



UNIVERSITAT  
JAUME I

## TESIS DOCTORAL

**Evaluación del riesgo toxicológico para la salud y el medio ambiente en la fabricación y uso de nanomateriales**

**Autor:** D. Francisco Aznar Mollá

**Director Tesis Doctoral:** Dr. José Antonio Heredia Álvaro

**Fecha:** junio de 2023



**Programa de Doctorado en Química Sostenible**  
**Escuela de Doctorado de la Universidad Jaume I**

**Evaluación del riesgo toxicológico para la salud y el medio ambiente en la fabricación y uso de nanomateriales**

Memoria presentada por D. Francisco Aznar Mollá para optar al grado de doctor por la Universidad Jaume I



**D. Francisco Aznar Mollá**

**Doctorando**

**Dr. José Antonio Heredia Álvaro**

**Director**

Castelló de la Plana, junio 2023

## AGRADECIMIENTOS:

UJI. Departamento de Ingeniería de Sistemas Industriales y diseño, vinculado a la cátedra de industria 4.0 de la Universidad. Universitat Jaume I de Castellón.

UJI. Departamento de Química Inorgánica y Orgánica. Universitat Jaume I de Castellón

ITENE. Instituto Tecnológico del embalaje, transporte y logística Parque Tecnológico C/ Albert Einstein, 1. 46980 PATERNA · VALENCIA

Coordinación y Control Ingenieros. C/ Dr. Sanchis Sivera 21 46008 Valencia

## FINANCIACIÓN RECIBIDA:

Solo el Proyecto NanoSerpA ha sido subvencionado dentro del programa INNOVACIÓN DE PYME EN TEICS (INNOVATEiC-CV) del Instituto Valenciano de Competitividad Empresarial (IVACE) de la Generalitat Valenciana y con la cofinanciación de la Unión Europea a través del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)



## LICENCIA CREATIVE COMMONS (CC) PARA TESIS:

<https://blogs.uji.es/bibliotecauji/difusio-de-les-tesis-doctorals-uji/>



# TESIS DOCTORAL POR COMPENDIO DE PUBLICACIONES

## Evaluación del riesgo toxicológico para la salud y el medio ambiente en la fabricación y uso de nanomateriales

**Autor:** D. Francisco Aznar Mollá

**Director Tesis Doctoral:** Dr. José Antonio Heredia Álvaro

- **Artículo (1)**

Aznar-Mollá, F., Fito-López, C., Alvaro, J.A.H.

**Insights into the potential effects of released engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: environmental issues and future activities for risk assessment and management. J Nanopart Res 23, 84 (2021).**

<https://doi.org/10.1007/s11051-021-05165-w>

*“Información sobre los efectos potenciales de los nanomateriales de ingeniería liberados a partir de nanocompuestos de polímeros: problemas ambientales y actividades futuras para la evaluación y gestión de riesgos”.*

- **Revista:** "Journal of Nanoparticle Research" Springer (09-02-2021)
- **Factor de impacto del año 2021:** 2.736 según Journal Citation Reports (JCR) del Web of Science
- **Categorización de la revista o clasificación de la editorial:** la revista está indexada en varias bases de datos y sistemas de clasificación, incluyendo Scopus y el Science Citation Index Expanded (parte de la Web of Science). En el sistema de clasificación de Scopus, la revista se encuentra en la categoría "Materials Science: Multidisciplinary", mientras que en el sistema de clasificación de Web of Science se encuentra en la categoría "Nanoscience & Nanotechnology" y "Materials Science: Multidisciplinary".

- **Artículo (2)**

Aznar Mollá F, Fito-López C, Heredia Alvaro JA, Huertas-López F.

**New Tools to Support the Risk Assessment Process of Nanomaterials in the Insurance Sector. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021; 18(13):6985**

<https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>

*“Nuevas herramientas para apoyar el proceso de evaluación de riesgos de los nanomateriales en el sector asegurador”*

- **Revista:** "International Journal of Environmental Research and Public Health" MDPI (29-06-2021)
- **Factor de impacto 2021:** 3.391 según Journal Citation Reports (JCR) del Web of Science
- **Categorización de la revista o clasificación de la editorial:** la revista está indexada en varias bases de datos y sistemas de clasificación, incluyendo Scopus y el Science Citation Index Expanded (parte de la Web of Science). En el sistema de clasificación de Scopus, la revista se encuentra en la categoría "Environmental Science (miscellaneous)" y en el sistema de clasificación de Web of Science se encuentra en la categoría "Public, Environmental & Occupational Health" y "Environmental Sciences".

- **Artículo (3)**

Aznar Mollá F, Heredia Alvaro JA, Sánchez OA, Fito-López C, Colmenar González I. **Nanosafety Analysis of Graphene-Based Polyester Resin Composites on a Life Cycle Perspective. *Nanomaterials*. 2022; 12(12):2036.**

<https://doi.org/10.3390/nano12122036>

*“Análisis de nanoseguridad de compuestos de resina de poliéster a base de grafeno en una perspectiva de ciclo de vida”*

- **Revista:** "Nanomaterials" MDPI (14-06-2022)
- **Factor de impacto 2022:** 4.907 según Journal Citation Reports (JCR) del Web of Science
- **Categorización de la revista o clasificación de la editorial:** la revista está indexada en varias bases de datos y sistemas de clasificación, incluyendo Scopus y el Science Citation Index Expanded (parte de la Web of Science). En el sistema de clasificación de Scopus, la revista se encuentra en la categoría "Materials Science (miscellaneous)" y en el sistema de clasificación de Web of Science se encuentra en la categoría "Nanoscience & Nanotechnology" y "Materials Science, Multidisciplinary"

**Esta tesis dispone de la aceptación de los coautores de las publicaciones que el doctorando presenta como tesis y su renuncia expresa a presentarlas como parte de otra tesis doctoral**

# CONTENIDO

CONTENIDO.....	7
LISTA DE TABLAS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
GLOSARIO DE TÉRMINOS .....	12
<b>A. ACRONIMOS – NOMENCLÁTOR - SIGLAS .....</b>	<b>12</b>
<b>B. DIRECCIONES Web-ACRONIMOS - NOMENCLATOR – SIGLAS.....</b>	<b>24</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>27</b>
<b>1 RESUMEN DEL ESTADO DEL ARTE .....</b>	<b>29</b>
1.1 Legislación y normativas .....	35
<b>2 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>39</b>
2.1 Ensayos de laboratorio.....	41
2.1.1 Elegir el nanomaterial .....	42
2.1.2 Ensayos de Ecotoxicidad .....	50
<b>3 RESULTADOS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS .....</b>	<b>59</b>
<b>4 CONCLUSIONES DE EXPOSICIÓN Y ANÁLISIS TOXICOLÓGICO .....</b>	<b>61</b>
<b>5 DESARROLLO DE LA APLICACIÓN INFORMÁTICA APP.....</b>	<b>65</b>
5.1 Estado de la técnica.....	65
5.2 Empresas fabricantes y usuarias de nanomateriales .....	70
5.3 Proceso de diseño y desarrollo.....	70
5.4 Identificar el problema y motivación.....	72
5.5 Resultados de la encuesta.....	74
5.6 Definir los objetivos de la solución .....	84
5.6.1 Requerimientos de diseño .....	88
5.7 DESARROLLO DEL DISEÑO.....	91
5.7.1 Diseño del modelo de datos.....	92
5.7.2 Selección de los lenguajes de programación .....	93
5.7.3 Diseño de la arquitectura del sistema.....	94
5.7.4 Diseño y desarrollo del interfaz con el usuario .....	96
5.7.5 Diseño y desarrollo de la base de datos de nanomateriales.....	114
5.7.6 Fuentes de datos .....	116
5.7.7 Calidad de los datos. ....	118
5.7.8 Contenido de la base de datos.....	119
5.7.9 Identificación de escenarios.....	126
5.7.10 Medidas recomendadas.....	126

5.8	VALIDACIÓN DE LA APLICACIÓN APP .....	130
5.9	DEMOSTRACIÓN DEL USO DE LA APP .....	131
5.9.1	Ejemplo 2. Escape de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> del sistema de filtrado durante la síntesis .....	135
5.9.2	Ejemplo 3.- Fuga de nanopartículas de SiO <sub>2</sub> de un aspirador .....	138
5.9.3	Ejemplo 4.- Eventos accidentales– gran escala.....	140
5.10	EVALUACIÓN .....	143
5.10.1	Evaluación de la aplicación por parte de usuarios finales: .....	146
5.10.2	Resultados de la encuesta.....	146
5.11	COMUNICACIONES PROFESIONALES .....	153
5.12	POSIBLES FUTUROS DESARROLLOS .....	156
5.13	CONCLUSIONES DESARROLLO DE LA APP nanoSerpA.....	158
6	RESUMEN ARTÍCULOS PUBLICADOS .....	159
6.1	ARTÍCULO (1).....	159
6.2	ARTÍCULO (2).....	163
6.3	ARTÍCULO (3).....	166
7	CONCLUSIÓN FINAL.....	170
8	PUBLICACION ARTÍCULO (1).....	171
9	PUBLICACION ARTÍCULO (2).....	189
10	PUBLICACION ARTÍCULO (3).....	209
11	ANEXOS nanoSerpA.....	228
11.1	Anexo 1. MANUAL DEL USUARIO de la aplicación nanoSerpA.....	228
11.1.1	Pantalla Principal.....	228
11.1.2	Informes de Riesgo de NM's .....	229
11.1.3	Crear un Informe de Riesgos .....	230
11.1.4	Consultar / Exportar un Informe de Riesgos .....	234
11.1.5	Modificar un Informe de Riesgos / Introducir Conclusiones.....	235
11.1.6	Compartir un Informe de Riesgos. ....	236
11.1.7	Eliminar un Informe de Riesgos.....	237
11.1.8	Buscador de Propiedades de NM's .....	237
11.1.9	Mis Datos.....	241
11.2	ANEXO 2 DE LA APLICACIÓN NANOSERPA.....	242
11.2.1	Encuesta de Nanotecnología y grafeno.....	242
11.2.2	Anexo Cuestionario de intención de uso. ....	255
11.2.3	Cuestionario. Sección genérica. ....	259
11.2.4	Cuestionario. Sección de validación de la APP.....	262



12	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	264
13	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS UTILIZADAS .....	265
13.1	PROYECTOS DE NANOMATERIALES .....	265
13.2	REFERENCIAS EN EL CUERPO DE LA TESIS .....	265
13.3	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS UTILIZADAS EN LAS PUBLICACIONES REALIZADAS .....	271
13.3.1	ARTÍCULO 1 .....	271
13.3.2	ARTÍCULO 2 .....	276
13.3.3	ARTÍCULO 3 .....	281

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Test horas, temperatura y humedad.....	46
Tabla 2.	Características de pulverización de cada pintura .....	48
Tabla 3.	Organismos vivos y normas utilizadas en el proceso experimental de toxicidad .....	52
Tabla 4.	Rango de toxicidad de los nanocompuestos en los organismos vivos utilizados.....	59
Tabla 5.	Ecotoxicidad para las muestras analizadas como valores EC50 a las 24 y 48 horas. ....	60
Tabla 6.	Toxicidad medida. Valores CE50 a las 24 y 48 horas .....	60
Tabla 7.	Aplicaciones disponibles para la gerencia de riesgos y peritación.....	66
Tabla 8.	Métodos cualitativos actuales de apoyo para la evaluación del potencial de exposición de NMs .....	68
Tabla 9.	Matriz de coeficientes de transferencia.....	106
Tabla 10.	Matriz de cálculo del índice de riesgo en función del peligro sobre la salud y las emisiones .....	107
Tabla 11.	Descripción y ejemplos de las columnas de la base de datos nanoSerpA .....	123
Tabla 12.	Datos medidos durante el derrame de pintura conteniendo grafeno .....	133
Tabla 13.	Datos de nanomateriales afectados.....	134
Tabla 14.	Resultados de los nano polvos encontrados. Ejemplo 2 .....	135
Tabla 15.	Valores de la energía de manejo EHP durante un proceso. Ejemplo 2 .....	136
Tabla 16.	Concentración de partículas durante la síntesis de TiO <sub>2</sub> . Ejemplo 2 .....	136
Tabla 17.	Datos de nanomateriales afectados. Ejem. 2 .....	137
Tabla 18.	Datos de nanomateriales afectados. Ejem. 3 .....	139
Tabla 19.	Inputs introducidos en la APP para la valoración del riesgo de los eventos de media-gran escala.....	141
Tabla 20.	Situación en la red de la encuesta sobre la aplicación APP nanoSerpA.....	146

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Detalle esquemático de la metodología de laboratorio y de diseño del programa informático (APP) .....	40
Figura 2. Proceso de investigación experimental para los ensayos de laboratorio .....	41
Figura 3. Cámaras de envejecimiento utilizadas .....	45
Figura 4. 3 Izquierda: micronizador empleado para reducir el tamaño de polímeros y nanocompuestos. Centro: PET-ZnO micronizado. Derecha: micronizado nanocompuesto PLA+nanoarcilla .....	46
Figura 5. Banco de lijado para abrasión y recogida de partículas .....	47
Figura 6. Medidor partículas óptico OPS 3330 - Medidor de partículas de condensación CPC 3077 - Medidor de nanopartículas TSI 3910. ....	49
Figura 7. Alga verde <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , lombrices <i>Eisenia fetida</i> , <i>Daphnia magna</i> y	51
Figura 8. (Izquierda) Línea celular Caco-2. (Derecha) Micrografía de la línea celular A549 .....	52
Figura 9. Arriba: lombrices de tierra utilizadas en la prueba de mortalidad. Abajo: incubación de lombrices de tierra .....	57
Figura 10. Distribución de tamaño de partículas medidas durante el proceso de lijado. ....	58
Figura 11. Detalle de imágenes SEM incluyendo partículas recolectadas en filtros durante el proceso de abrasión. ....	58
Figura 12. Esquema de la metodología Design Science Research in information Systems .....	71
Figura 13. Distribución de sectores industriales .....	74
Figura 14. Tamaño de la empresa. ....	75
Figura 15. Usuarios.....	75
Figura 16. Usos y finalidades de los nanomateriales .....	76
Figura 17. Cantidad de nanomateriales almacenada en las empresas .....	76
Figura 18. Naturaleza de los nanomateriales.....	77
Figura 19. Tipos de nanomateriales .....	78
Figura 20. Exposición a los nanomateriales .....	79
Figura 21. Procesos que favorecen la exposición a los nanomateriales .....	80
Figura 22. Actividades con exposición a nanomateriales .....	80
Figura 23. Porcentaje de accidentes relacionados con los nanomateriales .....	81
Figura 24. Porcentaje de daños producidos al medio ambiente .....	82
Figura 25. Medidas de gestión del riesgo .....	83
Figura 26. Esquema conceptual del modelo de datos .....	92
Figura 27. Esquema de proceso workflow .....	94
Figura 28. Esquema de diseño conceptual y arquitectónico de la APP .....	95
Figura 29. Esquema básico de las diferentes secciones y utilidades de la aplicación en un primer nivel .....	96
Figura 30. Pantalla de bienvenida, menú principal e información complementaria .....	97
Figura 31. Buscador de propiedades de nanomateriales.....	100
Figura 32. Sistema de guiado de generación de informes de riesgos de nanomateriales.....	101
Figura 33. Esquema flujo de materia MFM.....	102
Figura 34. Ejemplo de uso de la aplicación nanoSerpA .....	103

Figura 35. Generación de informes de riesgo. De izquierda a derecha: Toma de datos de entrada; visualización de resultados; informe en formato pdf .....	108
Figura 36. Pantalla introducción de datos del técnico y pantalla de glosario de términos .....	109
Figura 37. Esquema de los parámetros a tener en cuenta en la implementación del software ...	119
Figura 38. Diseño y uso de la base de datos nanoSerpA.....	121
Figura 39. Captura de la base de datos NanoSerpA.....	122
Figura 40. Recomendaciones anexas al informe generado por la APP nanoSerpA v1.0 .....	129
Figura 41. Ejemplo 1.- Derrame de pintura con grafeno .....	132
Figura 42. Extracto del informe generado con la APP nanoSerpA v1.0 .....	134
Figura 43. Ejemplo Escape de TiO2 .....	135
Figura 44. Extracto del informe generado con la APP nanoSerpA v1.0. Ejem. 2 .....	137
Figura 45. Extracto del informe generado con la APP nanoSerpA v1.0 .....	140
Figura 46. Extracto del informe generado con la APP nanoSerpA para escenarios medio-gran escala.....	142
Figura 47. Aspecto de la evaluación de la APP.....	144
Figura 48. Resultados del sector al que pertenece .....	147
Figura 49. Resultado trabajo con nanomateriales .....	147
Figura 50. Utilización de la APP nanoSerpA .....	148
Figura 51. Trabajo con nanomateriales.....	148
Figura 52. Interés en la APP como herramienta para la investigación de siniestros .....	149
Figura 53. Interés en la APP para conocer propiedades de los nanomateriales.....	149
Figura 54. interés en la APP para gestión de riesgos .....	150
Figura 55. Interés en la APP para conocer en los aspectos regulatorios de los nanomateriales...	150
Figura 56. Interés en probar la APP nanoSerpA.....	151
Figura 57. Respuestas de los usuarios que han probado la APP.....	152
Figura 58. Mapa de producción mundial de nanomateriales .....	156
Figura 59. Necesidad de unos principios preventivos.....	157
Figura 60. nanoSerpA. Pantalla de bienvenida y menú principal .....	228
Figura 61. Informes de riesgo disponibles .....	229
Figura 62. Creación de un nuevo informe de riesgo .....	230
Figura 63. Parámetros de entrada-información general.....	231
Figura 64. Parámetros de entrada-información del siniestro .....	232
Figura 65. Parámetros de entrada – Información acerca de los nanomateriales.....	233
Figura 66. Resultados de un informe de riesgo.....	234
Figura 67. Adición de conclusiones .....	235
Figura 68. Compartir informe de riesgo (izq) y informe en formato pdf (der) .....	236
Figura 69. Eliminación de informe de riesgo.....	237
Figura 70. Buscador de nanomateriales.....	238
Figura 71. Ejemplo de búsqueda de un nanomaterial .....	239
Figura 72. Resultado de la búsqueda de propiedades de un nanomaterial .....	240
Figura 73. Visualización de los datos personales (izq) y edición (der) .....	241
Figura 74. Encuestas de nanotecnología y grafeno .....	242
Figura 75. Encuestas nanoSerpA.....	256
Figura 76. Encuesta nanoSerpA, genérica.....	259
Figura 77. Cuestionarios validación.....	262

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

### A. ACRONIMOS – NOMENCLÁTOR - SIGLAS

Palabras o Letras	Significado
<b>ADER</b>	Agencia de Desarrollo Económico de La Rioja
<b>ADITIVO</b>	Compuesto que se ha añadido intencionalmente con el fin de estabilizar la sustancia <sup>4</sup> .
<b>AgNP</b>	Nanopartículas de plata
<b>AIMPLAS</b>	Instituto Tecnológico del Plástico español perteneciente a la SGA
<b>AIRBUS</b>	Empresa multinacional perteneciente a la SGA, empresa aeronáutica
<b>AISE</b>	Asociación Internacional de Fabricantes de Jabones, Detergentes y Productos de Mantenimiento
<b>ALEACIÓN*</b>	Material metálico, homogéneo a escala macroscópica, formado por dos o más elementos combinados de manera que no se pueden separar fácilmente por medios mecánicos.
<b>ALEACIÓN**</b>	Las aleaciones están contempladas como mezclas especiales.
<b>ANTOLIN</b>	They are technological leaders of the automobile's interior
<b>APEX</b>	Zona de muestras del campo lejano
<b>ARTICULO*</b>	Objeto al que durante su fabricación se le da una forma, superficie o diseño concretos que determinan su función en mayor medida que lo hace su composición química.
<b>AVANZARE</b>	Develops and produces Flame-retardant and fire-resistant solutions consisting in non-halogenated and antimony oxide free compounds. They are specialized in the production of different bulk graphene/graphite nanoplatelets, industrial and lab grades.
<b>BET</b>	Modelo para calcular el área superficial
<b>Bioensayo Daphtoxkit F</b>	Test para ecotoxicidad según la 202 de la OCDE (OCDE, 2004) e ISO 6341 (UNE - EN ISO 6341, 2012)
<b>BJH</b>	Modelo para determinar la distribución de tamaño de los poros cuyo tamaño es superior a 20Å
<b>CAS</b>	Para facilitar la identificación de las sustancias se ha definido también el número CAS (Chemical Abstracts Service). Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP

Palabras o Letras	Significado
<b>CATÁLOGO CE</b>	Aunque no se encuentra legalmente definido en el Reglamento REACH, el catálogo CE está formado por el conjunto de tres listas europeas independientes y legalmente aprobadas de sustancias, procedentes del anterior marco normativo de productos químicos en la UE: el EINECS (Catálogo europeo de sustancias químicas comercializadas), la ELINCS (Lista europea de sustancias químicas notificadas) y la lista NLP (ex-polímeros). Las entradas del catálogo CE consisten en un nombre químico y un número (nombre CE y número CE), un número CAS, la fórmula molecular (si se conoce) y la descripción (para ciertos tipos de sustancias).
<b>CBP</b>	Código de Buenas Prácticas y describe la <b>información mínima que deben incluir las fichas de producto relativas al grafeno</b> en cualquiera de sus formas. Estos suponen un sello de calidad
<b>CDTI</b>	Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial - Subvenciones
<b>CE</b>	Comisión Europea
<b>CE, número</b>	El número CE es el identificador de sustancias en el catálogo CE.
<b>CE50</b>	La concentración efectiva media ( <b>CE50</b> ) es la concentración a la cual el 50% de los organismos presentan algún efecto ante la exposición de un compuesto
<b>CELLINE</b>	Línea celular utilizada (toxicología)
<b>CG</b>	Cromatografía de gases
<b>CL50</b>	Se conoce como CL <sub>50</sub> a una medida estándar de la toxicidad del medio circundante. La mitad de la muestra de población de una prueba en un animal específico en un período determinado muere a causa de la exposición a través de la inhalación o la respiración.
<b>CLITELO</b>	El clitelo es una estructura tegumentaria glandular característica de los anélidos clitelados de las lombrices. Se trata de un área glandular más o menos amplia en forma de anillo completo que abarca un número determinado de segmentos contiguos
<b>CLP*</b>	Es la abreviatura de la expresión inglesa «Classification, Labelling and Packaging» o «clasificación, etiquetado y envasado». Tiene por objeto garantizar una comunicación clara de los peligros que presentan las sustancias y mezclas químicas a los trabajadores y a los consumidores de la Unión Europea por medio de la clasificación y el etiquetado de los productos químicos
<b>CLP**</b>	Reglamento (CE) nº 1272/2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.
<b>CMR</b>	Sustancias sensibilizantes o carcinógenas, mutágenas o tóxicas para la reproducción
<b>COMPONENTE</b>	Sustancia añadida intencionadamente para formar una mezcla
<b>CONCENTRATION</b>	Concentración de nanopartícula aplicada, en ug/ml

Palabras o Letras	Significado
<b>CONSTITUYENTE</b>	Cualquier especie química presente en una sustancia que pueda caracterizarse por su identidad química única.
<b>CONSTITUYENTE PRINCIPAL</b>	Constituyente de una sustancia que, sin ser un aditivo o una impureza, forma una parte importante de dicha sustancia y, por lo tanto, se utiliza en el nombre y la identificación detallada de esta sustancia.
<b>CPC</b>	Contador de Partículas de Condensación
<b>CSIC</b>	La Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) es la mayor institución pública dedicada a la investigación en España y la tercera de Europa. Adscrita al Ministerio de Economía y Competitividad, a través de la Secretaría de Estado de Investigación, Desarrollo e Innovación, su objetivo fundamental es desarrollar y promover investigaciones en beneficio del progreso científico y tecnológico, para lo cual está abierta a la colaboración con entidades españolas y extranjeras. Según su Estatuto (artículo 4), tiene como misión el fomento, coordinación, desarrollo y difusión de la investigación científica y tecnológica, de carácter pluridisciplinar, con el fin de contribuir al avance del conocimiento y al desarrollo económico, social y cultural, así como a la formación de personal y al asesoramiento de entidades públicas y privadas en esta materia.
<b>DG de la Comisión Europea</b>	Dirección General de la Comisión Europea. Objetivo potenciar la cooperación entre proyectos I+D en el campo de la Seguridad de los Nanomateriales
<b>DLS</b>	Técnica de Dispersión de Luz Dinámica. para medir el tamaño y la distribución de tamaño de moléculas y partículas, típicamente en la región submicrométrica, y con la tecnología más reciente, inferiores a 1 nm.
<b>DNEL</b>	Siglas en Inglés que indica los niveles máximos de exposición a la sustancia para las personas; dicho nivel de exposición se conoce como nivel sin efecto obtenido. Nivel sin efecto derivado. Pueden haber varios DNEL para una misma sustancia, colectivos, rutas, patrones de exposición, efectos.
<b>DPD</b>	Es la abreviatura de la Directiva de «Preparados peligrosos» que han quedado totalmente derogadas el 1 de junio de 2015, fecha en la que finalizó el periodo transitorio con la entrada en vigor del reglamento CLP para mezclas
<b>DR</b>	Modelo para calcular el volumen de los microporos
<b>DRX</b>	Difracción de rayos X
<b>DSP</b>	Es la abreviatura de la Directiva de «Sustancias peligrosas»
<b>EAA</b>	Espectroscopia de absorción atómica
<b>EDX</b>	Espectrómetro de fluorescencia de rayos X para medir la dispersión de energía para caracterizar adecuadamente la morfología, el tamaño y la composición química de las partículas liberadas

Palabras o Letras	Significado
EFFECTENDPOINT	Endpoint, o tipo de estudio (Viabilidad celular, forma, tamaño, ...)
EFFECTENDPOINT_TYPE	Si es valor puntual, media, mediana, etc.
EINECS	Catálogo europeo de sustancias químicas comercializadas
ELS	La dispersión de luz electroforética (ELS) mide el potencial zeta de las partículas y las moléculas e indica la estabilidad o la tendencia de las muestras que se agregarán.
EM	Espectroscopia de masas
eNanoMapper	Base de datos: Data.eNanoMapper.net (accessed on 24/10/2020).
ENCS	Sustancias químicas nuevas y ya existentes (Japón)
ENDPOINT_CATEGORY	Bloque que engloba varios tipos de endpoints (por ejemplo, tamaño, grosor, densidad... dentro de GRANULOMETRIA)
ENMs	Nanomateriales
ENPP	Producción de nanopartículas artificiales
ENVASADO	El producto completo de la operación de envasar consistente en el envase y su contenido
ENVASE	uno o más recipientes y cualquier otro componente o material necesario para que los recipientes cumplan la función de contención y otras funciones de seguridad
ENVASE INTERMEDIO	El envase colocado entre el envase interior, o entre artículos, y un envase exterior
Err_d	Valor del error del estudio (desviación estándar, ...)
ERRQUALIFIER	Tipo de error (std_dev, ...)
ESEM	Microscopio electrónico de barrido medioambiental, que permite la entrada de aire y humedad en el soporte de la muestra. Con este microscopio, no hay que tratar especialmente las muestras, por ejemplo, con vapor de oro.
ESIS	Sistema Europeo de Información sobre Sustancias Químicas
ESPECTROS FTIR	Se evalúa el polvo utilizando espectrofotómetros para un rango de 400 y 4.000 cm <sup>-1</sup>
EXPOSURE DURATION	Tiempo de exposición a la nanopartícula, en horas
FABRICACIÓN*	Producción o extracción de sustancias en estado natural.
FIIS	Foro de Intercambio de Información sobre Sustancias
FP7 NanoSafePack	Desarrollo de una guía de mejores prácticas para el manejo y uso seguro de nanopartículas en las industrias del embalaje (286362)
FRX	Fluorescencia de rayos X
GNP	Nanoplacas de grafeno
GPNT	Graphene Nanotech. Is a technology-based company that was established on March 2014 to investigate, produce and distribute high-quality epitaxial graphene grown on Silicon Carbide (SiC) substrates.

