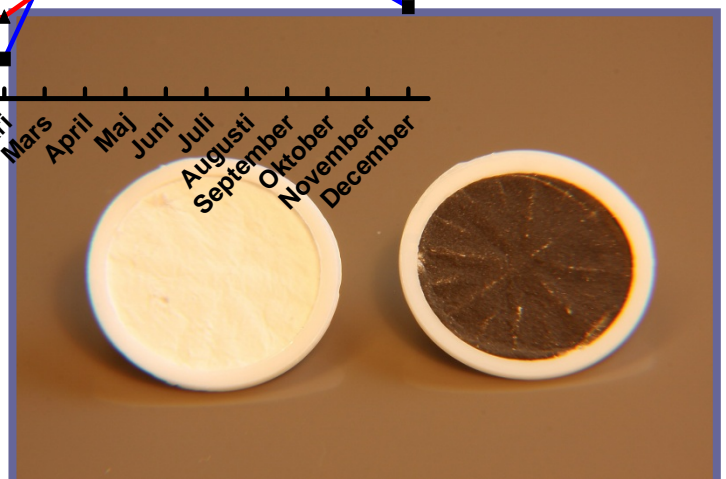
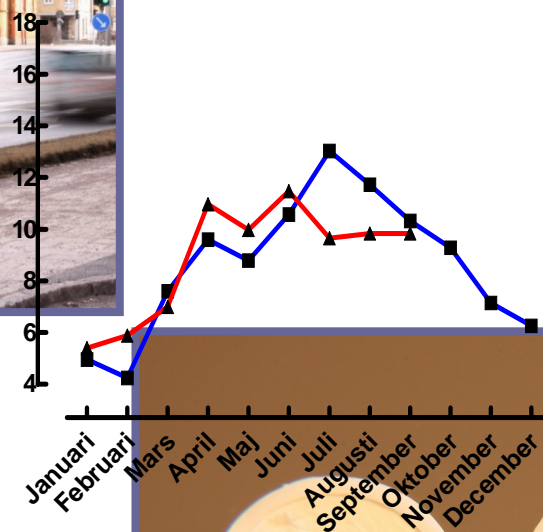


Bestämning av toxiska effekter hos respirabla partiklar insamlade med TEOM- instrument i svenska tätorter – ett möjligt verktyg vid hälsorelaterad miljöövervakning

Arbets- och miljömedicin, Universitetssjukhuset, Linköping: Per Leanderson, Pål Graff, Reza Nosratabadi, Helen Karlsson, Ingela Helmfrid

Institutionen för klinisk och experimentell medicin, Linköpings Universitet: Anders Ljungman
Avdelningen för Stadsmiljö vid Miljöförvaltningen i Göteborg: Hung N. Nguyen



Innehåll

	Sidan
Bakgrund	1
Syfte	1
Introduktion	1
Metod	2
Samling av partiklar på TEOM-filter	2
Provhantering, vägning och extraktion av partiklar på filter	4
Analyser	4
<i>Metallanalys – (Atomabsorption)</i>	4
<i>Grundämnesanalys (PIXE)</i>	4
<i>Oxiderande förmåga</i>	5
<i>Endotoxininnehåll</i>	5
<i>Cellaktiverande effekt (in vitro pyrogen test)</i>	6
Statistik	6
Resultat	7
1. Analys av partiklar insamlade under 21 månader i Norrköping och Sundsvall	7
<i>Partiklar på filter och partikelhalt i luft</i>	7
<i>Oxiderande förmåga</i>	8
<i>Endotoxin</i>	8
<i>Cellaktiverande effekt</i>	9
2. Partiklar samlade vid 10 mätstationer under februari - april 2009 och 2010	11
<i>Förändringar över tid på senvinter och vår</i>	11
3. Partiklar samlade vid 8 mätstationer under mars och april 2010	12
<i>Partiklarnas innehåll av järn, nickel, krom och bly</i>	12
<i>Grundämnessammansättning mätt med PIXE-metodik</i>	13
<i>Toxisk effekt och luftkoncentrationer av partiklar vid enskilda mätstationer</i>	14
Diskussion	15
<i>Årstidsvariation i Norrköping och Sundsvall</i>	15
<i>Toxisk effekt hos partiklar som samlats vid 8 mätstationer under mars och april 2010</i>	16
<i>Är partiklar samlade under vissa årstider eller på vissa platser mer toxiska?</i>	17
<i>Begränsningar och möjliga felkällor</i>	18
Slutsats	19
Tack	20
Referenser	21

Fotografierna på framsidan är tagna av Per Leanderson och visar TEOM-stationen på Hamngatan Linköping i mars 2012 och TEOM-filter före respektive efter att de suttit monterade i ett TEOM-instrument under 30 dagar.

Bakgrund

Runt om i landet finns i dag mätstationer som kontinuerligt mäter partikelkoncentrationen i den omgivande luften som en del i kommunernas miljöövervakning. Exponering för partiklar kan påverka hälsan negativt och det är viktigt att kontinuerligt registrera partikelhalter så att åtgärder kan vidtas om nivåerna blir för höga. Partiklar är dock till sin natur mycket heterogena och deras specifika sammansättning och egenskaper gör att de varierar i toxisk effekt. Kunskap om sådana olikheter kan vara ett värdefullt komplement vid tolkning och bedömning av luftkvaliteten på särskilda platser och/eller vid olika tider på året. Det övergripande syftet med innevarande projekt har varit att se om det går att skapa en rutin för insamling av de partiklar som rutinemässigt samlas på de idag befintliga mätstationerna samt att utveckla metoder för att mäta olika markörer för toxisk potential hos de insamlade partiklarna. Insamlingen av partiklar har skett med hjälp av TEOM-instrument i vilka partiklar fastnat på ett filter. I projektet har personal vid de kommuner som medverkat i projektet, varje månad bytt filter i TEOM-instrumenten och i samband med detta sänt använda partikelinnehållande TEOM-filer till det Arbets- och miljömedicinska laboratoriet i Linköping. På laboratoriet har partiklarna extraherats och analyserats med avseende på kemiskt innehåll (metall, grundämnes- och endotoxininnehåll), ytreaktiv förmåga (oxidation av glutation) och cellaktiverande effekt (*in vitro* pyrogen test).

Syfte

En målsättning har varit att ta fram rutiner för att nationellt samla in TEOM-filer från den pågående kommunala övervakningen av luftkvaliteten, extrahera partiklar från filtren och sedan undersöka skillnader i potentiellt toxiska egenskaper hos partiklar som samlats under olika årstider och på olika platser. En fråga har då också varit om metodiken att på detta sätt samla och karaktärisera respirabla partiklar kan vara ett användbart verktyg vid hälsorelaterad miljöövervakning inom HÄMI-s delprogram ”Exponeringar via luft”.

Introduktion

Inhalerbara partiklar dvs partiklar med en aerodynamisk diameter på 10 mikrometer eller mindre utgör en betydande del av den samlade mängden luftföroreningar som vi exponeras för. Partiklar kan öka risken för hjärt- kärlsjukdomar, lungsjukdomar och försämra astmatiska besvär (Maier *et al*, 2008). Vidare har partikelexponering visat sig ha en kroniskt hämmande effekt på lungans utveckling hos unga mellan 10 och 18 år, och medför också ökade respiratoriska besvär hos barn med astma och andra luftvägsrelaterade sjukdomar (Gauderman *et al*, 2004, Sugiri *et al*, 2006, O’Connor *et al*, 2008). Även när luftföroreningar inte överskrider miljö kvalitetsnormen ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$) anses lungutvecklingen hos barn kunna påverkas negativt (Forsberg *et al*, 2005). De partiklar som man kan andas in varierar avsevärt med avseende på bland annat sammansättning, form, storlek och ytreaktivitet och att det även finns skillnader när det gäller ämnen bundna till partikelytan har uppmärksammats (Thorpe & Harrison 2008, Steenhof *et al* 2011, Ristovski *et al* 2012). Variation i partikelegenskaper har visat sig vara av betydelse för toxicitet och inflammationsframkallande potential vilket vi tidigare kunnat visa för förslitningspartiklar från däck och vägbanor (Lindbom *et al*, 2006, 2007; Karlsson *et al*, 2011; Gustafsson *et al*, 2008) samt respirabla vägdammspartiklar (Jayawardena *et al*, 2009).

I detta projekt har en rutin satts upp för att tillvarata de partiklar som rutinemässigt samlas in av kommuner runt om i landet. Insamlingen har skett vid 10 mätstationer där TEOM-instrument varit placerade under 2009 och 2010 (Tabell 1). Instrumenten har kontinuerligt mätt den omgivande luftens halt av partiklar med en aerodynamisk diameter under $10 \mu\text{m}$ (PM_{10}) och

resultaten har gett värdefull och kontinuerlig information om lufthalter som möjliggjort den kommunala övervakningen av luftkvaliteten. Idag finns fler än 20 TEOM-instrument placerade i flera svenska kommuner och driften sköts normalt av den egna personalen. Principen för mätning av partikelhalter med TEOM-instrument beskrivs nedan under Metoder och i Figur 1 som schematiskt visar hur instrumentet är konstruerat. Efter att ett nytt filter monterats i instrumentet börjar partiklar kontinuerligt att ackumuleras och filtret blir med tiden allt mera mättat. För att säkerställa en korrekt mätning måste filtren bytas varje månad och då skiftas det partikelbemängda ”gamla” filtret mot ett nytt. Filtren sparas normalt inte utan gamla filter slängs rutinmässigt vid varje filterbyte. I detta projekt har TEOM-filter bytts månadsvis men istället för att ”gamla” filter har slängts har de placerats i ett sterilt rör som sedan skickats till Arbets- och miljömedicin i Linköping. På laboratoriet har sedan partiklarna studerats med avseende på kemiska och biologiska parametrar för att på så vis kunna visa på eventuella skillnader i potentiellt toxiska egenskaper. En målsättning har varit att undersöka skillnader mellan partiklar som samlats fortlöpande varje månad under en längre tidsperiod och skillnader hos partiklar som samlats från olika svenska tätorter under en begränsad tid. Partiklarna har analyserats med avseende på;

- innehåll av metallerna bly, krom, nickel och järn med hjälp av atomabsorptionspektrofotometri,
- grundämnessammansättning med PIXE-teknik (partikelinducerad röntgenstrålning),
- förmåga att inducera bildningen av reaktiva syreföreningar (oxidanter) som generellt kan kopplas till en cellskadande och toxisk effekt,
- innehåll av endotoxin (lipopolysackarider i Gramnegativa bakteriers cellvägg) som vid inandning kan öka riskerna för lunginflammation och andra allvarliga sjukdomstillstånd, samt
- cellaktiverande effekt med hjälp av metoden ”*in vitro* pyrogen test” där partiklarnas förmåga att aktivera humana celler till bildning av ämnen som stimulerar inflammationsprocessen undersökts.

Partikelprovtagning är normalt kostsam och idag finns inte något samordnat program för kontinuerlig och nationell insamling av partiklar som sedan analyseras med avseende på toxiska egenskaper. Innevarande projekt är ett första försök att tillvarata de partiklar som idag regelbundet samlas in i landets kommuner och sedan undersöka om vissa kan karaktäriseras som potentiellt mera reaktiva och/eller inflammationsmedierande än andra. Den toxiska effekten per massenhet partiklar har alltså undersökts. Sådan kunskap skulle i kombination med uppgifter om de aktuella partikelhalterna (som normalt registreras av TEOM-instrumenten) kunna ge en indikation om på vilka platser eller på vilka tider av året som det är mest ofördelaktigt att exponeras för partiklar och den sammanvägda informationen kunde då komma att gagna arbetet med miljöövervakning på nationell nivå.

