	29,6	19,5
7A	206	1,15	1,02	19	49,1	146	65	<1	10	8,81	14,7	5,93	85,7	30,5	20,1
8A	64,1	1,28	1	135	50	296	38,9	<1	16,2	5,28	47,9	58,89	71,1	17,8	13,3
9A	45,4	2,75	<1	60,9	15,3	40,3	9,7	<1	19,7	9,36	6,6	2,33	11,7	1,43	4,56

VEDLEGG 5 b
Tabell 1 – Elementanalyse av PM_{2,5} fraksjoner. Verdier er i mg/kg.

Partikkel	Si	Al	Fe	Ti	Mg	Ca	Na	K	Mn	P	Cu	Zn	Pb	Ni	Co
1B	<100	24800	29600	5620	19500	22400	4310	8130	961	1290	54,8	111	<5	24,9	15,7
2B	<100	32800	32900	7010	30000	23700	4770	10100	1630	1160	41,6	230	<5	31	37,8
3B	<100	46500	41200	9840	47200	28300	5020	15900	1670	1160	49,1	200	<5	53,9	60,9
4B	<100	8600	19700	2320	4850	8010	2110	3190	626	800	43,1	150	13,2	14	3,85
5B	<100	44300	52000	4040	28000	22200	3080	2870	846	423	134	124	<5	31,1	24,6
6B	<100	42900	36400	15000	37700	30600	4220	7350	1040	1500	58,4	118	<5	34,7	40,6
7B	<100	47400	39700	13400	33300	33800	6500	5100	1080	2780	126	172	<5	8,79	39,5
8B	<100	28600	24000	2390	26900	60300	6500	7810	1090	127	102	154	41,1	68,3	14
9B															

Partikkel	V	Mo	Cd	Cr	Ba	Sr	Zr	Ag	B	Be	Li	Sc	Ce	La	Y
1B	73,6	5,98	<1	9,73	202	192	232	<1	8,65	8,35	20,6	7,98	240	116	27,7
2B	122	3,53	<1	9,05	144	175	181	<1	12,4	7,72	30,1	9,72	207	90,9	50,4
3B	190	1,37	<1	21,3	234	212	58,3	<1	15,4	8,07	36,6	12,8	52,7	15,8	22,6
4B	28,1	2,88	<1	14,9	22,9	28	81	<1	<5	4,64	13,3	5,19	545	288	35,1
5B	105	<1	<1	112	45,8	140	20,2	<1	<5	9,64	26,6	7,96	76,3	33	10,6
6B	222	<1	<1	21,6	67,1	217	75,5	<1	15,4	6,29	30,9	11	75,7	24	20,9
7B	262	<1	1,05	9,89	78,6	191	82,8	<1	9,73	6,93	27,5	8,41	112	39,3	25,8
8B	67,5	7,94	<1	147	101	524	37,8	<1	40,6	5,51	58,9	6,45	68,2	18,9	11,9
9B															

Vedlegg 2

Rapport fra
Folkehelseinstituttet

Betennelsesmarkører fra lungeceller eksponert for støv av stein brukt i vegdekker

Johan Øvrevik*
Tom Myran[§]
Per Schwarze*

*Avdeling for luftforurensning og støy
Divisjon for miljømedisin
Nasjonalt folkehelseinstitutt

[§]SINTEF, Bergteknikk

Utført på oppdrag fra Statens vegvesen, Vegdirektoratet, ved Miljøseksjonen. Rapporten inngår som del av prosjektet "Svevestøvproduksjon og vegdekker – vegdekker og helse"

Innholdsfortegnelse

Forord	3
Sammendrag	4
Introduksjon	5
Resultater	6
Diskusjon	10
Konklusjon	15
Referanseliste	16
Appendix I: Tabeller	19
Appendix II: Materialer og metoder	28
Appendix III: Biologisk ordliste	30

Førord

Denne studien har hatt som formål å undersøke om steinstøv fra bergarter som er vanlig brukt i asfalt, har ulike, mulige helseeffekter. Rapporten er et resultat av samarbeid og samfinansiering mellom Folkehelseinstituttet, SINTEF og Statens vegvesen, Vegdirektoratet. Folkehelseinstituttet har gjennomført de biologiske testene som inngår i studien og har det faglige ansvaret. SINTEF har produsert støvet og står for de fysikalske og kjemiske analysene av støvets egenskaper (SINTEF-rapport STF22103163). For å gjøre fagterminologien lettere tilgjengelig er det vedlagt en ordliste over celle- og molekylærbiologiske uttrykk (se appendiks III).

Resultatene som er presentert i denne rapporten skal kunne inngå i en klassifisering av hvilke steintyper som skal benyttes i veidekket, der blant annet også en vurdering av støvproduksjon fra steinmaterialet bør inkluderes. Det er viktig å presisere at formålet med studiene er å kartlegge eventuelt ugunstige egenskaper ved steinstøv, som f.eks. spesifikke mineraler eller metaller. Rapporten prøver imidlertid ikke å si noe om hvorvidt enkelte av steinforekomstene prøvene er hentet fra, er mer eller mindre gunstige enn andre, da prøvematerialet er basert på enkeltprøver og derfor ikke nødvendigvis gir noe representativt bilde av de respektive forekomstene. Det er videre viktig å være klar over at man i denne studien har begrenset seg til bruk av cellekulturforsøk. Resultatene må derfor sees i sammenheng med tidligere resultater fra dyreforsøk og resultater fra undersøkelser i arbeidsmiljø. Viktig informasjon kommer også fra studier av hvordan partikler virker og hvilke signaler de forskjellige partiklene utløser i cellene.

Vi ønsker til slutt å understreke at høye nivåer av steinpartikler i svevestøvet (dannet ved veidekkeslitasje) bare er et problem i områder med stor biltrafikk. En vurdering av valg av steintyper til veidekket som også tar hensyn til eventuelle helsemessige effekter av steinstøvet, vil derfor bare være hensiktsmessig å utføre for trafikkerte vegstrekninger gjennom tettbebygde strøk.

Kontaktperson hos Folkehelseinstituttet er **Per Schwarze**.

Kontaktperson hos SINTEF (senere NTNU) er **Tom Myran**.

Kontaktpersoner hos Statens vegvesen, Vegdirektoratet er **Jørn Arntsen** og **Sigmund Dørum**.

Oslo, november 2003

Johan Øvrevik

Per Schwarze

Avdeling for luftforurensing og støy

Divisjon for miljømedisin

Nasjonalt folkehelseinstitutt

Sammendrag

I tettbebygde strøk forekommer episoder med høye svevestøvnivåer i luften i vinterhalvåret. Et viktig bidrag til økningen i nivåene kommer fra slitasje av veidekket ved bruk av piggdekk. Dette bidraget kan i enkelte episoder utgjøre opptil 90% av svevestøvet i luften. I befolkningsundersøkelser verden over finner man sammenhenger mellom forekomst av negative helseeffekter inklusivt dødsfall, og eksponering for svevestøv. Betydningen av veislitasje beskrives ikke i disse undersøkelsene. Den foreliggende undersøkelsen er ment å være et bidrag til vurderingen av hvorvidt steinstøv fra stein brukt i asfalt kan representere et reelt helseproblem. Et av spørsmålene man ønsker å besvare er om man bør la være å benytte enkelte typer stein i asfalt som legges i tettbebygde områder.

I dette arbeidet har effekten av ulike typer steinstøv på lungeceller i cellekulturer blitt studert. Ni ulike steinprøver fra steinbrudd som leverer stein til asfaltproduksjon ble knust ned til støv og separert i to størrelsesfraksjoner, PM₁₀ (diameter <10 µm) og PM_{2.5} (diameter < 2,5 µm), og ble så analysert for mineral- og elementsammensetning. De 18 partikkelprøvene ble testet på lungeceller fra menneske og rotte for å undersøke evnen til å gi betennelsesreaksjoner (inflammasjon). Krystallinsk kvarts, støv som er kjent å gi helseskadelige virkninger, ble brukt som referansepartikkel. Cellesystemene som hovedsakelig ble benyttet var en human alveolær epitelcellelinje (A549) og primære alveolære epitelceller fra rottelunger (T2-celler). Begrensede forsøk ble dessuten utført på primære humane lungeceller, "Small Airway Epithelial Cells" (SAEC).

SINTEFs analyser viser at innholdet av visse mineraler og elementer gjennomgående dominerer i partiklene, men det er likevel store forskjeller i total partikkelsammensetning. Sammenliknet med kvarts gav ingen av de testede steinpartiklene særlig effekt i A549 celler. Derimot var enkelte av partiklene minst like bioaktive som kvarts, med hensyn til evne til å indusere inflammatoriske responser i T2-celler. Forsøk med et begrenset antall partikler på SAEC-celler støtter opp om funnene fra T2-cellene. Med unntak av enkelte steinprøver, var det ingen forskjell i effekt av PM₁₀ og PM_{2.5} fraksjonene. Videre var det med unntak av plagioklas- og pyrokseninnhold, ingen sammenheng mellom hverken mineral- eller elementsammensetning og partiklenes bioaktivitet. Plagioklas viste en klar negativ korrelasjon med partikkelpotensen, mens pyroksen var positivt korrelert. Imidlertid kunne ikke plagioklas- og pyrokseninnhold alene forklare hvorfor enkelte partikler var langt mer potente enn andre. Utlekking av elementer fra utvalgte partikler ble også analysert, men heller ikke her ble det funnet signifikante korrelasjoner med cytokinutskillelsen.

Resultatene fra denne studien bekrefter tidligere funn som viser at stein brukt i veidekket kan gi opphav til potente betennelsefremkallende støvpartikler. Partikkelstørrelse synes ikke å være en avgjørende faktor for steinpartiklers evne til å indusere inflammatoriske responser, og vi må derfor anta at kvalitative partikkelegenskaper er av større betydning. Imidlertid synes partiklenes bioaktivitet først og fremst å avhenge av den totale partikkelsammensetningen, og i mindre grad av innholdet av enkelte mineraler eller elementer. Unntaket er partikler med høyt plagioklasinnhold som ser ut til å ha liten evne til å indusere inflammatoriske responser. Hvilke egenskaper som er avgjørende for partiklenes bioaktivitet er fremdeles uklart.

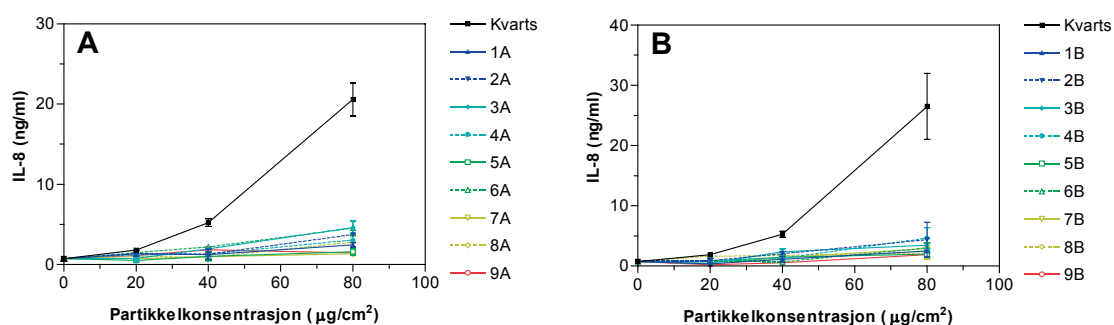
Introduksjon

Eksponering for svevestøv synes å utgjøre et betydelig samfunnsproblem. Befolkningsstudier viser at det er en sammenheng mellom eksponering for relativt lave konsentrasjoner av partikler i uteluft og ulike typer av akutte og kroniske helseeffekter samt økt forekomst av dødsfall (1;2). Majoriteten av disse studiene er imidlertid gjennomført i områder som hovedsakelig er utsatt for økte nivåer av forbrenningspartikler. Under visse meteorologiske forhold vinterstid, domineres svevestøvet i norske byer av mineralstøv som stammer fra veidekkeslitasje. Hvilken helsemessig betydning dette mineralstøvet har er usikkert. Befolkningsundersøkelser i norske byer (Drammen, Trondheim og Oslo) har ikke påvist noen sammenheng mellom svevestøv og helseeffekter. Det har imidlertid vært spekulert i at dette kan ha sin årsak i hvordan studien var lagt opp. Helseeffekter av mineralpartikler er for øvrig godt kjent fra arbeidsmiljøet. Best beskrevet er eksponering for asbest og kvarts som gir utvikling av en rekke ulike lungesykdommer. Undersøkelser viser videre at gruvearbeidere også er utsatt for lungeskader forårsaket av andre typer mineralpartikler, selv om det er liten kunnskap om hvilke mineraler som bidrar til disse skadene (T. Myran, personlig meddelelse). På bakgrunn av kunnskap om mineralstøvnivåer i uteluft og kunnskap om negative helseeffekter av mineralpartikler fra arbeidsmiljøstudier, er det derfor behov for å undersøke hvorvidt mineralpartikler fra veidekkeslitasje kan representere et potensielt helseproblem.