Palabras o Letras	Significado
<b>GRAFENO</b>	En 2004 André Geim y Konstantin Novoselov, profesor y alumno de la Universidad de Manchester, lograron aislar las primeras muestras de grafeno. Material bidimensional, transparente, flexible, muy resistente, impermeable y buen conductor de la electricidad
<b>GRAPHENEA</b>	At Graphenea they are committed to the development of graphene materials from research to commercialization. They understand that materials need optimization at every stage of development. They supply special pricing for large-quantity orders across a wide range of industries.
<b>GRM</b>	Materiales relacionados con el grafeno
<b>Guidance</b>	Protocolo que se ha llevado a cabo en el estudio (por ejemplo, microscopía TEM)
<b>HEPA</b>	El filtro de aire <b>HEPA</b> (del inglés "High Efficiency Particle Arresting", o "recogedor de partículas de alta eficiencia") puede retirar la mayoría de las partículas perjudiciales, incluyendo las esporas de moho, el polvo, los ácaros del polvo, la caspa de mascotas y otros alérgenos irritantes del aire.
<b>HPLC</b>	Cromatografía líquida de alta resolución
<b>HUELLA ESPECTRAL</b>	Representación de la composición de una sustancia a partir de la distribución característica de sus constituyentes en un cromatograma.
<b>IC</b>	Índice de control
<b>Id:</b>	Identificador único
<b>IMPUREZA</b>	Constituyente accidental presente en una sustancia después de su fabricación. Puede proceder de las materias primas o bien ser resultado de reacciones secundarias o incompletas durante el proceso de fabricación. Si bien se encuentra presente en la sustancia final, no ha sido añadido intencionalmente.
<b>InChI</b>	IUPAC International Chemical Identifier (Identificador químico internacional IUPAC)
<b>INCI</b>	Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos
<b>INSTITUTO de TECNOLOGIAS EMERGENTES de la RIOJA</b>	Instituto español perteneciente a la SGA
<b>INTEMPERISMO</b>	Cambios en las propiedades del material como resultado de la exposición a la energía radiante presente en la luz solar, en combinación con el calor (contemplando el ciclo de temperatura) y el agua en sus diversos estados, principalmente como humedad, rocío y lluvia.
<b>INTERPRETATION</b>	En caso de aportar una interpretación NO NUMÉRICA del resultado
<b>IR</b>	Infrarrojos
<b>ISO</b>	Organización Internacional de Normalización
<b>IUBMB</b>	Base de Datos Internacional de Información Química Uniforme



Palabras o Letras	Significado
IUCLID	International Union of Biochemistry and Molecular Biology (Unión internacional de bioquímica y biología molecular). Base de Datos Internacional de Información Química Uniforme. IUCLID es una base de datos y un sistema de gestión para la administración de datos sobre sustancias químicas.
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
LC50	El <b>LC50</b> de una sustancia determina la concentración letal de ésta para un organismo y por tanto establece un parámetro de control para la exposición a diferentes compuestos en la industria.
LDH	Enzima lactato deshidrogenasa
LIFE NanoRISK proyecto	Buenas prácticas, medidas de prevención y control de riesgos de protección que representan los nanomateriales representados
LOQUALIFIER	Mayor, menor igual que [loValue_d]
Lovalue_d	Valor que representa el resultado del estudio (o rango inferior)
Lx	lumen/m <sup>2</sup>
MET	Microscopio electrónico de transmisión
METNANO*	Donde se han estudiado diversos tipos de nanopartículas y sus potenciales aplicaciones.
METNANO**	Using patented chemistries in combination with reactor engineering skills it has developed a capability to produce tonnage volumes of pure metal colloids under ISO9001 and 14001 quality control.
MÉTODO CB NANOTOOL	Método de evaluación cualitativa del riesgo por exposición a nanomateriales
MEZCLA*	Mezcla o solución compuesta por dos o más sustancias.
MFM	Modelo de flujo de materiales para la estimación de emisiones al medio ambiente.
MilliQ	El sistema <b>Milli-Q®</b> Integral es una solución compacta que combina la producción de <b>agua</b> de tipo II (purificada) y <b>agua</b> de tipo I (ultrapura) en una sola unidad, eliminando la necesidad de instalar dos equipos
MNM	Masa del nanomaterial en µg
MONÓMERO*	Sustancia capaz de formar enlaces covalentes con una secuencia de moléculas adicionales similares o distintas, en las condiciones de la reacción correspondiente de polimerización utilizada para el proceso concreto.
mPmB	Valoración de propiedades muy persistentes y muy bioacumulables de una sustancia
NAME	Nombre otorgado por el propietario
NAMF	Fabricación de nano artículos, producción de artículos que contienen nanopartículas.
NANOESCALA	Intervalo de tamaño aproximadamente de 1 a 100 nm.
NANOCOMPUESTO PRISTINO	Nanocompuesto que se mantiene inalterado, puro, original.

Palabras o Letras	Significado
<b>NANOHABILITADOS</b>	Son productos a los que se les agregan nanomateriales y se llaman nanohabilitados
<b>NANOMATERIAL</b>	Material con una dimensión externa dentro de la nanoescala, o que posea una estructura interna o superficial dentro de la nanoescala
<b>NanoREG</b>	Protocolos de prueba de ecotoxicología para nanomateriales representativos en apoyo del Programa de Patrocinio de la OCDE
<b>NANOSCRATCH</b>	Proyecto donde se desarrollaba un nuevo recubrimiento para aumentar la dureza superficial de materiales plásticos.
<b>NANOTRAD</b>	Proyecto donde en colaboración con diversas empresas se han estudiado aplicaciones de la nanotecnología de diversos materiales en industrias convencionales.
<b>NANOTECNOLOGÍA</b>	Aplicación del conocimiento científico para manipular o controlar en el tamaño comprendido en la nanoescala, con el fin de utilizar las propiedades dependientes del tamaño y/o estructura, a diferencia de aquellas asociadas con los átomos o moléculas constituyentes.
<b>NANOBJETO</b>	Material con una, dos o tres dimensiones externas dentro de la nanoescala.
<b>MATERIAL NANOESTRUCTURADO</b>	Material que tenga nanoestructura interna o superficial.
<b>NANOPARTÍCULA</b>	Partícula con un diámetro nominal —geométrico, aerodinámico, movilidad, área proyectada u otro— menor que aproximadamente 100 nm.
<b>NANOFIBRA</b>	Nanobjeto con dos dimensiones externas similares dentro de la nanoescala y las otras dos de tamaños considerablemente mayores.
<b>NANOPLACA</b>	Nanobjeto con una dimensión externa dentro de la nanoescala y las otras dos de tamaños considerablemente mayores.
<b>NANOCABLE</b>	Nanofibra semiconductor o conductora eléctrica.
<b>NANOTUBO</b>	Nanofibra hueca.
<b>NANOVARILLA</b>	Nanofibra sólida.
<b>NBIC</b>	Converging Technologies for Improving Human Performance
<b>NF</b>	Entrada de los dispositivos en el campo cercano
<b>NIOSH</b>	Instituto Nacional para la Salud Ocupacional. Encargada de realizar investigaciones y recomendaciones para la prevención de enfermedades y lesiones relacionadas con el trabajo
<b>NLP</b>	Ex-polímero
<b>NM</b>	Nanomaterial
<b>NMP de la Comisión Europea</b>	Comisión Europea de Nanociencias, Objetivo potenciar la cooperación entre proyectos I+D en el campo de la Seguridad de los Nanomateriales
<b>NOAA</b>	Posible liberación de partículas de grafeno, sus aglomerados y agregados
<b>NOEC</b>	En el criterio de toxicidad, la concentración sin efecto observado
<b>NP</b>	Nanopartículas
<b>NTC</b>	Nanotubos de carbono

Palabras o Letras	Significado
NÚMERO DE LISTA	Número asignado automáticamente por REACH-IT. Se aplica a todas las presentaciones válidas admitidas (p. ej., prerregistros, IDOPP, consultas, registros, notificaciones de clasificación y etiquetado). El número de lista no tiene relevancia jurídica y se utiliza exclusivamente como identificador técnico en la gestión de las presentaciones dentro de ECHA.
OCDE	Organización internacional para la cooperación y el desarrollo económicos
OPC	Contador óptico de partículas
OWNER_NAME	Propietario, estudio de donde se han sacado esos resultados
PARAFILM	El papel Parafilm es una lámina de material semitransparente, flexible y resistente al agua que se utiliza como barrera contra la humedad de los instrumentos o equipos para el cuidado de la salud
PBT	Valoración de propiedades persistentes, bioacumulables y tóxicas de una sustancia
PBZ	Zona de respiración personal del operador
PET	Material polimérico. - • Tereftalato de polietileno
PET_ZnO	Material polimérico con ENMs. - Tereftalato de polietileno con Oxido de Zinc
PLA	Material polimérico. - • Ácido poliláctico
PLA_SiO2	Material polimérico con ENMs. - Ácido poliláctico con Oxido de grafeno
PM10	Es la materia particulada. Las <b>PM<sub>10</sub></b> se pueden definir como aquellas partículas sólidas o líquidas de polvo, cenizas, hollín, partículas metálicas, cemento o polen, dispersas en la atmósfera, y cuyo diámetro varía entre 2,5 y 10 µm (1 micrómetro corresponde la milésima parte de 1 milímetro). Estas entran a lo largo del sistema respiratorio hasta los pulmones, irritándolos e incidiendo en diversas enfermedades.
PNEC	Son los valores medios de toxicidad empleados son la concentración prevista sin efecto
POLIMERO*	Sustancia constituida por moléculas que se caracterizan por la secuencia de uno o varios tipos de unidades monoméricas. Dichas moléculas deben repartirse en una distribución de pesos moleculares en la que las diferencias de peso molecular puedan atribuirse principalmente a diferencias en el número de unidades monoméricas. Un polímero incluye los siguientes elementos:
POLIMERO**	(a) una mayoría ponderal simple de moléculas que contienen al menos tres unidades monoméricas con enlaces de covalencia con otra unidad monomérica u otro reactante como mínimo;
POLIMERO***	(b) menos de una mayoría ponderal simple de moléculas del mismo peso molecular.
POLIMERO****	En el contexto de esta definición, se entenderá por «unidad monomérica» la forma redactada de una sustancia monómera en un polímero.

Palabras o Letras	Significado
<b>POTENCIAL Z</b>	El potencial Zeta es una medida de la magnitud de la repulsión o atracción electrostática (o de carga) entre las partículas, y es uno de los parámetros fundamentales que se sabe que afectan la estabilidad. Su medición aporta información detallada de las causas de la dispersión, agregación o floculación, y se puede aplicar para mejorar la formulación de dispersiones, emulsiones y suspensiones.
<b>PP</b>	Material polimérico. - * Polipropileno
<b>PP_Ag</b>	Material polimérico con ENMs. - Polipropileno con Plata
<b>ppb</b>	Parte por mil millones $10^{-9}$
<b>ppm</b>	Parte por millón $10^{-6}$
<b>ppt</b>	Partes por trillón $10^{-12}$
<b>PROTOCOLO TOXKIT</b>	Procedimiento para la evaluación de la degradación de contaminantes en agua mediante TAOs
<b>PTFE</b>	Politetrafluoroetileno, conocido como TEFLON. Es un plástico de uso industrial con características muy estables.
<b>PUBLIC_NAME</b>	Nombre más “amigable” para su representación
<b>RCR</b>	Es el Riesgo Químico Reducido y es el cociente entre la concentración del área personal o laboral y un valor de toxicidad química de referencia, es significativamente menor que 1, lo que implica una posibilidad de riesgo muy bajo.
<b>REACH</b>	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 18 de diciembre de 2006. Relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) no 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) no 1488/94 de la Comisión, así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión
<b>REFERENCE</b>	Referencia al estudio
<b>REFERENCE_YEAR</b>	Año en el que se efectuó el estudio
<b>REL</b>	Límites cualitativos de exposición recomendados
<b>REPLICATE</b>	# de réplica.
<b>RIBOSOMAS</b>	Nanomáquinas que pueden producir multitud de proteínas y están controladas por una tira de ADN que lleva la información genética
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen Species
<b>RTD de la Comisión Europea</b>	Dirección General Europea de investigación e innovación. Objetivo potenciar la cooperación entre proyectos I+D en el campo de la Seguridad de los Nanomateriales
<b>SELLO de CONFORMIDAD de la SGA</b>	Se concede de manera individualizada, a un producto concreto y no a una empresa o a un conjunto de productos. Y debe de poder adquirirse en el mercado

Palabras o Letras	Significado
SEM	Microscopía de barrido (para caracterizar la superficie de los nanorrellenos)
SGA	Siglas en ingles de la Alianza Española en Grafeno, cuya finalidad es presentar un código de buenas prácticas y autorregulación para identificar lo que es grafeno de lo que no es
SILANIZACIÓN DE GRAFENO	Método por el cual se utiliza el grafeno como material de refuerzo de otro
SMPS	Es un nanoscan que proporciona medidas de la distribución del tamaño de las partículas.
SONICACIÓN	La sonicación es el acto de aplicación de la energía del sonido, a una frecuencia determinada, para agitar las partículas de una muestra, con diversos fines científicos o industriales
SPH	Standard Primary Habitability. Se emplea para valorar la habitabilidad
STP	Tratamiento de lodos.
SUSTANCIA	Elemento químico y sus compuestos naturales o los obtenidos por algún proceso industrial, incluidos los aditivos necesarios para conservar su estabilidad y las impurezas que inevitablemente produzca el procedimiento, con exclusión de todos los disolventes que puedan separarse sin afectar a la estabilidad de la sustancia ni modificar su composición.
SUSTANCIA FUERA DE LA FASE TRANSITORIA	Sustancia que debe registrarse dado que no se beneficia del régimen transitorio contemplado para las sustancias en fase transitoria en el marco del Reglamento REACH.
SUSTANCIA INTER- MEDIA (1)	Sustancia que se fabrica para un proceso químico, o bien se consume o utiliza en dicho proceso, para ser transformada en otra sustancia (proceso al que en lo sucesivo se hará referencia como <i>síntesis</i> ):
SUSTANCIA INTER- MEDIA (2)	(a)sustancia intermedia no aislada significa una sustancia intermedia que, durante la síntesis, no se extrae intencionalmente (excepto para tomar muestras) del equipo en el que tiene lugar la síntesis. Dicho equipo incluye el recipiente en que tiene lugar la reacción, su equipo auxiliar y cualquier otro equipo a través del cual pasen la sustancia o sustancias en flujo continuo o en un proceso discontinuo, así como los conductos de transferencia de un recipiente a otro con el fin de pasar a la etapa siguiente de la reacción, pero quedan excluidos los depósitos u otros recipientes en que se almacenen la sustancia o sustancias tras su fabricación;
SUSTANCIA INTER- MEDIA (3)	(b)sustancia intermedia aislada in situ significa una sustancia intermedia que no reúne los criterios necesarios para ser considerada una sustancia intermedia no aislada, en caso de que la fabricación de la sustancia intermedia y la síntesis de otra sustancia o sustancias a partir de dicha sustancia intermedia se den en el mismo emplazamiento y sean llevadas a cabo por una o más entidades jurídicas;

Palabras o Letras	Significado
<b>SUSTANCIA INTER- MEDIA (4)</b>	(c) sustancia intermedia aislada transportada significa una sustancia intermedia que no reúne los criterios necesarios para ser considerada una sustancia intermedia no aislada y que se transporta entre emplazamientos o se suministra a otros emplazamientos;
<b>SUSTANCIA INTER- MEDIA (5)</b>	Sustancia que reúne como mínimo uno de los siguientes criterios:
<b>SUSTANCIA INTER- MEDIA (6)</b>	(a) figurar en el Catálogo europeo de sustancias químicas comercializadas (EINECS);
<b>SUSTANCIA INTER- MEDIA (7)</b>	(b) haber sido fabricada en la Comunidad o en los países que se adhirieron a la Unión Europea el 1 de enero de 1995, el 1 de mayo de 2004, el 1 de enero de 2007 o el 1 de julio de 2013, pero no comercializada por el fabricante o el importador, al menos una vez en los 15 años anteriores a la entrada en vigor del presente Reglamento, siempre que el fabricante o importador posea pruebas documentales de ello;
<b>SUSTANCIA INTER- MEDIA (8)</b>	(c) estar comercializada en la Comunidad o en los países que se adhirieron a la Unión Europea el 1 de enero de 1995 o el 1 de mayo de 2004, el 1 de enero de 2007 o el 1 de julio de 2013, por el fabricante o el importador antes de la entrada en vigor del presente Reglamento y considerarse notificada de conformidad con el artículo 8, apartado 1, primer guion de la Directiva 67/548/CEE, en la versión del artículo 8, apartado 1, resultante de la modificación efectuada mediante la Directiva 79/831/CEE, sin que corresponda a la definición de polímero establecida en el presente Reglamento, siempre que el fabricante o importador posea pruebas documentales de ello, incluida la prueba de que la sustancia fue comercializada por un fabricante o importador cualquiera entre el 18 de septiembre de 1981 y el 31 de octubre de 1993 inclusive
<b>SUSTANCIA MONO-CONSTITUYENTE</b>	Por regla general, una sustancia, definida en función de su composición, en la que se da un componente principal al menos en un 80%
<b>SUSTANCIA MULTI-CONSTITUYENTE</b>	Por regla general, una sustancia, definida por su composición, en la que está presente más de (p/p) y menor al 80% (p/p).
<b>SUSTANCIA NO MODIFICADA QUÍMICAMENTE*</b>	Sustancia cuya estructura química se mantiene inalterada, incluso cuando ha sido objeto de un proceso o tratamiento químico, o una transformación mineralógica física, como, por ejemplo, para eliminar impurezas.
<b>SUSTANCIA NOTIFICADA*</b>	Sustancia para la que se ha presentado una notificación y que puede comercializarse conforme a la Directiva 67/548/CEE.
<b>SUSTANCIA NOTIFICADA**</b>	Sustancia para la que se ha presentado una notificación y que puede comercializarse conforme a la Directiva 67/548/CEE.

Palabras o Letras	Significado
<b>SUSTANCIA PRE-SENTE EN LA NATURALEZA*</b>	Sustancia presente como tal de manera natural, no procesada o procesada solo por medios manuales, mecánicos o gravitacionales; o bien por disolución en agua, por flotación, o por extracción con agua, o por destilación con vapor o por calentamiento únicamente para eliminar el agua; o que se obtiene de la atmósfera por cualquier medio.
<b>SUSTANCIAS MULTICONSITUENTE</b>	Por regla general, una sustancia, definida por su composición, en la que está presente más de (p/p) y menor al 80% (p/p).
<b>TECNALIA</b>	Patronato de empresas españolas perteneciente a la SGA. Consultancy on technology-based innovation strategies, pursuing business growth and diversification. His technological know-how and business management allows them to help they clients identify and develop.
<b>TEICs</b>	Relacionado con las telecomunicaciones
<b>TEM</b>	Microscopio electrónico de transmisión
<b>TGA</b>	Análisis termogravimétrico en nanopartículas
<b>TOPCATEGORY</b>	Categoría del estudio (P-CHEM à Propiedades fisicoquímicas, TOX à Propiedades toxicológicas)
<b>TUBOS BIJOU</b>	Tubos de laboratorio estériles
<b>TUBOS FLEXIBLES TYGON</b>	Tubos flexibles para recoger partículas acoplados a las entradas de los instrumentos.
<b>Tyvek (Traje)</b>	Mono con capucha de diseño ergonómico
<b>U.V.</b>	Radiación ultravioleta
<b>Unit</b>	Unidades
<b>Upqualifier</b>	Mayor, menor, igual que [upValue_d]
<b>Upvalue_d</b>	Rango superior del resultado del estudio
<b>UVCB</b>	sustancias de composición desconocida o variable, productos de reacción complejos o materiales biológicos
<b>WIP</b>	Residuos de las plantas de incineración

## B. DIRECCIONES Web-ACRONIMOS - NOMENCLATOR – SIGLAS

Palabras o Letras	Fuente y/o Utilización
ADER	<a href="http://www.ader.es/inicio/">http://www.ader.es/inicio/</a> INSTITUTO de TECNOLOGIAS EMERGENTES de la RIOJA
ADITIVO	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
AIMPLAS	<a href="http://www.aimplas.es/">http://www.aimplas.es/</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
AIRBUS	<a href="http://www.airbus.com/">http://www.airbus.com/</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
AISE	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
ALEACIÓN*	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
ANTOLIN	<a href="http://www.grupoantolin.com/en">http://www.grupoantolin.com/en</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
ARTICULO*	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
AVANZARE	<a href="http://www.avanzare.es/">http://www.avanzare.es/</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
CAS	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
CATÁLOGO CE	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
CBP	<a href="http://www.icmm.csic.es/sga/wp-content/uploads/2017/06/C%C3%93DIGO-DE-BUENAS-PR%C3%81CTICAS.pdf">http://www.icmm.csic.es/sga/wp-content/uploads/2017/06/C%C3%93DIGO-DE-BUENAS-PR%C3%81CTICAS.pdf</a> SGA
CDTI	<a href="https://www.cdti.es">https://www.cdti.es</a> Nanotrad
CE	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
CE, número	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
CG	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
CLP	<a href="http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/portal-reach-clp/clp/">http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/portal-reach-clp/clp/</a>
CLP	<a href="http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/portal-reach-clp/clp/">http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/portal-reach-clp/clp/</a>
CMR	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
COMPONENTE	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
CONSTITUYENTE	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
CONSTITUYENTE PRINCIPAL	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
CSIC	<a href="http://www.csic.es/presentacion">http://www.csic.es/presentacion</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
DNEL	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
DPD	<a href="http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/portal-reach-clp/clp/">http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/portal-reach-clp/clp/</a>
DRX	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
DSP	<a href="http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/portal-reach-clp/clp/">http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/portal-reach-clp/clp/</a>
EAA	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
EINECS	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
EINECS	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
ELINCS	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP



Palabras o Letras	Fuente y/o Utilización
EM	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
ENCS	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
ENVASADO	REGLAMENTO (CE) No 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO
ENVASE	REGLAMENTO (CE) No 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO
ENVASE INTERMEDIO	REGLAMENTO (CE) No 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO
ESEM	<a href="http://cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/nano_brochure_es.pdf">http://cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/nano_brochure_es.pdf</a>
ESIS	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
FABRICACIÓN*	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
FIIS	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
FRX	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
GPNT	<a href="http://www.gpnt.es/">http://www.gpnt.es/</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
GRAFENO	Periódico El Mundo 17-09-2017
GRAPHENEA	<a href="https://www.graphenea.com/">https://www.graphenea.com/</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
HPLC	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
HUELLA ESPECTRAL	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
IMPUREZA	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
InChi	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
INCI	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
INSTITUTO de TECNOLOGIAS EMERGENTES de la RIOJA	<a href="http://www.interquimica.org/index.php/es/left-center-right">http://www.interquimica.org/index.php/es/left-center-right</a>
IR	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
ISO	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
IUBMB	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
IUCLID	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
IUCLID	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
IUPAC	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
METNANO	<a href="http://metnano.com/">http://metnano.com/</a> INSTITUTO de TECNOLOGIAS EMERGENTES de la RIOJA
MEZCLA*	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
MONÓMERO*	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
mPmB	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
NANOSCRATCH	<a href="http://nanovea.com/App-Notes/nanocoatingscratchtest.pdf">http://nanovea.com/App-Notes/nanocoatingscratchtest.pdf</a> INSTITUTO de TECNOLOGIAS EMERGENTES de la RIOJA
NANOTRAD	<a href="http://www.larioja.org/innovacion/es/noticias/noticia-innovacion/presentado-proyecto-nanotrad-cuyo-objetivo-aplicar-nanotecn">http://www.larioja.org/innovacion/es/noticias/noticia-innovacion/presentado-proyecto-nanotrad-cuyo-objetivo-aplicar-nanotecn</a>
NBIC	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15194614">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15194614</a> Nanotrad
NLP	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
NOEC	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
NÚMERO DE LISTA	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
NÚMERO DE LISTA	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP

Palabras o Letras	Fuente y/o Utilización
<b>PBT</b>	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
<b>PNEC</b>	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
<b>POLIMERO*</b>	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
<b>REACH</b>	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH
<b>RIBOSOMAS</b>	<a href="http://cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/nano_brochure_es.pdf">http://cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/nano_brochure_es.pdf</a> Comisión Europea, Investigación comunitaria. La nanotecnología, innovaciones para el mundo de mañana. ISBN 92-894-7498-X
<b>SELLO de CONFORMIDAD de la SGA</b>	<a href="http://www.icmm.csic.es/sga/aeg-sello-de-calidad/">http://www.icmm.csic.es/sga/aeg-sello-de-calidad/</a> SGA
<b>SGA</b>	Julio Gómez Cordón <a href="http://www.icmm.csic.es/sga/">http://www.icmm.csic.es/sga/</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
<b>SUSTANCIA FUERA DE LA FASE TRANSITORIA</b>	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
<b>SUSTANCIA NOTIFICADA*</b>	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
<b>SUSTANCIAS MULTICONSITUENTE</b>	Doc. para identificar sustancias en REACH y CLP
<b>TECNALIA</b>	<a href="https://www.tecnalia.com/es/tecnalia/vision-estrategica.htm">https://www.tecnalia.com/es/tecnalia/vision-estrategica.htm</a> Periódico El Mundo 17-09-2017
<b>UVCB</b>	REGLAMENTO (CE) No 1907/2006 REACH

# INTRODUCCIÓN

La presente tesis doctoral, se presenta como un compendio de tres artículos previamente publicados en revistas académicas de alto impacto. Las referencias completas de los artículos que constituyen el cuerpo de la tesis son los siguientes:

- Aznar-Mollá, F., Fito-López, C., Alvaro, J.A.H.  
Insights into the potential effects of released engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: environmental issues and future activities for risk assessment and management. *J Nanopart Res* 23, 84 (2021).  
*“Información sobre los efectos potenciales de los nanomateriales de ingeniería liberados a partir de nanocompuestos de polímeros: problemas ambientales y actividades futuras para la evaluación y gestión de riesgos”*.  
<https://doi.org/10.1007/s11051-021-05165-w>  
A partir de aquí lo denominamos Artículo (1)
- Aznar Mollá F, Fito-López C, Heredia Alvaro JA, Huertas-López F.  
New Tools to Support the Risk Assessment Process of Nanomaterials in the Insurance Sector. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021; 18(13):6985  
*“Nuevas herramientas para apoyar el proceso de evaluación de riesgos de los nanomateriales en el sector asegurador”*  
<https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>  
A partir de aquí lo denominaremos Artículo (2)
- Aznar Mollá F, Heredia Alvaro JA, Sánchez OA, Fito-López C, Colmenar González I.  
Nanosafety Analysis of Graphene-Based Polyester Resin Composites on a Life Cycle Perspective. *Nanomaterials*. 2022; 12(12):2036.  
*“Análisis de nanoseguridad de compuestos de resina de poliéster a base de grafeno en una perspectiva de ciclo de vida”*.  
<https://doi.org/10.3390/nano12122036>

A partir de aquí lo denominamos Artículo (3)

**El objetivo general de la tesis** es desarrollar un método para evaluar y gestionar los niveles de riesgo tóxico para la salud humana y el medio ambiente, que provoca la liberación de nanomateriales de un producto como consecuencia de una degradación por rayos ultravioleta o por un siniestro (como explosión, incendio, escape de gas o derrame), en las distintas fases de su ciclo de vida: síntesis, producción, envasado, embalado, transporte, manipulación, utilización y reciclado.

Este método se implementa en una **aplicación informática** que permite la generación automática de un informe toxicológico con la información necesaria para conocer su afectación a la salud humana y al medioambiente provocado por la pérdida de nanomateriales de un material y/o producto.