Metod

Samling av partiklar på TEOM-filter

Partiklarna har samlats på filter monterade i mätinstrument av typen TEOM 1400 (Tapered Element Oscillating Microbalance). Mätningen är en filterbaserad metodik och partiklar med en diameter under 10 μm (PM_{10}) har samlats vid 10 mätstationer från Umeå i norr till Karlshamn i söder (Tabell 1). TEOM-tekniken bygger på att luft sugas in genom ett luftintag med ett flöde av 16,7 liter per minut. Luften passerar sedan en partikelavskiljare där alla partiklar med en diameter över 10 μm avlägsnas (i vissa fall över 2,5 μm). Efter avskiljningen leds en del av luften (3 liter/minut) genom ett rör där den torkas vid en temperatur av 50 °C

innan den passerar ett TEOM-filter med en diameter på 13 mm placerat på toppen av en glaskropp som oscillerar med en frekvens på cirka 300 Hz. Frekvensen förändras proportionellt med massförändringen på filtret (beror på massan partiklar som träffar filtret) och ändringen i frekvens över tid kan räknas om till en partikelhalt (massa per volymenhet). Denna typ av mätning är den som många svenska kommuner använder för att bestämma halterna av partiklar i tätorter och mätstationer finns idag uppställda på 20-30 platser i hela Sverige. Mätningar görs normalt i gatunivå men bestämningar görs också av urbana bakgrundshalter på höjder av 3-6 meter eller på taknivå (exempelvis 15-30 meter). Figur 1 visar schematiskt TEOM-instruments uppbyggnad.

Tabell 1. Beskrivning av de mätstationer där TEOM-filter samlats in.

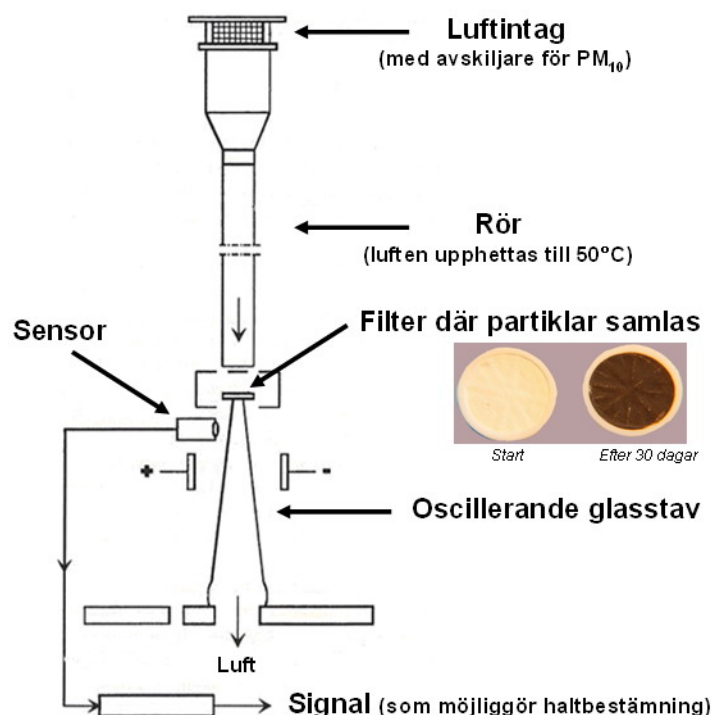
Stad	Gata	Fordon/dygn (skyltad hastighet, km/h)
Norrköping ^A	Östra Promenaden	19800 (50)
Sundsvall ^A	E4	30000 (50)
Umeå ^{B, C}	Biblioteks tak (urban bakgrund)	---
Norrköping ^B	Ingelstad köpcentrum	iu.
Norrköping ^B	Kungsgatan	12580 (50)
Norrköping ^B	Packhusgatan	31900 (50)
Linköping ^B	Hamngatan	12000 (50)
Valdemarsvik ^B	Storgatan	4300 (30)
Umeå ^B	Västra Esplanaden (E4)	28500 (50)
Karlshamn ^B	Ågatan	5900 (50)

^A Analys utfördes av prov samlade under perioden jan.-09 – sept.-10

^B Analys utfördes av prov samlade under perioden feb.-apr. 2009 och 2010

^C Mätning av urban bakgrund på Umeå Stadsbiblioteks tak. Höjd cirka 18 meter över gatunivån.

iu. Ingen uppgift



Figur 1. TEOM-instrumentets uppbyggnad. Vid samtliga mätstationer användes en partikelavskiljare så att endast partiklar med en diameter under 10 µm (PM₁₀) samlades på filtret. Det infällda fotografiet visar ett oanvänt filter och ett filter som samlat partiklar under 30 dagar. Filtrens diameter är 13 mm.

Provhantering, vägning och extraktion av partiklar på filter

Byte av filter i mätstationerna gjordes varje månad av personal från respektive kommun. I projektet skickades totalt 183 prov till laboratoriet och av dessa analyserades 82. Vissa av de insända proverna kom från mätstationer som samlat partiklar med en diameter på under 2,5 µm men på grund av att dessa var få till antalet redovisas inga resultat av dessa prov i denna rapport. Totalt analyserades 72 prov från TEOM-stationer som samlat PM₁₀. Urvalet baserades på att vi dels strävade efter att studera effekter över längre tider och då fanns kompletta provserier samlade från januari 2009 till september 2010 från mätstationerna vid Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall. Vidare analyserades prov som samlats under perioden februari till april från ett större antal orter.

För att minska risken för kontamination av filtren fick personalen utförliga instruktioner om hur filterbytet skulle genomföras och efter att filtret försiktigt tagits loss från TEOM-instrumentets glaskropp placerades det i ett sterilt 50 ml plaströr som var markerat med plats och datum för filterbytet. Efter att ett nytt filter monterats i instrumentet skickades det använda filtret i sitt skydds rör till Arbets- och miljömedicinska laboratoriet i Linköping. Vid ankomsten till laboratoriet registrerades varje prov och röret med filter placerades sedan i en lågtemperaturfrys (-70 °C) i väntan på invägning, extraktion och analys. Vid varje invägnings- och extraktionstillfälle hanterades 10-15 TEOM-filtre. För att acklimatisera filtren innan en först invägning placerades de i den klimatkammare som normalt används vid precisionsvägning då gravimetriska bestämningar utförs vid laboratoriet. Efter 48 timmar vägdes filtren och samtidigt vägdes även två oexponerade kontrollfilter. Den våg som användes var en Satorius Micro MC5 P. Efter invägning placerades varje filter i ett sterilt 50 ml Falconrör och 2 ml endotoxinfritt vatten tillsattes (Braun Malsungen AG, Tyskland). För att frigöra partiklar från filtren används en ultraljudsprob och varje filter ultraljudades under 2 minuter (Soniprep 150 Ultrasonic disintegrator, MSE, England). Vid förfarandet stacks en ultraljudsprob ned i vattnet cirka 4 mm och utan att proben vid något tillfälle nuddade vid och skadade den del av filtret där partiklarna fanns. Vattensuspensionen med frigjorda partiklar delades sedan i fraktioner om 300 µl i sex stycken 0,5 ml mikrorör och frystes i -70 °C i väntan på analys. Filtren fördes tillbaka till klimatkammaren där de efter acklimatisering under 4 dygn vägdes en andra gång. För att ta fram massan partiklar som frigjorts vid extraktionen beräknades differensen av filtrets massa vid första och andra invägningen. För samtliga analyser som utfördes i projektet åtgick endast cirka hälften av det provmaterial som extraherades från filtren.

Analys

Metallanalys – (Atomabsorption)

För haltbestämning av bly, krom, nickel och järn användes atomabsorptionsspektrofotometri med grafitugsteknik (AAS ContraAA 700, Analytic Jena, Tyskland). Efter att proven tinats och omblandats överfördes 200 µl till teflonrör och provlösningarna indunstades genom att rören placerades i ett värmeskåp med temperaturen 80°C under 2 timmar. Efter detta tillsattes 300 µl kungsvatten (1 del koncentrerad salpetersyra och 3 delar koncentrerad saltsyra) till varje rör innan de noggrant förslöts med lock och inkuberades vid 80°C under 16 timmar. Efter avsvälning i rumstemperatur tillsattes 1200 µl liter avjoniserat vatten till varje rör. Efter snabb omblandning med vortexmixer och centrifugering under 1 minut vid 300 xg överfördes 600 µl av supernatanterna till provvialer. Vid bestämning av järn spädde proven ytterligare 10 gånger med vatten. Vid analysen injicerades 15 µl provlösning (5 µl vid järnanalysen) och för kvantifiering analyserades också samtidigt standarder med kända koncentrationer.

Grundämnesanalys (PIXE)

Grundämnesanalys med PIXE (partikelinducerad röntgenstrålning) är en metod som har används sedan 1970-talet (Cahill, 1975). Här utnyttjas en protonstråle för att bombardera provet vars atomer då kommer att joniseras varefter en deexcitation sker och i samband med

denna emitteras en karakteristisk grundämnesspecifik röntgenstrålning. Signalen detekteras med en energikänslig detektor och spektra bearbetas matematiskt och ger information om vilka grundämnen som finns i provet. Då man i metoden även bestämmer antal röntgenkvanta som specifika spektra genererat kan även en kvantifiering av respektive grundämne göras.

Analysen utfördes enligt följande; Från varje partikelsuspension sattes 20 µl lösning på en Mylarfilm med tjockleken 2 µm (Goodfellow Camebridge Ltd., England) monterad i en 24x36 mm filmram. Efter indunstning över natt i rumstemperatur kunde provet analyseras med PIXE och då användes en protonstråle generad vid 2,3 MeV och PIXE-instrumentet var kalibrerat med hjälp av Micro-Matter™ standard. Analysen finns beskriven av Johansson *et al* (1981) och information om den programvara som användes för att tolka erhållna spektra finns på följande länk: <http://nmp.csiro.au/GeoPIXE.html>

Oxiderande förmåga

Bildning av reaktiva syreföreningar eller så kallade oxidanter är något som generellt kan kopplas till en cellskadande och toxisk effekt. För att i en provrörsmodell utan celler undersöka partiklarnas oxiderande förmåga (förmåga att bilda reaktiva syreföreningar) användes reducerat glutation (GSH). Glutation är en viktig skyddsmolekyl och antioxidant i luftvägarna och i den experimentella modellen studerades hur partiklarna oxiderade GSH till oxGSH. I luftvägarna och andra delar av kroppen är det viktigt att nivån av GSH hålls hög och stabil och en ackumulering av oxGSH är något negativt.