Betennelsesreaksjoner (inflammasjon) synes å være en fellesnevner for skadelige helseeffekter av ulike støvpartikler og andre luftforurensningskomponenter. I eksperimentelle studier har inflammatoriske reaksjoner vært observert i en rekke dyre- og cellesystemer etter eksponering for partikler. En indikator på slike inflammatoriske responser er at cellene skiller ut forskjellige signalmolekyler, cytokiner, som er viktige for betennelsesprosessene. Flere studier har vist at epiteliale lungeceller i kultur, skiller ut proinflammatoriske cytokiner etter eksponering for kvarts (3), asbest (3;4) og dieseleksos partikler (5;6). Blant cytokinene som er undersøkt, synes blant annet et par medlemmer av undergruppen cxc-kjemokiner, interleukin (IL)-8 og makrofag inflammatorisk protein (MIP)-2 å være viktige for utviklingen av betennelsesreaksjoner. IL-8 og MIP-2 produseres av celler fra henholdsvis menneske og rotte, og har analoge funksjoner. Begge er viktige for rekruttering og aktivering av celler i immunsystemet, og studier har vist at blokkering av disse kjemokinene langt på vei hemmer inflammasjon (7-9).

Laboratorieforsøk med fire ulike partikler fra stein brukt i veidekke, har vist at disse i ulik grad kan stimulere økt utskillelse av proinflammatoriske cytokiner som IL-8 og MIP-2 i forskjellige cellesystemer og inflammasjon i forsøksdyr (10-12). Partiklene i disse tidligere studiene ble blant annet analysert for innholdet av fem ulike mineraler (kvarts, plagioklas, kloritt, amfibol og epidot) og seks ulike elementer (Al, Fe, Cu, Mn, V og Cd). Det ble spekulert i at forskjellene i bioaktivitet mellom partiklene kunne skyldes forskjeller i mineralinnhold (10). Det er imidlertid uklart hvilken mineralsammensetning som var avgjørende for at enkelte av de testede partiklene ga sterkere effekter enn andre. Denne studien bygger videre på disse arbeidene. Vi har undersøkt 9 ulike steinprøvers evne til å indusere betennelsesresponser i form av økt cytokinfrigjøring fra epiteliale lungeceller. Samtlige steinprøver var hentet fra steinbrudd som leverer stein til veidekke. Alle prøvene var knust ned til støv som ble delt i to fraksjoner, PM₁₀ (partikler med diameter <10 µm) og PM_{2.5} (diameter <2.5 µm). Disse 18 partikkelprøvene ble analysert for innholdet av 10 ulike mineraler og 30 ulike elementer. Utlekking av elementer fra utvalgte partikler ble også analysert. Målet med forsøkene var å undersøke om noen av disse steinpartiklene kunne være mer skadelige enn andre, og om det kunne være noen sammenheng mellom mineral- og/eller elementsammensetning og evne til å generere økt utskillelse av IL-8 og MIP-2 fra lungeceller. For å få et inntrykk av hvor bioaktive steinpartiklene var, inkluderte vi en kjent type

helseskadelig kvarts i forsøkene som en referansepartikkel. Cellesystemene som hovedsakelig ble benyttet var en human alveolær epitelcellelinje (A549) og primære alveolære type 2 (T2) celler fra rottelunge. Imidlertid ble begrensede forsøk også utført på humane "Small Airway Epithelial Cells" (SAEC).



Figur 1. Induksjon av IL-8 frigjøring fra partikkeleksponerte humane alveolære epitelceller (A549). A549-celler ble eksponert for økende konsentrasjoner av steinpartikler og inkubert i 24 timer ved 37°C. IL-8 frigjøring ble målt som beskrevet i "Materialer og metoder". Figurene viser effekten av PM₁₀ (A) og PM_{2.5} (B) partikkelfraksjoner. Partikkelkonsentrasjon er gitt i partikkelvekt per arealenheter av cellekulturen. Krystallinsk kvarts er brukt som referansepartikkel. Hvert punkt representerer gjennomsnitt ± SEM av uavhengige forsøk (n=3).

Resultater

Partikkelkarakterisering

Steinpartikler ble fremstilt av SINTEF. Ni ulike steinprøver fra åtte ulike lokaliteter i Norge ble samlet inn og knust ned til PM₁₀ og PM_{2.5} partikkelfraksjoner. Partikkelfraksjonene ble analysert for størrelsesfordeling, gjennomsnittlig overflate og for sammensetning. I teksten blir de ulike steinpartiklene omtalt som partikkel 1A-9A og 1B-9B. Nummer 1-9 indikerer steinforekomst, mens A refererer til PM₁₀ fraksjon og B til PM_{2.5} fraksjon. En oversikt over partiklene med identifikasjonsnummer, fraksjon, gjennomsnittsstørrelse, overflateareal og opphavssted er gitt i tabell 1 (se Appendix I for tabeller). Partiklenes mineralinnhold er gitt i tabell 2, mens elementinnholdet er gitt i tabell 3 og 4 (for hhv. PM₁₀ og PM_{2.5} fraksjonene). Det ble også målt utlekking av elementer fra utvalgte partikler (1A, 1B, 5A, 5B, 7A, 7B og 8A) ved fysiologisk pH (pH 7.0). Resultat av utlekkingsmålinger er gitt i tabell 5.

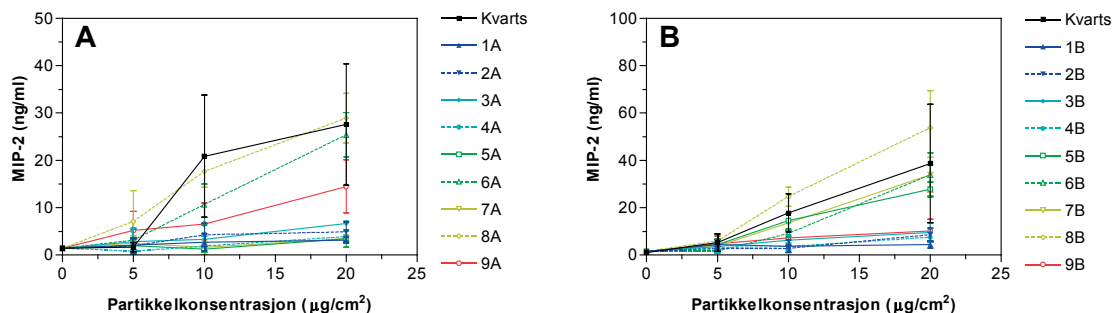
Steinpartiklenes evne til å indukere IL-8-utskillelse fra den humane alveolære epitelcellelinjen (A549).

A549 celler ble eksponert i 24 timer for PM₁₀ og PM_{2.5} fraksjoner av de ulike steinprøvenene i doser fra 0 til 80 µg/cm². En kommersielt tilgjengelig kvartspartikkel (PM₅) ble brukt som referanse. Etter eksponering ble cellenes vekstmedium tatt av og analysert for IL-8 som beskrevet i "Materialer og metoder" (Appendix II). Resultatene viser liten variasjon i evne til å indukere IL-8, mellom de ulike prøvene (figur 1A og B). Sammenlignet med kvarts induserte alle partikkelprøvene en svak økning i IL-8 utskillelse fra A549 cellene (fig. 1 A og B).

Steinpartiklenes evne til å indukere MIP-2-utskillelse fra primære T2-celler fra rottelunger.

Tidligere forsøk har vist at T2 celler er langt mer sensitive for partikkeleksponering enn A549

cellene. Dette ble bekreftet i et pilotforsøk med partiklene i denne studien. På bakgrunn av pilotstudiet ble T2 cellene derfor eksponert i 24 timer for PM₁₀ og PM_{2.5} fraksjoner av de ulike partiklene, samt referansepartikkelen kvarts, i doser fra 0 til 20 µg/cm² (fig. 2 A og B), og cellenes vekstmedium ble analysert for MIP-2. Alle partiklene induiserte en økning i MIP-2 utskillelse fra T2 celler, men effekten av de ulike partiklene og fraksjonene varierte kraftig. Blant PM₁₀ partiklene induiserte partiklene 1A-5A og 7A en svak økning i MIP-2, mens partiklene 6A, 8A og 9A induiserte høye nivåer av MIP-2, sammenliknet med kvarts (fig. 2A). Av PM_{2.5} fraksjonene, induiserte partiklene 1B-4B og 9B lave nivåer av MIP-2, mens partiklene 5B-8B induiserte betydelige økninger i MIP-2 utskillelse (fig. 2B).



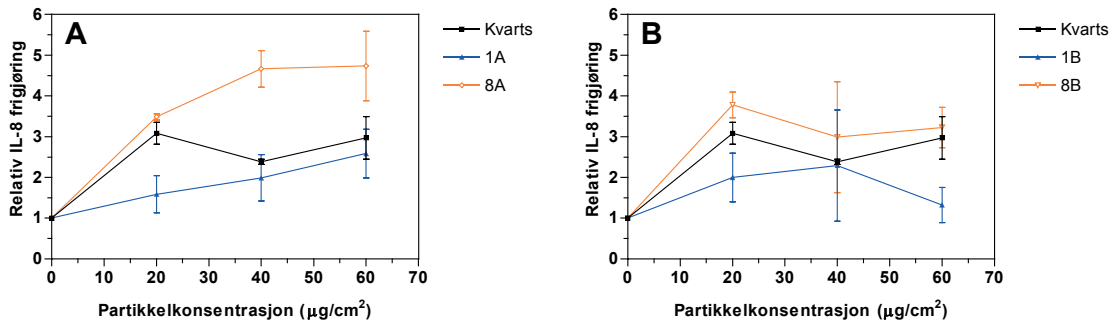
Figur 2. Induksjon av MIP-2 frigjøring fra partikkeleksponerte primære alveolære epitelceller fra rotte (T2). T2-celler ble eksponert for økende konsentrasjoner av steinpartikler og inkubert i 24 timer ved 37 °C. MIP-2 frigjøring ble målt som beskrevet i "Materialer og metoder". Figurene viser effekten av PM₁₀ (A) og PM_{2.5} (B) partikkelfraksjoner. Partikkelkonsentrasjon er gitt i partikkelvekt per arealenheter av cellekulturen. Krystallinsk kvarts er brukt som referansepartikkel. Hvert punkt representerer gjennomsnitt ± SEM av uavhengige forsøk (n=4).

Steinpartiklenes evne til å induisere IL-8-utskillelse fra humane primærceller SAEC-celler. Forsøkene på A549- og T2-celler viser en klar responsforskjell på steinpartikkeleksponeringen. Det var derfor av betydning å avklare hvorvidt dette kunne skyldes artsforskjeller, dvs. om celler fra mennesker er mindre ømfintlige for steinpartikler enn celler fra rotter, eller om det skyldes forskjeller mellom cellelinjer (A549) og primærceller (T2). Et begrenset utvalg av partikler ble derfor testet på SAEC-celler som skal være svært like opprinnelige epitelceller i de nedre luftveiene hos mennesker. Vi valgte å teste både PM₁₀ og PM_{2.5} fraksjonen av steinprøve 1 som gav liten effekt i både A549 og T2, og steinprøve 8 som gav liten effekt i A549 men høy effekt i T2. Også her ble krystallinsk kvarts brukt som referansepartikkel. Som det fremgår av figur 3 blir evnen til å induisere IL-8 fra SAEC-celler rangert etter rekkefølgen 8A>kvarts>1A for PM₁₀ og 8B>kvarts>1B for PM_{2.5}. Dette forholdet i bioaktivitet likner det vi observerte i T2-cellene (figur 2), selv om SAEC-cellene generelt sett responderer i mindre grad.