**El texto de la tesis se ha estructurado de la siguiente forma.** En primer lugar, se introduce una **revisión general del estado del arte** para justificar el grado de novedad y relevancia de la investigación realizada incluyendo aspectos legales y normativos como contexto de la investigación. A continuación, se describe la **metodología** empírica seguida para la evaluación de la toxicidad de nanocompuestos que ha dado lugar a dos de los artículos publicados. Luego, se describe la metodología orientada al usuario seguida para liderar, por parte del doctorando, el diseño y desarrollo de la aplicación informática, cuya programación ha sido subcontratada a profesionales informáticos. Es de destacar que siguiendo esta metodología se realizaron dos **encuestas a usuarios potenciales**. Una primera para identificar requerimientos y otra hacia el final del desarrollo para validar los resultados obtenidos. Además, se reproducen diversos casos realistas de aplicación de la herramienta. A continuación, **se incluye un resumen y el texto completo de cada uno de los tres artículos publicados**. Finalmente, el manual de usuario y los formatos de las encuestas se presentan como anexos.

# 1 RESUMEN DEL ESTADO DEL ARTE

Durante la última década, el uso de nanomateriales debido a sus múltiples utilidades se ha incrementado exponencialmente. Por otro lado, debido a su tamaño nanométrico, pueden atravesar fácilmente las barreras ambientales y biológicas, haciendo que la producción y la eliminación de nanomateriales de ingeniería (ENM), planteen preocupaciones y preguntas en todas las etapas del ciclo de su vida sobre los posibles efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente [1]. Uno de los nanomateriales que más interés industrial despierta en la actualidad es el grafeno [2] , por ello en esta investigación le hemos prestado especial atención.

Los materiales nanoestructurados pueden liberarse al aire, suelo o agua en procesos industriales comunes y/o eventos accidentales para, finalmente acumularse en el suelo, el agua, o biota, poniendo en peligro la salud de los organismos vivos y los ecosistemas. Ello es debido al tamaño nanométrico de estos materiales, pues su facilidad, para ser liberados al aire, el suelo o en las aguas de los procesos industriales comunes y/o eventos accidentales es alta [3].

En este sentido, se demostró que se necesita un conocimiento correcto de todos los riesgos significativos debidos a la exposición a nanomateriales [4] [44] y que podrían dar, como consecuencia, una reclamación de responsabilidad civil [5]. Para facilitar la correcta evaluación de los riesgos según la Ley 31/1995 [50] y en la práctica, de una forma ágil por parte de técnicos prevencionistas y peritos no especializados en nanotecnologías se propone el uso de una aplicación informática que con una amplia base de datos [6] con información sobre la toxicidad de los ENM, evalúa el riesgo de cada caso concreto y genera un informe con una escala de peligrosidad para la salud, emisiones al aire, agua, suelo y un índice conjunto.

La aplicación está desarrollada eminentemente para el sector asegurador como solución para el análisis y evaluación del riesgo emergente de la aplicación de la nanotecnología en el mercado. La utilidad y correcto funcionamiento de la aplicación se ha validado mediante

la simulación de diferentes escenarios [7] de exposición a nanomateriales. Los resultados obtenidos se han comparado con escenarios reales [8] [9], corroborando que el uso de herramientas novedosas puede ser utilizado por empresas que ofrecen gestión de riesgos en forma de contratos de seguros.

En términos de potencial de exposición [10], la gran mayoría de los estudios realizados hasta la fecha se centran en las áreas de trabajo humano y medioambiental [11]: en la primera, la inhalación es la vía de exposición más común [12]; y en la segunda, la principal vía de entrada al medio ambiente son las emisiones indirectas de nanomateriales procedentes de entornos industriales [43], como son: las liberaciones incontrolables durante el uso, reciclaje y eliminación de productos nano-habilitados [13]; por otro lado, los derrames accidentales durante la producción o el transporte posterior de nanomateriales y la liberación por desgaste de materiales que contienen nanopartículas también pueden provocar una posible exposición no deseada.

Debido a sus múltiples aplicaciones, los nanomateriales están siendo considerados como una tecnología facilitadora esencial (TFE), fundamental en el desarrollo de nuevos productos y procesos en una amplia gama de sectores industriales [20] [21] promoviendo la innovación y el progreso tecnológico del tejido industrial de manera significativa.

Pese a los beneficios de la nanotecnología, las mismas propiedades fisicoquímicas que posibilitan el desarrollo de nuevos productos con propiedades extraordinarias, incluyendo el tamaño, forma o el área superficial, también pueden ser el origen de efectos adversos en la salud, manifestándose en forma de afecciones en el sistema respiratorio, enfermedades cardiovasculares e incluso cáncer, que unidos a un riesgo de incendio o explosión (INSHT, 2015), incrementan los daños en la salud de las personas, los bienes, y el medio ambiente.

En virtud del creciente interés de la industria en la aplicación de la nanotecnología, la Agencia Europea de Sustancias Químicas (ECHA) determinó la necesidad de evaluar y gestionar adecuadamente los posibles riesgos que plantean estos nuevos tipos de materiales en su plan de trabajo 2016-2018, aprobándose además la entrada en vigor a

partir del 1 de enero de 2020 de la modificación de diversos anexos del reglamento 1907/2006 relativo al Registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias químicas (REACH) para garantizar una evaluación eficiente de los riesgos de los nanomateriales considerando, entre otros aspectos, la nueva información toxicológica y ecotoxicológica disponible sobre sustancias presentadas en su nanoforma, y el potencial de exposición potencial de nanoformas inhalables en lugares de trabajo.

Parece plausible que las nanopartículas puedan provocar efectos no deseados en el medio ambiente y las personas. Por ejemplo, las nanopartículas podrían ser dañinas para la salud debido a su minúsculo tamaño, ya que pueden saltar las barreras biológicas (como la barrera sangre-cerebro) [30] y penetrar en las células del cuerpo humano. Dado que las nanopartículas, al igual que otros polvos ultrafinos, como el hollín del gasóleo de los coches, son sustancias con efectos desconocidos, hay que llevar a cabo primero investigaciones científicas para cerciorarse de que sean seguras. Hasta ahora, se sabe muy poco sobre la seguridad de las nanopartículas, por eso es necesario llevar a cabo los experimentos necesarios para encontrar respuesta lo antes posible a los problemas planteados.

Así pues, existe consenso entre la comunidad científica de los efectos relacionados con la salud humana, de que las características [36] de los nanomateriales, como su pequeño tamaño, una superficie específica más grande y alta actividad superficial o pulverulencia, pueden conducir a una serie de efectos adversos [31] [32] en los seres humanos por su capacidad de translocación a la circulación sistémica [39] y capacidad de penetración pulmonar [33] más profundo [40]. Algunos de los efectos conocidos de los ENM incluyen, entre otros, la inflamación y fibrosis de los pulmones, signos de asma y fibrosis, hepatotoxicidad, infarto de miocardio o genotoxicidad. En el medio ambiente, por el contrario, todavía existen grandes lagunas de conocimiento con respecto a los efectos medioambientales de los NM's.

La mayor parte de la literatura sobre el destino y los procesos de transformación de los NM en el medio ambiente se centra en los sistemas acuáticos [34] y los suelos dado que se sabe que la mayor parte de los NM terminan en estas dos vías de penetración, mientras que se estima que solo entre el 0,1% y el 1,5% de los NM producidos se liberan a la

atmósfera durante su ciclo de vida. Sin embargo, dado que la inhalación se ha identificado como la principal vía de penetración de exposición para seres humanos, seguido de la presencia de NM's en el aire, es crucial a tener en cuenta especialmente en los lugares de trabajo.

Los límites de exposición profesional (VLA) aplicables dada la multitud de formas, tamaños, relación de aspecto y propiedades fisicoquímicas que encontramos para una misma composición química en el caso de los NMs es una dificultad. La situación se agrava dado que el volumen de producción y uso se ha consolidado en los últimos años y además por la falta de estudios sobre la eficacia de los sistemas de contención, ventilación y equipos de protección personal (EPIs) ya que los criterios de ensayo definidos por normas internacionales se basan en tamaños de partículas alejados de los diámetros medios ( $\varnothing$  40–65 nm) de materiales nanométricos como el grafeno, SiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>, ZnO, CeO<sub>2</sub> o Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

La exposición humana a los NM puede ocurrir en principio durante cualquier etapa del ciclo de vida del material, aunque es más probable que ocurra en los lugares de trabajo, donde estos materiales se manipulan o producen en grandes cantidades o durante largos períodos de tiempo.

Muchas actividades involucradas en la fabricación de nanomateriales (NM) pueden ser una fuente potencial de emisiones de NM. En muchos casos, las principales emisiones provienen del paso del proceso en el que genera el nanomaterial, pero en una fase posterior, como la recuperación partículas del reactor, la molienda, el secado o la manipulación adicional también pueden ser una fuente potencial de nanopartículas. Otros procesos, como el secado por aspersion o la molienda, son más propensos a tener fugas, ya que a menudo se realizan en ambientes abiertos en condiciones de presión atmosférica. La adopción de las medidas de seguridad correspondientes a lo largo del ciclo de vida del NM puede minimizar e incluso evitar la exposición de los trabajadores a los nanomateriales.

La inhalación se considera la ruta de captación más crítica ya que estas pequeñas partículas pueden penetrar profundamente en el pulmón y depósito en la región de intercambio de gases. Por tanto, la exposición por inhalación a nanomateriales en suspensión en el aire



debe evaluarse con vistas a la protección de los trabajadores. Sin embargo, hasta la fecha, a diferencia de lo que ocurre para los compuestos gaseosos, todavía no existe una metodología claramente establecida por la comunidad científica para evaluar la exposición de nanomateriales en el lugar de trabajo.

Las características principales que tienen los nanomateriales son fundamentalmente que son materiales bidimensionales, transparentes, buenos conductores de la electricidad, flexibles, elásticos y de gran dureza, lo que les permite introducirse en todos los aspectos de la vida, como: construcción, ordenadores, pinturas, alimentación, cosmética, plásticos, química, metalurgia, textil, etc. dotando a los nuevos materiales características especiales.

[26] [27] [35]. En el sector de los nanocomposites basados en polímeros, el uso de NMs como nanocargas o nanoaditivos permite el desarrollo de materiales poliméricos de valor agregado, con una superficie mejorada, propiedades, estabilidad dimensional, estabilidad química, permeabilidad y otras propiedades funcionales [29] que los hacen insustituibles.

Materiales con óxidos metálicos tales como  $TiO_2$ ,  $SiO_2$  o  $ZnO$  son NM's ampliamente empleados en la actualidad, y son incorporados en productos como: cosméticos, plásticos, cementos, pinturas o dispositivos médicos, permitiendo obtener propiedades nuevas o mejoradas [28].

En el ambiente laboral pueden aparecer nanomateriales como subproducto de unos procesos térmicos o mecánicos, en este caso estaríamos hablando de partículas procedentes de soldaduras, combustiones naturales, procedentes del polvo de la madera, etc. No obstante, los que nos interesan son aquellos que se buscan tanto a nivel de laboratorio [42] como en la fabricación de estos, como pueden ser por procesos de reducción del tamaño de las partículas, como por procesos de síntesis, etc. [25].

Una manera de evaluar la ecotoxicidad de estos nanocomposites es mediante la realización de estudios a partir de protocolos de la OECD [46] para invertebrados acuáticos como *Daphnia magna* y *Brachionus plicatilis*, el alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* e invertebrados presentes en el suelo como *Eisenia foetida*. En este contexto, recientes

estudios ponen de manifiesto una alta toxicidad de nanocompuestos a base de plata (Polipropileno-Ag) para los invertebrados acuáticos *Daphnia magna*. Además, se ha observado que el proceso de envejecimiento de los polímeros nanocomposites ocasionado por las condiciones ambientales como luz, temperatura, U.V., humedad o el stress mecánico, promueve la liberación de nanopartículas, potenciando los efectos adversos en entornos naturales. Además, según los resultados obtenidos en estos estudios, se estima una ecotoxicidad moderada (P. subcapitata) de polímeros envejecidos que contengan nanopartículas de ZnO para aguas naturales. Para otros nanocomposites recogidos en bibliografía tales como Tereftalato de polietileno-Ag, Ácido poliláctico-SiO<sub>2</sub> o grafeno se ha observado una baja ecotoxicidad. Para este último material se ha observado también una baja toxicidad a nivel celular para células humanas A549 y Caco-2, asociadas al epitelio alveolar basal y al adenocarcinoma colon-rectal humano, respectivamente.

En nuestros estudios, se seleccionó un conjunto relevante de nanocomposites y se evaluó su ecotoxicidad mediante la realización de protocolos de la OECD para invertebrados acuáticos como *Daphnia magna* y *Brachionus plicatilis*, el alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* e invertebrados presentes en el suelo como *Eisenia foetida*. Los resultados mostraron un bajo nivel de toxicidad para los nanocompuestos estudiados, excepto en el caso de composites a base de plata (Ag) donde se encontró una alta toxicidad para los invertebrados acuáticos *Daphnia magna* probablemente debido al efecto de los iones de plata. También se observó que el proceso de envejecimiento del composite promueve la liberación de ENM, potenciando los efectos adversos para el medio ambiente y por lo tanto para la salud [18].

La viabilidad celular con células humanas A549 (vía inhalación) y Caco-2 8 vía oral, mostraron un índice bajo de toxicidad de grafeno en este sistema libre de células.

## 1.1 LEGISLACIÓN Y NORMATIVAS

La legislación que afecta a la fabricación, transporte, etiquetación y cadena de suministro tiene una salvedad y es que esta legislación NO es aplicable para el consumidor final

Desde el punto de vista de seguridad y salud en el trabajo para los nanomateriales es de aplicación tanto la normativa general de seguridad y salud en el trabajo, Ley de Prevención de Riesgos Laborales (LPRL) y Reglamento de los Servicios de Prevención (RSP), como las normativas específicas de desarrollo de la LPRL que sean de aplicación en función de sus características de peligrosidad, como, por ejemplo: el Real Decreto 374/2001 (de agentes químicos); el Real Decreto 665/1997 (de agentes cancerígenos) y su modificación por el Real Decreto 349/2003, que amplía su ámbito de aplicación a los (agentes mutágenos), si estuvieran clasificados como tales; el Real Decreto 681/2003 (de atmósferas explosivas si el material presentara estas propiedades); el Real Decreto 1215/1997 (de equipos de trabajo); y el Real Decreto 773/1997 (de equipos de protección individual). En relación con la comercialización de sustancias y mezclas, la legislación considera los nanomateriales como sustancias y, por tanto, les será de aplicación el Reglamento REACH sobre Registro, Evaluación y Autorización de sustancias químicas y el Reglamento CLP sobre Clasificación, Envasado y Etiquetado de sustancias y mezclas.

En lo que se refiere a las normativas que se están aplicando podemos decir que prácticamente todas ellas, han elegido de sus reglamentos aquellos medios de protección individual (EPIs) como colectivas las más estrictas, pero no por ello que sean 100% eficientes, pues depende del tamaño y naturaleza del nanomaterial, factores ambientales, tiempo de exposición, y sobre todo ¿qué se hace con ellos después de utilizarlos?

Cabe destacar que, en la comercialización, existen otros marcos normativos que consideran los nanomateriales como tales y no como sustancias, como en el caso de Cosméticos, Biocidas e Información alimentaria facilitada al consumidor. La seguridad y salud en el trabajo con nanomateriales se enfrenta en la actualidad a una situación en la que casi todos los aspectos a tener en cuenta presentan lagunas de conocimiento debido a una limitada

información sobre: la toxicología, los efectos para la salud y la eficacia de los sistemas de ventilación y equipos de protección individual, así como falta de Límites de Exposición Profesional (LEP) y de definición de la métrica adecuada para determinar la exposición a los nanomateriales.

Hay que indicar que todo lo dicho se refiere únicamente a los nanomateriales producidos intencionadamente a nivel industrial o en laboratorios de investigación y que pueden encontrarse en los lugares de trabajo bien en su forma original, bien incorporados en otros materiales o productos de los que podrían ser liberados en mayor o menor medida en cualquiera de las etapas de su ciclo de vida. Por tanto, no se hace referencia ni es aplicable a la seguridad de los usuarios finales de productos que pueden incorporar nanomateriales en su composición<sup>1</sup>.

A la vista de la revisión del estado de la legislación se puede concluir existen muchas patentes de utilización y que hay muchas asociaciones que se están preocupando por crear un marco legal de comercialización y de garantías de que el producto que se vende es un nanomaterial, con unas propiedades concretas y que es seguro. Además, se están preocupando de validar el producto en sí y no la empresa, lo que hace que se aleje a posibles impostores. No obstante, la legislación es prudente y como es normal, va detrás de la tecnología.

Respecto a la fabricación, transporte y cadena de suministro, se ven afectados igualmente de una legislación que va a remolque y ello nos hace ser al mismo tiempo muy prudentes, sobre todo en los aspectos mencionados. No obstante, la legislación no es aplicable para el consumidor final, pues entendemos que el producto que se vende tiene el nanomaterial incorporado en su interior y por tanto ha cambiado las características técnicas del mismo, pero no está liberado. El problema puede venir cuando el producto final se manipule incorrectamente, o incluso podría ser cuando envejezca. Estos y muchos más aspectos son

---

<sup>1</sup> SST con nanomateriales INSHT

los que un clúster de empresas están investigando por todo el mundo con el fin de hacer seguro el uso de los nanomateriales.

A continuación, se enumera otras normativas e información complementaria que se ha tenido en cuenta a la hora de realizar la investigación y desarrollar la aplicación informática:

- El Reglamento europeo 1907/2006 REACH relativo al registro, autorización de sustancias y mezclas químicas.
- FDA/EFSA, EMA o el comité científico de seguridad de los consumidores (SCCS).
- La información relativa a las propiedades toxicológicas y usos autorizados puede consultarse en la web de la agencia de sustancias y mezclas químicas: <https://echa.europa.eu/es/information-on-chemicals>, siempre cuando su volumen de producción supere 1 tonelada anual por fabricante/proveedor.
- La información sobre las propiedades de los nanomateriales debe transmitirse en la cadena de suministro a través de las fichas de datos de seguridad en base al anexo II del reglamento REACH, y en concreto al reglamento (UE) 2020-878 donde se recogen los requisitos para la elaboración de la ficha de datos de seguridad: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32020R0878&from=EN>.
- En el caso de usos específicos en el sector cosmético, alimentación, biocidas, materiales en contacto con alimentos y nanomateriales en el sector médico, deben consultarse las actualizaciones de las guías sectoriales editadas por las agencias vinculantes, incluyendo FDA/EFSA, EMA o el comité científico de seguridad de los consumidores (SCCS).
- Se ha incluido además otra información de ayuda para la seguridad de la manipulación de los nanomateriales:
  - INSST, Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el trabajo: <https://www.insst.es> en especial las NTP's y el documento NanoRisk eficacia de medios de protección respiratoria.

- INVASSAT, Institut Valencià de Seguritat i Salut en el Treball, <http://www.invassat.gva.es/va/> en especial el doc. Nanomateriales. Aplicaciones y riesgos en su utilización.
- ITENE, Instituto Tecnológico del Embalaje, Transporte y Logística, [www.itene.com](http://www.itene.com), es especial el documento: Exposición laboral a NMs: Evaluación de la exposición y valores límite.
- Nanosafetycluster <https://www.nanosafetycluster.eu/> Plataform de alto perfil para la coordinación de la investigación en nanoseguridad en Europa.

La Comisión Europea y en especial el INVASSAT y otras institutos tecnológicos y empresas, están muy interesados en que la utilización y la seguridad de los nanomateriales sea una realidad.

Así pues, conocedores del mundo del seguro y del mundo de la pericia en todos sus ámbitos y dentro de ellos, los accidentes laborales, nos propusimos el objetivo de encontrar las lagunas que existen en la legislación y en la fabricación con nanomateriales para abordar el uso de los nanomateriales con seguridad.

## 2 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

La metodología seguida para el desarrollo de la tesis se divide en dos partes: la investigación empírica sobre toxicidad de nanomateriales, y el diseño y desarrollo de una aplicación informática (APP) para las empresas en su aspecto relacionado con el mundo del siniestro.

En la figura 1 se presenta el esquema de la metodología que se explica en detalle en este capítulo. En los puntos siguientes se explica con más detalle cada uno de los aspectos de la metodología.

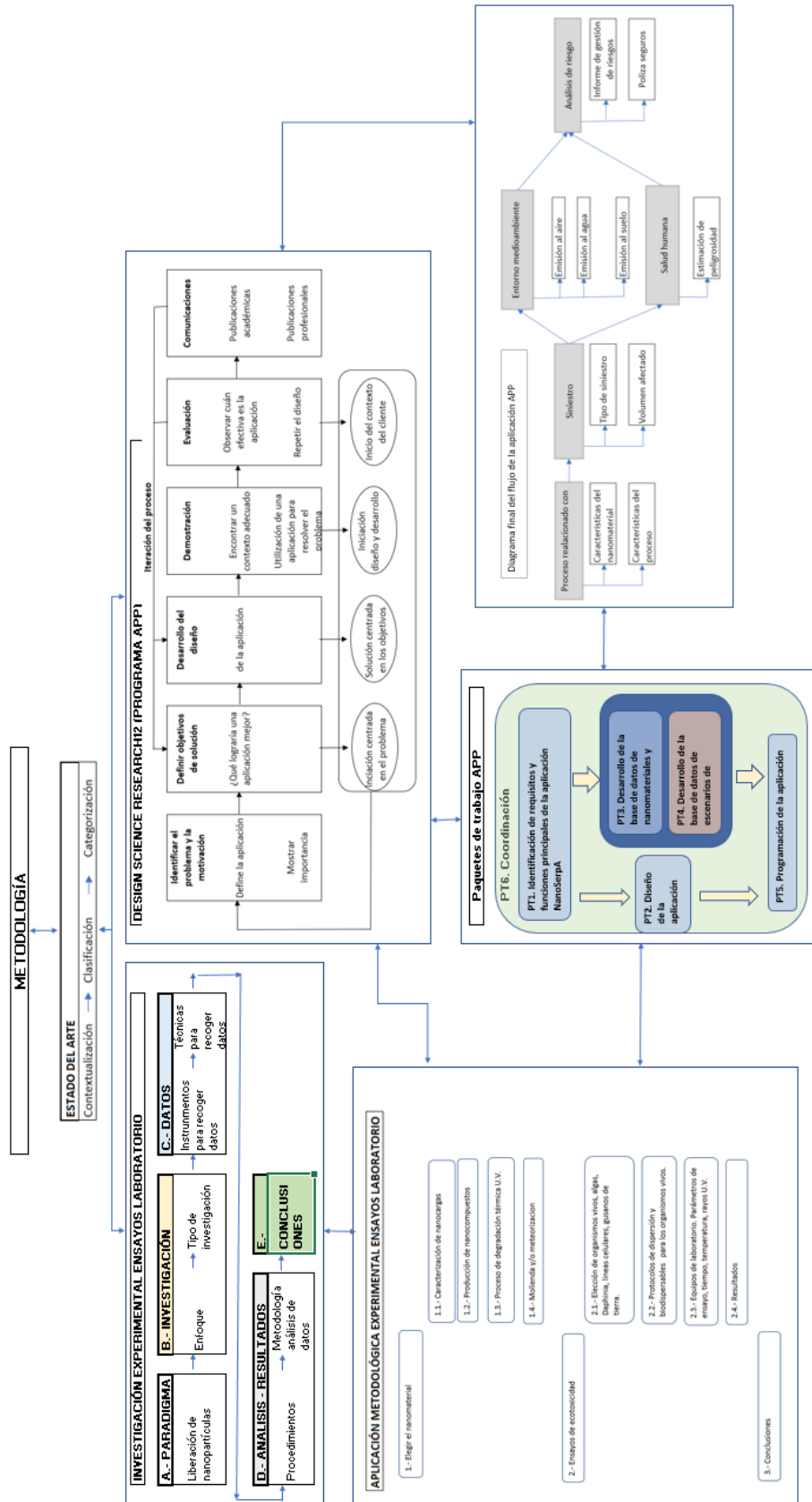


Figura 1. Detalle esquemático de la metodología de laboratorio y de diseño del programa informático (APP)



## 2.1 ENSAYOS DE LABORATORIO.

En este punto se describe el proceso de los ensayos de laboratorio incluido en el esquema de la metodología de investigación introducido en el punto anterior.

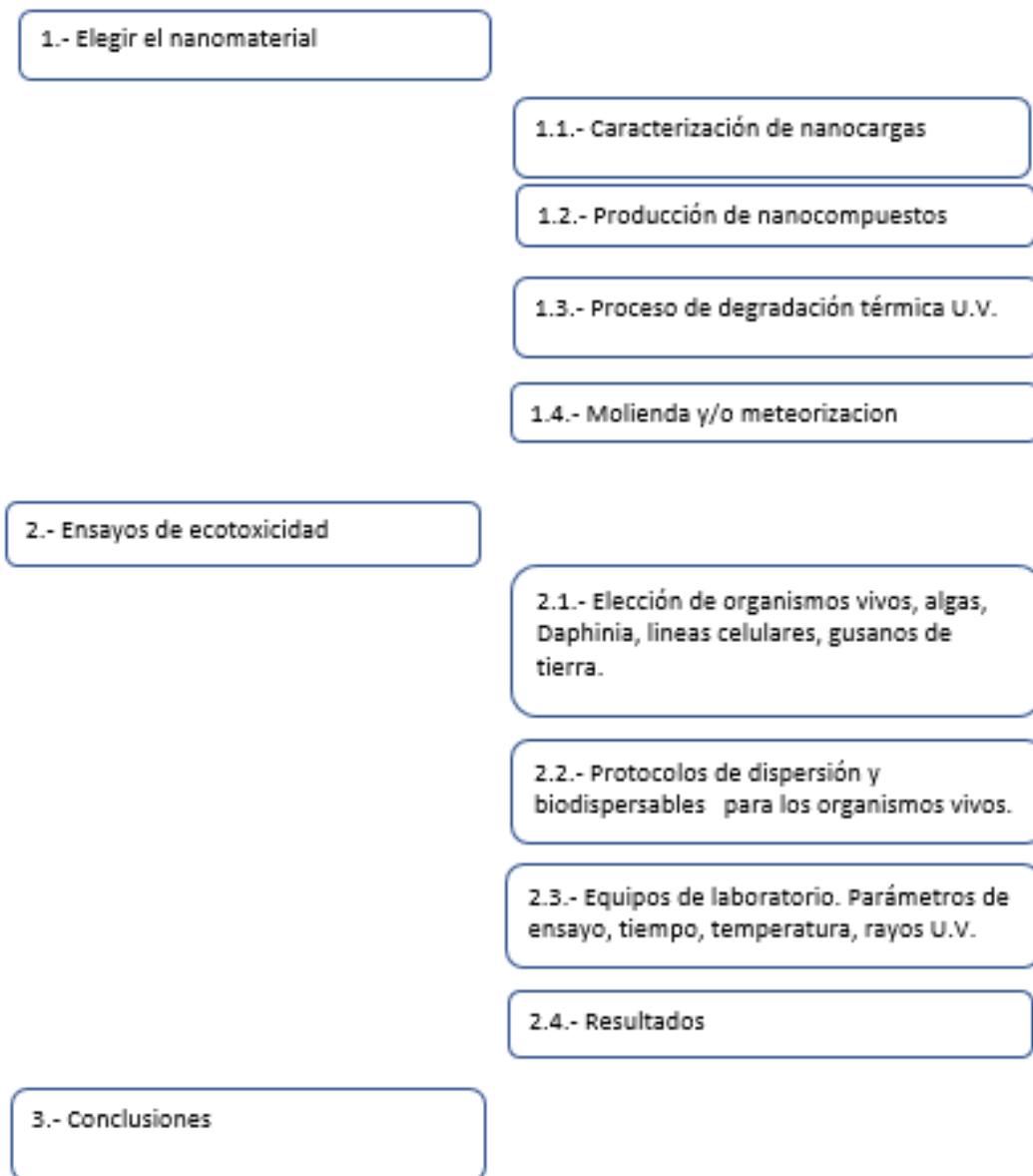


Figura 2. Proceso de investigación experimental para los ensayos de laboratorio

## 2.1.1 Elegir el nanomaterial

Lo primero que hemos realizado para comenzar los trabajos de estudio para la evaluación del potencial de liberación de los nanomateriales ha sido elegir los nanomateriales que íbamos a utilizar y para ello para proporcionar una base de evidencia para una evaluación completa de peligros y riesgos. Para este estudio se han tomado como referencia los resultados del proyecto de investigación NanoSafePack [49] con varios modelos in vitro que se usualmente se utilizan para determinar los perfiles toxicológicos de compuestos de polímeros con los siguientes nanomateriales: (sílice (nanoSiO<sub>2</sub>), óxido de zinc (nano-ZnO), plata (nano-Ag). Además, por su interés práctico más actual también hemos incorporado el grafeno, específicamente el óxido de grafeno.