I korthet utfördes analysen enligt följande; 100 µl Provlösning (100 µg partiklar/ml) blandades med 100 µl av en vattenlösning innehållande 100 µmol/L GSH. Efter 30 minuters inkubering vid 37 °C (svag rotation) centrifugerades proven under 3 minuter vid 14 000 xg varefter 25 µl av supernatanten överfördes till nya rör och blandades med 25 µl trisbuffert (100 mmol/L, pH 8,5). För att derivatisera GSH tillsattes 130 µl Na₂HPO₄ (500 mmol/L, pH 7,0) och 50 µl OPA (orto-ftalaldehyd, 50 µmol/L). Proven inkuberades under 5 minuter i rumstemperatur och analyserades därefter på sitt innehåll av GSH med hjälp av högupplösande vätskekromatografi (HPLC). Vid analysen injicerades 20 µl provlösning på en Chromolith Performance kolonn (100 x 4,1 mm, C18, Merck) och som mobil fas användes 15 % metanol och 85 % 25 mmol/L NaH₂PO₄ pH 6,5. Flödet var 2 ml/minut och komplexet av GSH-OPA detekterades med hjälp av en fluorescensdetektor (Merck Hitachi, F1000) där excitations- och emissionsvåglängderna var 340 nm respektive 420 nm. För att bestämma graden av oxiderat glutation relaterades provens innehåll av GSH med vad som kunde detekteras i kontroller där GSH enbart hade inkuberats med vatten. Bestämningen är en modifierad version av en som tidigare beskriven metod (Cereser *et al* 2001).

Endotoxininnehåll

Exponering för endotoxin (lipopolysackarider i Gramnegativa bakteriers cellvägg) har kunnat kopplas till ökad risk för flera allvarliga sjukdomstillstånd och inandning av bioaerosoler innehållande endotoxin kan ge både luftvägsinflammation och allmänsymtom (Liebers *et al.* 2008). Det är därför viktigt att i olika sammanhang låta analysera vilka halter av endotoxin som finns i luftprov. Vid analyserna användes en högkänslig LAL-metodik som bygger på att endotoxin aktiverar ett endotoxinkänsligt enzym verksamt i koagulationssystemet hos hästskokrabban (*Limulus polyphemus*). Vid bestämningen användes ett LAL-kit (LAL Chromogenic Endpoint Assay, HIT302, Hycult Biotech, Holland). Här sätts prov och standarder till en färglös substratlösning och om endotoxin finns i provet aktiveras ett enzym som reagerar med substratet vilket ger ett färgomslag som är proportionellt mot mängden av endotoxin. Från varje extraherat partikelprov bereddes lösningar med partikelkoncentrationen 100 µg/ml i endotoxinfritt vatten. För att minska risken för fel analyserades alla prov vid ett och samma tillfälle och på samma platta som dubbelprover. Alla prov haltbestämdes med hjälp av lipopolysaccarid-referenser som inkluderades i LAL-kitet. Vid analysen inkluderades även två negativa kontroller (från oexponerade filter). Kvantifieringen baserades på reaktionens kinetik och provens absorbans vid 390 nm registrerades var femte minut under 50 minuter i en plattläsare (BMG Fluostar, BMG, Tyskland).

Cellaktiverande effekt (in vitro pyrogen test)

Då leukocyter (vita blodceller) aktiveras frisätts cytokiner, arakidonsyrametaboliter och andra ämnen som stimulerar inflammationsprocessen och som därför är potentiellt toxiska. För att bilda sig en uppfattning om ett okänt provs cellaktiverande och inflammationsmedierande effekt kan man studera hur provet aktiverar vita blodceller och mäta denna aktivering genom att analysera något av de inflammationsmedierande ämnena som bildas. Som en markör för cellaktivering analyserades i denna studie cytokinen interleukin-1 β (IL-1 β) och den metodik som användes var en så kallad ”*in vitro* pyrogen test”. Ett pyrogen är ett feberframkallande ämne och vid ett ”*in vitro* pyrogen test” mäter man bildningen av ämnen som normalt bildas i kroppen vid en feberreaktion men detta görs i testet alltså ”*in vitro*” - utanför kroppen med blodceller från ett vanligt blodprov.

I korthet blandades 280 μ l partikelprov (100 μ g/ml i 0,9 % NaCl-lösning) med 70 μ l helblod (från heparinrör) i brunnarna på en 96-hålsplatta (500 μ l polypropylenplatta). Efter 18 timmars inkubering i 37 °C analyserades 2 x 40 μ l av supernatanten på sitt innehåll av IL-1 β . Metodiken har tidigare beskrivits av Jayawardena *et al* (2009). För att kunna jämföra bildningen av IL-1 β i prov med partiklar med de halter som bildas när helblod stimuleras för ett känt stimuli analyserades samtidigt med TEOM-partiklarna också halterna IL-1 β i prov där blod stimulerats med jästpartiklar (zymosan B i koncentrationer mellan 0,64 – 20 μ g/ml). TEOM-partiklarnas cellaktiverande effekt har sedan normaliserats mot zymosanpartiklarnas cellaktiverande effekt och redovisas i rapporten som zymosanequivaler med enheten μ g/ml.

Statistik

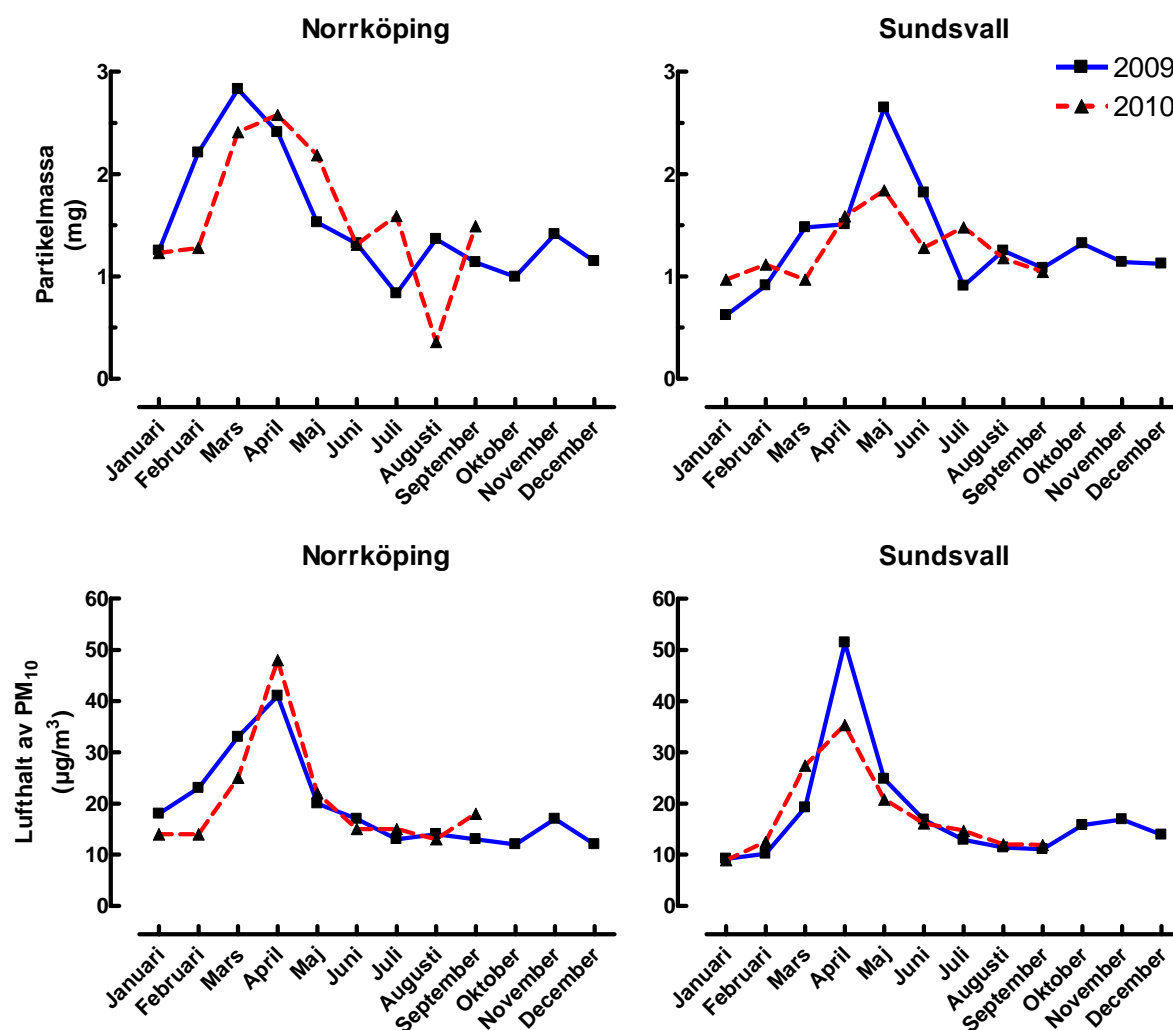
För beräkning av förändringar med avseende på partikelmassa på filter, oxidativ förmåga, endotoxininnehåll och den cellaktiverande effekten under tiden februari till april användes en variationsanalys (en-vägs ANOVA). Korrelationen mellan den cellaktiverande effekten och halten endotoxin beräknades med Pearson's test. Grundämnessammansättningen som mättes med PIXE-metodik samt den oxidativ förmågan, endotoxininnehållet och den cellaktiverande effekten samt partikelhalterna vid 8 mätstationer under april och mars 2010 redovisas som medelvärde för de två månaderna.

Resultat

1. Analys av partiklar insamlade under 21 månader i Norrköping och Sundsvall

Partiklar på filter och partikelhalt i luft

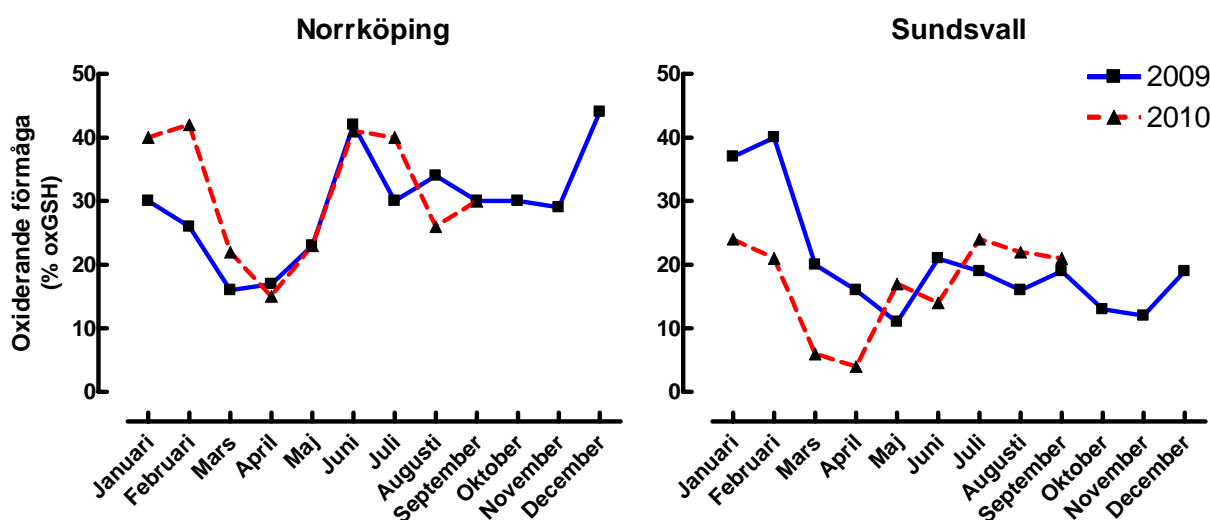
De två övre graferna i Figur 2 visar massan av partiklar som efter extraktion kunde frigöras från filter från mätstationerna vid Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall och som samlats under perioden januari 2009 till och med september 2010. På respektive plats fanns en stor likhet mellan månadsmedelvärdena 2009 och 2010 men det fanns en skillnad när det gällde variation över året mellan filter från de två mätstationerna. I Norrköping var partikelmassan låg i januari varefter den steg för att nå en topp under mars och april månad innan den sedan successivt sjönk under senvåren och sommaren. På filter från Sundsvall var massorna låga i början av året och steg sedan långsamt för att nå en topp på filter från maj. Det fanns likheter mellan partikelmassan som extraherats från filter och den faktiska partikelkoncentrationen i luften som mätts upp vid respektive mätstation. De två nedre graferna i Figur 2 visar de lufthalter som mätts upp av respektive mätstation under samma tidsperiod (data från Norrköpings och Sundsvalls kommuner). Även här fanns en stor likhet mellan partikelnivåerna (PM₁₀) som rapporterats från respektive mätstation under 2009 och 2010 och på båda platserna kunde en topp konstateras under april månad.