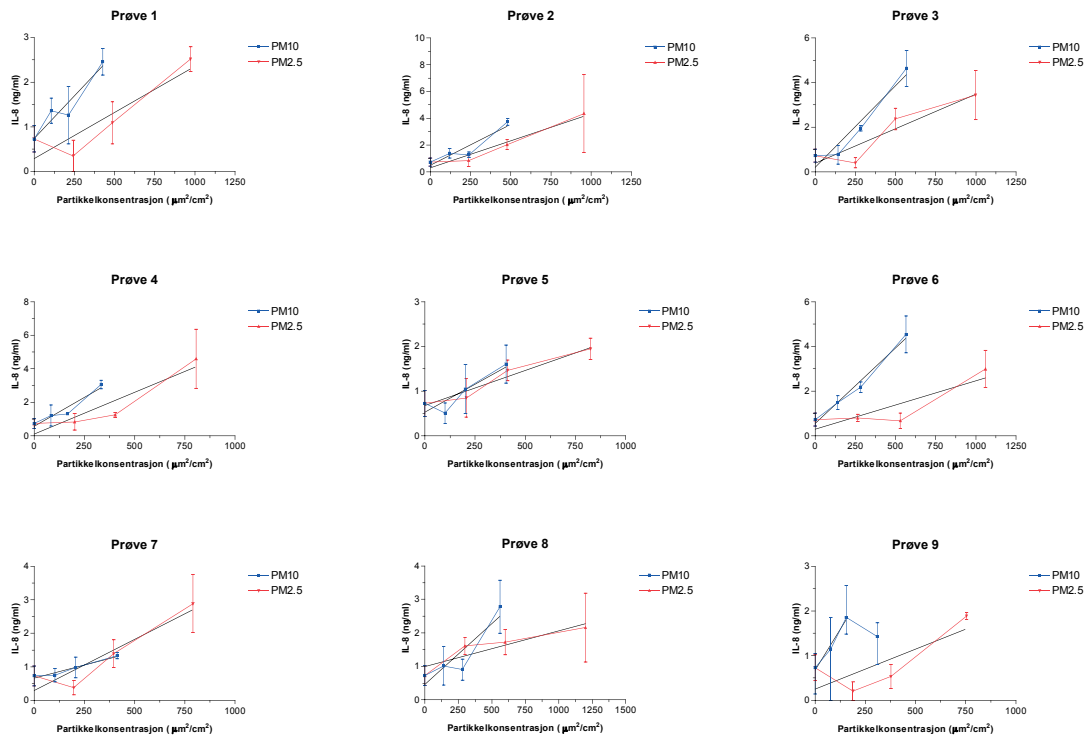
Betydning av partikkelstørrelse

Nivåene av partikkelindusert MIP-2 utskillelse (figur 2) indikerer tilsynelatende at det er en potensforskjell mellom PM₁₀ og PM_{2.5} fraksjonen. Imidlertid ble partikkelkonsentrasjon av praktiske årsaker målt i vekt av partikkeldosen. Ved en gitt dose i vekt, vil små partikler ha langt høyere samlet overflate enn store partikler. Etersom det antas at den biologiske effekten av mineralpartikler avgjøres av hvor mye av partikkelene som er i direkte kontakt med cellene(13;14), er total partikkeloverflate et bedre mål på dose enn partikkelvekt. Når cytokinfrigjøring ble relatert til total overflate av partiklene, korrigerte dette for den

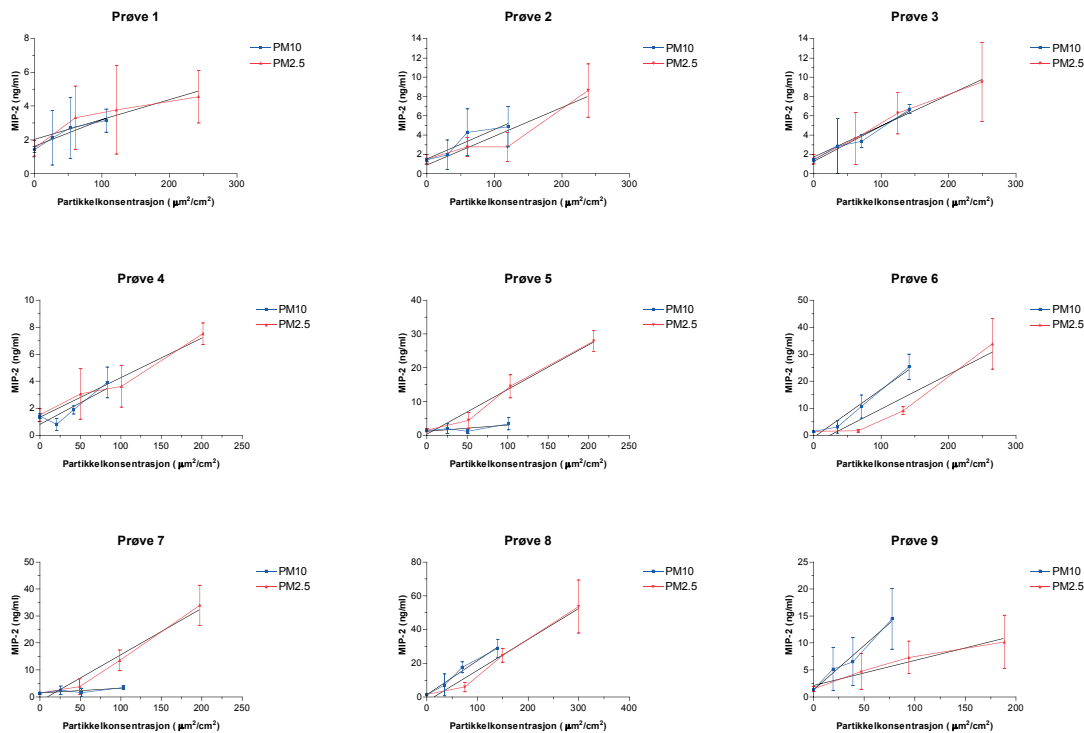
tilsynelatende bioaktivitetforskjellen mellom PM_{10} og $PM_{2.5}$ fraksjonen av de fleste steinprøvene (figur 4 og 5).



Figur 3. Induksjon av IL-8 frigjøring fra partikkelkonsentrerte humane "Small Alveolar Epithelial Cells" (SAEC). SAEC-celler ble eksponert for økende doser av steinpartikler fra prøve nr. 1 og 8, samt krystallinsk kvarts, og inkubert i 24 timer ved 37°C . IL-8 frigjøring ble målt som beskrevet i "Materialer og metoder". Figurene viser effekten av PM_{10} (A) og $PM_{2.5}$ (B) partikkelfraksjoner. IL-8 utskillelse er beregnet i forhold til partikkelkonsentrasjon i vekt per areal av cellekulturen. Hvert punkt representerer gjennomsnitt \pm SEM av uavhengige forsøk ($n=3$).



Figur 4. Sammenlikning av effekten av PM_{10} og $PM_{2.5}$ fraksjoner av steinpartikler på IL-8-frigjøring fra humane alveolære epitelceller (A549). Figurene viser forholdet mellom effekten av PM_{10} og $PM_{2.5}$ fraksjonene av de ulike steinprøvene. Figurene viser også regresjonslinjer for kurvene beregnet ved lineær regresjon. Partikkelkonsentrasjonen er gitt som total partikkeloverflate per areal av cellekulturen. Hvert punkt representerer gjennomsnitt \pm SEM av uavhengige forsøk ($n=3$).



Figur 5. Sammenlikning av effekten av PM_{10} og $PM_{2.5}$ fraksjoner av steinpartikler på MIP-2-frigjøring fra primære alveolære epitelceller fra rotte (T2). Figurene viser forholdet mellom effekten av PM_{10} og $PM_{2.5}$ fraksjonene av de ulike steinprøvene. Figurene viser også regresjonslinjer for kurvene beregnet ved lineær regresjon. Partikkelkonsentrasjonen er gitt som total partikkeloverflate per areal av cellekulturen. Hvert punkt representerer gjennomsnitt \pm SEM av uavhengige forsøk ($n=4$).

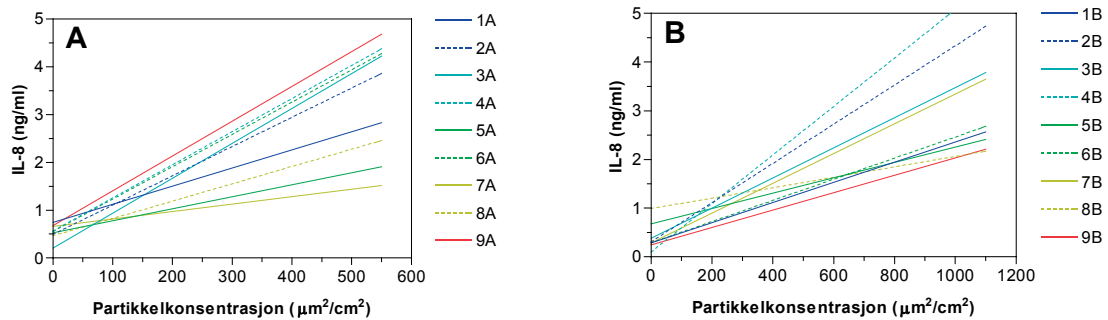
Beregning av partiklenes biologiske aktivitet

For å få et mål på partiklenes bioaktivitet foretok vi lineær regresjon av dose-effektkurvene for cytokinfrigjøring (IL-8 eller MIP-2) versus partikkelkonsentrasjon gitt som samlet areal av partikkeloverflaten (fig. 4 og 5). Bioaktivitet ble så bestemt ved å beregne stigningstallet til regresjonslinjene (tabell 6). Steinprøvene 6, 8 og 9 av PM_{10} partiklene og prøve 5, 6, 7 og 8 av $PM_{2.5}$ partiklene skiller seg ut som svært aktive til å indusere MIP-2 fra T2 celler, mens de resterende partiklene gir liten effekt. Evnen til å indusere IL-8 i A549 celler varierer lite, og er generelt sett lav sammenliknet med evnen til å indusere MIP-2 (tabell 6). En oversikt over regresjonslinjene til partiklenes dose-effekt kurver er gitt i figur 6 og 7.

Sammenheng mellom partikkelsammensetning og biologisk aktivitet

Partiklenes mineral- og elementsammensetning ble sammenliknet med evnen til å indusere cytokiner, for å undersøke om partiklenes biologiske aktivitet kunne forklares ut fra sammensetningen. Partiklenes evne til å indusere IL-8 varierte med en faktor på 3,5 mellom den mest og minst bioaktive partikkelen (tabell 6). Som det går frem av tabell 7 og 8 var det ingen sammenheng mellom partiklenes evne til å indusere IL-8 og innholdet av mineraler eller enkelt elementer. Evnen til å generere MIP-2 varierte med en faktor på 20 mellom den mest og minst bioaktive partikkelen (tabell 6). Med unntak av plagioklas og pyroksen var det også her vanskelig å finne noen god korrelasjon mellom partiklenes bioaktivitet og mineral- og elementinnhold (tabell 7 og 8). Plagioklas viser en klar negativ korrelasjon med

bioaktivitet (figur 8A), mens økt pyrokseninnhold synes å korrelere med økt MIP-2 frigjøring (figur 8B). Imidlertid ser ikke innholdet av pyroksen og plagioklas ut til å være nok til å kunne forklare forskjellen i partiklenes evne til å inducere MIP-2 (figur 9A og B). Vi undersøkte også sammenhengen mellom utlekking av elementer og bioaktivitet til utvalgte partikler. Som det fremgår av tabell 9 var det ingen signifikant sammenheng mellom elementutlekking og bioaktivitet. P-verdien for korrelasjonen mellom utlekkbar arsen og partiklenes bioaktivitet ligger imidlertid tett opp mot grenseverdien for signifikant korrelasjon (tabell 9 og figur 10).



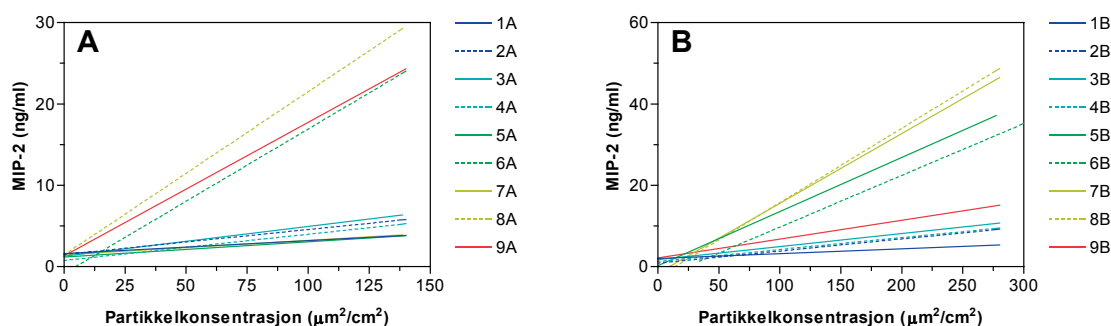
Figur 6. Lineær regresjon av dose-effekt kurver for partikkelindusert IL-8 fra humane alveolære epitelceller (A549). Figurene viser forholdet mellom de ulike partikkelprøvenes evne til å inducere IL-8. Kurvene representerer regresjonslinjer basert på lineær regresjon av dose-effektkurvene for PM₁₀ (A) og PM_{2,5} (B) fraksjonene.