### 2.1.1.1 Caracterización de nanocargas

Las técnicas de caracterización utilizadas fueron:

- A. Microscopio electrónico de transmisión JEOL (modelo JEM-1010) (1000 kV), con una cámara digital MegaView III, y con el software “AnalySIS” para la adquisición de imágenes. Este microscopio permite el estudio de la ultraestructura celular en secciones ultrafinas (50-70 nm) obtenidas con un ultra microtomo<sup>2</sup>. Asimismo, usando técnicas de tinción negativa es posible el estudio de virus, bacterias, proteínas y sistemas de interacción nanopartícula-biomolécula.
- B. Microscopía electrónica de barrido (SEM) para caracterizar la superficie de los nanorrellenos y corroborar la posible aglomeración de la partícula, mediante un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (Hitachi S4100), con una resolución de 1,5 nm de emisión a 30 kV.

---

<sup>2</sup> Microtomo: equipo mecánico de precisión que se utiliza para realizar cortes en tejidos que han sido objeto de inclusión en parafina, siendo las secciones conseguidas de espesor micrométrico lo suficientemente delgadas para permitir su examen por el microscopio.

- C. El ordenador con detector de propagación BSE AUTRATA y DETECTOR RX RÖNTEC para microanálisis
- D. Técnica de adsorción física de gases para caracterizar el área superficial y el tamaño de los poros. En este trabajo se ha utilizado equipo volumétrico, de Quantachrome, modo Autosorb-6, para realizar la isoterma de adsorción de nitrógeno a 77 K. Antes del análisis, las muestras se desgasificaron a 473 K (200 ° C) durante 4 h en equipo desgasificador. (Quantachrome), para eliminar la humedad y otras posibles sustancias adsorbidas que puedan bloquear la porosidad de la muestra.
- E. Análisis termogravimétrico (TGA) en nanopartículas para calcular el contenido de nanopartículas.

#### 2.1.1.2 Producción de nanocompuestos

La fabricación de nanocompuestos de polímeros con partículas metálicas se realiza siguiendo cuatro procesos de fabricación:

1. Proceso de secado
2. Proceso de alimentación, desde una tolva montada en la parte superior al barril de la extrusora.
3. Extrusión: los nano-rellenos seleccionados se introdujeron en la extrusora a través de un puerto lateral equipado con un dispensador de sólidos que se calibró gravimétricamente para cada nano-relleno. Todos los materiales se procesaron con un contenido teórico de nanopartículas de hasta el 4%, que es un contenido típico de nanocargas en el procesamiento de nanocompuestos.
4. Enfriamiento / peletizado: el último proceso consistió en el enfriamiento de los composites a través de un baño de agua con el objetivo de obtener un material sólido que luego se procesaba en un peletizador para obtener pequeños pellets.

El grafeno proporcionado por Graphenglass está compuesto por partículas de polvo de grafeno en el rango de 10-55 mm están formadas por capas de grafeno (entre 2 y 6 capas,

área BET > 250 m<sup>2</sup> /g) con más del 98% de pureza, con un espesor de tamaño comprendido entre 0.8-2 nm.

La resina es poliéster insaturado, no tixotrópica, no acelerada de baja viscosidad. Se utiliza como catalizador peróxido de metiletilcetona al 50%, mientras que el acelerante es Octoato de cobalto al 1%.

Para la fabricación del compuesto de Grafeno-Poliéster se consiguió mediante cuatro fases: Silanización del óxido de grafeno, dispersión de la resina, curado y poscurado.

#### Técnicas utilizadas:

- a) Silanización. -
  - i. Agitación magnética. 30 minutos.
- b) Sonicación. 10h a 20 Khz.
  - i. Ciclos alternos de 20 min y parada a 65°C
  - ii. Secado a 110 °C durante 4 h.
- c) Curado 24h a 20 °C y postcurado durante 4h a 60 °C

Las muestras obtenidas disponían de las siguientes proporciones de grafeno: 0%, 1%, 3%, 10% y 50%.

Y los equipos utilizados han sido:

- a) Un **reómetro** se puede determinar y analizar el comportamiento de materiales en deformación y fluidez. Ejem. parámetro reológico es la viscosidad.
- b) Con la **microscopía electrónica de barrido (SEM)** podemos caracterizar la superficie de los nanorrellenos y corroborar la posible aglomeración de la partícula, morfología y grosor
- c) Con el **espectrofotómetro Perkin Elmer 781**, trabajamos con diferentes longitudes de onda, siendo estas ajustadas por láser. Además, estos equipos, trabajan mucho mejor el problema del ruido, que los equipos de espectroscopía infrarroja (IR). Se ha trabajado con muestras de polvo entre 400 y 4,000 cm<sup>-1</sup>. Y, con este equipo hemos obtenido las propiedades de las resinas a base de grafeno curadas. Ejem. Módulo de Young (de elasticidad), resistencia a la tracción, dureza, etc.

### 2.1.1.3 Proceso de degradación térmica U.V.

El ensayo de envejecimiento acelerado fue realizado según la norma UNE-EN ISO 4892-3 (ISO 2006). El equipo empleado para los nanocompuestos de partículas metálicas fue una cámara QUV-se de Q-PANEL LAB PRODUCTS equipada con una lámpara UVB-313 (pico de emisión a 313 nm) (Fig. 3). El tiempo total de exposición fue de 500 horas de unas muestras de dimensiones  $7,5 \times 15$  cm y  $10 \mu\text{m}$  de espesor.



**Figura 3. Cámaras de envejecimiento utilizadas**

Equipo empleado para el nanocompuesto de grafeno fue la Suntest CPS+, (Hanau, Alemania) del laboratorio de materiales de la UJI. Se llevó a cabo un ensayo en dos fases: una primera fase para replicar las condiciones atmosféricas secas a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , seguida de un proceso de inmersión, donde la temperatura del cuerpo negro se asignó automáticamente en función de la irradiancia, para simular las condiciones atmosféricas húmedas.

El programa condiciones húmedas y secas de 500 h durante 20 días. Se repitió el mismo proceso hasta alcanzar un tiempo de meteorización total de 1.000 horas.

Tabla 1. Test horas, temperatura y humedad

Test	Hours	Temperature (°C) (Min/Av/Max)	HR (%) (Min/Av/Max)
1	481 h	24.6/62.62/82.9	5.5/10.21/43.4
2	537 h	18.5/58.23/84.9	7.0/18.81/72.3
Total	1018 h		

#### 2.1.1.4 Molienda y/o meteorización.

El objetivo de la molienda era conseguir que los nanocompuestos fueran biodisponibles para organismos y células, para lo cual fue necesario reducir mecánicamente al tamaño de micro a nano.

##### Maquinaria utilizada en la molienda

- a) Planet-Ball-Grinding de bolas de acero inoxidable.
- b) Molino planetario de bolas (Retsch PM400), equipado con 4 estaciones de molienda, incluidas 25 bolas de 2 cm de diámetro.

La velocidad de rotación del fresado se fijó en 450 rpm y el tiempo del ciclo fue de 10 min. Para reducir más se utilizó un molino de chorro a 50 psi para asegurar que se rompieran los aglomerados.

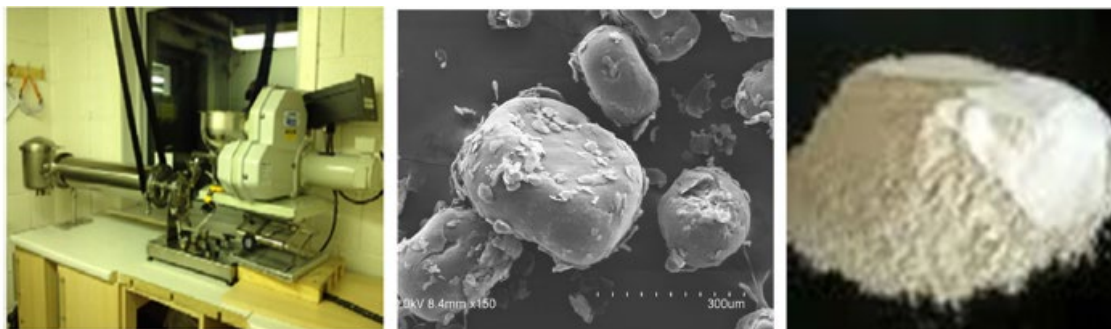


Figura 4.3 Izquierda: micronizador empleado para reducir el tamaño de polímeros y nanocompuestos. Centro: PET-ZnO micronizado. Derecha: micronizado nanocompuesto PLA+nanoarcilla

Para la meteorización del nanocompuesto de grafeno se utilizaron dos métodos para la liberación de las partículas en dos escenarios diferentes:

- 1) Abrasión y desgaste de una resina de poliéster a base de grafeno
- 2) Uso de pintura en aerosol que contiene material de grafeno.

### 1) Abrasión y desgaste de una resina de poliéster con grafeno

En este caso se utilizó una lijadora mecánica con un sistema de sujeción para promover la reproducibilidad. La máquina Marca Bosch (Modelo Bosch PBS 75 AE, Madrid, España) equipada con una banda de lijado para simular el proceso de lijado en la superficie de los compuestos a base de grafeno. Se aplicó a la lijadora un papel de lija de grano medio (G/K 120) de la marca Piranha (Black & Decker, Madrid España).

Temperatura de trabajo (rango 20-25 °C) y la humedad (rango 40-50% de humedad relativa). Las piezas compuestas a base de grafeno se lijaron en la posición de baja velocidad de la lijadora durante 20 s.

Las partículas liberadas del área de abrasión/lijado se recogieron en una bandeja de aluminio inoxidable. Las partículas liberadas se analizaron utilizando un enfoque de medición multimétrica.

Paralelamente, las partículas se recogieron en filtros de policarbonato con un tamaño de poro de 0,2  $\mu\text{m}$  montados en cassetes abiertos de 37 mm

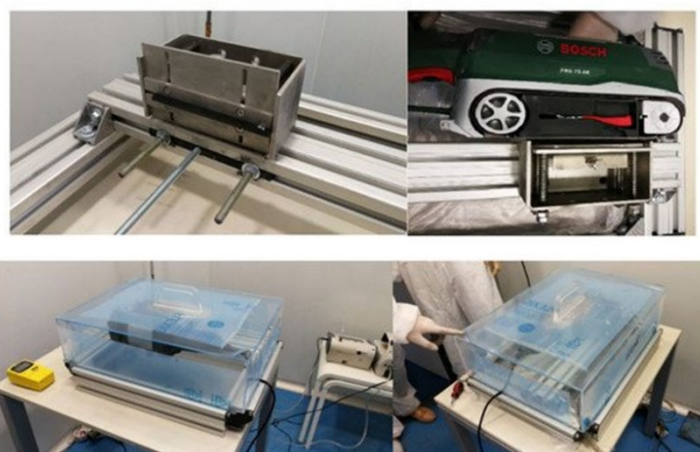


Figura 5. Banco de lijado para abrasión y recogida de partículas

### 2) Uso de pintura en aerosol que contiene material de grafeno

Se probaron cinco latas de pintura (~2700 g cada una) de diferentes viscosidades (alta, media y baja), que no contenían o contenían tipos de pinturas con grafeno. Las pinturas se

mezclaron antes de rociarlas con un agente de curado<sup>3</sup> como los adhesivos de cianoacrilato que presentan un gran interés porque curan a temperatura ambiente y son capaces de unir una gran variedad de sustratos en poco tiempo.

Cada muestra de pintura se mezcló con el agente de curado dentro de su propia lata y se mezcló con un mezclador de pintas conectado a un taladro. Después de unos minutos de mezclado, la lata se alimentó inmediatamente a una máquina de pulverización sin aire (Standard Hi-Boy Series—Graco, Minneapolis, MN, EE. UU.) a presión constante (3000 psi) con 3 tamaños de boquilla diferentes (415, 421, y 427. ) en función de la viscosidad de la pintura (ver [Tabla 2](#) ) y pulverizado a unos 50 cm desde una superficie situada al final de la cámara de exposición.

**Tabla 2. Características de pulverización de cada pintura**

	Low Visc Free	Low Visc GNP	Mid Visc GNP	High Visc GNP	High Visc Free
Pressure (psi)	3000	3000	3000	3000	3000
Tip size	415	415	421	427	427

Se utilizaron filtros de muestreo, de 37 mm de tamaño y fabricados en PVC y PTFE, para depositar las partículas recogidas en el aire y caracterizar la composición química, el estado de agregación y la forma mediante técnicas de microscopía (SEM/EDX).

Entre pruebas, se lavaron hasta 7 litros de solventes de limpieza con tolueno, acetato de metilo y xileno a través de la pistola rociadora para limpiar los conductos de la máquina. El hecho de que la última pintura no contuviera grafeno y se rociara después de las pinturas con grafeno sirvió para probar si aún se podían encontrar partículas de grafeno de procesos anteriores después de la limpieza y la pulverización.

El fondo también se probó antes del proceso de rociado para compararlo con las partículas presentes en el ambiente antes de las pruebas.

<sup>3</sup> Cianoacrilatos modificados con nanomateriales base carbono. Propiedades mecánicas y eléctricas. Instituto de Investigación Tecnológica Comillas ICAI 28015 Madrid.



Se utilizaron tres instrumentos de medida:

- Un **medidor de partículas óptico (OPS)** (Modelo 3330, TSI, Shoreview, MN, EE. UU.) diseñado para brindar una resolución óptima en el rango de tamaños de 0,3 a 10 micras. La captación de luz aumentada ( $90^\circ \pm 60^\circ$ ) reduce los efectos de dispersión de Mie.  
Después de ser dimensionada, la muestra fluye desde la cámara óptica hasta el cartucho del filtro, donde se recolecta en un filtro de 37 mm, para análisis gravimétrico o investigación adicional de muestras químicas o microscópicas
- Un **contador de partículas de condensación (CPC)** (Modelo 3077, TSI, Shoreview, MN, EE. UU.). que permite llegar a medir partículas de 2,5 a 3000 nm. Se utiliza para controlar los aerosoles, con un flujo de 5L/min y de esta forma evitar las pérdidas en el transporte ya que las partículas de polvo suelen estar cargadas electrostáticamente
- El **modelo 3910** combinado con el Medidor de partículas óptico (OPS) 3330 permite a los usuarios medir tres órdenes de magnitud de tamaño desde 10 nm hasta 10  $\mu\text{m}$ .



**Figura 6. Medidor partículas óptico OPS 3330 - Medidor de partículas de condensación CPC 3077 - Medidor de nanopartículas TSI 3910.**

## 2.1.2 Ensayos de Ecotoxicidad

### 2.1.2.1 Elección de organismos vivos

Para realizar los ensayos de ecotoxicidad, en el primer artículo [18] se han elegido distintos organismos vivos, con el fin de poder obtener la concentración letal media (CL50).

#### Los organismos vivos que se han utilizado han sido:

- 1) ***Daphnia Magna***, crustáceo planctónico del suborden de los cladóceros que de adulto mide hasta 5 o 6 mm. Es una fuente de alimento de muchos peces y es comúnmente utilizado en ensayos ecotoxicológicos por ser un bioindicador ambiental de efluentes dulciacuícolas de fácil establecimiento en el laboratorio y corto ciclo con ensayos de 48h
- 2) Alga continental ***Pseudokirchneriella subcapitata***, llamada también alga verde es una microalga que presenta un aspecto curvo y retorcido como una hoz. Las células se presentan normalmente en forma solitaria. Tiene una longitud entre 8 y 14  $\mu\text{m}$ , y un ancho entre 2 y 3  $\mu\text{m}$ . Puede vivir perfectamente en aguas con una elevada concentración de nutrientes (eutrófica), y con baja concentración de nutrientes (oligotrófica), en aguas dulces superficiales o subterráneas y/o junto con lixiviados, aguas intersticiales de sedimentos o cualquier compuesto puro soluble en agua. Por lo que cuando las células son expuestas a muestras que contienen contaminantes tóxicos su reproducción se afecta, alterando la tasa de crecimiento de la población de las algas. El estudio del efecto de inhibición de la población causada por los agentes tóxicos se realiza en muestras de 72 horas de exposición con temperatura controlada ( $24\pm 2^\circ\text{C}$ ) y, por comparación con el crecimiento normal, obtenemos la toxicidad.

- 3) Lombriz de tierra *Eisenia Foetida*. Este gusano tiene una vida media de 4 años. Tolera amplios rangos de Ph, humedad y temperatura. Come, con mucha voracidad, todo tipo de materia orgánica bien de origen doméstico o agropecuario (estiércoles, rastrojos de cultivos, residuos de hortalizas y frutas, malezas, etc.). Fuera de los lechos o del vermicompostero su vida es limitada. Y es capaz de convertir cualquier desecho orgánico en un producto final llamado lombricomposta. Las lombrices, realizan una actividad de importancia en el medio ambiente y esta actividad consiste en la producción de abono orgánico, ya que sus defecaciones constituyen un magnífico abono orgánico por el contenido de su flora bacteriana. Por ello el comprobar su vida en un sustrato contaminado con nanopartículas es especialmente relevante para comprobar la toxicidad del medio.
- 4) *Brachionus Plicatilis* es un rotífero marino, organismo microscópico, acuáticos y semiacuático, de unas dimensiones comprendidas entre 40  $\mu\text{m}$  y 3 mm, son transparentes o de coloración variable, viven en aguas dulceacuícolas, marinas y terrestres. Además, son el alimento perfecto para peces e invertebrados marinos más exigentes, por lo que la utilización del *Brachionus plicatilis* para estudiar la alteración de los sistemas acuáticos por la aportación de nanopartículas potencialmente tóxicas, es perfecto para estudiar los efectos sobre los organismos acuáticos y sobre los posibles efectos indirectos en la salud humana



**Figura 7.** Alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata*, lombrices *Eisenia foetida*, *Daphnia magna* y *Brachionus plicatilis*

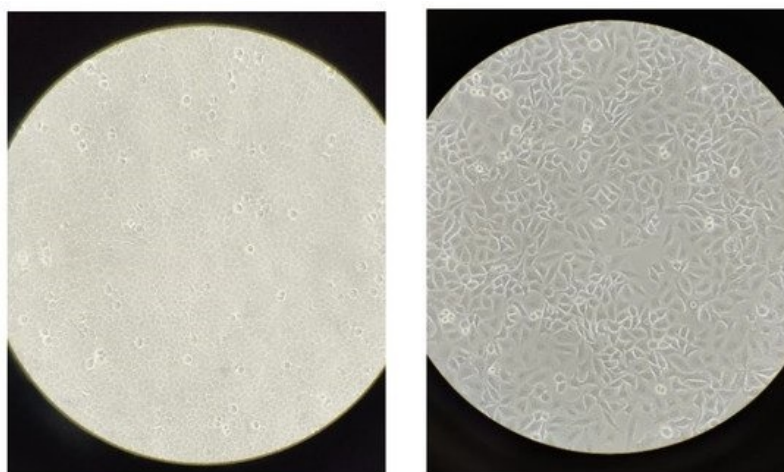
En la siguiente tabla se muestran las normas y procesos para estudiar la toxicidad

**Tabla 3. Organismos vivos y normas utilizadas en el proceso experimental de toxicidad**

Compartment	Organism	Endpoint	Description	Standard
Freshwater	<i>Daphnia magna</i>	LC50	Acute immobilization test	OECD 202
Marine/estuarine	<i>Brachionus plicatilis</i>	LC50	Acute mortality of the test organisms	ASTM Standard Guide E1440-91
Freshwater	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NOEC	freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test	OECD 201
Sediment/soil	<i>Eisenia foetida</i>	NOEC – EC50	Acute mortality of the test organisms	OECD 207

En el tercer artículo publicado [19] los organismos vivos que se han utilizado han sido:

- 1) *Daphnia Magna*, por su importancia como organismo modelo en varias disciplinas biológicas, desde la ecología acuática hasta las ciencias biomédicas.
- 2) Neonatos nacidos de Epiphyas (huevos de resistencia)
- 3) Línea celular A549.- Epitelio alveolar de la región de intercambio de gases del pulmón para predecir la absorción por inhalación.
- 4) Células Caco2. modelo *in vitro* de la mucosa del intestino delgado humano para predecir la absorción por ingestión



**Figura 8. (Izquierda) Línea celular Caco-2. (Derecha) Micrografía de la línea celular A549**

Así pues, las líneas celulares A549 y Caco-2 fueron seleccionadas por su relevancia para mejorar el conocimiento actual sobre la respuesta celular a partículas extrañas depositadas en los pulmones o en el tracto gastrointestinal debido a una captación accidental por la biota, que significa toxicidad aguda por inhalación y captación oral

### 2.1.2.2 Protocolos de dispersión y biodispersables para los organismos vivos.

- La buena dispersión de los nanocompuestos en el medio de prueba es fundamental para obtener resultados representativos; por ello, se implementó el protocolo de dispersión de nanopartículas recomendado por el proyecto NanoREG: protocolos de prueba de ecotoxicología para nanomateriales representativos en apoyo del Programa de Patrocinio de la OCDE, directrices 201, 202, 207 y UNE – EN ISO 8692; ISSN: 20745761: (<https://doi.org/10.1787/20745761> *algas*); ISSN: 20745761 (<https://doi.org/10.1787/20745761> *Daphnia*); ISSN: 20745761 (<https://doi.org/10.1787/20745761> *lombrices nematodos*)
- Los nanocompuestos seleccionados se pesaron en tubos bijoux de 5 ml con una balanza de 6 posiciones (SartoriusME5 / SE2) y se suspendieron en su medio de cultivo respectivo. Las preparaciones se agitaron en vórtex y luego se sonicaron a temperatura ambiente durante 20 min, usando un sonicador de baño (Ultrawave Sonicator QS25, 400W). Las soluciones madre se usaron luego para preparar diluciones en serie hasta las concentraciones finales.
- Adición directa en agua de mar estándar a concentración suficientemente alta y se sonicaron durante 50 min en un baño de ultrasonidos a una temperatura controlada de 20-25 ° C que optimiza su dispersión en el medio. Todas las muestras se utilizaron recién preparadas (en 1-5 h).
- Los medios de cultivo se prepararon en agua desionizada, se esterilizaron en autoclave a 121 ° C durante 15 min o se filtraron (filtro de celulosa de 0,2 µm).

- Se prepararon dispersiones de nanocompuestos para ensayos de ecotoxicidad con *Brachionus plicatilis* mediante adición directa en agua de mar estándar a concentración suficientemente alta y se sonicaron durante 50 min en un baño de ultrasonidos a una temperatura controlada de 20-25 ° C que optimiza su dispersión en el medio. Todas las muestras se utilizaron recién preparadas (en 1-5 h).
- Para las lombrices, la cantidad deseada de cada nanocompuesto se mezcló con 10g de arena fina de cuarzo y luego la arena se mezcló completamente con la tierra artificial durante aproximadamente 5 minutos en un cubo mezclador.

Para el nanocompuesto de grafeno el estudio de toxicidad, lo dividimos en dos apartados:

**a) Impacto Respiratorio.**

Se utiliza la línea celular A549 como una célula representativa del epitelio alveolar de la región de intercambio de gases del pulmón. Se cultivaron en cultivo continuo en medio DMEM que contenía 10 % de FCS (Life Technologies, Alcobendas, Madrid, España), aminoácidos no esenciales (diluidos de solución madre 100X, Sigma, St. Louis, MO, EE. UU.), piruvato de sodio (1 mM, Life Technologies, Alcobendas, Madrid, España), L-glutamina (diluida de solución madre 100X, Life Technologies, Alcobendas, Madrid, España), penicilina (100 U, Sigma, St. Louis, MO, EE. UU.) y estreptomina (100 µg/mL, Sigma, St. Louis, MO, EE. UU.). Este fue designado medio completo. Las células se retiraron del cultivo mediante tripsinización<sup>4</sup> y se sembraron en placas de 96 pocillos a  $2 \times 10^5$  células/ml (100 µl/pocillo). Las placas se incubaron durante 24 h a 37 °C, los pocillos se lavaron con medio y se agregaron tratamientos a cada pocillo en un volumen final de 100 µL en medio completo.

**b) Vía oral: ingestión.**

Las líneas celulares Caco-2 se cultivaron durante 10 días y luego se sembraron a densidades de 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> células por ml (0,1 ml por pocillo) en una placa de 96

---

<sup>4</sup> Proceso utilizado en cultivos celulares para separar las células adherentes del sustrato de cultivo usando tripsina, una enzima proteolítica que degrada las proteínas de adhesión.

pocillos mediante tripsinización y centrifugación a  $8,4 \times g$  durante 5 min. Después de una exposición de 24 horas, se midió la viabilidad celular utilizando el ensayo de reducción de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT; ATCC) convencional.

### 2.1.2.3 Equipos de laboratorio y parámetros de ensayo

Se recopila a continuación los equipos utilizados para evaluar la toxicidad tal como se desarrolla en los artículos [18 y 19], y los parámetros de ensayo más relevantes.

#### **Equipos**

---

- Tubos bijou de 5 mL para los nanomateriales utilizados.
- Balanza de 6 posiciones (SartoriusME5 / SE2).
- Agitación en vórtex.
- Sonicador de baño (Ultrawave Sonicator QS25, 400W).
- Programa EPAprobit v1.5 (USEPA) para calcular la concentración letal media (CL50).

#### **Parámetros del estudio de toxicidad aguda en *Daphnia magna***

---

- Se utilizó el bioensayo Daphtoxkit F™ (Microbiotest, Gante, Bélgica) para estimar el efecto de los nanocompuestos en el crustáceo *D. magna*. Las pruebas de toxicidad se realizan de acuerdo con los procedimientos de prueba de la Directiva 202 de la OCDE (OCDE, 2004) e ISO 6341 (UNE - EN ISO 6341, 2012)
- Periodo de incubación de 24 horas y 48 horas
- Los recién nacidos que no puedan nadar después de agitar suavemente el líquido durante 15 s se considerarán inmobilizados.
- Para calcular la concentración letal mediana (CL50), se calcularon los valores de CE50 de 24 y 48 h, así como sus intervalos de confianza del 95% asociados (IC del 95%), utilizando el programa EPA-probit v1.5 (USEPA).
- Se realizó una prueba de toxicidad de referencia estándar con K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> en paralelo a cada serie de pruebas para verificar la sensibilidad de *Daphnia magna*.

### Parámetros del estudio de toxicidad aguda en el rotífero<sup>5</sup> *Brachionus plicatilis*

---

- ROTOXKIT MTM, una prueba de detección de toxicidad de rotíferos para aguas estuarinas y marinas.
- Guía estándar de ASTM E1440-91
- La eclosión del quiste de rotífero se inició 24-28 h antes del inicio de la prueba de toxicidad en un medio de eclosión, que consiste en agua de mar de salinidad reducida (20 ppt), a 25 ° C, con iluminación continua (fuente de luz de 3000-4000 lx mín.)