Figur 2. Överst; Massan av partiklar på filter samlade varje månad vid mätstationerna vid Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall under perioden januari 2009 till september 2010. Nederst; Månadsmedelvärden av luftens koncentration av PM₁₀ från respektive mätstation under samma period. Uppgifter om halterna av PM₁₀ i luften är hämtade från Norrköpings respektive Sundsvalls kommuners årliga rapporter 2010 och 2011.

Oxiderande förmåga

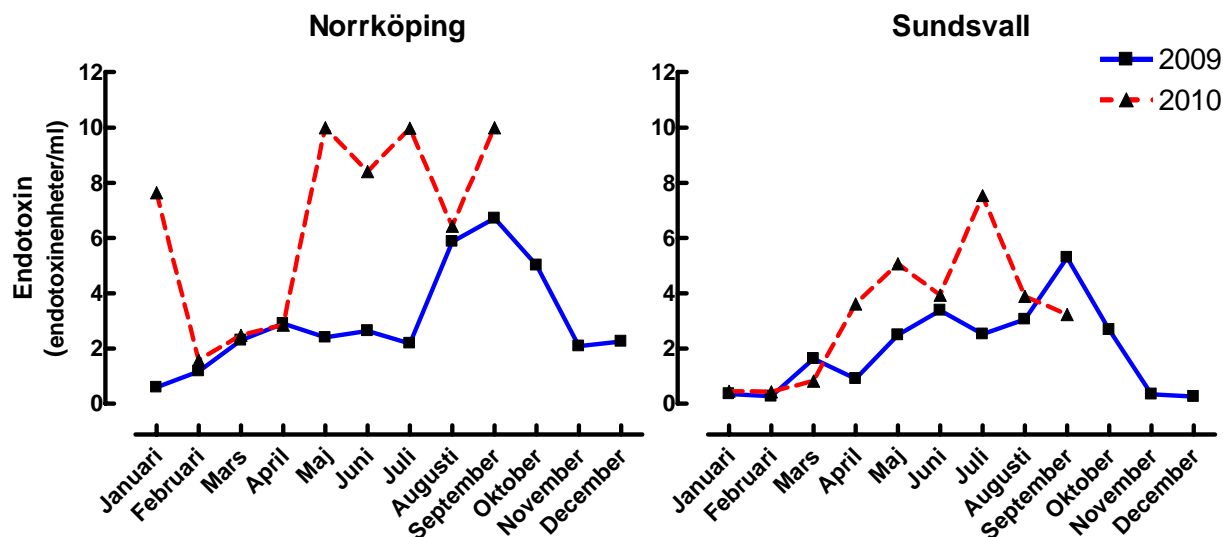
Som mått på partiklarnas oxiderande förmåga användes en metod där reducerat glutation (GSH) – en viktig antioxidant i luftvägarna - inkuberades tillsammans med 50 µg partiklar/ml och där sedan oxidationen av GSH bestämdes efter 30 minuter. Figur 3 visar andelen oxiderat glutation (oxGSH) i prover samlade vid mätstationerna vid Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall. Trenden i Norrköping var att partiklarnas oxiderande förmåga var högst under vintermånaderna januari och februari varefter den sjönk under våren för att sedan öka igen och nå en andra topp i juni. En liknande trend kunde ses i prov från Sundsvall där de lägsta värdena konstaterades under våren men här var uppgången under sommaren mindre markant än i prov från Norrköping. Denna årstidsvariation med de lägsta värdena under våren kunde alltså konstateras för partiklar från båda mätstationerna och både år 2009 och 2010.



Figur 3. Oxiderande förmåga hos partiklar samlade vid mätstationerna vid Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall under perioden januari 2009 till september 2010.

Endotoxin

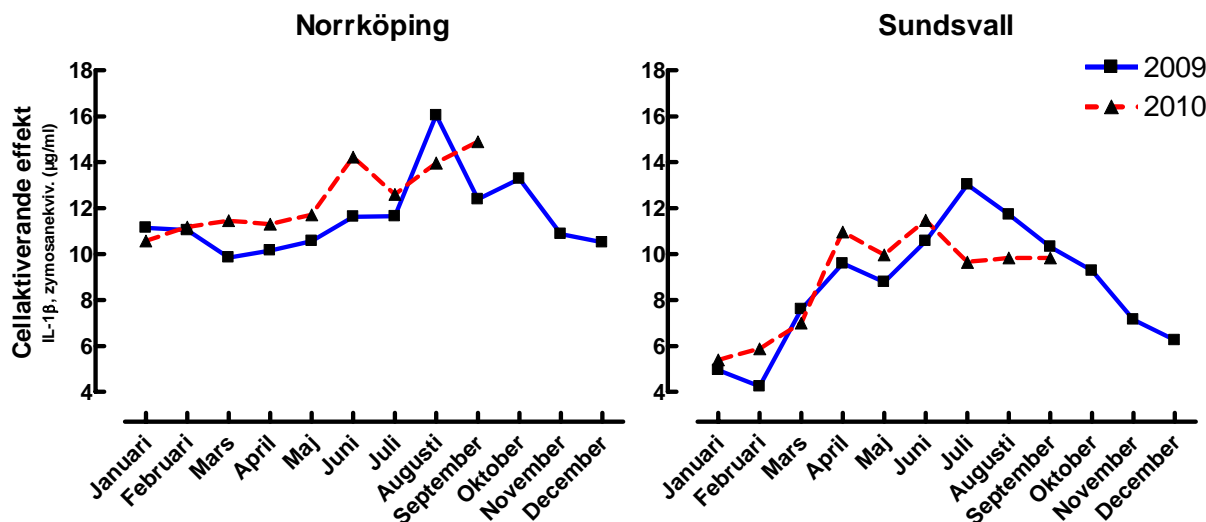
Provets innehåll av endotoxin - delar från bakterier som stimulerar inflammation - undersöktes med en högkänslig LAL-metodik. Figur 4 visar hur mängderna endotoxin varierar över året på partiklar från Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall. En trend 2009 vid båda mätstationerna var att halterna var låga i början på året och att de sedan ökade successivt för att nå en topp för partiklar som samlats i september. Under 2010 sågs även här att halterna ökade under året och de var särskilt i Norrköping högre under sommaren. Ett undantag var partiklar på filtret från Östra Promenaden i januari 2010 som hade en hög nivå även under denna vintermånad. Anledningen till detta är oklar men en tänkbar orsak kan ha varit att filtret kontaminerats i något steg då det hanterats innan analys.



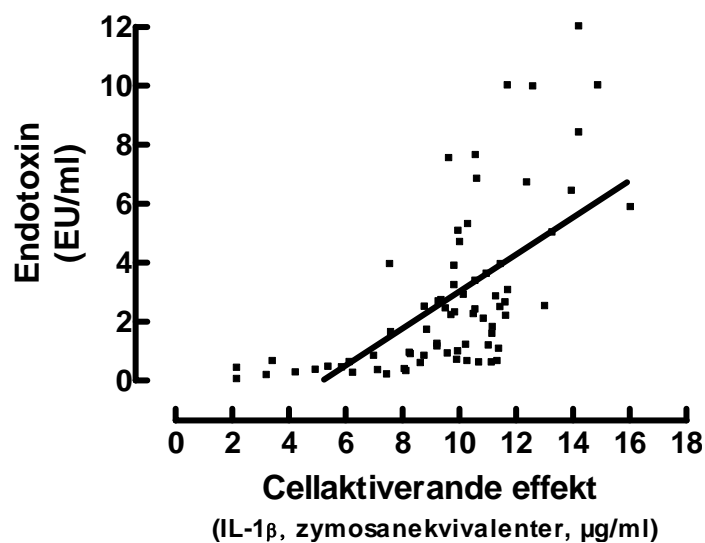
Figur 4. Endotoxin på partiklar samlade på TEOM-filter vid mätstationerna vid Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall under perioden januari 2009 till september 2010. (1 endotoxinenhet/ml motsvarar 0,1 ng lipopolysaccarid/ml).

Cellaktiverande effekt

Som modell för att studera partiklarnas potentiella inflammatoriska förmåga användes en så kallad ”*in vitro* pyrogen test” där en liten volym helblod stimulerades med partiklar under 18 timmar innan proven analyserades på sitt innehåll av cytokinen IL-1 β - ett ämne som stimulerar inflammation. Den generella trenden i prov både från Norrköping (Östra Promenaden) och Sundsvall (E4) var att aktiviteten var lägst under vintermånaderna och att den sedan ökade under våren för att nå en topp under de varmaste månaderna på sommaren innan den sedan sjönk igen under hösten (Figur 5). I prov från Norrköping var den cellaktiverande effekten högre under vinter och vår än i Sundsvallsproverna och det fanns en mindre variation över året än vad som kunde konstateras gälla för partiklar samlade i Sundsvall. Ofta är provers innehåll av endotoxin en viktig bidragande faktor till den cellaktiverande effekten som mäts med ett ”*in vitro* pyrogen test”. Sannolikt gäller detta även för de här studerade TEOM-partiklarna och vid en analys av samtliga prov som redovisas i Tabell 1 (n=72) konstaterades att det fanns en signifikant positiv korrelation mellan partiklarnas innehåll av endotoxin och den cellaktiverande effekten ($r=0,63$, $p<0,001$, Figur 6)



Figur 5. Den cellaktiverade effekten hos partiklar samlade på filter vid mätstationerna vid Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall under perioden januari 2009 till september 2010. Effekten är mätt som bildning av cytokinen IL-1 β och redovisas som zymosanequivaler (µg/ml). Bildningen i partikelproverna har alltså normaliserats mot bildningen av IL-1 β i en standardserie som samtidigt exponerades för zymosanpartiklar (0,64 – 20 µg/ml).