Diskusjon

Episoder i vinterhalvåret med høye nivåer av svevestøv dominert av mineralpartikler er et fenomen som trolig begrenser seg til land der det brukes piggdekk i vinterhalvåret. Lokalt vil områder med stor biltrafikk være utsatt for slike episoder. Lite er per i dag kjent om helseeffektene av denne typen steinstøv, men studier av eksponering for mineralpartikler i arbeidsmiljøet tilsier at dette kan representere et potensielt helseproblem.

I denne studien undersøker vi partiklers evne til å forårsake en økt utskillelse av proinflammatoriske cytokiner fra epiteliale lungeceller. Vi har her fokusert på endringer i utskillelse av cytokinene IL-8 og MIP-2, som tilhører en undergruppe av cytokiner kalt kjemokiner. IL-8 og MIP-2 har analoge funksjoner i henholdsvis menneske og rotte, og virker ved å aktivere og tiltrekke celler i immunforsvaret (nøytrofiler eller andre typer hvite blodceller) som er en viktig del av inflammasjonsprosessen (7-9). Studier har vist at hemming av den biologiske aktiviteten til IL-8 og MIP-2 langt på vei hemmer inflammasjon (7). Partiklers evne til å inducere en økning i IL-8 og MIP-2 fra lungeceller kan dermed være et mål på evnen til å inducere betennelse. Måling av cytokinutskillelse fra cellekulturer (*in vitro*) etter partikkeleksponering er imidlertid et svært forenklet testsystem sammenliknet med hva som skjer i dyr eller mennesker (*in vivo*) ved inhalering av svevestøv, og resultatene må følgelig tolkes med forsiktighet. *In vitro* studier kan f.eks. ikke fortelle oss hvor i lungene partiklene deponeres, hvor raskt de fjernes fra lungene (clearance), eller gi informasjon om en rekke andre faktorer som er av betydning for evt. helseeffekter. *In vitro* forsøk kan imidlertid gi oss viktig informasjon om spesifikke hendelser *in vivo*. Tidligere studier av Hetland og Becher *et al.* (10;12) med PM₁₀-fraksjoner av fire ulike bergarter brukt i norsk asfalt, samt en prøve av veistøv med høyt mineralinnhold, tyder på at denne typen steinpartikler har potensiale til å inducere betennelsesreaksjoner både i celledsystemer og i dyreforsøk. Disse

tidligere studiene viser også en korrelasjon mellom *in vitro* cytokinresponser i primære T2-celler og makrofager, og økning i MIP-2 og i antall nøytrofile celler i lungeskyllevæske fra eksponerte rotter (12).

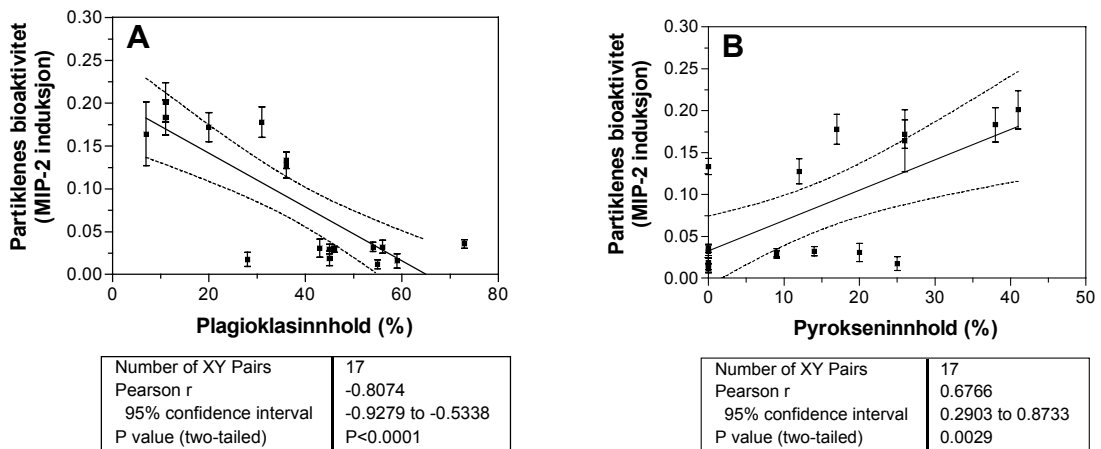


Figur 7. Lineær regresjon av dose-effekt kurver for partikkelindusert MIP-2 fra primære alveolære epitelceller fra rotte (T2). Figurene viser forholdet mellom de ulike partikkelprøvenes evne til å inducere MIP-2. Kurvene representerer regresjonslinjer basert på lineær regresjon av dose-effektkurvene for IL-8 induksjon av PM₁₀ (A) og PM_{2,5} (B) fraksjonene.

Denne studien bygger videre på arbeidene til Hetland og Becher (10-13), men har et større antall steinprøver, forskjellige partikkelstørrelser og en mer omfattende mineral- og elementanalyse. For å få et inntrykk av hvor potente partiklene er, brukte vi kvarts som referansepartikkel. Effektene av kvarts er godt dokumentert gjennom befolkningsstudier og kliniske studier (15). En rekke publikasjoner har også vist at kvarts inducerer betennelsesreaksjoner i lungene på eksponerte forsøksdyr (12;16-18) og økt cytokinutskillelse fra cellekulturer (3;13;19). I overensstemmelse med tidligere funn (J. Øvrevik og kolleger, upublisert data), viser resultatene at kvarts inducerer en kraftig cytokinutskillelse fra både A549- og T2-celler, og at T2-cellene er langt mer sensitive for kvartseksponering enn A549-cellene. Til sammenlikning hadde både PM₁₀ og PM_{2,5} fraksjonen av de ulike steinprøvene svært liten evne til å inducere IL-8 frigjøring fra A549-celler (figur 1). Derimot ga enkelte av steinpartiklene en kraftig induksjon av MIP-2 i T2-celler, på nivå med kvarts (figur 2). Partiklene som skilte seg ut som spesielt potente til å inducere MIP-2 var partikkel 5B, 6A, 6B, 7B, 8A, 8B og 9A (tabell 6). En interessant observasjon fra MIP-2 målingene, er at partiklene synes å falle inn i to grupper. De gir enten kraftig eller liten effekt på MIP-2, mens partikler som gir middels effekt ser ut til å mangle (figur 2). Denne "enten-eller-effekten" blir enda mer tydelig når vi ser på regresjonslinjene i figur 7. Hva dette skyldes er vanskelig å si, men et liknende responsmønster sees også i en av de tidligere nevnte studiene til Hetland *et al.* (10), på effekter av steinpartikler fra veidekke. Dette kan indikere at alle mineralpartikler virker generelt irriterende på cellene, mens enkelte partikler i tillegg aktiverer mer spesifikke mekanismer som stimulerer en kraftigere cytokinproduksjon.

Som det fremgår av resultatene er det en klar responsforskjell på steinpartikkeleksponeringen mellom A549- og T2-celler. Det kan tenkes at dette skyldes artsforskjeller, dvs. at celler fra mennesker er mindre ømfintlige for steinpartikler enn celler fra rotter. Derfor ble steinprøve 1 som ga liten effekt i både A549 og T2, og steinprøve 8 som ga liten effekt i A549 men høy effekt i T2 testet på en annen human lungecelle, SAEC (Small Airway Epithelial Cells). Forholdet mellom partiklenens evne til å inducere IL-8 fra SAEC-celler liknet det vi observerte i T2-celler, dvs. 8A>kvarts>1A for PM₁₀ og 8B>kvarts>1B for PM_{2,5} (figur 3). A549 cellene har i tidligere studier vist å respondere i likhet med T2 cellene

etter eksponering for steinpartikler. Når vi tar dette med i betraktningen, mener vi at resultatene fra SAEC-studiene støtter funnene fra T2 cellene tilstrekkelig, slik at vi må anta at eksponering for (innånding av) enkelte av de testede steinpartiklene vil kunne være like skadelige for mennesker som eksponering for kvartsstøv.

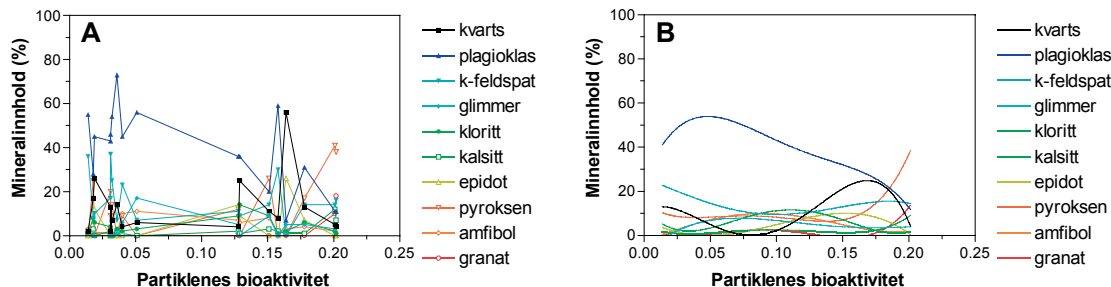


Figur 8. Korrelasjon mellom plagioklas- og pyrokseninnhold og partiklenes bioaktivitet. Figurene viser forholdet mellom partiklenes innhold av plagioklas (A) og pyroksen (B), og evnen til å inducere MIP-2 fra T2 celler. Partiklenes bioaktivitet er beregnet som stigningstallet til regresjonslinjene for dose-effektkurvene for partikkelindusert MIP-2. Hvert punkt representerer gjennomsnitt \pm SEM av uavhengige forsøk ($n=4$). Figuren viser også den lineære regresjonslinjen for forholdet mellom mineralinnhold og bioaktivitet, med tilhørende 95% konfidensintervall.

Ettersom effekten av partikkeleksponering på IL-8-utskillelse fra A549-celler var relativt liten og uten særlig variasjon, er det vanskelig å bruke disse dataene til å vurdere hvilke partikkelegenskaper som er avgjørende for eventuelle biologiske effekter. Diskusjonen videre vil derfor stor sett dreie seg om resultatene fra T2-forsøkene.

Betydningen av partikkelstørrelse for bioaktivitet har vært et omdiskutert tema. Resultatene fra T2-eksponeringene tyder tilsynelatende på at $PM_{2.5}$ -fraksjonen er mer aktiv enn PM_{10} . Imidlertid, når vi omregner partikkeldosen fra vekt til total partikkeloverflate er det ingen klar forskjell i effekten av de to størrelsesfraksjonene. Unntakene er prøve 5 og 7 der $PM_{2.5}$ er mer potent enn PM_{10} , og prøve 9 der PM_{10} er mest potent. Studier av kvart-indusert cytokinutskillelse fra A549-celler tyder på at tilsynelatende potensforskjeller mellom kvartspartikler av ulik størrelse forsvinner dersom cytokinutskillelsen relateres til total overflate og ikke til vekt av partikkeldosen (13). Det er dermed grunn til å tro at partikkelstørrelse er av mindre betydning for steinpartiklenes bioaktivitet, og at kvalitative partikkelegenskaper som f.eks. overflatesammensetning, er mer avgjørende. Det viktig å være oppmerksom på at vi her snakker om partiklenes evne til å stimulere lungeceller *per se*. Det vil si, partikkelstørrelse ser ikke ut til å være en bestemmende faktor for om en gitt partikkel kan inducere cytokinutskillelse fra en gitt celletype *in vitro*, imidlertid kan partikkelstørrelsen være avgjørende for om partikkelen faktisk kommer i kontakt med cellene *in vivo*. Eksperimentelle undersøkelser med mennesker og dyr har vist at innåndet svevestøv når ulike deler av luftveier og lunger avhengig av partiklenes egenskaper, som f. eks. størrelse og form og overflateegenskaper. Om individene puster gjennom munn eller nese, om dette skjer under anstrengelse eller ikke, om ulike sykdommer endrer luftstrømmene eller ikke, påvirker inntaket, avsetningen i lunger og luftveier og fjerning av støvet fra lungene. Ved pusting i

hvile gjennom nesene vil så og si alle partikler større enn 10 µm avsettes i de øvre luftveier. Mange de øvrige partiklene vil følge luftstrømmene ned i lungene og avsettes der i ulik grad. En betydelig andel av partiklene på 4 µm eller mindre avsettes i de nederste luftveier og i gassutvekslingssonen, der de antas og kunne gjøre størst skade. Fjerning av partikler fra dette området er betydelig senere enn fra andre områder i luftveiene.