### Parámetros del ensayo del alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata*

---

- Se utilizó el bioensayo *de algas verdes Pseudokirchneriella subcapitata* de MicroBioTests Inc (Gante Bélgica)
- La inhibición del crecimiento de los bioensayos de algas verdes *Pseudokirchneriella subcapitata* se realizó siguiendo los procedimientos operativos estándar de Algatokit F™ (1996). Esta prueba se realizó de acuerdo con la Directriz 201 de la OCDE (OCDE, 2002) y la ISO 8692: 2012 (UNE - EN ISO 8692, 2012)
- Antes de la prueba de toxicidad, se dispersaron cantidades apropiadas de diferentes muestras en medio de cultivo de algas, cubriendo así un amplio rango de concentraciones nominales de 0.01 a 100 mg / L.
- Las dispersiones resultantes se sonicaron durante 50 min en un baño de ultrasonidos a una temperatura controlada de 20-25 ° C.
- La inhibición del crecimiento se expresa como el aumento logarítmico de la biomasa (tasa de crecimiento específico promedio) durante el período de exposición. A partir de las tasas de crecimiento específicas promedio registradas en una serie de soluciones de prueba, se determina la concentración que produce un % especificado de inhibición de la tasa de crecimiento (por ejemplo, 50%) y se expresa como la CE50

---

<sup>5</sup> Animales pseudocelomados, microscópicos de 0.12 a 0.5 mm.



- Se empleó un espectrofotómetro UV-vis a 670 nm para la determinación de la DO del medio de cultivo de algas y el establecimiento de una curva de calibración que representa la DO frente a la biomasa de algas

#### Parámetros del ensayo de mortalidad de las lombrices, *Eisenia foetida*

- Directriz 207 de la OCDE (OCDE, 1984) [48].
- Papel filtro de 80 a 85 g/m<sup>2</sup> de 0,2mm espesor, grado medio (70 cm<sup>2</sup>)
- Peso individual de las lombrices adultas de 300 a 600 mg.

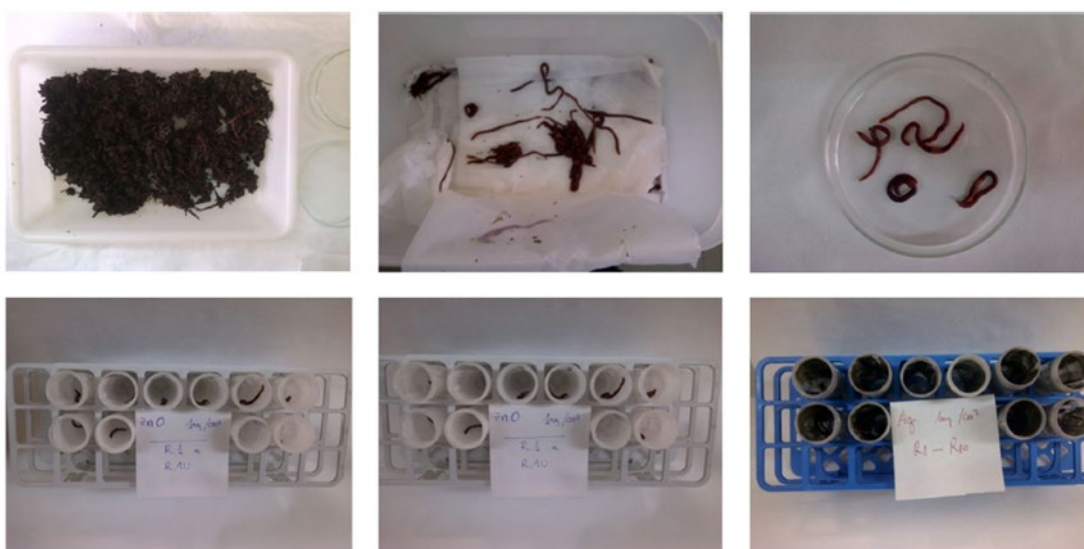


Figura 9. Arriba: lombrices de tierra utilizadas en la prueba de mortalidad. Abajo: incubación de lombrices de tierra

#### En el publicado [17] se han utilizado los siguientes equipos para evaluar la toxicidad:

- El análisis de los datos medidos por el medidor de tamaño de partículas (TSI OPS 3300) mostró diferentes modos correspondientes a partículas con un tamaño de partícula promedio de  $\sim 320 \pm 2$  nm,  $\sim 540 \pm 2$  nm y  $\sim 1150 \pm 2$  nm. Los picos máximos se observaron para partículas por encima de  $1 \mu\text{m}$  (Figura 13), debido principalmente al número de partículas incrustadas en la matriz polimérica, como se puede derivar de la imagen SEM representada en la Figura 14

- Las imágenes SEM muestran solo partículas de desgaste del material de resina. Por lo tanto, se puede suponer que la resina desgastada es la fuente principal de las partículas liberadas. No se recogieron partículas de grafeno libre.
- El carbono, el oxígeno y el aluminio fueron los elementos identificados con una abundancia de ~80%, 18% y 1%, respectivamente.
- Espectrómetro EDX para identificar los elementos que están representando en los medios de filtración utilizados.

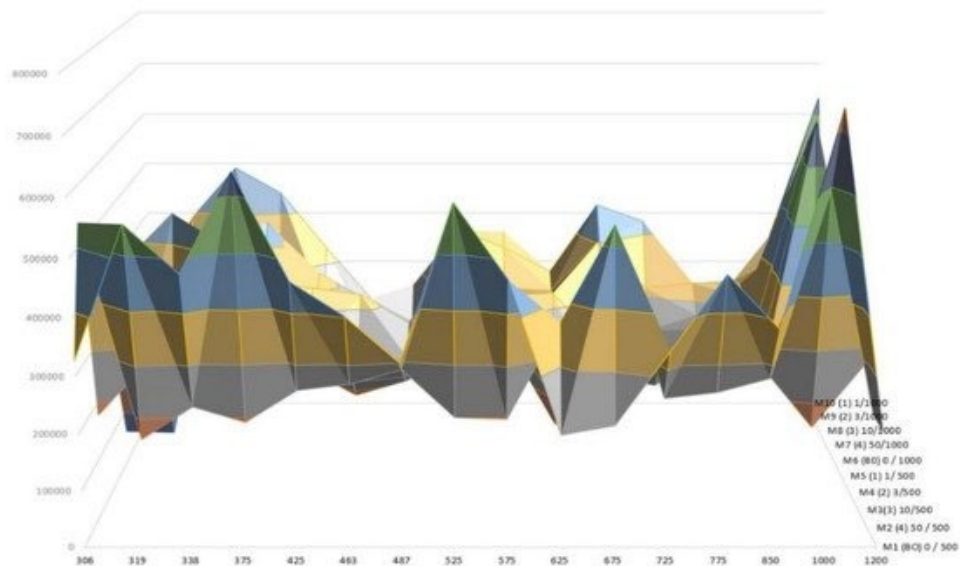


Figura 10. Distribución de tamaño de partículas medidas durante el proceso de lijado.

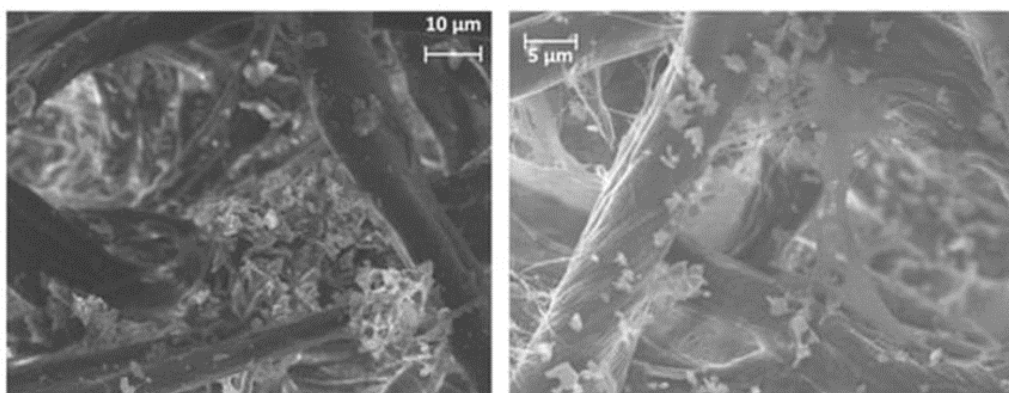


Figura 11. Detalle de imágenes SEM incluyendo partículas recolectadas en filtros durante el proceso de abrasión.

En lo que corresponde a la prueba de PULVERIZACIÓN DE PINTURA, se han utilizado

- Tres dispositivos diferentes, colocados en posiciones fijas cerca de la superficie del objetivo (cara abierta), a excepción de un dispositivo que era portátil y se ajustaba a la zona de respiración del operador (dentro de su zona de respiración de partículas (PBZ)).
- Dos dispositivos de contador de partículas condensadas en tiempo real que incluían dos CPC contador de partículas de condensación TSI modelo 3007,
- Un medidor de partículas OPS TSI 3330 (Medidor de partículas óptico TSI Modelo 3330)
- Un contador Aerotrak (TSI 9350, Shoreview, Minnesota, EE. UU.) (contador portátil de partículas)
- Además de: filtros de PVC y PTFE para recolectar el material depositado y los análisis realizados por SEM-EDX.

## 3 RESULTADOS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS

Haciendo un resumen de los resultados de los ensayos realizados tenemos que los únicos nanocompuestos poliméricos que presentaron toxicidad, en los organismos estudiados, a la concentración probada, fueron los que tenían en su composición plata (Ag), dando como valor obtenido 4,77 ppm. También las muestras de PET-ZnO (Tereftalato polietileno-óxido de zinc) con lombrices presentó una mortalidad superior al 5% de los individuos estudiados a la concentración límite de prueba de 1 mg/cm<sup>2</sup>

**Tabla 4. Rango de toxicidad de los nanocompuestos en los organismos vivos utilizados**

Nanocompuesto	Organismo	Toxicidad	Valor obtenido	Rango
PP+Ag	Daphnia Magna	CL50 de 24h	4,77 ppm	Tóxico
PET-ZnO	Daphnia Magna	CL50 de 72h	99,32 ppm	Toxicidad moderada
Todos	P. Subcapitata	CE50	>=100	Toxicidad moderada
PET-ZnO	Lombrices de tierra	Mortandad < al 7%	Mortandad > al 5%	Toxicidad moderada

NOTA: Límite de los resultados (95%)

En cuanto a la toxicidad del compuesto de grafeno, la tabla 4, 5 y 6 muestran los niveles de concentración de efecto (EC) para las muestras analizadas.

**Tabla 5. Ecotoxicidad para las muestras analizadas como valores EC<sub>50</sub> a las 24 y 48 horas.**

	% GR/Trat.	EC <sub>50</sub> mg/L—24 h	EC <sub>50</sub> mg/L—48 h
N0206	Pure/pristine	318	146
M1 (B0)	0%/500 h	>100 (516)	>100 (304)
M2 (4)	50%/500 h	>100 (358)	>100 (221)
M6 (B0)	0%/1000 h	>100 (437)	>100 (251)
M7 (4)	50%/1000 h	>100 (298)	>100 (157)
M11 (4)	1%/0 h	>100 (381)	>100 (240)
M14 (1)	50%/0 h	>100 (216)	>100 (142)

La viabilidad celular mostró un patrón dosis-dependiente para el grafeno prístino a las células A549 en el rango de concentración de 1,5 a 200 ppm, con un primer efecto a una concentración superior a 25 ppm (citotoxicidad superior al 80%), lo que indica un bajo potencial de toxicidad de grafeno en este sistema libre de células.

La Tabla 6 muestra los valores de concentración de efecto calculados, incluidos los límites inferior y superior. El rango de dosis elegido es amplio para incluir concentraciones de exposición relevantes (rango inferior), pero también concentraciones más altas para permitir que se calculen los valores de CE<sub>50</sub> con fines de comparación y clasificación. Sobre la base de los datos obtenidos con las células A549 y Caco-2, se estimó que la toxicidad del grafeno es de 205 y 68 ppm para la vía oral y la inhalación, respectivamente, lo que significa que la vía oral es de suma importancia a la hora de considerar la toxicidad.

**Tabla 6. Toxicidad medida. Valores CE<sub>50</sub> a las 24 y 48 horas**

	Value	Low Limit	Upper Limit
EC <sub>50</sub> A549	205 ppm	140.7	376.5
EC <sub>50</sub> Caco2	68 ppm	36.1	1245.0

Los valores de EC<sub>50</sub> estaban por encima de 100 ppm, lo que significa que las muestras analizadas podrían considerarse no tóxicas. Por otro lado, la línea celular Caco-2 fue más sensible al grafeno, con un alto incremento en la generación de oxígeno reactivo, ROS a 10 ppm, donde las células A549 no mostraron ninguna respuesta adversa.

## 4 CONCLUSIONES DE EXPOSICIÓN Y ANÁLISIS TOXICOLÓGICO

El estudio de los efectos de los materiales que contienen ENM generados durante los procesos de degradación de nanoproductos es un área poco investigada. Este trabajo proporciona nuevos datos sobre los efectos potenciales de los materiales liberados de los compuestos a base de polímeros que contienen ENMs, que se consideran un nuevo contaminante emergente. Nuestros resultados son uno de los primeros estudios sobre los efectos de los fragmentos polidispersos de materiales nanocompuestos en el rango de micrones liberados de nanocompuestos poliméricos en organismos en suelos y medios acuáticos. Este trabajo también proporciona nuevos conocimientos sobre los posibles efectos de los micro y nanoplásticos en el medio ambiente como resultado de la degradación de los objetos plásticos industriales.

Solo en el caso de nanocompuestos de polipropileno se observa toxicidad por plata en *Daphnia magna*, lo que indica que existen posibles mecanismos de liberación de nanomateriales de nanocompuestos debido a la exposición a condiciones ambientales como luz, temperatura, humedad y agua, y estrés mecánico que degradan la matriz polimérica.

No encontramos efectos significativos hasta la concentración más alta probada. En el caso del alga de agua dulce *Pseudokirchneriella subcapitata*, se puede anticipar un grado moderado de ecotoxicidad de los polímeros erosionados que contienen NPs de ZnO. Este es un problema relevante porque las microalgas planctónicas, como productoras primarias, son el componente clave en la cadena alimentaria de los ecosistemas acuáticos. Además, sirven de alimento al zooplancton, que posteriormente es consumido por otros invertebrados o peces.

Una situación similar se puede encontrar para el organismo de agua dulce *Daphnia magna*, donde los resultados del estudio mostraron un mayor grado de toxicidad para los polímeros a base de plata, lo que está en línea con los datos disponibles sobre las toxicidades agudas

y crónicas de AgNP en organismos acuáticos, siendo normalmente asociado con los efectos potenciales causados por la liberación de Ag (+) en el medio acuático.

En términos generales, aunque los ENMs podrían mostrar toxicidad cuando se incorporan a la matriz polimérica, su comportamiento tóxico para los diferentes organismos se reduce una vez encapsulados en el polímero. La falta de toxicidad parece deberse principalmente a la capacidad limitada de los nanorrellenos para interactuar con organismos modelo después de que se hayan incrustado en la matriz. En este caso, debe tenerse en cuenta que si las partículas pueden desprenderse de la matriz polimérica, el potencial de toxicidad puede aumentar. Debe prestarse atención a la posibilidad de que in vivo, en un entorno biológico que puede ser diferente de las condiciones in vitro, se puedan liberar algunos de los nanocargas.

También debe tenerse en cuenta que los compuestos que están diseñados específicamente para conferir actividad antibacteriana, como los que incorporan nano-Ag o nano-ZnO, pueden causar daños. Por ejemplo, la interacción de esas partículas o iones puede causar efectos negativos imprevistos en el medio ambiente.

En el ecosistema terrestre, aunque ninguno de los estudios de materiales provocó un riesgo potencial, la acumulación de partículas liberadas con el tiempo podría ser un peligro para otros organismos que viven en el suelo como bacterias, hongos o lombrices de tierra. Además, los ENMs liberados podrían migrar del suelo al agua subterránea y entrar en los ecosistemas acuáticos.

Además de la ecotoxicidad, cabe señalar que los nanocomposites pueden tener un impacto en la salud humana considerando que las partículas más grandes pueden depositarse en la región alveolar del pulmón. Se sabe que esto ocurre particularmente para fibras y plaquetas de alta relación de aspecto, ambas observadas en las muestras micronizadas. Se han realizado muy pocas investigaciones en esta área; por lo tanto, estudios toxicológicos adicionales pueden proporcionar información sobre el impacto del material de rango nanométrico y micrónico en la salud humana y el medio ambiente.

A partir de los resultados anteriores, ha quedado claro que el tamaño de las muestras que contienen nanopartículas, y que se descargan al medio ambiente, la probabilidad de impacto en el medio ambiente humano y ambiental cada vez necesita un estudio más profundo, incluyendo un análisis exhaustivo de las diferencias en el potencial de migración de partículas para cada tipo de matriz polimérica.

Por otra parte, una evaluación segura de los productos basados en derivados del grafeno es esencial debido a la gran cantidad de aplicaciones de estos productos en aviones, turbinas eólicas, puentes, barcos, automóviles y equipos deportivos, por nombrar algunos. Además, se investigó el potencial toxicológico y de liberación del grafeno y las resinas a base de grafeno considerando la inhalación como la principal vía de exposición a efectos de evaluación de riesgos.

Las mediciones en tiempo real demostraron una alta liberación de partículas por debajo de 1  $\mu\text{m}$ ; sin embargo, estas partículas, según las imágenes SEM, estaban compuestas más bien por materiales de matriz que contenían las partículas incrustadas. Era claramente visible que se obtuvo un nivel de concentración más alto para las muestras meteorizadas, lo que sugirió un impacto significativo del proceso de meteorización en la liberación de partículas de tamaño nano y micro. La distribución del tamaño de las partículas no mostró diferencias en el tamaño de las partículas liberadas, lo que sugiere que el tamaño de las partículas podría estar relacionado con las especificaciones del dispositivo de lijado aplicado.

Nuestros datos sugieren que los compuestos relacionados con el grafeno pueden considerarse materiales seguros teniendo en cuenta la ruta de inhalación.

Se observó la liberación de partículas de diferentes tamaños relacionadas con la pulverización de las pinturas, mostrando un aumento en la concentración y masa de partículas con respecto a las concentraciones de fondo. Además, también se observó el aporte de partículas ambientales de diferentes formas y composiciones, probablemente polvo y materiales provenientes del proceso de aspersión compuestos principalmente por diferentes metales.

No se encontró una diferencia notable en la concentración de partículas debido a la viscosidad de las pinturas, además, no se identificó ninguna población de nanopartículas de grafeno libre mediante microscopía SEM en los filtros muestreados de ninguna de las pinturas probadas. En todos los casos, las partículas parecen estar recubiertas por una gruesa capa de pintura.

Sin embargo, el análisis EDX parece no ser suficiente para determinar la composición de los elementos presentes. Serían necesarias más pruebas para analizar la composición y el espesor de las capas.

Los estudios de toxicidad también concluyeron que el grafeno y las resinas de grafeno tienen un perfil de toxicidad bajo. Sin embargo, se necesita más investigación para especificar los efectos subletales, incluidos los ROS<sup>6</sup> y la inflamación. Sin embargo, se espera que a medida que este marco se complete con estudios adicionales, idealmente utilizando GMR que hayan sido objeto de una caracterización rigurosa, incluida la relación estructura-actividad de estos materiales. De hecho, también es importante pasar de un modelo toxicológico descriptivo a uno predictivo para poder utilizar estos GRM<sup>7</sup> prometedores en múltiples aplicaciones en un contexto seguro para los humanos y el medio ambiente.

En los estudios de toxicidad para la salud, se usaron células humanas para evaluar los efectos en la respiración y la ingestión oral. Para la respiración, se cultivaron células A549 de los fibroblastos humanos en placas de laboratorio y se midió la toxicidad, el estrés oxidativo y la inflamación. Para la ingestión oral, se usó otro tipo de células, carcinoma de colon humano Caco2 y se evaluaron los mismos efectos. Se analizó la viabilidad celular y la generación de especies reactivas de oxígeno mediante indicadores de ROS intracelular. El resultado fue un potencial bajo de toxicidad de grafeno, siendo más sensible por la vía oral.

---

<sup>6</sup> ROS = Reactive Oxygen Species

<sup>7</sup> GRM = Materiales relacionados con el grafeno



## 5 DESARROLLO DE LA APLICACIÓN INFORMÁTICA APP

Queda claro que el uso de NM ofrece beneficios tecnológicos sin precedentes para el sector científico-tecnológico. Sin embargo, a pesar de las grandes inversiones llevadas a cabo en cuestiones relacionadas con la nanoseguridad, la toxicidad y el impacto de los NM sobre el medio ambiente y la salud son aún algo desconocidos. Una fracción significativa de los esfuerzos se ha centrado en el estudio de la exposición ocupacional y la seguridad del consumidor como áreas prioritarias que resultan de la falta de información sobre los riesgos potenciales que plantean los NM utilizados en la actualidad.

Las medidas de seguridad de las empresas pueden minimizar los riesgos de exposición a los NM, pero aun así pueden ocurrir liberaciones accidentales que de forma puntual los eleve a niveles nocivos.

Organizaciones internacionales como NIOSH han establecido límites cualitativos de exposición recomendados (REL), pero la opción deseable sería una evaluación cuantitativa.

Por todo ello, la industria relacionada con la tecnología de nanomateriales necesita herramientas de valoración de riesgos en este sentido, y las que existen requieren una amplia experiencia y conocimiento de la nano-seguridad.






### 5.1 ESTADO DE LA TÉCNICA

No existen en la actualidad aplicaciones móviles focalizadas en la gerencia de los riesgos de procesos y siniestros vinculados con el sector de la nanotecnología. Por tanto, NanoSerpA se considera un producto innovador y de alto impacto, emergiendo como la primera APP del mercado diseñada para la gerencia de riesgos y peritación de daños en procesos y/o accidentes con nanomateriales. Las empresas basadas en la nanotecnología necesitan seguros específicos debido a su tecnología. El objeto de un seguro es garantizar que el

asegurado reciba el pago de una indemnización tras producirse un incidente que produzca daños, incluida la salud y el medio ambiente.

En la siguiente tabla se muestran ejemplos de APPs que representan el estado de la técnica más cercano a nuestra aplicación.

**Tabla 7. Aplicaciones disponibles para la gerencia de riesgos y peritación**

APP	Características	Desventajas
	<b>Perito Line:</b> App para la gestión integral de despachos periciales donde se reciben encargos de peritaje de múltiples aseguradoras y diversos peritos deben atender los siniestros e incidentes reportados por los tomadores de pólizas de seguro y/o los perjudicados de incidentes en riesgos diversos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ausencia de sistemas de evaluación de riesgo</li> <li>• No consideración de NMs</li> <li>• No consideración de riesgos industriales</li> </ul>
	<b>SOS Perito:</b> Ofrece asesoramiento pericial del sector asegurador. Permite realizar consultas sobre un siniestro o aseguramiento de vivienda, comunidad, comercio o empresa.	
	<b>Allianz ConnX:</b> permite evaluar los daños ocurridos en sus bienes asegurados con una peritación digital (vía dispositivo Android), remota y en contacto directo con los Empleados, Agentes y Peritos de Allianz	
	<b>HSE Q:</b> App dedicada al Análisis de Riesgos para técnicos y trabajadores, Consultoría en gestión integral de riesgo, seguridad, salud y cuidado de ambiente para la industria química, petrolera, agrícola, agroindustrial, etc.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• App solo informativa</li> <li>• No integra análisis de datos</li> </ul>
	<b>6conecta:</b> App para la gestión de prevención de riesgos laborales y coordinación de actividades empresariales. Permite investigación de accidentes, planes de acción, anexar fotos y archivos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ausencia de sistemas de evaluación de riesgo</li> <li>• No consideración de NMs</li> <li>• No consideración de riesgos industriales</li> </ul>

NanoSerpA constituye una aplicación realmente disruptiva, en especial en el caso del sector de la gerencia y peritaje de riesgos. Su alto grado de innovación no surge del empleo

de aplicaciones móviles en el sector, sino de la integración en una misma aplicación de algoritmos de cálculo basados en un conocimiento científico procedente de proyectos de I+D en seguridad de nanomateriales, que permitirán al perito o el responsable de prevención de riesgos laborales de una empresa llevar a cabo una evaluación de riesgos ágil y sencilla para el caso específico de procesos y siniestros donde intervienen los nanomateriales.

El imparable crecimiento de la nanotecnología, estimado en un 25 % anual (A. Galera, 2017), unido al interés de entidades de renombre en el sector de los seguros como la Fundación Mapfre o la Geneva Association, ha convertido este sector en un nuevo nicho de mercado caracterizada por la incertidumbre asociada a los riesgos de los materiales en la escala del nanómetro, cuyas propiedades fisicoquímicas se relacionan con efectos adversos en la salud (Knanna et al., 2015), y la ausencia de métodos de evaluación del riesgo.

En la actualidad, las aplicaciones a disposición de técnicos de prevención o gerentes de riesgos pertenecientes al sector de las aseguradoras se limita a modelos clásicos de “Control Banding”, que utilizan un número limitado de factores para evaluar el riesgo, y modelos matemáticos complejos como el Advanced REACH Tool o Stoffenmanager®, ambos basados en complejas ecuaciones de transferencia de masas, y que permiten obtener una estimación numérica del nivel de exposición, sin embargo su uso resulta complejo, y las ecuaciones de cálculo deben revisarse para su uso en la evaluación de la exposición a NMs (Fadeel et al., 2018).

En la siguiente tabla se comparan las principales herramientas de apoyo para la evaluación de los riesgos de nanomateriales:

**Tabla 8. Métodos cualitativos actuales de apoyo para la evaluación del potencial de exposición de NMs**

Modelo	BBD peligro	Eval. Riesgo	Inf. Periciales	Informes de Consecuencias	Algoritmos	Ref.
NanoSerpA	✓	✓	✓	✓	Tasa de emisión (Ei) Pulverulencia (Eo)	No Aplica
NanoSafer	✗	✓	✗	✗	La tasa de emisión (Ei)	Kristensen, HV, Hansen, SV, Holm GR, 2010
Stoffenmanager Nanomodule 1.0	✗	✓	✗	✗	Pulverulencia (Eo) Energía de actividad (hi)	Van Duuren-Stuurman et al., 2012)
ECETOC TRA	✗	✓	✗	✗	No incluye	ECETOC, 2014) (ECHA, 2012)
SUNDS	✗	✓	✗	✗	La tasa de emisión (Ei) Pulverulencia (Eo) Energía de actividad (hi)	Pizzo, L, 2019

Como se deriva de la tabla anterior, nuestro sistema, NanoSerpA, es del todo distinto, incorporando un diseño adaptado a la labor del perito y el técnico de prevención. Las características diferenciales que destacan incluyen:

- Operado en APP
- Diseñado para la realización de informes periciales, con capacidad para su edición en base las características del cliente
- Permite la evaluación de accidentes in situ, además de la estimación de daños sobre la propia localización del accidente

- Implementa la base de datos de peligros de nanomateriales, generando índices de riesgo
- Incluye funciones específicas para el cálculo económico de daños

Cabe mencionar además la alineación de proyecto a las necesidades del sector de la nanotecnología. A este respecto el proyecto aporta una innovación de gran relevancia para promover la comunicación efectiva de los riesgos de la nanotecnología, punto clave remarcado un artículo reciente publicado en Nature Nanotechnology por Finbarr Murphy (Murphy et al., 2017), donde además se remarca la necesidad de generar herramientas basadas en principios científicos sólidos y adaptadas a los requisitos legales aplicables al sector de la gerencia de riesgos y seguros.

Al margen de las herramientas comentadas, en el sector de la gerencia de riesgos, hasta la fecha únicamente la compañía alemana TÜV SÜD, en cooperación con la compañía Suiza “The Innovación Society”, lanzó en 2008 un sistema de certificación de gestión y monitorización del riesgo adaptado a las necesidades de los nanomateriales denominado CENARIOS<sup>®</sup>.

CENARIOS es un estándar documental de gestión certificable, no es una aplicación software. No obstante, en 2016 fue incorporado dentro de la herramienta de evaluación del riesgo SUNDS, que permite a las empresas conocer el nivel de cumplimiento con las exigencias de CENARIOS, orientándose por tanto a la evaluación de la seguridad en instalaciones industriales.