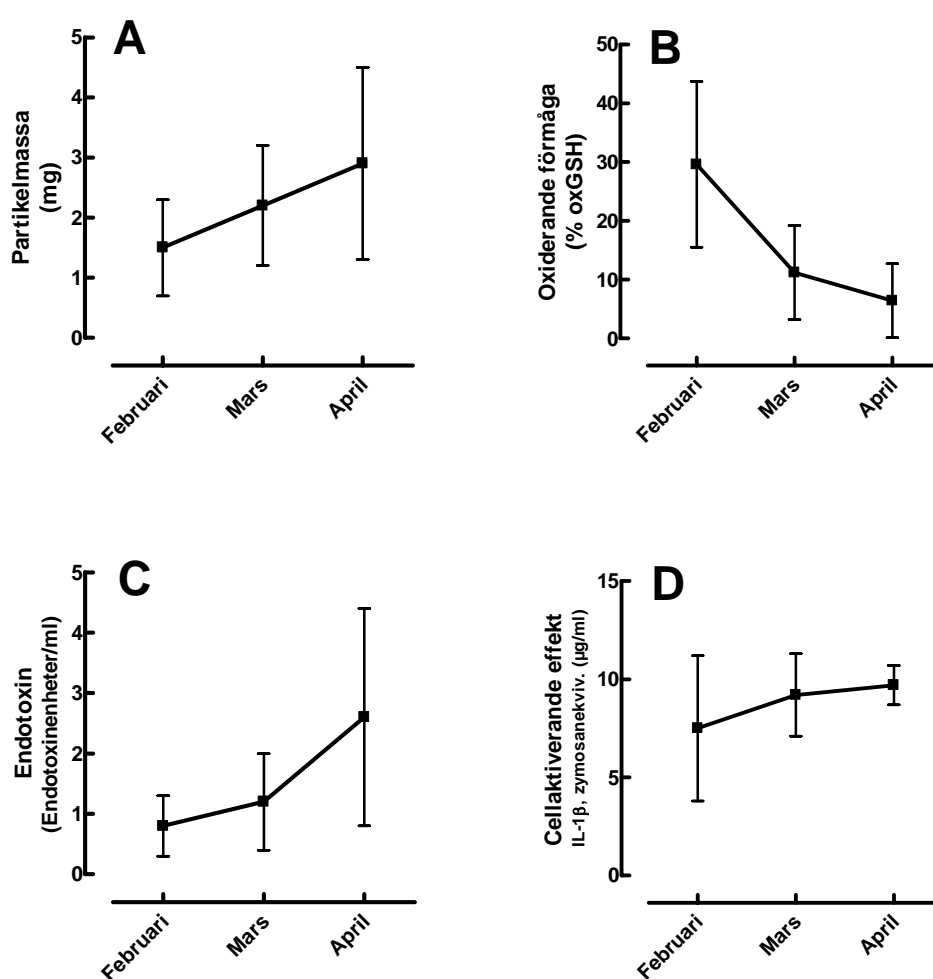


Figur 6. Korrelation mellan innehåll av endotoxin och den cellaktiverade effekten hos samtliga i Tabell 1 redovisade prov (n=72).

2. Partiklar samlade vid 10 mätstationer under februari - april 2009 och 2010

Förändringar över tid på senvinter och vår

Figur 7 visar variationen över tid med avseende på partikelmassa, oxiderande förmåga, endotoxin och cellaktiverande effekt hos partiklar på TEOM-filter från samtliga 10 mätstationer under tidsperioden februari till april år 2009 och 2010. En variationsanalys (en-vägs ANOVA) visade att massan partiklar som kunde extraheras från TEOM-filtren ökade signifikant under perioden ($p=0,013$). Det omvända gällde för den oxiderande förmågan där partiklar minskade sin oxidativa förmåga mellan februari till april ($p<0,001$). I likhet med partikelmassan ökade innehållet av endotoxin signifikant under tidsperioden ($p<0,0001$) och en ökning kunde också konstateras när det gällde den cellaktiverande effekten men denna var dock inte statistiskt signifikant ($p=0,06$).



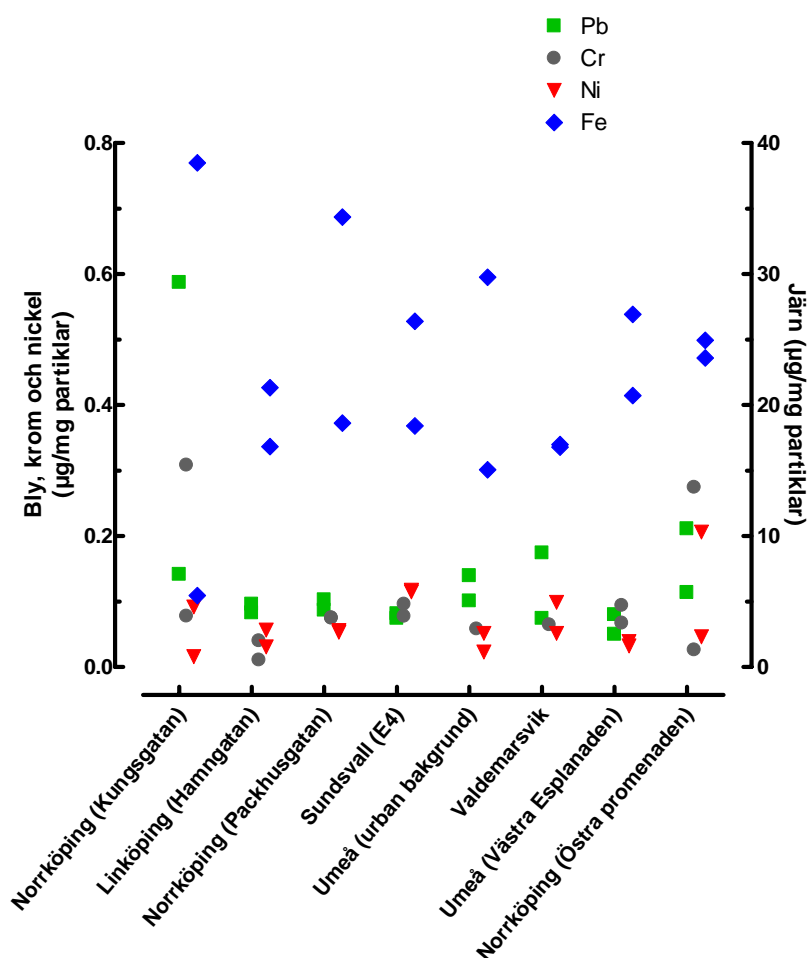
Figur 7. Partikelmassa på filter (A), oxiderande förmåga (B), endotoxin (C) och cellaktiverande effekt (D) hos partiklar samlade vid samtliga i Tabell 1 angivna mätstationer under perioden februari till april år 2009 och 2010 (medelvärde och standardavvikelse).

3. Partiklar samlade vid 8 mätstationer under mars och april 2010

För att kunna påvisa skillnader mellan platser jämfördes prov från 8 olika mätstationer som samlat partiklar under mars och april 2010. Anledningen att just denna tidpunkt valdes var att det då fanns flest antal platser från vilka filter skickats in.

Partiklarnas innehåll av järn, nickel, krom och bly

För att kvantifiera partiklarnas innehåll av metallerna järn, krom, nickel och bly användes atomabsorptionspektrofotometri. Figur 8 visar att den högsta mängden bly kunde konstateras i partiklar från Kungsgatan i Norrköping där medelvärdet för de två månaderna var mer än dubbelt så högt jämfört med vad som kunde påvisas i andra prov. Det som orsakade detta högre värde var att halterna i partiklar samlade i april var drygt fyra gånger högre än halterna i partiklar som samlats i mars. Även mängden krom var högst i partiklar samlade på Kungsgatan. Partiklar från Östra Promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall hade de högsta nickelnivåerna. Mängderna järn var generellt mer än 50 gånger högre än det högsta värdet av någon av de andra analyserade metallerna och inga större skillnader med avseende på innehåll av järn förekom i partiklar från de olika mätstationerna.

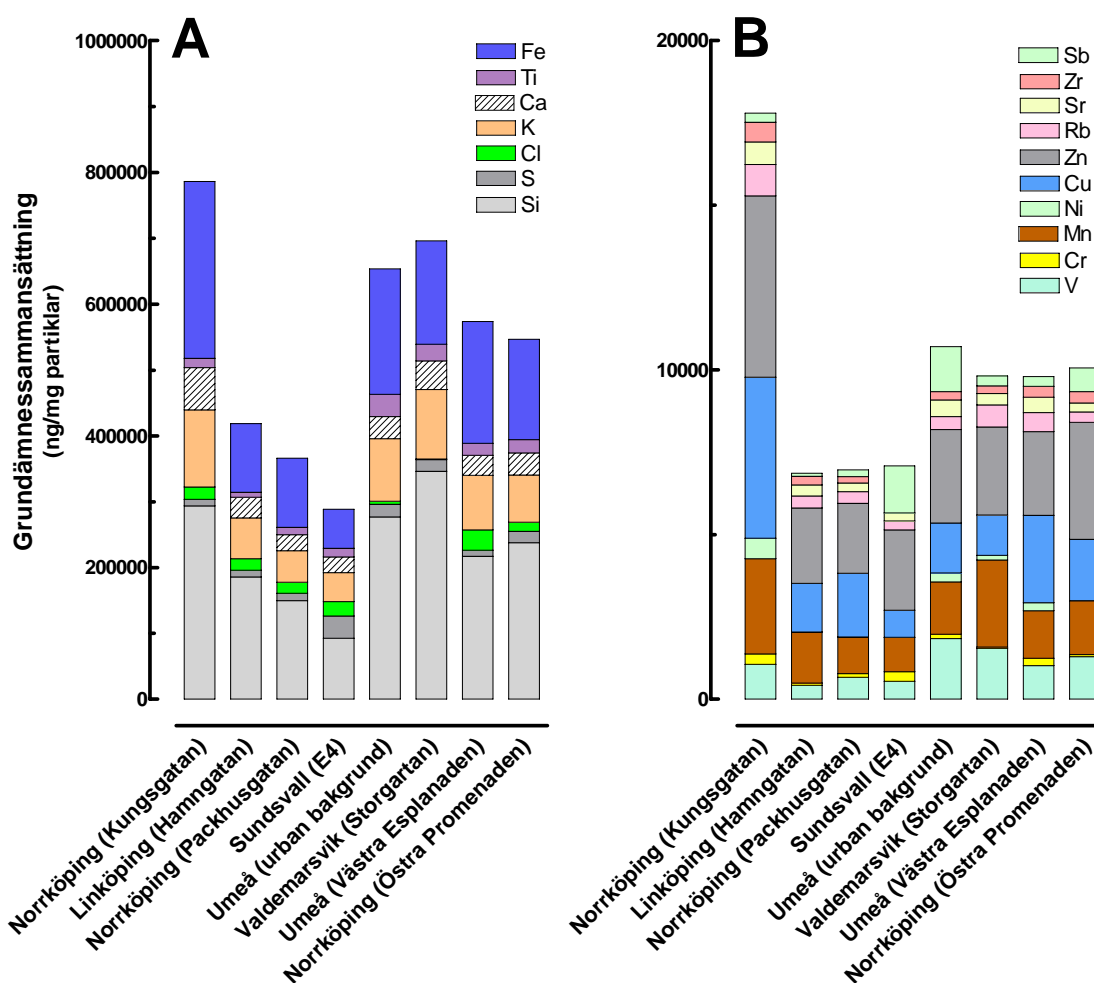


Figur 8. Förekomst av bly (grön kvadrat), krom (grå punkt), nickel (röd triangel) och järn (blå kvadrat) i partiklar från de 8 mätstationerna under mars och april 2010.

Grundämnessammansättning mätt med PIXE-metodik

Figur 9 A visar innehåll av de mer vanligt förekommande grundämnena (kisel, svavel, klor, kalium, kalcium, titan och järn) i partiklar från 8 mätstationer under mars och april 2010. De dominerande grundämnena var kisel, järn, kalium och kalcium. Det finns stora likheter med avseende på sammansättning hos partiklar från de olika mätstationerna men exempelvis gick inte klor att detektera i prov från Valdemarsvik och Umeå Stadsbibliotek. Vid den senare mätstationen samlades partiklar för bestämning av en urban bakgrund och mätningen gjordes här på bibliotekets tak cirka 18 meter över gatunivån.