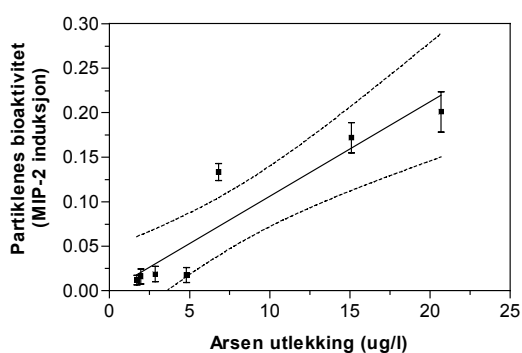
Figur 9. Forhold mellom mineralinnhold og partikkelens bioaktivitet. Forholdet mellom partikkelens innhold av de forskjellige mineralene og evne til å inducere MIP-2 (A). Figuren viser også en ikke-lineær regresjon av de samme kurvene (B). Partikkelens bioaktivitet er beregnet som stigningstallet til regresjonslinjene for dose-effektkurvene for partikkelindusert MIP-2 (se tabell 6, Appendix I).

Mineralanalysene viser at ingen av mineralene forekommer i høye nivåer i samtlige partikler (tabell 2). Enkelte mineraler ser imidlertid ut til å dominere. Dette gjelder først og fremst kvarts, plagioklas og k-feldspat, og til en viss grad også pyroksen. Elementanalysen viser at alle partiklene inneholder gjennomgående høye nivåer av aluminium (Al), jern (Fe), titan (Ti), magnesium (Mg), kalsium (K), mangan (Mn) og fosfor (P), mens de resterende elementene forekommer i langt lavere nivåer (tabell 3 og 4). For øvrig viser analysene at det er til dels store variasjoner mellom partiklene, i både mineral- og elementsammensetning (tabell 2, 3 og 4). Med unntak av de tidligere nevnte studiene til Hetland og Becher *et al.* (10-12) er kunnskap om mineralpartiklers evne til å inducere effekter på lungeceller begrenset til studier av kvarts og asbest. Det er derfor svært lite å støtte seg til i den eksisterende litteraturen, når det gjelder sammenhengen mellom sammensetning og bioaktivitet for mineralpartikler. Vi har analysert korrelasjonen mellom økende mineral- eller elementinnhold og økende partikkelpotens. Med unntak av plagioklas- og pyrokseninnhold, fant vi ingen korrelasjon mellom hverken mineral- eller elementinnhold og evne til å generere MIP-2 i T2-celler. Før vi diskuterer dette nærmere er det viktig å være klar over at både sammensetning og egenskaper til et gitt mineral kan variere mye. Dermed representerer altså ikke påvisningen av et mineral, påvisning av en slags ”konstant enhet”. Variasjoner i egenskaper og sammensetning mellom mineraler av samme type kan derfor være med på å forklare at det er vanskelig å finne tydelige sammenhenger mellom steinpartiklers mineralsammensetning og biologiske aktivitet. Den videre diskusjonen tas derfor med dette forbeholdet.

Plagioklas viste en klar negativ korrelasjon med partikkelpotensen (fig. 8A). Videre viste pyroksen en positiv korrelasjon med partikkelpotensen (figur 8B), noe som kan indikere at partikler med høyt pyrokseninnhold kan utgjøre et potensielt helseproblem. Imidlertid kan ikke et lavt plagioklasinnhold og/eller et høyt pyrokseninnholdet alene forklare hvorfor noen partikler inducerer mye MIP-2 mens andre gir liten effekt (figur 9). Som det kommer frem av tabell 2 har f.eks. partikkel 7A et relativt lavt innhold av plagioklas og høyt innhold av pyroksen, men den gir allikevel liten effekt på MIP-2 (tabell 6). Resultatene tyder altså på at det ikke er noen god korrelasjon mellom mineralinnhold og partikkelpotens. Denne

manglende korrelasjonen kan tenkes å skyldes at flere ulike mineraler kan gi opphav til cytokinresponser, og at effekten av disse overlapper hverandre og dermed kamouflerer eventuelle korrelasjoner i analysene. Alternativt kan det tenkes at det er den total summen av overflateegenskaper til partiklene som er avgjørende for å gi biologiske responser. Undersøkelser av forbrenningspartiklers bioaktivitet tyder nettopp på at det er den totale sammensetningen av partiklene som er avgjørende, og ikke bare en enkel komponent (20). Basert på våre analyser, virker det sannsynlig at dette også kan gjelde for steinpartikler.

Dersom totalsammensetningen av partikkeloverflaten er mer avgjørende for partikkelens bioaktivitet enn innholdet av enkelte mineraler eller elementer, vil det være svært vanskelig å forutsi partikkelpotens basert på kunnskap om mineralsammensetning. Eneste gode unntak synes foreløpig å være partikler med svært høyt plagioklasinnhold som man med rimelig sikkerhet må kunne anta har liten evne til å indusere cytokinresponser. Dette stemmer også med tidligere analyser av betydningen av mineralinnhold for steinpartiklers evne til å generere IL-8 fra A549 celler (10). Denne studien viste at steinprøver med 77% og 99% plagioklas (hhv. basalt og feldspat) gav nesten ingen effekt på IL-8, mens prøver med 25% og 33% plagioklas (hhv. gabbro og mylonitt) var svært potente. Studier med de samme steinprøvene på T2-celler og makrofager fra rotte, viser igjen at partiklene med høyt plagioklasinnhold gir liten effekt, mens partiklene med lavt plagioklasinnhold gir kraftig cytokinutskillelse (12). De samme partiklene ble også instillert i rotter (sprøytet ned i lungene). Resultatene fra disse *in vivo* forsøkene viste korrelasjon mellom *in vitro* cytokinresponser, og økning i MIP-2 og i antall nøytrofile celler i lungeskyllevæske (12). Det er derfor grunn til å tro at partikler med høyt plagioklasinnhold er lite bioaktive både i *in vitro* og *in vivo*.



Number of XY Pairs	7
Pearson r	0.9325
95% confidence interval	0.6027 to 0.9902
P value (two-tailed)	0.0022

Figur 10. Korrelasjon mellom arsen utlekking partiklenes bioaktivitet. Figuren viser forholdet mellom utlekking av arsen fra utvalgte partikler og evnen til å indusere MIP-2 utskillelse fra T2 celler. Partiklenes bioaktivitet er beregnet som stigningstallet til regresjonslinjene for dose-effektkurvene for partikkelindusert MIP-2. Hvert punkt representerer gjennomsnitt \pm SEM av uavhengige forsøk ($n=4$). Figuren viser også den lineære regresjonslinjen for forholdet mellom mineralinnhold og bioaktivitet, med tilhørende 95% konfidensintervall.

Som det fremgår av tabell 9 fant vi ingen signifikant sammenheng mellom elementutlekking og bioaktivitet for utvalgte partikler. Det kan imidlertid være verdt å merke seg at vi på grunn av det høye antallet elementer i korrelasjonsanalysene har måttet benyttet en streng grenseverdi ($\alpha=0,0015$) for å begrense totalsjansen for såkalte type-I feil (dvs. å få en feilaktig signifikant korrelasjon ved ren tilfeldighet) til 5%. Derfor er det interessant at det er en forholdsvis sterk korrelasjon mellom utlekkbar arsen og partiklenes bioaktivitet ($r = 0,93$), da P-verdien for denne er 0,002 og dermed ligger tett opp mot grenseverdien for signifikant korrelasjon. På tross av manglende signifikans kan dette indikere at en mulig sammenheng mellom arsenfrigjøring og cytokinproduksjon (figur 10). Arsen er kjent å kunne indusere cytokiner som IL-8 (21;22), samt å indusere signalveier i cellene som bl.a. er involvert i regulering av cytokinproduksjon (22-25). De fleste av disse studiene opererer

imidlertid med konsentrasjoner i området 100-500 μM arsen, men det er vist at helt ned til 25 μM arsen kan indusere 1,6 gangers økning IL-8 fra bronkiale epitelceller (21;22). 12,5 μM arsen gav imidlertid ingen effekt på IL-8 i disse studiene. Omregner vi utlekkingsdataene fra våre analyser til reelle konsentrasjoner av arsen i de eksponerte cellekulturene, representerer dette konsentrasjoner i området 1-3 μM for de høyeste dosene av de mest bioaktive partiklene. Ved disse dosene induserer de samme partiklene MIP-2 frigjøring tilsvarende 20-25 ganger bakgrunnsnivået (kontroll). En bør allikevel ta hensyn til at utlekkingsmålingene er basert på gjennomsnittsverdien av arsen i løsningene, og at utlekket arsen faktisk vil danne en gradient der det er langt høyere konsentrasjoner nær partiklene. På den måten kan cellene i realiteten ha blitt eksponert for høyere doser enn hva målingene tilsier. Imidlertid viser studier at en dose på så mye som 500 μM arsen ikke ga mer en ca 2,5 gangers økning i IL-8 utskillelse. Videre har studiene til Hetland vist at den løselige fraksjonen har liten betydning for partiklenes evne til å indusere cytokinutskillelse (11). Vi stiller oss derfor tvilende til at arsenutskillelse er avgjørende for partiklenes bioaktivitet, men anser allikevel den mulige korrelasjonen mellom løselig arsen og MIP-2 induksjon som et interessant funn som vi ønsker å undersøke nærmere i etterkant av arbeidet med denne rapporten.

Studiene til Hetland og Becher (10;12) viser at PM_{10} -fraksjoner av bergartene mylonitt og gabbro, ga en kraftig induksjon av både IL-8 fra A549-celler og MIP-2 fra T2-celler, mens basalt og feltspat nesten ikke ga effekt. Det er to interessante aspekter ved disse resultatene. For det første reagerte A549- og T2-cellenes relativt likt på steinpartikkel-eksponering, og viste et responsmønster som vi i denne studien kun har observert i T2-celler. Vi mener dette forsterker antakelsen om at T2-cellenes responser, i vår studie, gir et godt bilde av partiklenes bioaktivitet, og stiller samtidig spørsmål ved hvorvidt cellelinjen A549 kan ha endret egenskaper over tid, og dermed responderer annerledes nå enn tidligere (10). Videre, så var mylonitten i Hetland og Bechers studier hentet fra Ottersbo dvs. samme forekomst som partikkel 5A i vårt studie, som ga liten effekt i både A549 og T2 celler. Det er ingen åpenbare forskjeller i mineralsammensetning mellom disse to Ottersbo-prøvene, som kan forklare forskjellene i evne til å indusere cytokinfrigjøring fra lungeceller. Dette støtter vår antakelse om at mineralsammensetning ikke nødvendigvis er en god indikator på partiklers bioaktivitet. Det er heller ingen forskjeller i metallsammensetning (men kun Al, Fe, Cu, Mn, V og Cd er rapportert for Ottersbo-prøven brukt i Hetland og Bechers studier) mellom de to prøvene. Forskjellen i bioaktivitet mellom de to Ottersbo-prøvene, på tross av tilsynelatende likheter i partikkelsammensetning, forsterker inntrykket av at andre egenskaper enn mineral- eller elementsammensetning er avgjørende for steinpartiklers bioaktivitet, som diskutert tidligere. Videre er det viktig å huske at de to prøvene er basert på enkle prøvetakninger som varierer både i tid og rom, og slike enkeltprøver er ikke nødvendigvis særlig representative for en større bergartforekomst. Variasjonen i målt bioaktivitet til PM_{10} fra Ottersbo understreker dermed både usikkerheten i slike analyser, samt behovet for et større antall prøvetakninger dersom man skal kunne danne seg et representativt bilde av bioaktiviteten til støv av stein fra et gitt steinbrudd.