Por otro lado, la aplicación informática NanoSerpA tendrá un impacto notable en la gestión empresarial, y en particular en los siguientes ámbitos:

## 5.2 EMPRESAS FABRICANTES Y USUARIAS DE NANOMATERIALES

- Toma de decisiones para el diseño seguro de nanomateriales: la App permitirá a las empresas estudiar qué tipos de recubrimientos utilizar para reducir la exposición y peligro en origen, aspecto que promoverá el desarrollo de nuevos productos, además de un menor daño en caso de accidentes
- Selección de medios de protección: la App permitirá seleccionar medios adecuados para el control de la exposición y sistemas de filtración efectivos en los focos de emisión, favoreciendo la mejora continua de procesos y productos. Este aspecto tendrá un especial impacto en el área de producción, compras y medio ambiente de la empresa, reduciendo posibles indemnizaciones en caso de accidentes.
- Evaluación y comunicación de riesgos: la App permitirá una evaluación de riesgos ágil por parte de los técnicos de prevención. Las funciones de comunicación de la App permiten la comunicación ágil al personal de los equipos de protección a utilizar, además de la comunicación y gestión de los riesgos de los productos que se manipulan en la empresa. La App podrá conectarse con otros sistemas informáticos de la empresa, promoviendo la evolución hacia la implementación de soluciones tipo industria 4.0.

## 5.3 PROCESO DE DISEÑO Y DESARROLLO

El smartphone es el punto de confluencia de mucha de la información que se genera en las empresas y la más accesible, por ello la App NanoSerpA se ha concebido como un sistema de mejora de los procesos de peritaje de riesgos, mejorando la comunicación con el cliente, además de aportar un nuevo producto que mejora los servicios de peritaje en el caso de un nuevo riesgo emergente, como es la exposición a nanopartículas.

La implementación de la App NanoSerpA para la gestión en tiempo real de información relativa a los peligros y potencial de exposición a nanopartículas, adquirida a través de bases de datos y modelos predictivos diseñados para a los distintos escenarios industriales de proceso y accidente, representa además un nuevo hito hacia la aplicación de soluciones de industria 4.0 por parte del sector de la gerencia de riesgos.

La App permitirá además de ahorrar tiempo, optimizar los procesos, y la promoverá la retención de clientes, quienes, con nuevas expectativas en su relación con las aseguradoras, serán muy sensibles a su capacidad de adaptación.

El objetivo que nos planteamos en este apartado es el diseñar una aplicación de uso sencillo para la evaluación de riesgos de los ENM de la industria, en el sector de los seguros. Para dotar de un enfoque científico al desarrollo de la aplicación (que se ha denominado “NanoSerpA”), se ha seguido la metodología “Design Science Research” (DSR) 12 propuesta por Peffers, et al. (2008) [47] cuyos pasos se resumen en el siguiente esquema:

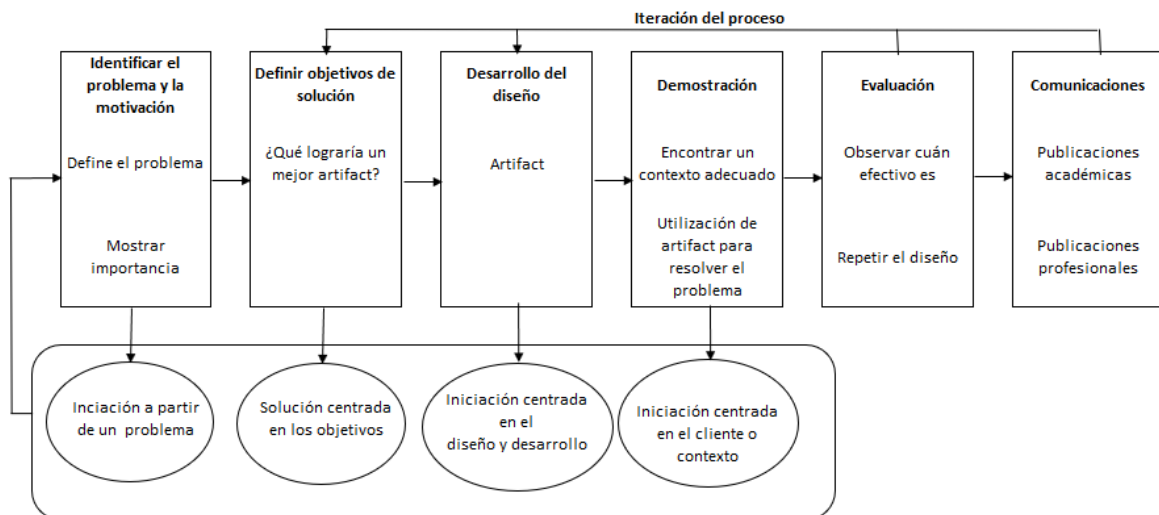


Figura 12. Esquema de la metodología Design Science Research in information Systems

Con esta metodología se busca dotar de rigor científico al desarrollo de aplicaciones informáticas caracterizado porque se soluciona un problema relevante, de forma original y novedosa, cuya contribución se comprueba empírica y finalmente se evalúa por la comunidad científica. A continuación, se explican en detalle cómo se ha realizado cada uno de los pasos de este proceso.

## 5.4 IDENTIFICAR EL PROBLEMA Y MOTIVACIÓN

La problemática detectada, falta de información toxicológica por el manejo de los nanomateriales, surge de la gran influencia de la nanotecnología en el desarrollo industrial a nivel mundial, siendo considerada como una de las seis tecnologías “facilitadoras” del proceso de avance industrial.

Pese a esta influencia positiva, también se observa sus efectos adversos, llegando a producirse la necesidad de modificarse el reglamento 1907/2006 relativo al Registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias químicas (REACH).

Lo que nos ha llevado a idear la creación de una aplicación software “APP” para realizar de forma rápida informes de riesgos sobre la influencia de los nanomateriales en entornos industriales y materiales de edificación. Y que tengan en cuenta ciertos parámetros de entrada del usuario: **1)** tipo de nanomaterial; **2)** cantidad de nanomateriales involucrados en el accidente; **3)** proceso que se estaba llevando a cabo (síntesis, fabricación, etc.); **4)** tipo de accidente (incendio, explosión, etc.); **5)** comentarios opcionales sobre el accidente. Y con ello obtendremos unos resultados de peligrosidad e índices de riesgo.

Para el desarrollo de esta idea, hemos contactado con colaboradores con ITENE y con la UIJ y, le hemos llamado al proyecto “nanoSerpA” financiado parcialmente por el IVACE

En la actualidad, todavía falta información sobre los límites de umbral para la exposición ocupacional. Organizaciones internacionales como NIOSH han establecido límites de exposición recomendados (REL) para un tipo limitado de partículas como TiO<sub>2</sub> ultrafino, nanotubos de carbono y nanofibras. Hasta la fecha, se han adoptado diferentes enfoques para evaluar el riesgo de exposición a NM en el lugar de trabajo. La opción ideal sería realizar un análisis cuantitativo, evaluación mediante la realización de mediciones experimentales en el propio entorno de trabajo con dispositivos como los mencionados anteriormente (CPC, OPC, OPS, SMPS, etc.). Sin embargo, esta opción no siempre es posible, por lo que se suelen utilizar métodos cualitativos. Estos métodos se pueden utilizar



para hacer una primera aproximación o diagnóstico de la higiene. situación derivada de la presencia de agentes químicos y de las necesarias medidas preventivas en cada caso.

Por ello, dada la escasez de datos toxicológicos y de ecotoxicidad de nanomateriales, y la importancia de valorar y gestionar los riesgos asociados a la producción uso y manipulación de estos materiales, así como de accidentes relacionados con estas actividades, surge la idea del desarrollo de soluciones informáticas basadas en datos robustos de toxicidad y exposición.

En este contexto, es importante incorporar el uso de las nuevas tecnologías como herramienta para facilitar y mejorar la realización de evaluaciones de riesgo. La novedosa aplicación para smartphones, NanoSerpA, ha sido desarrollada para ser utilizada como una biblioteca para buscar y consultar las propiedades de nanomateriales existentes y para elaborar fácilmente informes de accidentes en los que estén involucrados nano materiales. Sus usuarios potenciales son las Cías. de Seguros, técnicos de prevención de riesgos laborales, peritos y estudiosos de la materia.

Para la identificación de las necesidades y motivación de los usuarios potenciales se realizó una encuesta que incluye un total de 40 preguntas relativas al conocimiento de los riesgos de los nanomateriales y su gestión, permitiéndonos identificar, por un lado:

- a) El sector de las empresas, el tamaño y
- b) Si contaban con algún tipo de seguros

Para ello se distribuyó un cuestionario completo [véase Anexo 8] donde se recogían cuestiones relativas al uso actual de los nanomateriales en la empresa, tipo de nanomateriales, características, cantidades, frecuencia de uso, formación del personal implicado, acciones o medidas de gestión del riesgo específicas para nano materiales, entre otras. Los cuestionarios se distribuyeron entre empresas que trabajan directa o indirectamente con nanomateriales, centros de investigación, gestores de riesgos y clústeres o asociaciones industriales, hasta obtener una muestra representativa de 100 respuestas [eran empresas españolas].

Ello nos dio una idea de cuál es el conocimiento actual en cuanto a gestión del riesgo relacionado con nanomateriales, la problemática a la que se enfrentan a la hora de peritar o valorar los riesgos en cuanto a trabajos relacionados con nanomateriales y cuáles son las lagunas de conocimiento en las que profundizar.

## 5.5 RESULTADOS DE LA ENCUESTA

En primer lugar, hay que decir que la mayoría de los participantes provienen del sector de la investigación. Así pues, tenemos: Distribución de sectores industriales

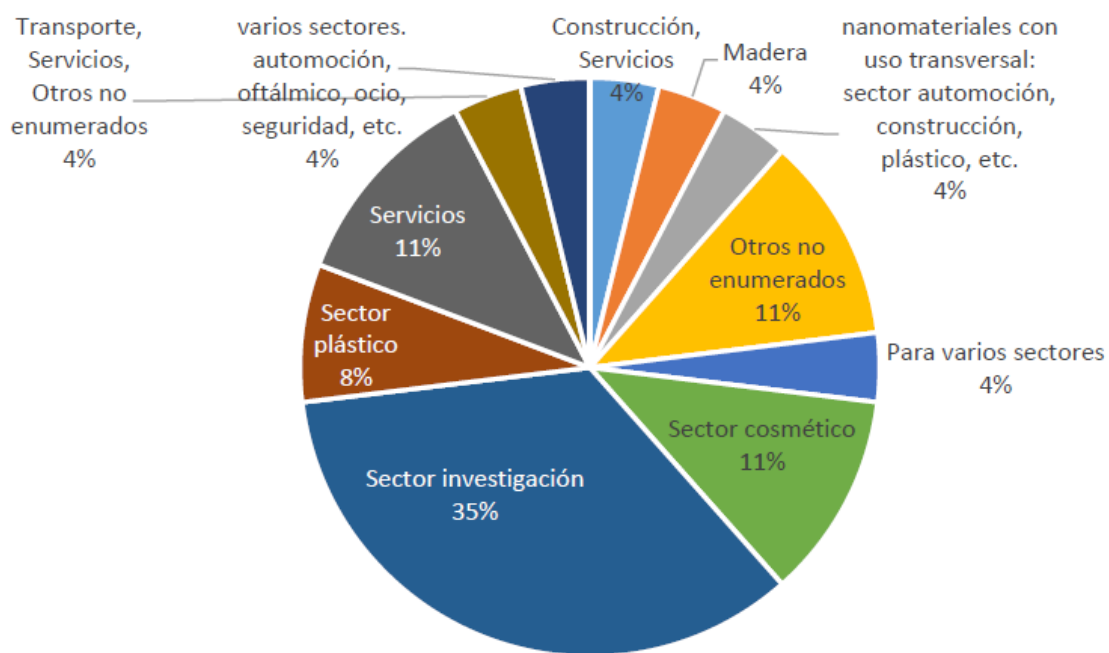


Figura 13. Distribución de sectores industriales

Las grandes empresas (más de 100 trabajadores) y las muy pequeñas (de 1 a 5) ocupan casi un 90% de las respuestas, dejando un 10% de empresas medianas (de 6 a 50 trabajadores).

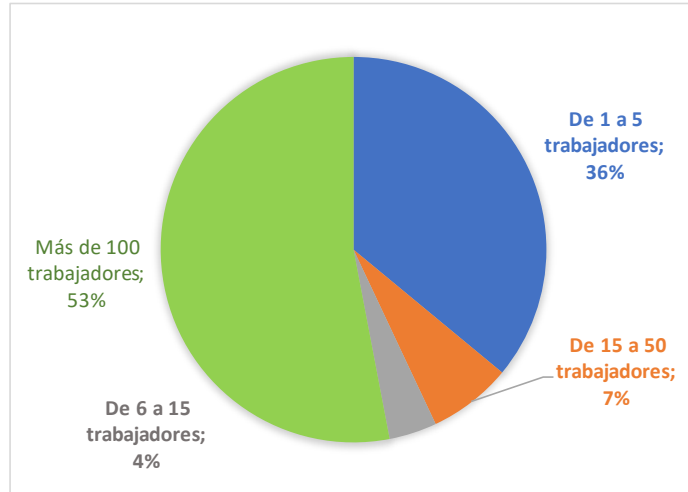


Figura 14. Tamaño de la empresa.

La mayoría de las respuestas procedían de fabricantes de nanomateriales, usuarios intermedios o consumidores

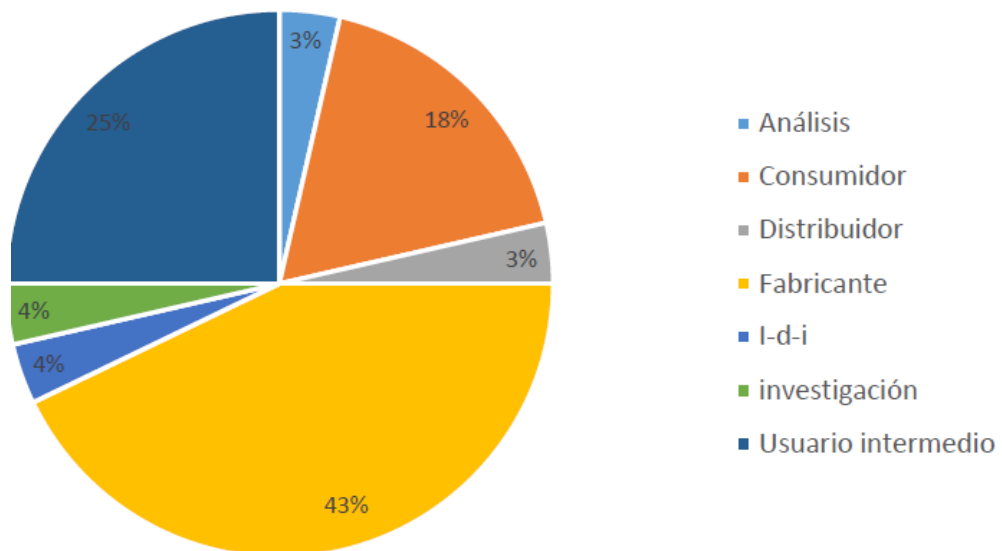


Figura 15. Usuarios

Las finalidades con las que se utilizan los nanomateriales fueron bastante variadas, desde formulaciones hasta el uso de nanomateriales para optoelectrónica o en plásticos.



Figura 16. Usos y finalidades de los nanomateriales

El 66% de los encuestados disponen de algún tipo de almacenado de nanomateriales, mostrándose las cantidades en la siguiente figura. La mayoría de las empresas que almacenan nanomateriales, lo hacen en una cantidad de 1 a 100 kg, y sólo en un caso se dispone de un almacén específico de nanomateriales, diferenciado del resto de productos almacenados.

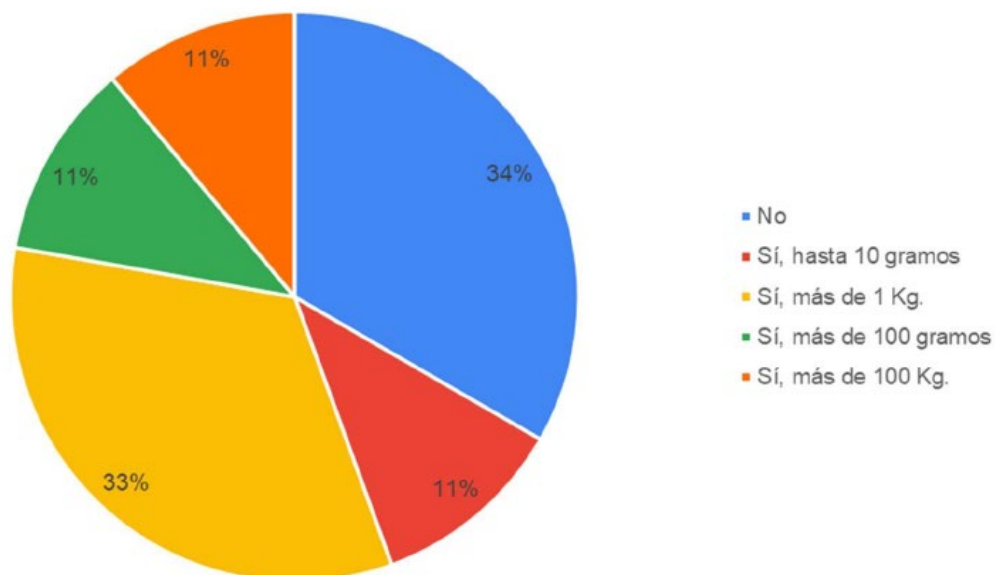


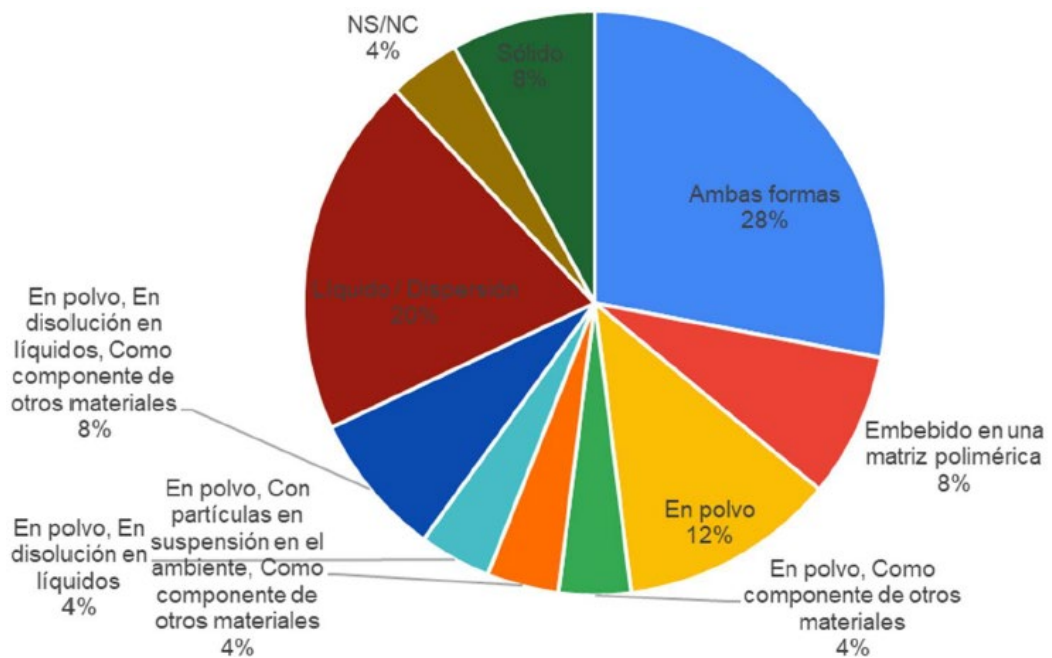
Figura 17. Cantidad de nanomateriales almacenada en las empresas

Un 75% de los encuestados afirma tener zonas diferenciadas para la manipulación de nanomateriales, siendo un tercio de estas herméticas

**Información sobre los nanomateriales**

La mayoría de los encuestados sabían lo que es un nanomaterial. Esto nos indica que el criterio con el que se han respondido las diferentes preguntas es lo suficientemente bueno como para ser analizadas. Ese mismo porcentaje asociaba el grafeno como un nanomaterial, y conoce las ventajas y propiedades técnicas de los nanomateriales y/o grafeno en la tecnología, medicina, energía, nutrición, cosméticos, nuevos materiales, electrónica, biotecnología. Un porcentaje algo menor (78%) sabe que hay distintos tipos de grafeno y sabe cómo identificar su presencia o la de otros nanomateriales en un determinado producto.

Aproximadamente un tercio de los encuestados saben que los envases que contienen nanomateriales han de ser especiales para maximizar la seguridad, pero la gran mayoría (un 78%) no está en contacto con los fabricantes de nanomateriales para desarrollar nuevos productos más eficientes. Un 36% de los participantes trabajaban con nanomateriales en polvo o en estado sólido, un 20% en estado líquido y un 28% en ambas formas.



**Figura 18. Naturaleza de los nanomateriales**

**En cuanto a la disponibilidad de datos:**

- a) Alrededor de 2/3 de los encuestados disponen de información morfológica de los nanomateriales con los que trabajan.
- b) Más de la mitad (54%) dispone de información sobre biopersistencia y solubilidad de los nanomateriales.
- c) Poco más del 40% dispone de datos sobre la capacidad de emisión de polvo de un producto que contiene nanomateriales.
- d) Tan solo un tercio de los encuestados dispone de información acerca de la inflamabilidad de un producto que contiene nanomateriales y/o de la liberación de estos nanomateriales a causa de un incendio.
- e) La mayoría de los encuestados trabaja con nanomateriales basados en carbono (grafeno, nanotubos, nanofibras, etc) u óxidos metálicos.

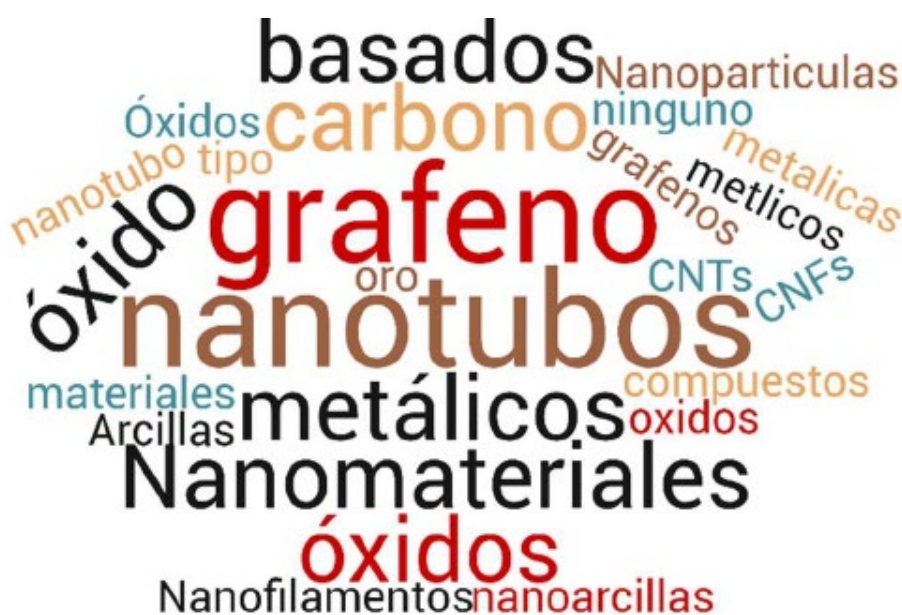


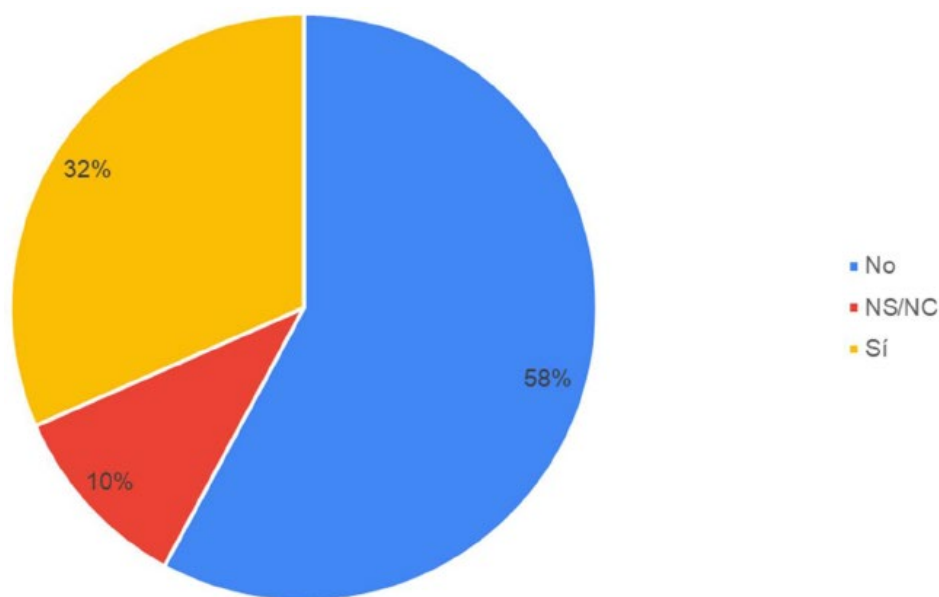
Figura 19. Tipos de nanomateriales

**En cuanto a la exposición a nanomateriales:**

La mayoría de encuestados (58%) afirma no estar expuesto a nanomateriales.

Del 32% que dice estar expuesto a nanomateriales, un 11% está expuesto únicamente al grafeno, mientras que el 45% está expuesto a nanomateriales en general. Sin embargo, casi el 90% de los encuestados cree que hay que tener alguna precaución para la seguridad y la salud en el manejo de los nanomateriales y/o grafeno.

Más de la mitad (54%) de los encuestados tiene la obligación de identificar, evaluar y controlar los riesgos por exposición a nanomateriales y/o grafeno, aunque un 50% no sabe que procesos conducen mayoritariamente a la liberación de partículas nanométricas y/o grafeno.



**Figura 20. Exposición a los nanomateriales**

Casi todos los encuestados saben cuáles son las posibles vías de entrada de nanomateriales en el cuerpo humano, siendo la vía respiratoria y la dérmica (incluyendo mucosa ocular) las más conocidas. Mientras que más de un 50% de los encuestados sabe cuál es la frecuencia de exposición a nanomateriales en su empresa, sólo un 22% sabe a qué concentraciones y durante cuánto tiempo.

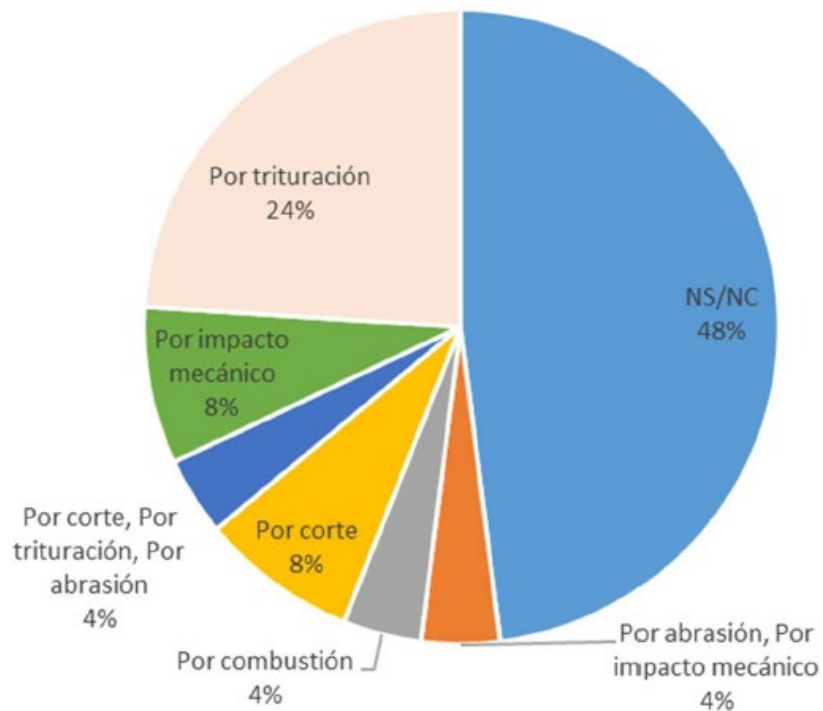


Figura 21. Procesos que favorecen la exposición a los nanomateriales

El siguiente gráfico muestra si las empresas tienen en cuenta la exposición laboral a nanomateriales en las distintas fases del ciclo de vida de los nanomateriales.