I Figur 9 B ses mindre vanliga grundämnen i partiklar från samma 8 mätstationer. Även här fanns stora likheter mellan platserna men exempelvis kunde inte nickel återfinnas i prov från Linköping, Packhusgatan och Östra Promenaden i Norrköping samt i partiklar från Sundsvall [Anm. Som framgår ovan kunde dock nickel bestämmas från samtliga dess platser med atomabsorptionsspektrometri (Figur 8)]. Koppär, zink och bly fanns i en något större omfattning i prov från Kungsgatan i Norrköping. Anledningen till det högre blyvärdet var att halterna i partiklar från april 2010 var cirka fyra gånger högre än i mars och detta kunde som ovan nämnts också konstateras då analysen gjordes med atomabsorptionsspektrofotometri (se ovan, Figur 8).



Figur 9. Grundämnessammansättning analyserat med PIXE-metodik i partiklar från 8 mätstationer under mars och april 2010. Till vänster (A) ses grundämnen som var mera vanligt förekommande och till höger (B) grundämnena som fanns i en mindre omfattning (olika skalor på Y-axeln).

Toxisk effekt och luftkoncentrationer av partiklar vid enskilda mätstationer

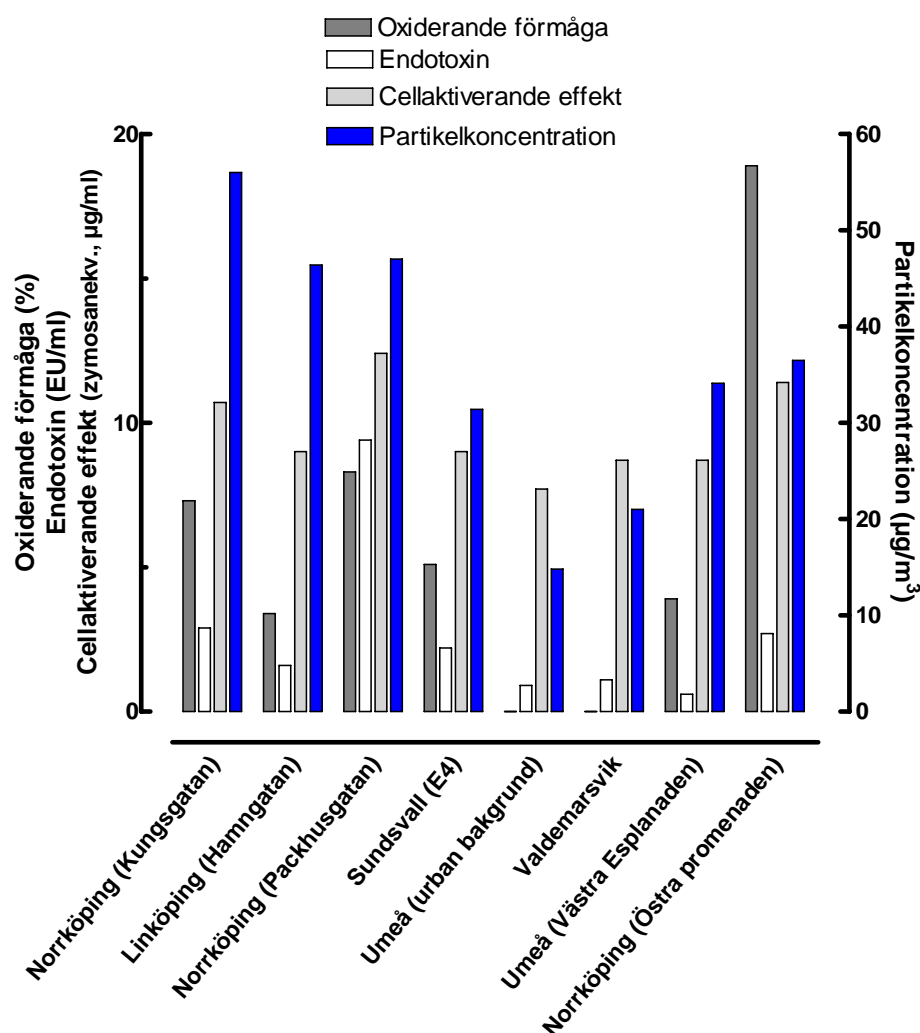
Figur 10 visar partiklarnas oxiderande förmåga, innehåll av endotoxin och den cellaktiverande effekten samt medelvärdet av luftkoncentrationerna av PM₁₀ för perioden.

Det högsta värdet för den oxiderande förmågan kunde konstateras för partiklar från Östra Promenaden i Norrköping medan ingen oxiderande förmåga kunde påvisas för partiklar samlade som urban bakgrund i Umeå eller för partiklar från Storgatan i Valdemarsvik.

Endotoxin påvisades i samtliga prov men högst halt fanns i partiklar från Packhusgatan i Norrköping medan nivåerna var lägst i de båda proven från Umeå och i provet från Valdemarsvik.

Också en cellaktiverande effekt fanns i samtliga prov och även här var partiklar från Packhusgatan i Norrköping de som uppvisade den största effekten medan partiklar från det urbana bakgrundsprovet som samlats i Umeå hade den lägsta effekten (38 % lägre jämfört med Packhusgatan). De högsta nivåerna av partiklar fanns under de aktuella månaderna vid Kungsgatan och Packhusgatan i Norrköping och på Hamngatan i Linköping och den lägsta nivån vid mätstationen belägen på Umeå stadsbiblioteks tak (14,8 µg/m³).

Det fanns alltså en stor variation mellan olika mätstationer avseende alla de olika undersökta variablerna. Partiklar från vissa mätstationer såsom exempelvis Packhusgatan i Norrköping visade på höga nivåer av alla tre markörerna för toxisk effekt och här registrerades även en hög partikelhalt under den aktuella tidsperioden mars och april 2010.



Figur 10. Partiklars oxiderande förmåga (mörkgrå stapel), innehåll av endotoxin (vit stapel) och den cellaktiverande effekten (ljusgrå stapel) från de 8 mätstationer samt lufthalterna av partiklar (blå stapel) på respektive plats under mars och april 2010.

Resultaten visas som medelvärde för två månader. Uppgifter om luftkoncentrationerna är hämtade från respektive kommun och i fallet för mätningen av den urbana bakgrunden i Umeå har informationen tillhandahållits av Karin Sjöberg vid IVL Svenska Miljöinstitutet.

Diskussion

Sammantaget visar studien att det går att samordna en insamling av TEOM-filtrer från ett stort antal mätstationer runt om i Sverige. I kommunal regi pågår 365 dagar om året en samling av respirabla partiklar (PM_{10}) och filter med dessa partiklar kastas normalt i samband med filterbyte som sker i slutet på varje månad. I detta pilotprojekt har personal vid 10 kommuner administrerat filterbyten men istället för att kasta filter med partiklar har dessa regelbundet skickats till Arbets- och miljömedicinska laboratoriet i Linköping. Väl på laboratoriet har de tagits omhand och frysts i väntan på extraktion av partiklar och analys med avseende på olika potentiella toxiska egenskaper. Inom ramen för projektet har protokoll för hur provhantering, extraktion och analys kan ske tagits fram och metoder för att bestämma partiklarnas metall-/grundämnesinnehåll, ytreaktivitet (oxidativ förmåga), innehåll av endotoxin och en metod för bestämning av den cellaktiverande effekten har använts. Analyserna visade att det för flera av de mätta variablerna fanns en betydande årstidsvariation och att det även fanns skillnader med avseende på toxisk effekt hos partiklar från olika mätstationer som samlats under samma tidsperiod (mars-april 2010).

Årstidsvariation i Norrköping och Sundsvall

Vid Östra Promenaden i Norrköping och vid E4 i Sundsvall fanns en årstidsvariation och en samstämmighet mellan 2009 och 2010 med avseende på den invägda massan partiklar på filtren. Det fanns även en samstämmighet mellan invägd massa och de faktiska uppmätta luftkoncentrationerna av partiklar och detta gällde både för Norrköping och Sundsvall. Luftkoncentrationerna var vid båda mätstationerna låga under vintermånaderna och ökade sedan och nådde en topp under april månad för att sedan minska och åter ligga lågt igen under sommar och höst (Figur 2). Denna årstidsbundna variation i partikelkoncentration stämmer in i det mönster som normalt brukar finnas i svenska tätorter.

Det är inte helt klart varför den oxidativa förmågan var högst under januari och februari och varför den sedan minskade under våren för att därefter öka igen under sommaren. Denna trend konstaterades särskilt för partiklar från Östra Promenaden i Norrköping men kunde även ses i Sundsvallsproverna (Figur 3). En signifikant minskning av den oxidativa förmågan under perioden februari – april kunde också påvisas då partiklar från samtliga 10 mätstationer analyserades (Figur 7 B). En tänkbar orsak skulle kunna vara att de slitagepartiklar som bildas från vägbanan och som blir luftburna och samlas under januari och februari är mer nybildade och därmed också har en mer reaktiv yta som effektivare kan bilda oxidanter som oxiderar glutation i den experimentella modellen. Partiklarna som samlats under våren är i stor omfattning äldre partiklar som legat ackumulerade på vägbanan och som blir luftburna när denna torkar. Jämfört med ”vinterpartiklar” är alltså ”vårpartiklar” äldre och deras yta mindre reaktiv. Normalt rengörs gatorna under april och de partiklar som ackumulerats under vintern avlägsnas då i så stor omfattning som möjligt. Det är troligt att de partiklar som blir luftburna efter vårstädningen åter igen blir mer ”nybildade” och att partiklar på sensvåren och ”sommarpartiklar” därför också får en mer reaktiv yta. Det är dock troligt att det finns skillnader mellan ”vinterpartiklar” och partiklar från sensvåren och ”sommarpartiklar” och detta bland annat på grund av att dubbdäck inte förekommer under maj och senare på sommaren. Det är oklart varför man under sommaren kunde se en större ökning av oxiderande förmåga hos partiklar från Östra Promenaden i Norrköping. En faktor som skiljer mellan de två platserna är att det vid E4 i Sundsvall förekommer en betydande del tung trafik medan en sådan inte alls förekommer på Östra Promenaden där denna är omdirigerad.