Konklusjon

Denne studien er utført ved å eksponere epiteliale lungeceller for ulike steinpartikler *in vitro*. Videre er kunnskap om virkningsmekanismer bak svevestøvrelaterte helseskader fremdeles svært begrenset, og det er derfor knyttet usikkerhet til hvorvidt resultatene presentert i denne rapporten er representative for hva som skjer i menneskekroppen etter inhalering av de samme partiklene. Denne typen studium representerer imidlertid et viktig *screening*-verktøy, og følgende konklusjoner trekkes på grunnlag av resultatene:

- Resultatene fra denne studien bekrefter tidligere funn som viser at enkelte partikler fra stein brukt i veidekket kan indusere kraftige cytokinresponser i epiteliale lungeceller. Dette indikerer et potensiale til å kunne gi betennelsesreaksjoner i lungene på eksponerte individer.
- Støv fra fra Ottersbo (5B), Steinskogen (6A, 6B og 7B) og Lierskogen (8A og 8B), samt jaspis (9A), ser ut til å representerer spesielt potente støvtyper som bør undersøkes videre. Det er imidlertid for tidlig å kategorisk konkludere at stein fra de andre lokalitetene ikke kan gi opphav til potente partikler, og å konkludere at de potente partiklene er representative for forekomsten de er tatt fra.
- Partikkelstørrelse synes ikke å være en avgjørende faktor for steinpartiklers evne til å indusere cytokinutskillelse fra epiteliale lungeceller. Det er derfor grunn til å tro at kvalitative partikkelegenskaper er av langt større betydning for partiklenes bioaktivitet. Vi tar her et forbehold for ultrafne partikler som ikke har blitt testet i denne studien, men disse vil lite sannsynlig bli dannet ved piggdekkslittasje på veidekket. Det er imidlertid viktig å være klar over at partikkelstørrelse er avgjørende for hvor partiklene deponeres i lungene, og størrelsen vil derfor ha betydning for sykdoms-/skadebildet ved en reell eksponering.
- Partiklenes bioaktivitet synes først og fremst å avhenge av den totale partikkelsammensetningen, og i mindre grad av innholdet av enkelte mineraler eller elementer (med unntak av partikler med høyt innhold av plagioklas). Det forblir allikevel usikkert hva som gjør en partikkel potent, og den initielle virkningsmekanismen (hva som skjer når en partikkel kommer i kontakt med en celle) er ennå ikke kjent. Derfor er det vanskelig å forutsi partiklers potensielle bioaktivitet basert på kunnskap om element- og mineralsammensetning. Per i dag kan bare biologiske analyser gi oss god informasjon om partiklers bioaktivitet. Økt kunnskap om virkningsmekanismer vil kanskje kunne endre dette i fremtiden.
- Studien tyder på at mineralet plagioklas trolig er lite potent mht. cytokininduksjon. Resultatene bekrefter dermed tidligere funn fra både cellesystemer og dyreforsøk som viser at partikler med høyt innhold av plagioklas er lite bioaktive.

Referanseliste

- (1) American Thoracic Society (No authors listed). Health effects of outdoor air pollution. Committee of the Environmental and Occupational Health Assembly of the American Thoracic Society. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996; 153(1):3-50.
- (2) Pope CA, Dockery DW, Kanner RE, Villegas GM, Schwartz J. Oxygen saturation, pulse rate, and particulate air pollution - A daily time-series panel study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 159(2):365-372.
- (3) Stringer B, Imrich A, Kobzik L. Lung epithelial cell (A549) interaction with unopsonized environmental particulates: Quantitation of particle-specific binding and IL-8 production. *Exp. Lung*

Res. 1996; 22(5):495-508.

- (4) Rosenthal GI, Germolec DR, Blazka ME, Corsini E, Simeonova P, Pollock P et al. Asbestos stimulates IL-8 production from human lung epithelial-cells. *J. Immunol.* 1994; 153(7):3237-3244.
- (5) Takizawa H, Ohtoshi T, Kawasaki S, Kohyama T, Desaki M, Kasama T et al. Diesel exhaust particles induce NF-kappa B activation in human bronchial epithelial cells in vitro: Importance in cytokine transcription. *J. Immunol.* 1999; 162(8):4705-4711.
- (6) Boland S, Bonvallot V, Fournier T, BaezaSquiban A, Aubier M, Marano F. Mechanisms of GM-CSF increase by diesel exhaust particles in human airway epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2000; 278(1):L25-L32.
- (7) Harada A, Mukaida N, Matsushima K. Interleukin 8 as a novel target for intervention therapy in acute inflammatory diseases. *Mol. Med. Today* 1996; 2(11):482-489.
- (8) Driscoll KE. TNF[alpha] and MIP-2: role in particle-induced inflammation and regulation by oxidative stress. *Toxicol. Lett.* 2000; 112-113:177-183.
- (9) Gangur V, Birmingham NP, Thanavorakul S. Chemokines in health and disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2002; 86(3-4):127-136.
- (10) Hetland RB, Refsnes M, Myran T, Johansen BV, Uthus N, Schwarze PE. Mineral and/or metal content as critical determinants of particle-induced release of IL-6 and IL-8 from A549 cells. *J. Toxicol. Environ. Health - Part A* 2000; 60(1):47-65.
- (11) Hetland RB, Myhre O, Lag M, Hongve D, Schwarze PE, Refsnes M. Importance of soluble metals and reactive oxygen species for cytokine release induced by mineral particles. *Toxicology* 2001; 165(2-3):133-144.
- (12) Becher R, Hetland RB, Refsnes M, Dahl JE, Dahlman HJ, Schwarze PE. Rat lung inflammatory responses after in vivo and in vitro exposure to various stone particles. *Inhal. Toxicol.* 2001; 13(9):789-805.
- (13) Hetland RB, Schwarze PE, Johansen BV, Myran T, Uthus N, Refsnes M. Silica-induced cytokine release from A549 cells: importance of surface area versus size. *Hum. Exp. Toxicol.* 2001; 20(1):46-55.
- (14) Fenoglio I, Croce A, DiRenzo F, Tiozzo R, Fubini B. Pure-silica zeolites (porosils) as model solids for the evaluation of the physicochemical features determining silica toxicity to macrophages. *Chem. Res. Toxicol.* 2000; 13(6):489-500.
- (15) American Thoracic Society (No authors listed). Adverse effects of crystalline silica exposure. American Thoracic Society Committee of the Scientific Assembly on Environmental and Occupational Health. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155(2):761-768.
- (16) Vallyathan V, Castranova V, Pack D, Leonard S, Shumaker J, Hubbs AF et al. Freshly fractured quartz inhalation leads to enhanced lung injury and inflammation. Potential role of free radicals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152(3):1003-1009.
- (17) Johnston CJ, Driscoll KE, Finkelstein JN, Baggs R, O'Reilly MA, Carter J et al. Pulmonary chemokine and mutagenic responses in rats after subchronic inhalation of amorphous and crystalline silica. *Toxicol. Sci.* 2000; 56(2):405-413.
- (18) Shukla A, Timblin CR, Hubbard AK, Bravman J, Mossman BT. Silica-induced Activation of c-Jun-NH2-Terminal Amino Kinases, Prolonged Expression of the Activator Protein-1 Proto-Oncogene, fra-1, and S-Phase Alterations Are Mediated via Oxidative Stress. *Cancer Res.* 2001; 61(5):1791-1795.
- (19) Barrett EG, Johnston C, Oberdorster G, Finkelstein JN. Silica-induced chemokine expression in alveolar type II cells is mediated by TNF-alpha-induced oxidant stress. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol.*

Physiol. 1999; 276(6):L979-L988.

- (20) Obot CJ, Morandi MT, Beebe J, Hamilton RF, Holian A. Surface Components of Airborne Particulate Matter Induce Macrophage Apoptosis through Scavenger Receptors. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2002; 184(2):98-106.
- (21) Jaspers I, Samet JM, Reed W. Arsenite exposure of cultured airway epithelial cells activates kappa B-dependent interleukin-8 gene expression in the absence of nuclear factor-kappa B nuclear translocation. *J. Biol. Chem.* 1999; 274(43):31025-31033.
- (22) Samet JM, Graves LM, Quay J, Dailey LA, Devlin RB, Ghio AJ et al. Activation of MAPKs in human bronchial epithelial cells exposed to metals. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 1998; 275(3):L551-L558.
- (23) Duyndam MCA, Hulscher STM, van der Wall E, Pinedo HM, Boven E. Evidence for a Role of p38 Kinase in Hypoxia-inducible Factor 1-independent Induction of Vascular Endothelial Growth Factor Expression by Sodium Arsenite. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(9):6885-6895.
- (24) Chen W, Martindale JL, Holbrook NJ, Liu Y. Tumor Promoter Arsenite Activates Extracellular Signal-Regulated Kinase through a Signaling Pathway Mediated by Epidermal Growth Factor Receptor and Shc. *Mol. Cell Biol.* 1998; 18(9):5178-5188.
- (25) Simeonova PP, Wang S, Hulderman T, Luster MI. c-Src-dependent Activation of the Epidermal Growth Factor Receptor and Mitogen-activated Protein Kinase Pathway by Arsenic. Role in carcinogenesis. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(4):2945-2950.

Appendix I – Tabeller

Tabell 1: Generelle partikkeldata. Tabellen gir en oversikt over partiklernes identifikasjonsnummer, størrelsesfraksjon ($PM_{10} < 10 \mu m$, $PM_{2.5} < 2,5 \mu m$), gjennomsnittstørrelse, overflateareal og opphavssted til steinprøven.

Partikkel nr	Fraksjon	Gj.snittstørrelse (μm)	Overflate (m^2/g)	Steinprøve
1A / 1B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	7,44 / 1,54	5,33 / 12,16	Bjøndalen
2A / 2B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	6,99 / 1,58	6,01 / 11,94	Huken
3A / 3B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	6,96 / 1,46	7,1 / 12,47	Dalbo
4A / 4B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	7,99 / 1,50	4,16 / 10,07	Hadeland
5A / 5B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	7,48 / 1,49	5,05 / 10,3	Ottersbo
6A / 6B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	7,42 / 1,34	7,07 / 13,25	Steinskogen – grov
7A / 7B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	6,84 / 1,24	5,16 / 9,88	Steinskogen – fin (basalt)
8A / 8B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	8,05 / 2,31	7,02 / 14,99	Ljerskogen
9A / 9B	$PM_{10}/ PM_{2.5}$	8,73 / 1,92	3,88 / 9,42	Jaspis

Appendix I – Tabeller

Tabell 2: Mineralanalyse av PM₁₀ og PM_{2.5} fraksjonene. Tabellene oppgir partiklenes totalinnhold av ulike mineraler. Verdiene er gitt i %.

Partikkel	kvarts	Plagioklas	k-feldspat	glimmer	kloritt	kalsitt	epidot	pyroksen	amfibol	granat
1A	8	59	30	-	1	2	-	-	<1	-
2A	13	43	17	-	4	2	-	20	1	-
3A	14	73	7	<1	3	2	-	-	1	-
4A	7	54	25	-	-	-	-	14	<1	-
5A	26	45	10	-	6	-	12	-	1	-
6A	15	31	14	5	6	1	7	17	4	-
7A	17	28	18	-	8	3	-	25	1	-
8A	5	11	14	3	2	12	-	41	2	10
9A	56	7	-	5	2	1	26	-	3	-

Partikkel	kvarts	plagioklas	k-feldspat	glimmer	kloritt	kalsitt	epidot	pyroksen	amfibol	granat
1B	2	55	36	2	1	1	-	-	3	-
2B	4	45	23	6	2	1	-	9	10	-
3B	6	56	7	17	3	-	-	-	11	-
4B	2	46	37	2	-	-	-	9	4	-
5B	25	36	9	-	14	1	9	-	6	-
6B	4	36	11	5	9	2	14	12	7	-
7B	11	20	14	9	9	3	-	26	8	-
8B	4	11	16	4	1	7	-	38	1	18
9B										

Appendix I – Tabeller

Tabell 3: Elementanalysen av PM₁₀-fraksjonene. Tabellene oppgir partikkelens totalinnhold av ulike elementer. Verdiene er gitt i mg/kg.

Partikkel	Si	Al	Fe	Ti	Mg	Ca	Na	K	Mn	P	Cu	Zn	Pb	Ni	Co
1A	214	16700	38800	5010	14000	23100	1970	4010	799	2210	76,5	92,8	<5	18,7	9,84
2A	<100	21900	31300	6110	20100	20400	2470	4890	1310	1280	46,5	202	9,2	21,4	26,2
3A	<100	33700	36300	8650	33100	24800	2700	8280	1290	1310	75,3	153	<5	42,2	44,4
4A	<100	16700	14100	2490	8080	10300	4920	7100	976	818	38,6	203	13,6	7,43	6,91
5A	<100	35500	47200	3760	26700	18900	1130	1650	741	530	119	117	<5	60,1	22,5
6A	<100	33300	46400	9820	30500	29300	1990	3590	887	2490	61	89,5	<5	32,3	34,9
7A	<100	31900	52100	10800	19500	27100	3880	2390	688	2180	151	115	<5	12,3	25,9
8A	<100	23400	24900	2530	21900	94800	969	3070	1080	153	52,9	104	24,6	57,3	11,4
9A	<100	8740	52800	657	7370	19000	585	817	894	480	71,2	79,6	10,2	32,3	6,94

Partikkel	V	Mo	Cd	Cr	Ba	Sr	Zr	Ag	B	Be	Li	Sc	Ce	La	Y
1A	60,1	7,58	<1	20,7	125	162	138	<1	12,7	9,37	15,8	6,29	272	127	27,3
2A	98,2	2,5	<1	13,8	86,8	117	125	<1	7,84	7,01	19,9	7,56	215	94	39,6
3A	155	<1	<1	28,1	150	142	49,6	<1	9,19	7,18	27,1	10,1	56,7	18,7	19,6
4A	33,2	4,03	<1	5,8	44,4	44,1	104	<1	<5	4,19	19,4	7,51	616	331	41,5
5A	91,1	1,03	<1	96,1	22,2	113	14,9	<1	5,41	8,78	22,2	6,52	50,8	19,4	9,8
6A	166	1,37	<1	32,6	39,7	168	51,8	<1	<5	8,38	24,8	8,16	80,9	29,6	19,5
7A	206	1,15	1,02	19	49,1	146	65	<1	10	8,81	14,7	5,93	85,7	30,5	20,1
8A	64,1	1,28	1	135	50	296	38,9	<1	16,2	5,28	47,9	58,89	71,1	17,8	13,3
9A	45,4	2,75	<1	60,9	15,3	40,3	9,7	<1	19,7	9,36	6,6	2,33	11,7	1,43	4,56

Appendix I – Tabeller

Tabell 4: Elementanalysen av PM_{2.5}-fraksjonene. Tabellene oppgir partikkelens totalinnhold av ulike elementer. Verdiene er gitt i mg/kg.