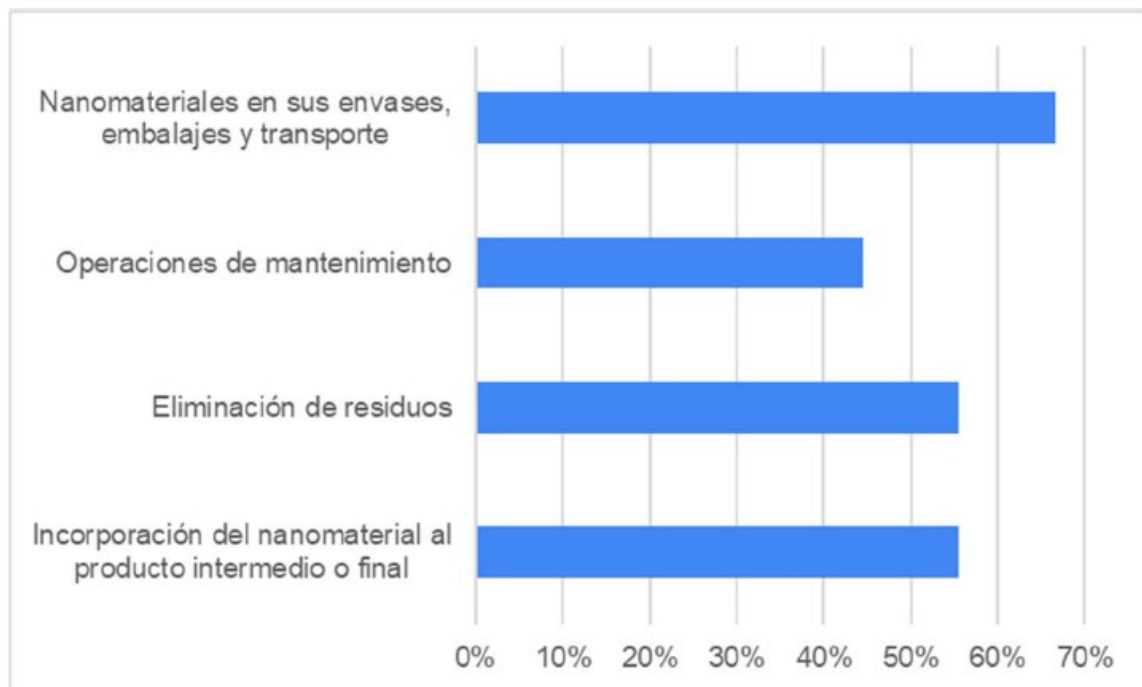
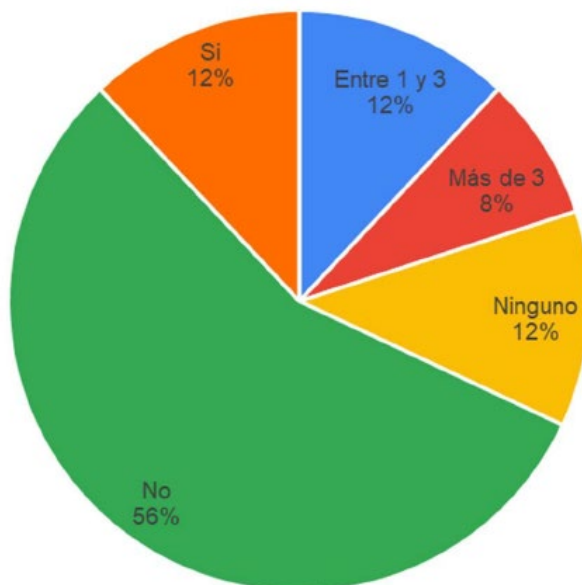


Figura 22. Actividades con exposición a nanomateriales



### Accidentes relacionados con nanomateriales

Un tercio de los encuestados afirma haber tenido 1 o más accidentes relacionados con nanomateriales. Un 84% dispone de un servicio de prevención ajeno, aunque sólo un 11% no dispone de ningún tipo de servicio de mantenimiento preventivo para la maquinaria.



**Figura 23. Porcentaje de accidentes relacionados con los nanomateriales**

Entre los posibles escenarios que pueden producirse cuando se trabaja con nanomateriales, las respuestas incluían derrames, caídas, fugas, emisiones de gases e incendios. La mayoría de estos escenarios (alrededor de un 60%) se consideraron a escala de laboratorio. Todos los encuestados piensa que los accidentes relacionados con nanomateriales pueden producir daños en bienes, personas o al medio ambiente. Las proporciones se muestran a continuación. Sólo uno de los encuestados ha llevado a cabo una valoración económica de los posibles daños.

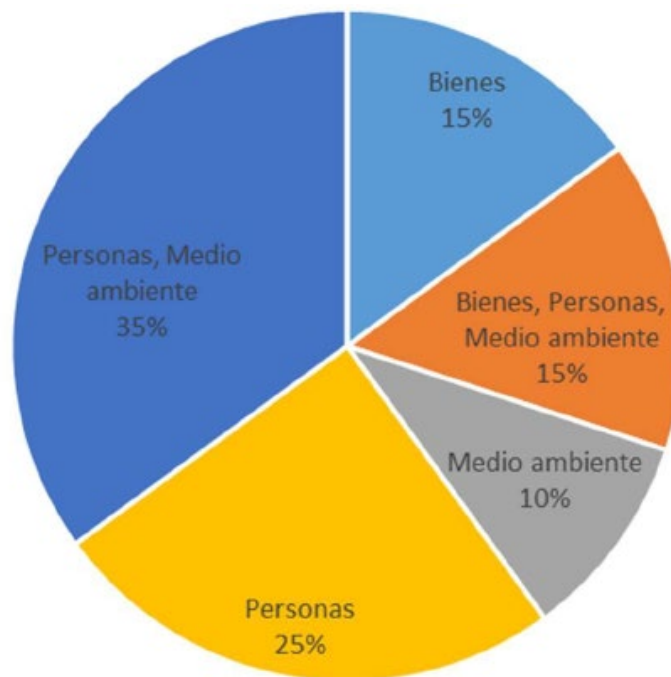


Figura 24. Porcentaje de daños producidos al medio ambiente

#### Aspectos regulatorios y normativos

Tan solo 7 de los encuestados disponen de alguna norma internacional de clasificación, mencionándose la ISO 9001 y la ISO 14000; mientras que 2 disponen de algún sistema de control de la producción (LEAN, SAP, CAP, MRP u otra).

La mayoría de los encuestados que respondieron a la pregunta de la disposición de una póliza de seguros para Responsabilidad Civil (8 de 9), respondieron que sí (de algún tipo), mientras que sólo 6 de estos 9 respondieron que sus proveedores y empresas de mantenimiento disponen de una póliza de seguros de Responsabilidad Civil.

Tan sólo 2 de los encuestados afirma haber solicitado un peritaje de riesgos.

#### Medidas de gestión de riesgo

La mayoría de encuestados (casi el 90%) indicaron que en su empresa se toma algún tipo de medida de protección para la salud y/o el medio ambiente cuando está en presencia de nanomateriales.

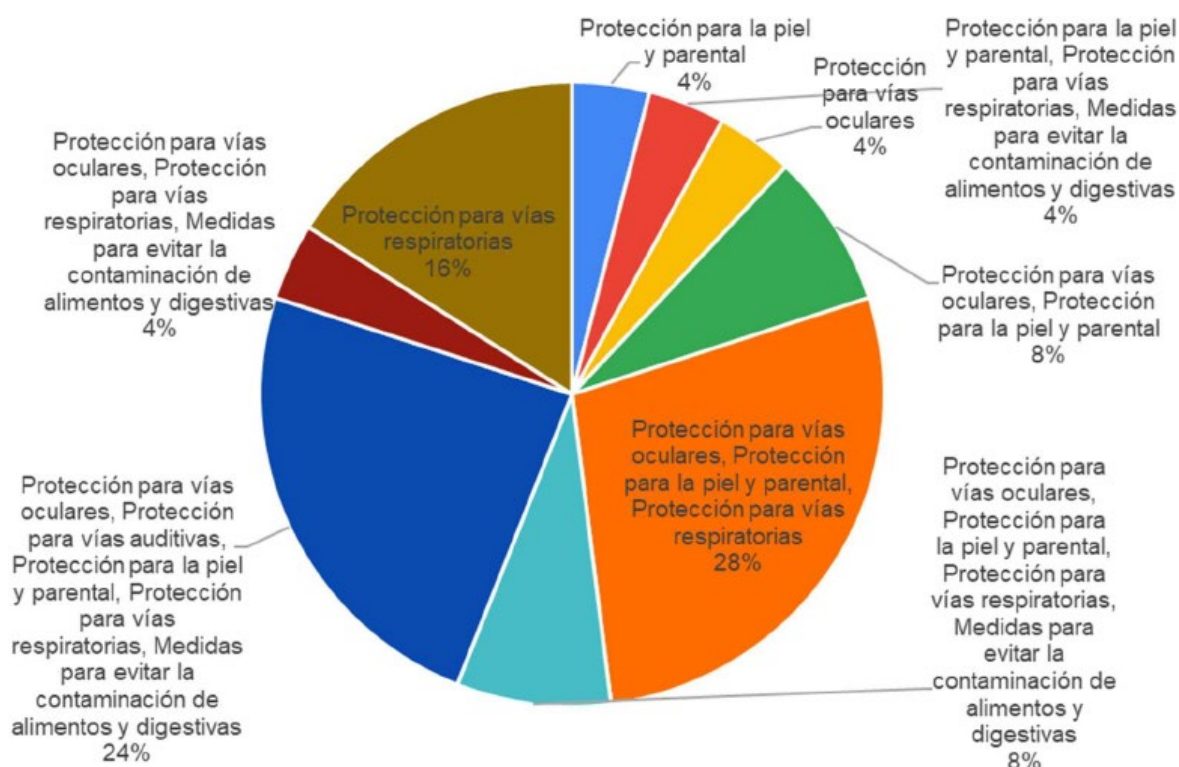


Figura 25. Medidas de gestión del riesgo

Tres cuartas partes de los encuestados afirma que en su empresa se actualiza y revisa la evaluación de riesgos en la empresa con relación a los nanomateriales y/o grafeno, aunque sólo un tercio dispone de un control de los valores límites ambientales de nanomateriales.

### Evaluación del interés

Un 78% de los encuestados piensa que se ha de investigar más en las implicaciones que tiene para la salud y el medio ambiente la utilización de nanotecnología y/o grafeno en su uso diario. Un 59% muestra interés en una aplicación (software) que le facilitara medidas para la gestión de accidentes, mientras que un 88% muestra interés en una aplicación que facilitara información acerca de propiedades de nanomateriales o nanoprodutos (incluyendo propiedades toxicológicas).

La valoración media de la encuesta ha sido de un 7,12 sobre 10.

### Conclusiones

La mayor parte de los encuestados sabe que los nanomateriales pueden suponer un riesgo para la salud humana y para el medioambiente, lo que supone una necesidad clara de ofrecer a los potenciales usuarios una herramienta para intentar minimizar estos riesgos. El aspecto más importante a tener en cuenta es que la mayoría de los encuestados que afirman trabajar con nanomateriales, estarían interesados en usar la App cuando esté disponible, ya que podría ayudarles en su día a día para la identificación de riesgos potenciales relacionados con éstos.

**NOTA:** La encuesta realizada se puede ver en al **Anexo Encuesta de Nanotecnología y grafeno**.

## 5.6 DEFINIR LOS OBJETIVOS DE LA SOLUCIÓN

La revisión del estado del arte [10] [24] y la encuesta realizada nos ha permitido averiguar que existen muchas lagunas en lo concerniente a la seguridad de la utilización de nanomateriales por la industria y por el usuario final.

Y hemos comprobado que la problemática actual se centra especialmente en:

- El potencial de uso de los nanomateriales para fomentar el desarrollo económico ha derivado en el reconocimiento de la nanotecnología como una de las 6 tecnologías facilitadoras esenciales de la Unión Europea, con un mercado mundial estimado de 2 billones de euros.
- Pese a los beneficios de la nanotecnología, puede ser origen de efectos adversos en la salud y la seguridad, al plantear un alto riesgo de incendio o explosión.
- Además, el 1 de enero de 2020 entraron en vigor la modificación de diversos anexos del reglamento 1907/2006 relativo al Registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias químicas (REACH) para garantizar una evaluación eficiente de los riesgos asociados a los nanomateriales.

- Por suerte, las organizaciones internacionales como NIOSH, han establecido límites de exposición recomendados (REL)

Ello, nos ha llevado a establecer como objetivo final de la aplicación informática la realización rápida de informes de riesgos laborales por los responsables de las empresas, servicios de prevención, peritos y cualquier otro que así lo considere necesario para su actividad, fabricación y aplicación de nanomateriales en entornos industriales y materiales de edificación.

También se ha podido constatar, y es un reto tecnológico para este proyecto, la escasez de información relativa a:

- Las propiedades toxicológicas y ecotoxicológicas y a la exposición de nanomateriales como nano-óxidos metálicos y materiales grafénicos.
- La identificación imprecisa de los escenarios de exposición en entornos industriales, especialmente en caso de accidente o siniestro.
- La falta de datos de liberación de nanopartículas resultado de humedad, radiación UV y otros factores de stress ambiental.
- También la gran cantidad de estimaciones imprecisas y no estandarizadas del alcance de daños para la salud humana, material y medioambiental de la exposición incontrolada a nanomateriales, debido a esa escasez de datos en escenarios determinados.

Así pues, en este contexto de incertidumbre, el principal reto de este proyecto es facilitar al sector de la gerencia de riesgos, y las empresas fabricantes y/o usuarias de nanomateriales, la correcta evaluación, gestión y peritaje de procesos y siniestros vinculados al sector de la nanotecnología. Para ello, en este proyecto de investigación se apuesta por el uso de las tecnológicas de la información, de la electrónica y de las comunicaciones (TEICs), y en particular en el uso del potencial de las aplicaciones informáticas instalables en teléfonos móviles inteligentes y tablets, conocidas

comúnmente como APPs, distribuidas habitualmente a través de plataformas digitales como Google Play Store el App store de la mercantil Apple Inc.

El objetivo principal de la nueva App diseñada para su funcionamiento en dispositivos móviles y dirigida a la evaluación, investigación y cuantificación económica del impacto en la salud y el medio ambiente de accidentes en entornos industriales donde se producen y/o manipulan nanomateriales. Para ello, es necesario centrarse en los objetivos específicos del proyecto para que el resultado sea óptimo y son:

- Recopilación y generación de información relativa a las propiedades toxicológicas y ecotóxicas de nanomateriales empleados en entornos industriales y de edificación, y en particular, nano-óxidos metálicos y materiales grafénicos.
- Conocer los potenciales de exposición a este tipo de materiales, tanto durante operaciones habituales de procesamiento, como durante posibles accidentes en entornos industriales.
- Definir los daños específicos en la salud derivados de la exposición aguda y/o crónica, mediante la evaluación cuantitativa del alcance de daños para la salud humana, material y medioambiental de la exposición incontrolada a nanomateriales previamente seleccionados.
- Establecer la probabilidad de incendio y explosión en las distintas etapas del ciclo de vida de los nanomateriales objeto de estudio.
- Buscar en su base de datos la peligrosidad del nanomaterial involucrado
- Desarrollo de una serie de relaciones y algoritmos y dirigida a la evaluación cuantitativa, estandarizada y robusta de los riesgos de los NMs en posibles escenarios de accidente en instalaciones industriales.
- Implementación de la información anterior en un modelo que facilite la evaluación y peritaje de los riesgos asociados a los accidentes en los que hay nanomateriales implicados.

Así pues, ponemos el foco en el diseño de una aplicación que permita a los usuarios identificar procesos y escenarios de riesgo asociados a los nanomateriales, acceder de forma ágil a información sobre los aspectos toxicológicos de los nanomateriales, y dotar al

sector de la gerencia de riesgos de una herramienta, de una aplicación, que podrá ser parametrizada y configurada por profesionales del sector de los seguros, mutuas y peritajes para llevar a cabo evaluaciones de riesgo e informes periciales basadas en la información más actual publicada en materia de seguridad de nanomateriales.

Teniendo en cuenta que la solución TEIC resultado del proyecto debe ser una solución utilizable para múltiples usuarios y no puede consistir en soluciones a medida, vamos a concretar los usuarios potenciales a los que se dirige el nuevo producto.

El resultado del proyecto, en este caso la APP NanoSerpA, se dirige dos sectores o mercados:

- A.** Fabricantes y/o usuarios de nanomateriales
- B.** Gerentes de riesgos y peritos de seguros dentro del segmento de No Vida, donde se incluyen seguros de responsabilidad civil, accidentes en el lugar de trabajo y multirriesgo, donde se consideran los daños del continente, local industrial donde se lleva a cabo la actividad y su estructura y el contenido, mobiliario, maquinaria, equipos informáticos, etc.

Se utilizará como es estrategia de distribución la plataforma Google Play Store, modo habitual de distribución digital de aplicaciones móviles para los dispositivos con sistema operativo Android, que permite a los usuarios navegar y descargar aplicaciones, juegos, música, libros, revistas y películas para Android, garantizando la ventaja del cubrimiento del 58 % de los usuarios de teléfonos móviles inteligentes.

La fórmula de presentación se basará en la fórmula de “in-app purchase”, en castellano “compras dentro de la aplicación”, ofreciendo la descarga de la aplicación al usuario de forma gratuita, considerando que el interés inicial es la fidelización de los usuarios de la aplicación.

Los objetivos se traducen en un conjunto de requerimientos de diseño para la correcta su interpretación por parte de los informáticos encargados de programar la aplicación.

## 5.6.1 Requerimientos de diseño

La aplicación NanoSerpA no constituye por tanto una solución a medida sino de aplicación general para cualquier usuario. Se concibe desde su origen como una aplicación definida en base a los requerimientos de información necesarios para el análisis y evaluación de los riesgos derivados de accidentes donde intervienen NMs o productos basados en NMs, comúnmente conocidos como nanoproductos, como es el caso de nuevos materiales recubrimientos formulados con NMs o nuevos materiales de alta resistencia que contienen NMs en su matriz.

El concepto del proyecto NanoSerpA radica en la necesidad de evaluar de forma objetiva las consecuencias de los potenciales daños provocados por un accidente donde intervienen nanomateriales sobre la salud de las personas, los bienes y el medio ambiente.

Para tal fin, es necesario conocer los datos globales de exposición y ecotoxicología de nanomateriales de los NMs empleados, estudiar el potencial de exposición tanto en operaciones habituales de procesamiento como situaciones de stress que faciliten y precisen la evaluación y cuantificación estandarizada del impacto y los riesgos para la salud, bienes materiales y medio ambiente, durante posibles accidentes en entornos industriales, y establecer la probabilidad de incendio y explosión en las distintas etapas del ciclo de vida de los nanomateriales objeto de estudio.

Esta nueva aplicación aprovechará las prestaciones de los actuales teléfonos inteligentes para garantizar la realización de evaluaciones de riesgos integrales, la estimación de la probabilidad de exposición, incendio y/o explosión, y la generación de informes periciales con multitud de posibilidades de formato y múltiples opciones de edición, presentación y análisis de información, incluyendo gráficas, imágenes, posicionamiento y texto.



Los principales casos de USO de la aplicación son los siguientes:

---

**A. Gerencia de riesgos**

Los servicios de gerencia de riesgos se focalizan en el estudio de los mecanismos de protección necesarios y las soluciones más viables para conseguir minimizar los siniestros, y por tanto la pérdida. Así, el empresario dispone de una herramienta indispensable en las decisiones de la empresa, determinando la asunción del riesgo en su totalidad, en parte o en nada.

**B. Peritaciones de parte del asegurado**

El personal técnico realiza peritaciones de parte del asegurado, defendiendo la indemnización máxima justa y real tras el estudio minucioso del siniestro y de la póliza de seguros contratada. En el marco de esta línea, el que suscribe actúa como ingeniero perito realizando periciales judiciales, periciales para incendios, inundaciones y accidentes de todo tipo.

**C. Peritación de daños por incendio**

El personal técnico es especialista en resolver este tipo de siniestros, estudiando, verificando y calculando de acuerdo con los contratos establecidos en las Pólizas de Seguro de las Compañías Aseguradoras, la propuesta de indemnización que corresponde y ofreciendo apoyo desde el primer momento.

**D. Perito Judicial**

El personal técnico realiza un estudio técnico y minucioso de los casos para acercarse a la realidad de lo sucedido. La compañía presta especial atención al cálculo y ponderación de todos los factores sin olvidar la importancia de su comunicación.

**E. Investigación de accidentes**

Apoyar la realización de los servicios de investigación de accidentes basados en la inspección minuciosa del lugar del accidente, así como los cálculos necesarios para establecer responsabilidades. Dentro de estos servicios se incluyen la investigación de riesgos laborales, de especial interés en el marco del proyecto.

Una vez identificados los casos de uso se establecen los **principales módulos de la arquitectura del sistema informático**:

---

**A. Módulo de evaluación de riesgos:** la APP contará con un módulo diseñado para la evaluación de los efectos en la salud de procesos y escenarios de accidente, y considerando los siguientes elementos:

- Base de datos de nanomateriales y nanoproductos desarrollada con SQLite y conteniendo información actualizada sobre toxicidad aguda y crónica por vía inhalatoria, dérmica y oral.
- Plantilla automatizada para la identificación de escenarios de uso y escenarios de accidentes.
- Asistente para el cálculo de la probabilidad de exposición en el lugar de trabajo y la estimación de la cantidad de nanomateriales emitidos a los compartimentos aire, agua y suelo. Cálculo de probabilidades y estimación basados en la programación de algoritmos en Java, C++ o Python considerando constantes de emisión ( $E_{air} + E_{water}$ ) y liberación ( $RF_j$ ) específicos de NMs.

**B. Módulo de peritaje:** la APP contará con módulo diseñado para la realización de informes periciales, considerando:

- Asistente pericial: la APP contará con un asistente para la toma de datos en caso de siniestro, conectado a la base de datos de productos, procesos, y escenarios de accidente, y parametrizable a las necesidades y requerimientos del usuario final.
- Asistente para la realización de informes: sistema de edición de informes prediseñado para la toma de datos ágil en los escenarios de accidente, y compatible con formatos de aplicaciones de Office 365, incluyendo Word y Excel o OneNote, así como pdf. Incorporación de sistemas para la captación de imagen, sonido, y edición de comentarios.

**C. Módulo de asistencia:** la APP permitirá a los usuarios solicitar de forma rápida y sencilla el servicio de peritaje y planificar las visitas para la realización del informe pericial.

## 5.7 DESARROLLO DEL DISEÑO

El diseño de la aplicación se ha basado en promover la funcionalidad y la experiencia de los usuarios, así como en garantizar un análisis robusto de los potenciales riesgos de los nanomateriales derivados de siniestros de distinta índole. En base a estos criterios, se diseñó un esquema conceptual de la aplicación, y se determinaron los requerimientos de información y lenguajes de programación a implementar como es el lenguaje de Python que permiten la integración de multitud de variables.

Así pues, nos centraremos en la toxicología y exposición a los nanomateriales, centrándonos en:

- a) Recopilación de información fisicoquímica y (eco)toxicología de los nanomateriales de referencia en formato SQLite
- b) Evaluación cualitativa y cuantitativa del efecto de la exposición a nanomateriales sometidos a situaciones de stress térmico o mecánico en base a ensayos de envejecimiento según UNE-ENISO4892-3.
- c) Evaluación cuantitativa de la pulverulencia de los nanomateriales de referencia según la norma EN15051:2007.
- d) Algoritmos de exposición para su implementación en App para Android.
- e) Definición y evaluación de los riesgos, y preparación de informes.
- f) Preparación de publicación científica resumiendo los resultados obtenidos

### 5.7.1 Diseño del modelo de datos

El diseño de la aplicación se ha basado en promover la funcionalidad y la experiencia de los usuarios, así como en garantizar un análisis robusto de los potenciales riesgos de los nanomateriales derivados de siniestros de distinta índole. En base a estos criterios, se diseñó un esquema conceptual del sistema de datos que utilizará la aplicación, y se determinaron los requerimientos de datos.

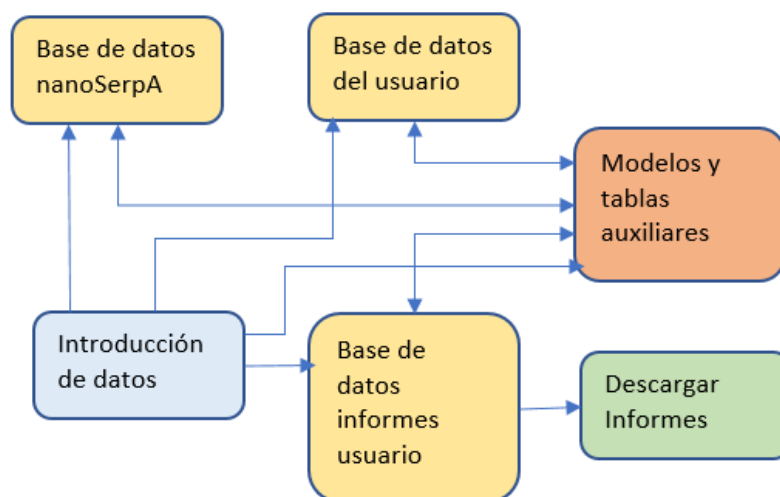


Figura 26. Esquema conceptual del modelo de datos

Este esquema conceptual es crucial para el inicio de la construcción de la aplicación, garantizando que se cubren los requerimientos de funcionalidad definidos en la memoria de solicitud a la empresa informática subcontratada para la programación de la aplicación.

Paralelamente, se desarrolló una lista centrada en la definición de las especificaciones del software, incluyendo las funciones básicas, secciones y contenidos principales a incluir en la aplicación NanoSerpA. Las secciones básicas que incluir son las siguientes:

- Página de bienvenida: breve introducción y acceso a los submenús.
- Acceso a la aplicación: diferentes módulos y niveles según la tipología del usuario.
- Manuales de uso.
- Sección de contacto para: consultas, asesoramiento y resolución de incidencias.

- Integración de sistemas para: la captura de información gráfica en escenarios de accidente.
- Integración de datos de localización GPS en la realización de cálculos de consecuencias de siniestro.

La definición de los contenidos y submenús de la plataforma, el análisis de los requerimientos de programación, y la definición del programa de desarrollo e implementación se llevará a cabo en fases sucesivas considerando las necesidades de los colectivos objeto del proyecto y la información recopilada para la evaluación del riesgo.

## 5.7.2 Selección de los lenguajes de programación

Las funciones definidas se analizaron por parte de expertos en programación con objeto de definir las tecnologías óptimas para el desarrollo. Finalmente se optó por la plataforma de desarrollo “Apache Cordova”, un framework para el desarrollo de aplicaciones móviles propiedad de Adobe Systems que permite desarrollar aplicaciones para dispositivos móviles utilizando herramientas web genéricas como JavaScript, HTML5 y CSS3, resultando aplicaciones híbridas. Cordova sirve de puente entre el código HTML/JS y las funcionalidades nativas que aportan los sistemas operativos móviles respecto de las posibilidades de geolocalización, uso de cámara, giroscopio, etc, de gran importancia para acometer los desarrollos del proyecto.

Se utiliza SQLite como soporte de base de datos local y puede ejecutarse tanto en dispositivos Android como en iOS de Apple.