Till skillnad från den oxidativa förmågan ökade partiklarnas innehåll av endotoxin under våren och nådde en topp på sommaren (Figur 4). Detta gällde både i Norrköping och Sundsvall. En trolig anledning till detta är att andelen partiklar med organiskt innehåll ökar under året i takt

med att temperatur, luftfuktighet och vegetation ökar. Endotoxin som kan binda in till ytan av partiklar (Brooks *et al* 2002, Cho *et al* 2002) har även i andra tidigare studier visats förekomma i högre halter på partiklar som samlats på vår och sommar jämfört med partiklar som samlats på vintern (Carty *et al* 2003). I likhet med innehållet av endotoxin ökade även den cellaktiverande effekten under våren för att nå en topp under sommaren. Detta gäller både i prov från Östra Promenaden i Norrköping och från E4 i Sundsvall (Figur 5). Att bildningen av inflammationsframkallande cytokiner är högre då celler stimulerats med partiklar samlade på vår och sommar har även visats i andra studier (Salonen *et al* 2004). En cellaktiverande effekt kan i ett ”*in vitro* pyrogen test” bero på att blodets leukocyter reagerar på själva partikeln i sig (yta/form) eller att de blir aktiverade av endotoxin eller andra cellaktiverande komponenter som bundit till partikelns yta. De senare skulle då kunna vara toxiska ämnen från bakterier annat än endotoxin (Henderson *et al* 1996), β -glucaner från mögelsvampmembran (Brown *et al* 2001), svampsporer (Tran *et al* 2003) och virus (Bowie *et al* 2005) och dessa ämnen skulle då kunna bidra till partiklarnas pyrogena och cellaktiverande effekt. I vår studie av TEOM-partiklar fanns en signifikant positiv korrelation mellan förekomst av endotoxin och den cellaktiverande effekten (Figur 6) och det är därför troligt att endotoxin på partiklarnas yta till en del har bidragit till den cellaktiverande effekten. Det är dock också möjligt att andra ”*in vitro* pyrogena” ämnen eller att morfologiska skillnader mellan olika partiklar kan ha spelat en roll. En observation var att den årstidsbundna variationen i cellaktiverande effekt var betydligt större i Sundsvall än vid Östra Promenaden i Norrköping. I Norrköping var värdena dubbelt så höga under januari och februari medan värdena på sommaren var mer lika de i Sundsvall. Anledningen till detta är oklar men man kan spekulera i om skillnader i temperatur och därmed förekomst av mikrobiella komponenter har haft betydelse. [*I januari och februari var den genomsnittliga temperaturen endast något lägre i Sundsvall; - 5,6 och -10,1 °C jämfört med -1,5 och -6,3 °C i Norrköping under 2009 respektive 2010, uppgifter från www.temperatur.nu]. Vidare är det oklart om skillnader i resultat mellan de två provplatserna på något sätt kan ha berott på; *i*) den typ av fordon som passerat mätstationerna (mer tung trafik på E4 i Sundsvall vs. obefintlig på Östra Promenaden), *ii*) olikheter i halkbekämpning under vintermånaderna och/eller *iii*) närheten till park eller verksamheter som skulle kunna öka bidraget av endotoxin.*

Toxisk effekt hos partiklar som samlats vid 8 mätstationer under mars och april 2010

För partiklar från de 8 mätstationerna som undersöktes i mars och april 2010 fanns olikheter i såväl metall/grundämnesinnehåll, oxidativ förmåga, endotoxin och cellaktiverande effekt.

Metallanalysen visade att partiklar från Kungsgatan i Norrköping hade de högsta blynivåerna. Anledningen till detta var att partiklar från april hade cirka fyra gånger högre halt än vad som normalt kunde konstateras i andra prov. Vad som ligger bakom det höga aprilvärdet på Kungsgatan är oklart. Med mindre variationer kunde krom, nickel och järn konstateras i partiklar från alla 8 mätstationer. Med PIXE-metodik kunde ett stort antal grundämnen identifieras i partiklarna. Några större olikheter förekom inte när partiklar från de 8 mätstationerna från mars och april 2010 jämfördes (Figur 9). Kisel och järn var de dominerande grundämnena i samtliga prover. För prov från Östra promenaden i Norrköping och E4 i Sundsvall var det svårt att urskilja någon tidsberoende enhetlig trend när det gällde mängderna av olika grundämnen eller förhållandet mellan olika grundämnen (årstidsvariation, redovisas ej).

I prov från Valdemarsvik och i det urbana bakgrundsprovet från Umeå kunde ingen oxiderande förmåga konstateras. Dessa båda mätstationer skiljer sig mot de övriga på grund av att trafiken i Valdemarsvik endast var 4300 fordon per dygn och att den skyltade hastigheten var 30 km/timma. Detta visade sig också i att man här hade en lägre koncentration av partiklar i luften än vid de andra mätstationerna som var placerade i gatunivå. Frånvaron av oxiderande förmåga i prov från Umeå Stadsbiblioteks tak skulle kunna bero på att partiklarna där hade samlats på cirka 18 meters höjd och att andelen nybildade mineralpartiklar från vägbanan här kan ha varit

mindre jämfört med vad som varit fallet för prov som samlats i gatunivån. I vår undersökning hade partiklar som samlats i gatuplanet mer än 3,6 gångers högre oxidativ förmåga än urbana bakgrundspartiklar och ett liknande förhållande har nyligen visats i en holländsk studie (Boogaard *et al* 2012). Generellt kan det också ha varit så att partiklar samlade i Umeå under den aktuella perioden har haft en lägre oxiderande förmåga och det andra provet från Umeå (Västra Esplanaden) som var samlat samtidigt men i gatunivå hade endast en oxiderande förmåga på 3,9 % vilket kan jämföras med den hos partiklar från Östra Promenaden i Norrköping som hade det högsta värdet på 18,9 % (Figur 10).

En förekomst av endotoxin fanns i mer eller mindre stor omfattning i alla prov men även här fanns de lägsta halterna i prov från Valdemarsvik samt på partiklar från det urbana bakgrundsprovet i Umeå och från Västra Esplanaden i Umeå. Vid Västra Esplanaden fanns en omfattande trafik men en anledning till det låga värdet skulle kunna vara att medeltemperaturen var lägre i mars och april (-0,5 °C, uppgifter från www.temperatur.nu) och att denna bidragit till att partiklarnas innehåll av biologiskt material varit lägre än vad som har varit fallet i prov från mera sydligt belägna mätstationer. Skillnader fanns även när det gäller den cellaktiverande effekten. De partiklar som hade den största effekten kom alla från Norrköping. Den mätstation som hade partiklar med lägst cellaktiverande effekt var den som samlat urban bakgrund i Umeå som hade 38 % lägre effekt än partiklar från Packhusgatan i Norrköping som hade den högsta cellaktiverande effekten (Figur 10).

Är partiklar samlade under vissa årstider eller på vissa platser mer toxiska?

Under året når partikelhalterna i luften en topp på våren och normalt finns de högsta lufthalterna under mars och april. I nordligare län eller om våren infaller sent kan toppen fördröjas och infalla under maj men när den infaller och hur höga partikelhalterna blir beror också på de rutiner som lokalt finns för rengöring av gator och vilken typ av halkbekämpning som använts under vintern. När det gäller TEOM-partiklarnas oxiderande förmåga visade sig den vara lägre i prover insamlade i mars, april och maj än vad som var fallet för prover som samlats i januari och februari eller i prov från sommaren och detta gällde både partiklar från Norrköping och Sundsvall (Figur 3). Samma trend kunde också konstateras i prov som samlats under perioden februari och april 2009 och 2010 på alla mätstationer och här kunde en ökning av massan per filter följas av en minskning av den oxiderande förmågan (Figur 7 B). För partiklar från Östra Promenaden i Norrköping och från E4 i Sundsvall nådde nivåerna av endotoxin och den cellaktiverande effekten en topp på sommaren och alltså inte under perioden mars-maj då luftnivåerna av partiklar var som högst (Figur 4 och 5).

Man kan spekulera i om detta har någon betydelse ur hälsosynpunkt. Människor vistas mera utomhus sommartid och blir då också exponerade för partiklar och andra luftföroreningar i en större omfattning än på vintern. Sådana andra luftföroreningar kan också potentiellt negativa hälsoeffekter av en partikelexponering och ett exempel är ozon som kan förekomma i förhöjda halter på senvåren och sommaren och det kan inte uteslutas att marknära ozon skulle kunna förstärka uppkomsten av partikelinducerade hälsoproblem hos känsliga individer. Resultaten i denna studie visar att ”vårpartiklar” generellt hade mindre toxiska egenskaper än partiklar från vinter eller sommar. Tänkbart är att ”vårpartiklar” som är de som finns i högst halt i luften kan vara mindre hälsofarliga än ”vinterpartiklar” och ”sommarpartiklar”. Dessa båda senare finns i lägre halter i luften men vi kunde konstatera att de per massenhet båda hade en högre oxidativ förmåga och för ”sommarpartiklarna” också ett högre innehåll av endotoxin samt en högre cellaktiverande förmåga. De resultat som framkommer i denna förhållandevis begränsade studie av TEOM-partiklar tillåter inte att man kan dra några klara slutsatser om direkt hälsorisker men ger ändå en del indikationer och visar på att partiklarna skiljer sig såväl med avseende på kemiskt innehåll, ytreaktivitet och biologisk effekt. Att exempelvis ”sommarpartiklar” skulle vara mer skadliga än ”vårpartiklar” är endast en hypotes och måste utredas mera i detalj i en utvidgad studie. Även andra forskargrupper har intresserat

sig för frågan och exempelvis har man i en holländsk studie visat att dödligheten som kopplades till en exponering för luftföroreningar av typen sulfat och nitrat i aerosolform och kolstoff (black smoke) men även PM₁₀ var större på sommaren än på vintern (Hoek *et al* 2000).

Vid de olika mätstationerna fanns det alltså under mars och april 2010 en betydande variation både med avseende på de variabler som mättes för att få en uppfattning om partiklarnas toxiska egenskaper och den faktiska halten partiklar i luften (Figur 10). Här kan man också urskilja platser där både markörer för den potentiella toxiska effekten och partikelhalten är hög vilket antyder att luftkvaliteten där och vid denna tidpunkt var sämre. Man kan spekulera i vad detta har för betydelse ur hälsosynpunkt men det är sannolikt att det är mer ohälsosamt att andas luften på de platser där man både kan konstatera höga halter av partiklar och där partiklarna också i laboratorieförsök visat sig ha mera toxiska egenskaper.

Begränsningar och möjliga felkällor

Ett begränsat antal filter är analyserade – I varje TEOM-instrument sitter ett filter som bytts månadsvis och det har därför endast funnits ett filter per månad att tillgå då partiklar skulle extraheras. Om fler prov hade funnits skulle detta sannolikt ha medfört att en mindre variation vid mätningarna kunnat fås. I TEOM-instrument används mindre än en femtedel av den luft som sugs in för själva koncentrationsbestämningen (och partikelinsamlingen) och fler prover skulle kunna samlas vid varje TEOM-station om man utnyttjade överskottsluften. Här finns alltså en möjlighet till ett bättre utnyttjande och även möjlighet att kunna styra insamlingen så att man endast samlar partiklar vid vissa bestämda tider under dygnet och då exempelvis vid den tid då flest människor vistas utomhus och kan bli exponerade.

Ingen morfologisk karaktärisering av partiklarna har gjorts - Även om partiklarna kom från filter som suttit monterade i samma typ av TEOM-instrumenten som alla samlat partiklar med en diameter under 10 µm (PM₁₀) så går det inte att utesluta att det skulle kunna finnas en mindre årstidsberoende variation med avseende på partiklarnas medelstorlek. Denna skulle i så fall kunnat bero på olikheter i bildning och ursprung och om vissa prov innehållit en större andel mindre partiklar skulle detta ha inneburit att fler partiklar per massenhet funnits i den extraherade lösningen. Det är oklart hur stor betydelse som detta i så fall kunnat haft exempelvis vid bestämningen av den cellaktiverande effekten.

Risk för kontamination av filter - Ett skifte av filter gjordes varje månad och då byttes det gamla filtret mot ett nytt. Även om personalen som utförde bytet hade exakta instruktioner för hur filterbytet skulle ske och att det var viktigt att filtret inte berördes kan det inte uteslutas att något filter kan ha blivit kontaminerat av exempelvis endotoxin i samband med att det hanterades i fält.