Partikkel	Si	Al	Fe	Ti	Mg	Ca	Na	K	Mn	P	Cu	Zn	Pb	Ni	Co
1B	<100	24800	29600	5620	19500	22400	4310	8130	961	1290	54,8	111	<5	24,9	15,7
2B	<100	32800	32900	7010	30000	23700	4770	10100	1630	1160	41,6	230	<5	31	37,8
3B	<100	46500	41200	9840	47200	28300	5020	15900	1670	1160	49,1	200	<5	53,9	60,9
4B	<100	8600	19700	2320	4850	8010	2110	3190	626	800	43,1	150	13,2	14	3,85
5B	<100	44300	52000	4040	28000	22200	3080	2870	846	423	134	124	<5	31,1	24,6
6B	<100	42900	36400	15000	37700	30600	4220	7350	1040	1500	58,4	118	<5	34,7	40,6
7B	<100	47400	39700	13400	33300	33800	6500	5100	1080	2780	126	172	<5	8,79	39,5
8B	<100	28600	24000	2390	26900	60300	6500	7810	1090	127	102	154	41,1	68,3	14

Partikkel	V	Mo	Cd	Cr	Ba	Sr	Zr	Ag	B	Be	Li	Sc	Ce	La	Y
1B	73,6	5,98	<1	9,73	202	192	232	<1	8,65	8,35	20,6	7,98	240	116	27,7
2B	122	3,53	<1	9,05	144	175	181	<1	12,4	7,72	30,1	9,72	207	90,9	50,4
3B	190	1,37	<1	21,3	234	212	58,3	<1	15,4	8,07	36,6	12,8	52,7	15,8	22,6
4B	28,1	2,88	<1	14,9	22,9	28	81	<1	<5	4,64	13,3	5,19	545	288	35,1
5B	105	<1	<1	112	45,8	140	20,2	<1	<5	9,64	26,6	7,96	76,3	33	10,6
6B	222	<1	<1	21,6	67,1	217	75,5	<1	15,4	6,29	30,9	11	75,7	24	20,9
7B	262	<1	1,05	9,89	78,6	191	82,8	<1	9,73	6,93	27,5	8,41	112	39,3	25,8
8B	67,5	7,94	<1	147	101	524	37,8	<1	40,6	5,51	58,9	6,45	68,2	18,9	11,9

Appendix I – Tabeller

Tabell 5: Elementanalysen av løselig fraksjon. Tabellene oppgir mengde av løselige elementer fra utvalgte partikler av PM₁₀ og PM_{2,5} fraksjonene. Verdiene er gitt i µg/l.

Partikkel	Y	Cd	Cs	Ce	Pr	Sm	Tl	Pb	Th	U	Li	B	Mg	Al	Si	Ca	Sc
1a	1,3	0,0	0,1	3,6	0,4	0,3	0,0	-0,2	0,6	0,3	3,8	298	624	909	8678	20082	0,2
1b	2,8	0,0	0,2	4,6	0,6	0,6	0,1	0,0	1,1	0,6	6,2	255	1174	2059	12517	16261	0,5
5a	0,3	0,0	0,1	2,4	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,5	3,1	304	1242	1188	8644	11583	0,1
5b	0,2	0,0	0,1	1,5	0,2	0,1	0,1	0,0	0,2	0,5	2,5	244	2111	1108	9019	11241	0,0
7a	1,3	0,1	0,1	5,7	0,7	0,5	0,0	1,0	0,2	0,1	13,0	408	1165	2032	10074	14310	0,2
7b	0,4	0,0	0,2	1,8	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	17,4	300	2271	740	8776	13877	0,1
8a	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	-0,2	0,0	0,0	13,3	278	806	26	14796	8614	0,0

Partikkel	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Rb	Sr	Sb	Ba	La	K	Ti	As	Mo
1a	21	1,7	70	556	0,4	1,6	31	3,9	19	333	0,7	60,1	1,7	228617	75	2,0	14,2
1b	20	1,2	58	785	0,5	1,6	8,1	4,1	62	372	0,8	79,1	2,2	255938	137	1,7	29,1
5a	22	14,9	33	935	0,6	1,7	37	6,6	22	65	0,9	11,9	1,3	191076	55	2,9	1,7
5b	16	6,5	19	715	0,4	1,4	10	3,6	36	115	0,8	17,0	0,9	242091	51	6,8	4,1
7a	65	3,4	57	1158	1,3	3,5	104	13,6	13	179	1,0	18,0	2,6	233574	307	4,8	2,3
7b	64	2,2	36	586	0,7	1,2	20	5,1	43	241	1,1	11,7	0,8	250550	194	15,1	6,8
8a	9,7	0,6	3,8	16	0,0	1,1	1,5	0,5	24,5	326	1,5	3,5	0,0	242349	0,2	20,7	10,9

Appendix I – Tabeller

Tabell 6: Partiklenes evne til å inducere cytokinutskillete. Tabellen oppgir partiklenes evne til å inducere IL-8 og MIP-2 fra hhv. A549 og T2 celler. Verdier er gitt som stigningstallet til regresjonslinjen for doseresponskurven (\pm standard avvik).

Partikkel	IL-8	MIP-2
1A	0.004 \pm 0.001	0.02 \pm 0.01
2A	0.006 \pm 0.001	0.03 \pm 0.02
3A	0.007 \pm 0.001	0.04 \pm 0.01
4A	0.007 \pm 0.001	0.03 \pm 0.01
5A	0.003 \pm 0.001	0.02 \pm 0.01
6A	0.007 \pm 0.001	0.18 \pm 0.03
7A	0.002 \pm 0.001	0.02 \pm 0.01
8A	0.004 \pm 0.001	0.20 \pm 0.04
9A	0.007 \pm 0.004	0.16 \pm 0.06

Partikkel	IL-8	MIP-2
1B	0.002 \pm 0.001	0.01 \pm 0.01
2B	0.004 \pm 0.002	0.04 \pm 0.01
3B	0.003 \pm 0.001	0.05 \pm 0.01
4B	0.005 \pm 0.002	0.03 \pm 0.01
5B	0.002 \pm 0.001	0.13 \pm 0.02
6B	0.002 \pm 0.001	0.13 \pm 0.03
7B	0.003 \pm 0.001	0.15 \pm 0.03
8B	0.001 \pm 0.001	0.20 \pm 0.05
9B	0.002 \pm 0.001	0.02 \pm 0.01

Appendix I – Tabeller

Tabell 7: Korrelasjonsanalyse: Mineralinnhold vs partiklernes bioaktivitet. Beregnet korrelasjon (r) mellom innhold av de enkelte mineralene og partiklernes evne til å indusere cytotoksinutskillelse. For å holde totalsjansen for type I feil lik 0.05 (5%), ble grenseverdien (α) satt til 0,0051. α er beregnet etter formelen $1,00-0,95^{(1/N)}$, der N er antall mineraler i analysen (N=10).

Mineralinnhold:	kvarts	plagioklas	k-feldspat	glimmer	kloritt	kalsitt	epidot	pyroksen	amfibol	granat
Korrelasjon med IL-8 (r)	0,30	0,21	-0,05	-0,10	-0,40	-0,25	0,15	-0,02	-0,21	-0,28
P-verdi	0,2	0,4	0,9	0,7	0,1	0,3	0,6	0,9	0,4	0,3
Korrelasjon signifikant ($\alpha \leq 0,0051$) ?	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei
Korrelasjon med MIP-2 (r)	0,23	-0,81	-0,47	0,23	0,28	0,57	0,35	0,68	0,10	0,52
P-verdi	0,4	<0,0001	0,05	0,4	0,3	0,02	0,2	0,003	0,7	0,03
Korrelasjon signifikant ($\alpha \leq 0,0051$) ?	nei	ja	nei	nei	nei	nei	nei	ja	nei	nei

Appendix I – Tabeller

Tabell 8: Korrelasjonsanalyse: Totalt elementinnhold vs partiklenes bioaktivitet. Beregnet korrelasjon (r) mellom innhold av de enkelte elementene og partiklenes evne til å induisere cytotoksinutskillelse. For å holde totalsjansen for type I feil lik 0.05 (5%), ble grenseverdien (α) satt til 0,0017. α er beregnet etter formelen $1,00-0,95^{(1/N)}$, der N er antall elementer i analysen (N=30).

Element:	Si	Al	Fe	Ti	Mg	Ca	Na	K	Mn	P	Cu	Zn	Pb	Ni	Co
Korrelasjon med IL-8 (r)	-	-0,08	-0,29	0,07	0,32	-0,35	0,29	0,51	0,40	-0,17	-0,43	0,41	-0,06	-0,12	0,17
P-verdi	-	0,8	0,3	0,8	0,9	0,2	0,3	0,03	0,1	0,5	0,07	0,09	0,8	0,6	0,5
Korrelasjon signifikant ($\alpha \leq 0,0017$) ?	-	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei
Korrelasjon med MIP-2 (r)	-	-0,04	0,10	0,02	0,08	0,56	0,08	-0,25	-0,18	-0,23	0,27	-0,41	0,49	0,48	-0,11
P-verdi	-	0,9	0,7	0,9	0,8	0,01	0,8	0,3	0,5	0,4	0,3	0,09	0,04	0,04	0,7
Korrelasjon signifikant ($\alpha \leq 0,0017$) ?	-	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei

Element:	V	Mo	Cd	Cr	Ba	Sr	Zr	Ag	B	Be	Li	Sc	Ce	La	Y
Korrelasjon med IL-8 (r)	-0,03	0,04	-	-0,36	0,26	-0,14	0,19	-	0,00	-0,28	-0,08	-0,26	0,29	0,30	0,36
P-verdi	0,9	0,9	-	0,2	0,3	0,6	0,5	-	1,0	0,3	0,8	0,3	0,2	0,2	0,1
Korrelasjon signifikant ($\alpha \leq 0,0017$) ?	nei	nei	-	nei	nei	nei	nei	-	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei
Korrelasjon med MIP-2 (r)	0,08	-0,10	-	0,56	-0,38	0,49	-0,48	-	0,46	-0,15	0,39	0,32	-0,45	-0,44	-0,52
P-verdi	0,7	0,7	-	0,02	0,1	0,04	0,04	-	0,06	0,6	0,1	0,2	0,06	0,06	0,03
Korrelasjon signifikant ($\alpha \leq 0,0017$) ?	nei	nei	-	nei	nei	nei	nei	-	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei

Appendix I – Tabeller

Tabell 9: Korrelasjonsanalyse: Løselige elementer vs partiklenes bioaktivitet. Beregnet korrelasjon (r) mellom innhold av enkelte elementer i løselig fraksjon og partiklenes evne til å induisere MIP-2 utskillelse. For å holde totalsjansen for type I feil lik 0.05 (5%), ble grenseverdien (α) satt til 0,0015. α er beregnet etter formelen $1,00-0,95^{(1/N)}$, der N er antall elementer i analysen (N=34).