Effekter kopplade till insamling eller hantering av partiklarna - Det finns ingen ideal provtagningsmetodik där man efter provinsamling kommer att kunna studera exakt samma partiklar som funnits i luften och som andats in av människor. Små förändringar kan ske beroende på insamlingsmetodik, förändringar av partiklarna över tid samt extraktionsförfarande eller andra faktorer som kan kopplas till hanteringen av proven på laboratoriet. För att få en korrekt massbestämning i TEOM-instrumenten torkas den inkommande luften i ett rör som har en temperatur på 50 °C innan partiklarna når filtret. Även själva filtret är placerat i en kammare där temperaturen konstant är 50 °C. Om lättflyktiga ämnen funnits på partiklarna och i så fall om dessa kan ha försvunnit vid torkningen samt om detta kan ha påverkat resultatet av de studerade toxiska effekterna är oklart. Ämnen av typen polyaromatiska kolväten har så hög kokpunkt att det är osannolikt att dessa skulle ha försvunnit om de funnits på partiklarnas yta vid den rådande temperaturen.

Slutsats

Studien har visat att det går att göra en insamling av TEOM-filtrer från ett stort antal mätstationer i Sverige. Istället för att slänga filter med partiklar har personalen på kommunerna varje månad skickat dessa för analys. Partiklarna har sedan extraherats från filtren innan de analyserats med avseende på egenskaper som skulle kunna vara negativa ur hälsosynpunkt. Vid sidan av det som analyserades i denna studie skulle man även kunna utföra andra analyser som ger kompletterande information om partiklarna. Detta skulle då exempelvis kunna röra sig om skillnader i morfologiska egenskaper eller bestämning av polyaromatiska kolväten eller andra toxiska hydrofoba föreningar men kanske särskilt hur partiklarna interagerar med och aktiverar eller skadar levande celler. Det senare framför allt för att bättre förstå vilka egenskaper hos en partikel som är de viktigaste och som mest bidrar till att den skulle kunna utgöra en hälsorisk.

Vid studier av partiklar från TEOM-filtrer får man en uppfattning om innehållet av ämnen och partikelegenskaper per massenhet partiklar (eller per partikel) och kan bilda sig en uppfattning om variationer under året och på olika platser. TEOM-instrumentens primära uppgift är att registrera halten partiklar i luften och om man kombinerar detta med information om cellpåverkande och toxiska egenskaper hos partiklarna skulle man kunna få en bättre uppfattning om den potentiella risken att andas luften på en viss plats. Det finns idag inte tillräcklig kunskap för att direkt kunna koppla partiklars innehåll av ett visst ämne eller deras ytreaktiva eller cellaktiverande förmåga till ett hälsoutfall och en sjukdomsrisk. Däremot är det sannolikt så att partiklar som vid olika laborietester visar sig ha egenskaper som kan kopplas till negativa hälsoeffekter också skulle öka riskerna för ohälsa hos känsliga individer som andas luft med höga koncentrationer av just dessa partiklar.

TEOM-instrument finns idag på mer än 20 platser i landet och instrumenten har i slutet av varje månad ett filter med ett för platsen aktuellt och unikt ”partikelavtryck”. Insamlingen av filtren kan göras nationellt fortlöpande under hela året och är inte förenat med några stora kostnader. De resultat som framkommit efter analys av TEOM-partiklar i denna pilotstudie tillåter inte att man drar långtgående slutsatser när det gäller direkta hälsorisker som orsakats av att vissa partiklar andats in på någon speciell plats eller vid någon särskild tidpunkt under året. Däremot kan man konstatera att metodiken går att använda och att det finns en stor variation med avseende på partiklarnas sammansättning, reaktivitet och på förmåga att aktivera humana celler till bildning av inflammationsmedierande ämnen. Att sådana skillnader finns och att metodiken tillför ny information som inte varit tillgänglig tidigare gör att den därför kan vara användbar i program för miljöövervakning av luftburna och inhalerbara partiklar i svenska tätorter. Vilka egenskaper hos partiklarna som har störst betydelse ur ohälsosynpunkt är inte klarlagt och även andra kompletterande ämnen, egenskaper och biologiska effekter skulle kunna analyseras för att få en bättre förståelse av skillnader och potentiella risker vid exponering. Hur variationen ser ut över en period på flera år är oklart men om partiklar samlas kontinuerligt finns en möjlighet att urskilja trender eller se om partiklar från samma mätstation regelbundet samlar partiklar av en mera toxisk karaktär. I så fall kunde också en utvidgning göras och mer bakgrundsinformation om väderförhållanden, kommunernas rutiner för renhållning av gator, information om intilliggande potentiellt förorenande verksamheter mm skulle kunna samlas för att få ett bättre underlag vid utvärdering av orsaker till skillnader med avseende på partiklarnas toxiska egenskaper.

Tack

Ett stort tack till de personer som administrerat filterbyten vid TEOM-stationerna och ombesörjt att filter sedan regelbundet skickats för analys.

Detta projekt har kunnat genomföras tack vare ekonomiskt stöd från Naturvårdsverkets programområde för hälsorelaterad miljöövervakning (HÄMI) - delprogram "Exponering via luft".

Referenser

- Boogaard H *et al.* [Contrasts in oxidative potential and other particulate matter characteristics collected near major streets and background locations](#). *Environ Health Perspect* 120; 185-91: 2012.
- Bowie A G and Haga I R. The role of Toll-like receptors in the host response to viruses *Mol. Immunol* 42; 859-867: 2005.
- Brooks R A, Wimhurs J A and Rushton N. Endotoxin contamination of particles produces misleading inflammatory cytokine responses from macrophages in vitro *J. Bone Joint Surg* 84 291-295: 2002.
- Brown G D and Gordon S. Immune recognition. A new receptor for beta-glucans. *Nature* 413 36-37: 2001.
- Cahill TA, "Ion-Excited X-Ray Analysis of Environmental Samples", in *New Uses of Ion Accelerators*, edited by J.F. Ziegler, New York: Plenum Press, 1975, pp. 1-71.
- Carty C L, Gehring U, Cyrus J, Bischof W and Heinrich J. Seasonal variability of endotoxin in ambient fine particulate matter. *J Environ Monit* 5; 953-958: 2003.
- Cereser C, Guichard J, Draï J, Bannier E, Garcia I, Boget S, Parvaz P, Revol A. Quantitation of reduced and total glutathione at the femtomole level by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: application to red blood cells and cultured fibroblasts. *J Chrom (B)* 752; 123-32: 2001.
- Cho D R, Shanbhag A S, Hong C Y, Baran G R and Goldring A R. The role of adsorbed endotoxin in particle-induced stimulation of cytokine release. *J Orthop Res* 20; 704-713: 2002.
- Forsberg *et al.* Comparative Health Impact Assessment of Local and Regional Particulate Air Pollutants in Scandinavia. *Ambio* 34; 11-19: 2005.
- Gauderman *et al.* The effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age. *New Eng J Med* 351; 1057-1067: 2004.
- Gustafsson M, Blomqvist G, Gudmundsson A, Dahl A, Swietlicki E, Bohgard M, Lindbom J, Ljungman A. Properties and toxicological effects of particles from the interaction between tyres, road pavement and winter traction material. *Sci Tot Envir* 393; 226-240: 2008.
- Henderson B and Wilson M. Cytokine induction by bacteria: beyond lipopolysaccharide *Cytokine* 8; 269-282: 1996.
- Hoek G, Brunekreef B, Verhoeff A, van Wijnen J, Fischer P. Daily mortality and air pollution in The Netherlands. *J Air Waste Manag Assoc* 50; 1380-1389: 2000.
- Jayawardena U, Tollemark L, Tagesson C, Leanderson P. [Pyrogenic effect of respirable road dust particles](#). *Journal of Physics: Conference Series* 151, 2009. IOP Publishing, doi:10.1088/1742-6596/151/1/012015.
- Johansson GI, Pallon J, Malmqvist KG, Akselsson KR. Calibration and long-term stability of a PIXE set-up. *Nucl Instr Meth* 181; 81-88: 1981.

Karlsson H, Lindbom J, Ghafouri B, Lindahl M, Tagesson C, Gustafsson M, Ljungman A. Wear particles from studded tires and granite pavement induce pro-inflammatory alterations in human monocyte-derived macrophages: a proteomic study. *Chem Res Tox* 24; 45-53: 2011.

Liebers V, Raulf-Heimsoth M, Brüning T. [Health effects due to endotoxin inhalation \(review\)](#) *Arch Tox* 82; 203-210: 2008.

Lindbom J, Gustafsson M, Blomqvist G, Dahl A, Gudmundsson A, Swietlicki E, Ljungman A.G. Wear particles generated from studded tires and pavement induces inflammatory reactions in mouse macrophage cells. *Chem Res Toxicol* 20; 937-946: 2007.

Lindbom J, Gustafsson M, Blomqvist G, Dahl A, Gudmundsson A, Swietlicki E, Ljungman A.G. Exposure to wear particles generated from studded tires and pavement induces inflammatory cytokine release from human macrophages. *Chem Res Toxicol* 19; 521-530: 2006.

Maier KL *et al.* Health effects of ambient particulate matter-biological mechanisms and inflammatory responses to in vitro and in vivo particle exposures. *Inhal tox* 20; 319-337: 2008.

Norrköpings Kommun, [Mätning partiklar \(PM10\) Östra Promenaden, 1 januari – 31 december 2009](#), BMK Rapport Luft 2010:2, Norrköpings Kommun 2010.

Norrköpings Kommun, [Mätning partiklar \(PM10\) Östra Promenaden, 1 jan 2010 – 31 dec 2010](#), BMK Rapport Luft 2011:1, Norrköpings Kommun 2011.

O'Connor GT *et al.* Acute respiratory health effects of air pollution on children with asthma in US inner cities. *J Allergy Clin Immunol* 121; 1133-1139: 2008.

Ristovski ZD, Miljevic B, Surawski NC, Morawska L, Fong KM, Goh F, Yang IA. Respiratory health effects of diesel particulate matter. *Respirology* 17; 201-12: 2012.

Salonen R O, Hälinen A I, Pennanen A S, Hirvonen M R, Sillanpää M, Hillamo R, Tingming S, Borm P, Sandell E, Koskentalo T, Aarnio P. [Chemical and in vitro toxicological characterization of wintertime and springtime urban-air particles with an aerodynamic diameter below 10 µm in Helsinki](#). *Scand J Work Envir Health* 30; 80-90: 2004.

Steenhof M *et al.* [In vitro toxicity of particulate matter \(PM\) collected at different sites in the Netherlands is associated with PM composition, size fraction and oxidative potential--the RAPTES project](#). *Part Fibre Toxicol* 8; 26: 2011.

Sugiri D *et al.* The influence of large-scale airborne particle decline and traffic-related exposure on children's lung function. *Envir Health Persp* 114; 282-288: 2006.

Thorpe A, Harrison RM. Sources and properties of non-exhaust particulate matter from road traffic: A review. *Sci Total Envir* 400; 270-282: 2008.

Tran P, Ahmad R, Xu J, Ahmad A and Menezes J. Host's innate immune response to fungal and bacterial agents *in vitro*: up-regulation of interleukin-15 gene expression resulting in enhanced natural killer cell activity. *Immunology* 109; 263-270: 2003.