Partikkel	Y	Cd	Cs	Ce	Pr	Sm	Tl	Pb	Th	U	Li	B	Mg	Al	Si	Ca	Sc
Korrelasjon med MIP-2 (r)	-0,48	-0,50	0,11	-0,52	-0,51	-0,50	0,42	-0,28	-0,50	-0,41	0,60	-0,43	0,53	-0,45	0,47	-0,07	-0,44
P-verdi	0,23	0,21	0,79	0,18	0,20	0,21	0,30	0,51	0,20	0,32	0,12	0,92	0,17	0,26	0,24	0,87	0,28
Korrelasjon signifikant ($\alpha \leq 0,0015$) ?	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei

Partikkel	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Rb	Sr	Sb	Ba	La	K	Ti	As	Mo
Korrelasjon med MIP-2 (r)	0,11	-0,17	-0,46	-0,35	-0,22	-0,44	-0,35	-0,40	0,26	0,25	0,80	-0,43	-0,53	0,52	-0,15	0,93	-0,08
P-verdi	0,79	0,68	0,26	0,39	0,60	0,28	0,40	0,33	0,54	0,55	0,03	0,29	0,17	0,19	0,72	0,002	0,85
Korrelasjon signifikant ($\alpha \leq 0,0015$) ?	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei	nei

Appendix II – Materialer og metoder

Reagenser

Kulturmedium, "Nutrition Mixture F12 Hams Kaigin's modification" var fra Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA, Bronchial/Tracheal Epithelial Cell growth Medium BulletKit® (BEGM® BulletKit®) var fra Bio Whittaker, Walkersville, MD, USA, mens Williams medium E og RPMI medium var fra Bio Whittaker Europe, Verviers, Belgia. Føtal kalveserum (FBS) var fra Gibco BRL, Paisley, Skottland. Ampicillin og fungison var fra Bristol-Myer Squibb, Bromma, Sverige, og penicillin/streptomycin var fra Bio Whittaker, Walkersville, MD, USA. ELISA-assay for IL-8 og MIP-2 var kjøpt fra Biosource International, Camarillo, CA, USA.

Mineralpartikler

Steinpartikler ble fremstilt av SINTEF, Univeristetet i Trondheim. Ni ulike steinprøver fra sju ulike lokaliteter i Norge ble samlet inn og knust ned til PM₁₀ (10 µm) og PM_{2.5} (2,5 µm) fraksjoner ved Los Angeles metoden. En oversikt over de ulike steinpartiklene med identitetsnummer og opphavssted er gitt i tabell 1. Størrelsesfordeling innen PM₁₀ og PM_{2.5} fraksjonene ble bestemt med en Coulter LS partikkelstørrelsemåler. Spesifikk partikkeloverflate ble beregnet med en Flowsorb II 2300, ved bruk av en gassblanding med 70% He og 30% N. Semikvantitativ mineraldistribusjon av prøvene ble bestemt ved røntgendifraksjon (XDR)-analyse (Philips APD 1700). Elementanalyse var basert på induktiv koplet plasma atomemisjonspektroskopi (ICP-AES). Den kommersielt tilgjengelige krystallinske silikapartikkelen (kvarts) MIN-U-SIL[®] 5 (U.S. Silica Company, Maryland, USA) var en gave fra Dr. Paul Borm, Medical Institutt of Environmental Hygiene, Düsseldorf, Tyskland. MIN-U-SIL[®] 5 er en naturlig forekommende krystallinsk kvarts. I følge produsenten består den av minst 98-99% SiO₂, og har en størrelsesfordeling med typisk 96-97% som passerer 5 µm, og en median diameter på 1.6-1.7 µm.

Humane celler

Den humane cellelinjen A549 fra American Tissue Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA) ble dyrket i HAMS F12 medium, tilsatt ampicillin (100 µg/ml), penicillin/streptomycin (100µg/ml), fungizone (0.25 µg/ml) og 10% varme-inaktivert FBS. A549-cellene ble sådd ut i 35mm 6-brønnersbrett (2x10⁴ celler/brønn) og dyrket ved 37°C i fuktig atmosfære med 5% CO₂, til kulturene var ca 90% tette, før eksponering. De humane primærcellene Small Airway Epithelial Cells (SAEC celler) fra Bio Whittaker (Walkersville, MD, USA), ble dyrket i BEGM® BulletKit® medium uten bruk av antibiotika eller fungicider. SAEC-cellene ble sådd ut i 6-brønnersbrett dyrket ved 37°C i fuktig atmosfære med 5% CO₂, etter leverandørens protokoll.

Primærceller fra rotte

Primære type-2 (T2) celler fra rottelunger ble isolert som beskrevet av M. Låg (Låg *et. al.* 1996. Exp. Lung Res. 22(6):627-649). Isolerte T2 celler ble dyrket i Williams' medium E tilsatt insulin (5 µg/ml), hydrokortison (0.087 µg/ml), transferrin (5µg/ml), EGF 10 ng/ml), natrium selenitt (6.2 ng/ml), ascorbinsyre 5 µg/ml), glutation (5 µg/ml), ampicillin (100 µg/ml) penicillin/streptomycin (100 µg/ml), fungizone (0,25 µg/ml), Hepes (15mM) og 5% varme-inaktivert FBS. T2 cellene ble sådd ut i 35 mm 6-brønnersbrett (4x10⁵ celler/brønn) og dyrket ved 37°C i fuktig atmosfære med 5% CO₂, i to dager, før eksponering.

Appendix II – Materialer og metoder

Cytokin-assay

Cellekulturene ble eksponert for partikler og inkubert ved 37°C i 24 timer. Deretter ble vekstmediet pipettert over i eppendorfrør og sentrifugert i to trinn. Først ved 250 x g for å fjerne døde celler, så ved 2500 x g for å fjerne de gjenværende partikkelrestene. Den endelige supernatanten ble frosset ned og lagret ved -70°C. Proteinnivåer av IL-8 og MIP-2 ble bestemt ved ELISA utført etter produsentens retningslinjer. Absorbans ble målt og kvantifisert med en plateleser (TECAN Sunrise) komplett med software (Magellan V 1.10).

Statistiske og matematiske beregninger

Korrelasjonsanalyser og regresjonsberegninger ble utført ved hjelp av GraphPad Prism software.

Appendix III – Orddliste

A549	En human cellelinje som stammer fra i alveolære epitelceller .
Aerodynamisk diameter	Størrelsesmål for partikler. Aerodynamisk diameter tar hensyn til både partiklens tetthet og luftmotstand. En partikkles aerodynamisk diameter representerer diameteren til en sfærisk enhetspartikkel med samme fallhastighet som partikkelen, uavhengig av dens størrelse, form og tetthet.
Alveoler	Små luftfylte blærer som finnes i stort antall i lungene, plassert ytterst i forgreiningene til luftveiene. Har som funksjon å maksimere lungenes overflate for gassutveksling.
Alveolære epitelceller	Celler som utgjør epitelet i alveolene (lungeblærene).
Betennelse	Se inflammasjon .
Bioaktivitet	Kommer av ”biologisk aktivitet” eller ”biologisk reaktivitet”. Brukes for å betegne gitt en forbindelses evne til å aktivere en biologisk respons. I denne rapporten brukes det om steinpartiklers evne til å stimulere epitelceller til å skille ut cytokiner .
Cellelinjer	Celler fra kreftsvulster eller celler som på andre måter er gjort ”udødelige” (f.eks. ved virusinfeksjoner). Normale, friske celler kan bare gjennomgå et begrenset antall celledelinger før de dør, og har derfor svært begrenset levetid i kultur. Cellelinjer derimot, har ikke begrensninger i antall celledelinger de kan gjennomgå, og kan derfor dyrkes i kultur i det ”uendelig”. Cellelinjer har gjerne endrede karakteristika i forhold til celler fra vevet de stammer fra, og er derfor sjeldent fullgode modeller på normale celler. Sammenlign med primærceller .
Cytokiner	Proteiner som skilles ut av celler og som påvirker oppførselen til andre celler. Virker ved å binde til spesifikke cytokinreseptorer på celler de påvirker. Viktig gruppe signalmolekyler som er av stor betydning for kommunikasjon mellom celler, og som er involvert i en rekke ulike prosesser, inkludert cellevekst, celledød og inflammasjon . Se også proinflammatoriske cytokiner og kjemokiner .
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbant Assay</i> . Svært utbredt metode for medisinske, biologiske og immunologiske analyser. I korte trekk benyttes spesifikke antistoffer til å fange opp biologiske molekyler (her; IL-8 eller MIP-2) man vil analysere fra en prøve. Enzymer bindes så til IL-8/MIP-2 og gir en fargereaksjon. Mengden IL-8/MIP-2 kan så bestemmes fra fargestyrken.

Appendix III – Ordliste

Epitel	Lag av dekkende celler som ligger på en basismembran. Danner blant annet vevsoverflaten til lungene, og dekker det underliggende bindevevet. Epitelceller kan ha sekretoriske funksjoner og holdes sammen av en bindende substans slik at de danner et flak.
Epitelceller	Celler som utgjør epitelet .
Hvite blodceller	Også kalt <i>Leukocytt</i> . Gruppe av store upigmenterte celler i blodet. Hvite blodceller utgjør et primærforsvar mot infeksjoner og annet fremmed materiale i kroppen. Se også makrofag og nøytrofil .
IL-8	Se interleukin-8 .
Inflammasjon	Betennelse . Generell betegnelse på den lokale akkumuleringen av væske, plasmaproteiner og hvite blodceller som initieres ved fysisk skade, infeksjoner eller lokale immunresponser. Dette betegnes også som en inflammatorisk respons . Akutt inflammasjon brukes for å beskrive tidlige og ofte forbigående episoder, mens kronisk inflammasjon forekommer ved varige infeksjoner eller eksponeringer, og ved autoimmune sykdommer (f.eks. leddgikt). Inflammasjon er sentralt ved utvikling av en rekke sykdommer, og antas å være en fellesnevner for en rekke støvrelaterte lungeskader som kreft og fibrose. Lungeinflammasjon antas også å være sentralt i forbindelse med økninger i akutte dødsfall og sykehusinnleggelseser, observert i forbindelse med høye nivåer av luftforurensning.
Interleukin (IL)-8	Viktig kjemokin som produseres av celler fra mennesker og en rekke andre pattedyr. Sentralt i forløpet til en rekke inflammatoriske responser . Rotteceller produserer ikke IL-8 , men produserer i stedet et kjemokin med analog funksjon, MIP-2 .
In vitro	Betyr direkte oversatt, <i>i glasset</i> . For biologiske prosesser og reaksjoner brukes det om responser som er fått til å foregå utenfor kroppen til en organisme, i et kunstig miljø. I denne rapporten henpeiler in vitro forsøk på forsøk utført på celler dyrket i skåler på laboratoriet. (Sammenlign med in vivo .)
In vivo	Betyr direkte oversatt, <i>i livet</i> . For biologiske prosesser og reaksjoner brukes det om responser som foregår i levende organismer. I denne rapporten henpeiler in vivo forsøk på forsøk utført på dyr. (Sammenlign med in vitro .)

Appendix III – Ordliste

Kjemokiner	Undergruppe av cytokiner , navnet kommer fra ”kjemoattraktant cytokiner”. Proteiner som stimulerer celledifferensiering og –aktivering. Mange er sentrale i inflammatoriske responser ved at de aktiverer og rekrutterer nøytrofile celler til betennelsesstedet.
Makrofag	En type hvite blodceller som fungerer som renovasjonsceller. Forekommer i stort antall i alle vev, og fjerner avfall som cellerester, bakterier osv. ved fagocytose (opptak). Noen kan bevege seg fritt, andre er fiksert i vevet. Utgjør en viktig del av immunforsvaret.
Makrofag inflammatorisk protein (MIP)-2	Viktig kjemokin som produseres av celler fra rotter og flere andre pattedyr. Sentralt i forløpet til en rekke inflammatoriske responser . Humane celler produserer ikke MIP-2 , men produserer i stedet et kjemokin med analog funksjon, IL-8 .
MIP-2	Se makrofag inflammatorisk protein-2 .
Nøytrofil	Den vanligste typen av hvite blodceller. Nøytrofiler er fagocytter (spiseceller), og er svært viktige for i bekjempelsen av bakterielle infeksjoner.
PM_x	Betegnelse som brukes til å gruppere fraksjoner av svevestøv etter partikkelstørrelse. PM står for ” <i>Particulate Matter</i> ”, mens X er partiklens aerodynamisk diameter i mikrometer (µm). PM₁₀ betegner en partikkelfraksjon der mer enn 50% av partiklene har en aerodynamisk diameter som er mindre enn 10 µm. PM_{2,5} betegner en partikkelfraksjon der mer enn 50% av partiklene har en aerodynamisk diameter mindre enn 2,5 µm.
Primærceller	Celler som er nylig isolert fra vev til en gitt organisme, og som fremdeles har beholdt karakteristikkene cellene hadde da de fantes i vevet. Kan bare gjennomgå et begrenset antall celledelinger, og kan dermed bare overleve kortere tid i kultur. Sammenlikn med cellelinjer .
Proinflammatoriske cytokiner	Cytokiner som er viktige for tidlige faser av inflammatoriske prosesser. Initiierer inflammasjon .
SAEC	”Small Airway Epithelial Cells”. Epitelceller som stammer fra epitelet litt lengre opp i luftveiene enn alveolene .

Appendix III – Ordliste

T2	Forkortelse for type-2 celler. Primærcelle som tilhører en gruppe av alveolære epitelceller . T2 cellen som er brukt i denne studien er isolert fra rottelunger.
Ultrafine partikler	Partikler med diameter mindre enn 100 nanometer (nm).