Las bases de datos con la información necesaria para realizar el análisis se implementarán en la APP mediante SQLite, siendo sujetos a actualizaciones periódicas, mientras que los algoritmos de predicción de la exposición desarrollados en tareas posteriores se codificaron en un lenguaje de código abierto (Java, Python, R ó C++) compatible con la programación de la APP.

En cuanto a la transferencia de datos, se utiliza el formato JSON para la lectura de datos entre el servidor y la APP, mientras que los datos exportados se facilitan en un formato accesible para la mayoría de los usuarios, como .xls o .txt.

Se ha utilizado un ordenador MacOS en el que se dispone XCode y el emulador de iOS, el SDK de Android con el emulador de Android. Como entorno de desarrollo se ha utilizado Visual Studio Code. Los mismos archivos fuente permiten construir tanto una versión para Android como para iOS.

### 5.7.3 Diseño de la arquitectura del sistema

En primer lugar, se esquematiza la cadena de procesos o workflow que define la programación de los algoritmos del back-end. La aplicación se ha desarrollado para el sistema operativo Android, que está basado en el lenguaje de programación de código abierto Java. Además, es de licencia gratuita, evitando así costes asociados a la compra de licencias.

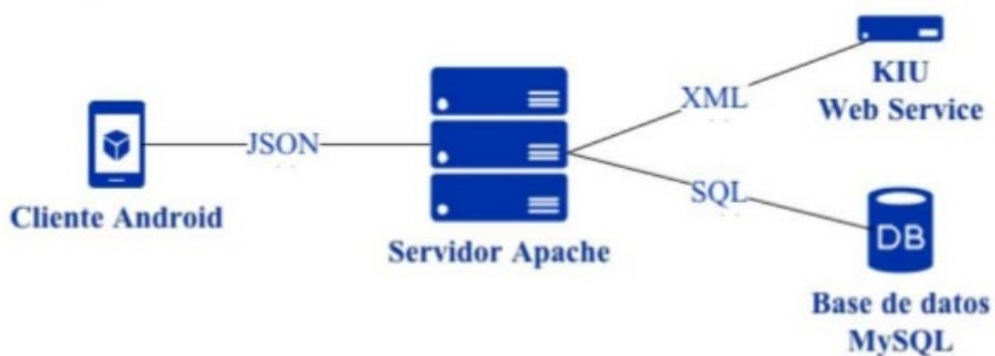


Figura 27. Esquema de proceso workflow

El departamento de Ingeniería de Sistemas Industriales y diseño de la UII se encargó de la configuración de un entorno de desarrollo integrado (Android Studio) en el que se instalará el kit de desarrollo SDK (Software Development Kit) y ADT (Android Development Tools) para poder hacer uso de las herramientas y librerías propias de Android.

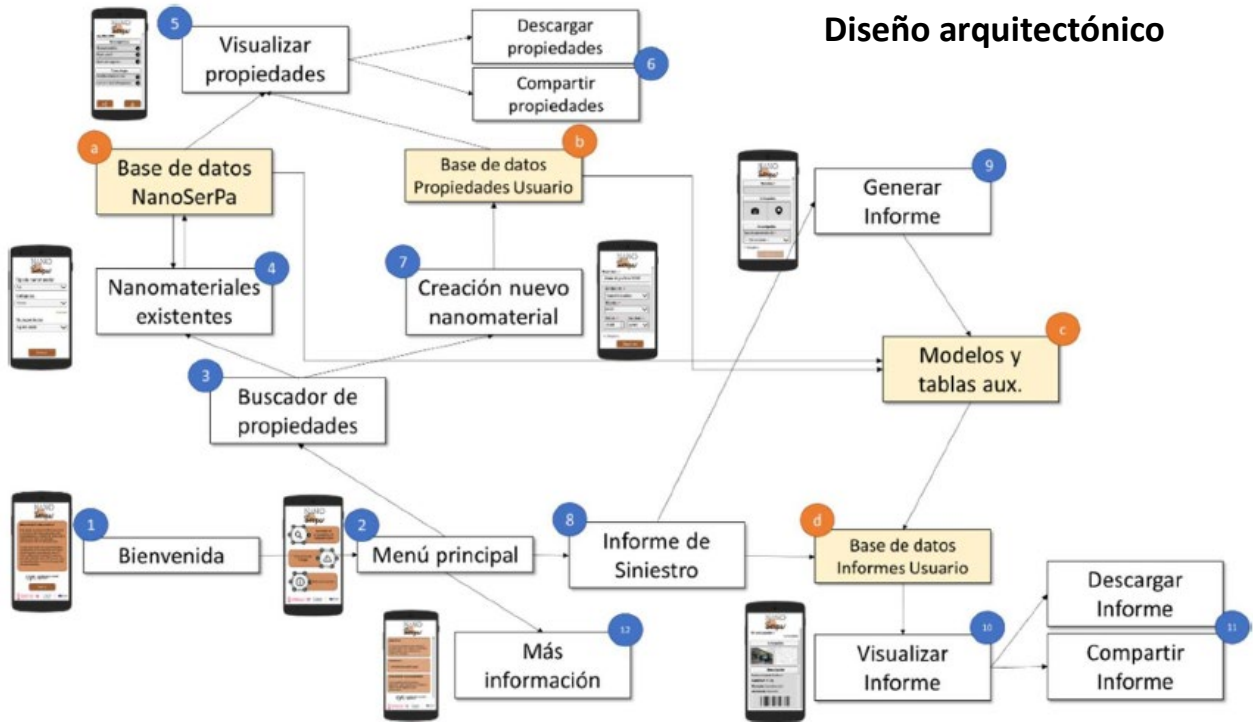


Figura 28. Esquema de diseño conceptual y arquitectónico de la APP

Como se deriva del esquema anterior, la aplicación se diseñó con un menú principal que da acceso a los “módulos” funcionales, destacando el **buscador** de propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los principales tipos de nanomateriales (3), y un sistema guiado de **preparación de informes** (8).

### 5.7.4 Diseño y desarrollo del interfaz con el usuario

A continuación, se esquematiza el interfaz de la APP, seleccionando qué información ha de requerirse al usuario, y qué información ha de recibir como salida el usuario por parte de la aplicación, tratando siempre de que el balance sea de minimizar el tiempo y la cantidad de datos de entrada y maximizar la información de salida.

En concreto, en esta tarea se definen:

- los perfiles de usuario, que determinan el nivel de complejidad del informe final.
- los menús y submenús, y distribución de las funcionalidades definidas en el PT1 en los diferentes niveles de la aplicación.
- la interacción de la APP con el dispositivo soporte (cámara, GPS, contactos, email...), tanto de entrada como de salida de datos.

Como resultado de esta tarea se obtiene un mapa conceptual de los menús y funcionalidades de la APP, sus relaciones y jerarquías y la tipología de cada uno (ejemplo mostrado en la figura 29).

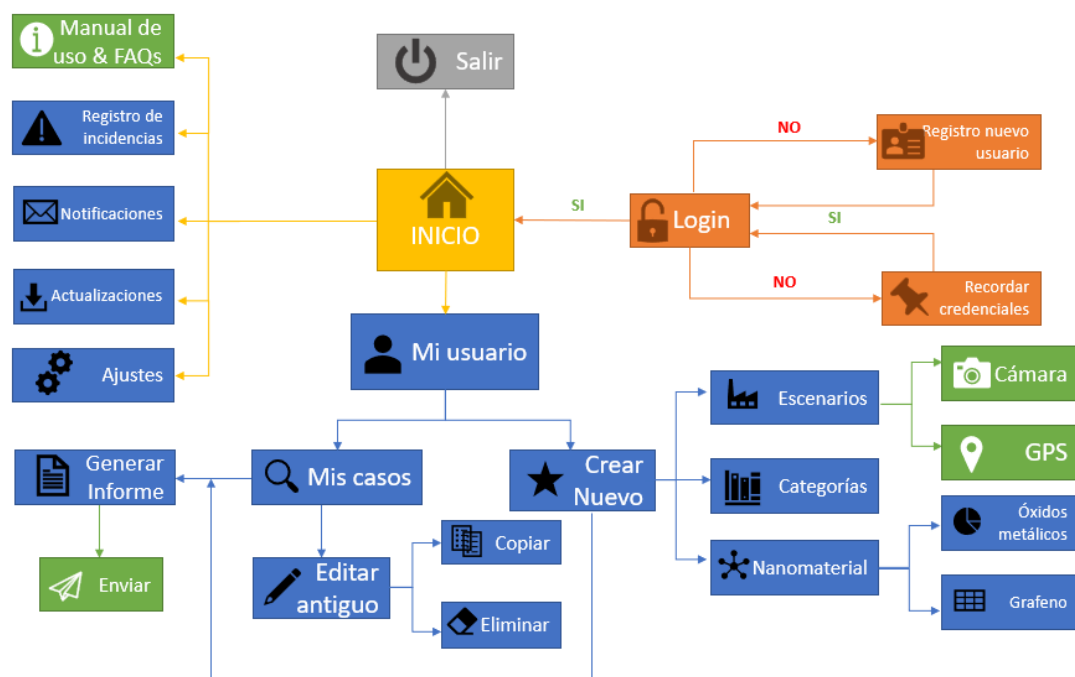


Figura 29. Esquema básico de las diferentes secciones y utilidades de la aplicación en un primer nivel.



El objetivo fue diseñar una interfaz de uso simplificada y clara, con el fin de potenciar la usabilidad y la rapidez de respuesta del usuario, siendo extensible a cualquier dispositivo móvil en el mercado. Se trata de reducir los largos textos explicativos sustituyéndolos por infografías e iconos, y evitar la excesiva profundidad en los niveles de la APP, así como optimizar el aprovechamiento del espacio disponible.

### 5.7.4.1 Menús principales

Los menús principales son 1) de Bienvenida, 2) menú principal y 3) módulo interno de información extra de los nanomateriales. Estos 3 menús principales se han implementado para facilitar la navegación por parte del usuario, así como la rapidez de uso en caso de la inspección de un accidente relacionado con nanomateriales. Al iniciar la APP se ve una pantalla de bienvenida (1) con una breve explicación, así como los logos de la entidad financiadora (IVACE) y de las empresas participantes. Esta pantalla de bienvenida redirige al menú principal (2), desde donde se podrá acceder a los 3 módulos principales.



Figura 30. Pantalla de bienvenida, menú principal e información complementaria

A continuación, se detalla la funcionalidad de estos 3 módulos:

La imagen central de la figura anterior muestra el menú principal que da acceso a las funcionalidades de la aplicación, incluyendo el buscador de propiedades de nanomateriales y el sistema guiado para la realización de informes de riesgo de nanomateriales. A continuación, se explican en detalle las funciones y particularidades tecnológicas de cada una de las utilidades de la aplicación:

#### 5.7.4.2 Buscador de Propiedades

La utilidad de búsqueda de propiedades de nanomateriales se ha dividido en 2 bloques, la consulta de nanomateriales existentes en la base de datos de NanoSerpA. La base de datos está en SQLite que se encuentran de manera local en el dispositivo móvil y se comunican con la aplicación para permitir una correcta visualización. Todas las propiedades existentes en la base de datos NanoSerpA se pueden visualizar en el dispositivo (figura 34), y además se pueden compartir mediante APPs de mensajería (Email, WhatsApp, etc.) o descargarlas en forma de informe en formato .PDF (figura 35). A continuación, se describen en detalle el funcionamiento de este.

Mediante el buscador inteligente de propiedades de nanomateriales (figura 36) cualquier usuario interesado en encontrar información acerca de propiedades fisicoquímicas y/o toxicológicas de un determinado nanomaterial puede hacerlo de una forma muy cómoda. Se ha implementado un buscador avanzado en el que se pueden filtrar nanomateriales según diferentes aspectos (como por ejemplo el tamaño de partícula). Esto facilita enormemente la selección y visualización de las propiedades de un determinado nanomaterial, en caso de no saber el nombre con exactitud.

Este bloque se nutre de la base de datos de propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de nanopartículas. La búsqueda de propiedades de nanomateriales existentes se basa en el

lanzamiento de consultas SELECT a la base de datos nanoSerpA. Estos parámetros de entrada son:

- **Tipo de nanomaterial:** Como grafeno, óxido metálico, basado en carbono, etc.
- **Categoría:** Propiedades que se quieren consultar; fisicoquímicas, toxicológicas o ambas.
- **Nanopartícula:** Dentro de cada tipo de nanomaterial se incluyen diferentes nanopartículas, que pueden tener propiedades muy diferentes. En caso de no saber cuál es la nanopartícula específica que nos interesa, se ha introducido un buscador avanzado para consultar las propiedades de la partícula que más se parezca a la de interés, pudiendo seleccionar rangos de tamaño, ratios de aspecto o un potencial  $Z^8$  específico.

Al finalizar la consulta, se redirecciona al usuario a la pantalla de visualización de propiedades de nanomateriales (figura 31). Y en esta nueva pantalla se muestran los resultados encontrados sobre propiedades de nanomateriales existentes en la base de datos NanoSerpA. En ella se mostrarán únicamente las propiedades seleccionadas por el usuario (fisicoquímicas y/o toxicológicas), con información específica para el nanomaterial deseado. Esta información se muestra de manera clara y concisa para el usuario final.

---

<sup>8</sup> Potencial Z.- Es la Intensidad del campo eléctrico estático de la capa doble en el límite entre la nanopartícula y el fluido

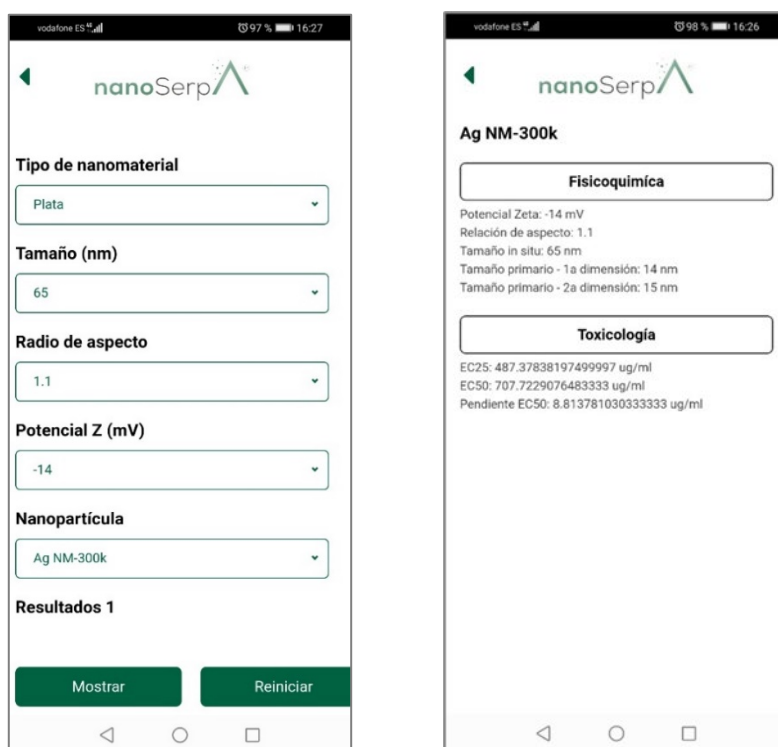


Figura 31. Buscador de propiedades de nanomateriales

#### 5.7.4.3 Generador Informe de siniestro.

Esta función permite la realización de una evaluación robusta del impacto en la salud y/o el medio ambiente de un siniestro. Para ello, se ha diseñado un sistema guiado de generación de informes de riesgo de nanomateriales con el objetivo de facilitar que el personal técnico encargado de realizar un peritaje en un accidente que involucre productos con nanomateriales puede evaluar de una manera rápida y sencilla el riesgo que puede suponer para la salud y/o el medio ambiente.

Esta es la función principal de la APP (8), y permite al usuario la generación de informes de siniestro o peritaje en accidentes relacionados con nanomateriales de manera rápida y sencilla. Este informe ayudará en la toma de decisiones a la hora de evaluar un siniestro. Al ingresar en este módulo, el usuario es conducido a una ventana que contiene todos los informes de siniestro almacenados de manera local en la base de datos de informes de

usuario (d) en el dispositivo. Una vez aquí, el usuario puede entrar en cualquiera de ellos para visualizarlo (10), descargarlo o compartirlo (11), o de lo contrario, generar un nuevo informe de siniestro (9).

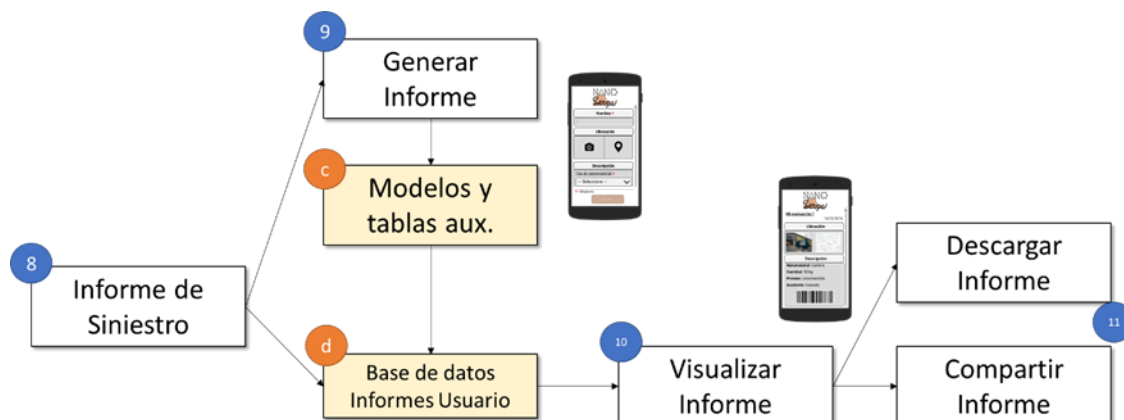


Figura 32. Sistema de guiado de generación de informes de riesgos de nanomateriales

#### 5.7.4.4 Generar un informe

Con la función de generar el Informe, permite al usuario crear una evaluación de un siniestro en caso de un accidente relacionado con diferentes nanomateriales.

Al comenzar, el módulo II y principal de la aplicación permite la realización de una evaluación robusta del impacto en la salud y/o el medio ambiente de un siniestro. Para ello, se ha diseñado un sistema guiado de **generación de informes de riesgo de nanomateriales** con el objetivo de facilitar que el personal técnico encargado de realizar un peritaje en un accidente que involucre productos con nanomateriales puede evaluar de una manera rápida y sencilla el riesgo que puede suponer para la salud y/o el medio ambiente. Y por ello, se precisa de cierta información por parte del usuario:

- Nombre del informe: Cómo será almacenado y mostrado
- Ubicación: Al menos 3 fotos del lugar del accidente (exterior, zona colindante y origen del siniestro) y localización GPS.

- Descripción: Parámetros de entrada para poder evaluar objetivamente el accidente.

Aquí se incluye:

- Tipo de nanomaterial.
- Cantidad de nanomaterial involucrada en el accidente.
- Proceso que se estaba llevando a cabo (síntesis, manufacturación, etc).
- Tipo de accidente (incendio, explosión, etc).
- Comentarios opcionales acerca del accidente.
- Código QR o de barras del nanomaterial que estaba siendo utilizado (opcional).

El sistema guiado de generación de informes tiene como base tecnológica la implementación de los modelos de predicción comentados anteriormente y programados en código Python (.py). Para ser ejecutados dentro de la aplicación, estos modelos fueron traducidos a código JavaScript (.js). Estos modelos, desarrollados y optimizados dentro del marco del proyecto, son capaces de estimar el riesgo potencial en un accidente en el que se pueda producir una liberación de nanomateriales. A modo de diagrama, el funcionamiento de dichos modelos es el siguiente:

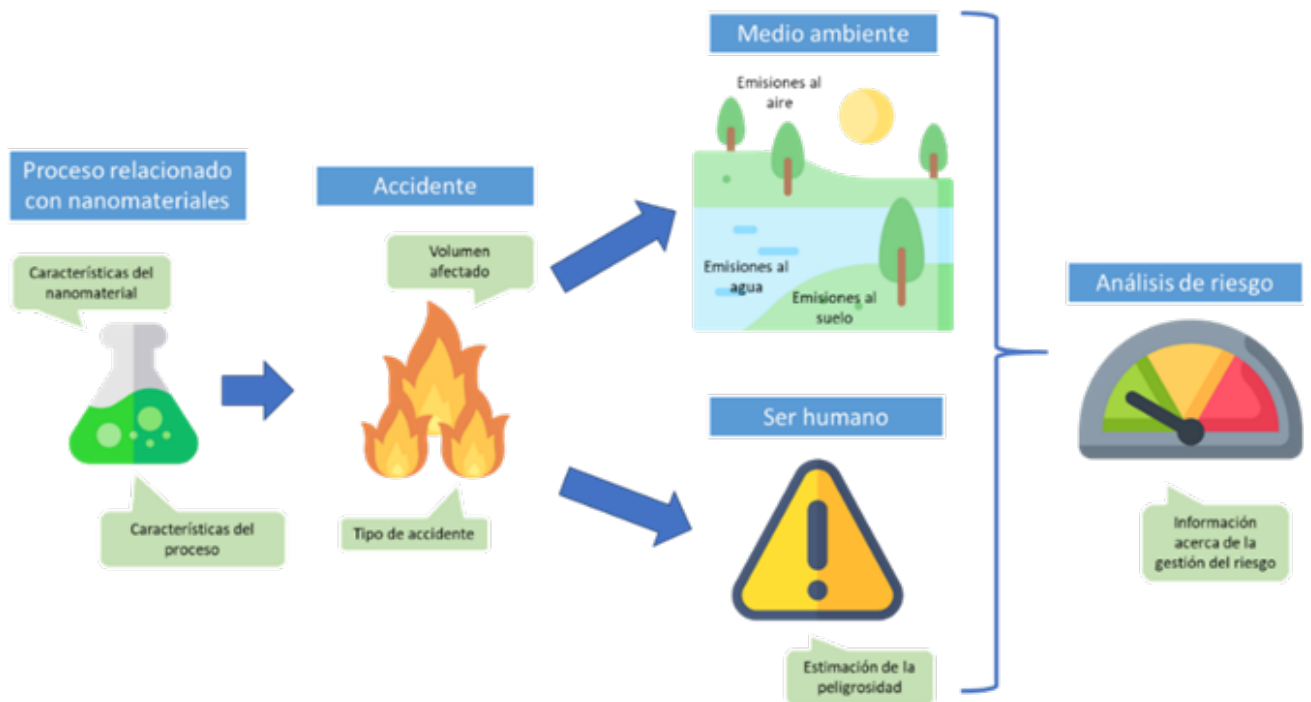


Figura 33. Esquema flujo de materia MFM

Para comenzar, teniendo en cuenta tanto la naturaleza del accidente, como del lugar de los hechos y el tipo de accidente, gracias a un modelo de flujo de materia (MFM), el sistema es capaz de predecir la liberación y emisión de nanopartículas al ambiente. Un segundo modelo dinámico es capaz de computar las cantidades de emisión predichas por el modelo, con otros parámetros físicos de comportamiento de los materiales, además de con los datos de peligrosidad y propiedades fisicoquímicas (como el tamaño de partícula) disponibles en la base de datos.

Para llegar a producir un resultado, la aplicación es capaz de recopilar la información de entrada proporcionada por el usuario y transformarla a JavaScript, para modelizar las posibles emisiones. Además, el modelo conecta con la base de datos SQL para consultar datos fisicoquímicos y toxicológicos del nanomaterial involucrado en el accidente. De nuevo en el modelo, se estima la peligrosidad evaluando las distintas propiedades disponibles en cada caso, y finalmente el modelo proporciona un resultado (a modo de índice de riesgo) que engloba ambos aspectos para ayudar en la toma de decisiones respecto a la evaluación de un accidente relacionado con nanomateriales. Todos los resultados del modelo son enviados de vuelta a la interfaz de usuario para ser mostrados al usuario final.

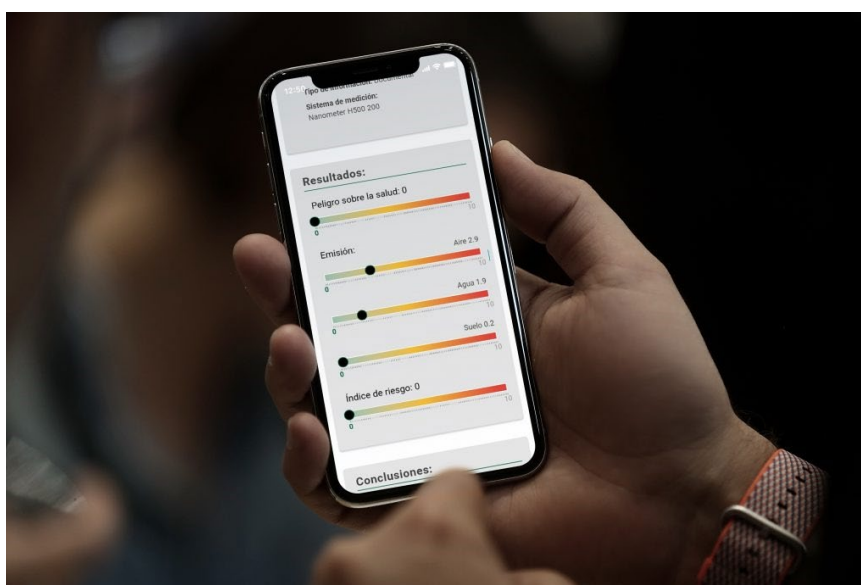


Figura 34. Ejemplo de uso de la aplicación nanoSerpA

Una vez estimadas tanto las emisiones como la peligrosidad, el modelo es capaz de estimar un índice de riesgo gracias a una matriz de riesgo.

Una vez se completen todos los campos se ejecutarán una serie de modelos probabilísticos y tablas auxiliares (c) que darán como resultado valores de emisión, de peligro sobre la salud e índices de riesgo. Esta aplicación ha sido desarrollada en Python, usando el lenguaje de programación Apache Cordova, un marco de desarrollo móvil de código abierto que permite utilizar las tecnologías estándar web como HTML5, CSS3 y JavaScript para desarrollo multiplataforma, evitando el lenguaje de desarrollo nativo cada plataforma móvil.

### Peligro sobre la salud

En este modelo se evalúan 7 características clave a la hora de analizar los peligros sobre la salud de los nanomateriales, encontradas en la base de datos nanoSerpA. Entre estas características se encuentran el tamaño, forma, potencial  $Z^9$ , concentraciones efectivas e inhibitorias medias, genotoxicidad, y efectos sobre la viabilidad celular y sobre el ciclo celular de las nanopartículas. Todas estas características se evalúan por separado para la nanopartícula seleccionada y se le otorga un valor de 0 a 10 en función de la peligrosidad relativa.

### Emisiones al medio ambiente

Para el estudio de las emisiones al medio ambiente se ha utilizado un modelo de flujo de materia (MFM). En este modelo se han incluido los procesos más comunes a la hora de trabajar con nanomateriales: Síntesis, manufacturación, uso, eliminación mediante tratamiento de lodos, eliminación mediante incineración y filtración. Además, se han introducido diferentes tipos de accidentes tales como explosión, incendio, escape de gas,

---

<sup>9</sup> El **potencial Z** es una medida de la magnitud de la repulsión o atracción electrostática (o de carga) entre las partículas, y es uno de los parámetros fundamentales que se sabe que afectan a la estabilidad. Su medición aporta información detallada de las causas de la dispersión, agregación o floculación, y se puede aplicar para mejorar la formulación de dispersiones, emulsiones y suspensiones.



derrame y no-accidente. Gracias a este tipo de modelos, y teniendo en cuenta la combinación proceso/accidente, se puede estimar la liberación de nanopartículas al medio ambiente. Al igual que en el caso anterior, se otorga a un valor de emisión de 0 a 10, diferenciando para cada compartimento del ecosistema (aire, agua y suelo).

La estimación de las emisiones a los diferentes compartimentos medioambientales (aire, suelo y agua) se realiza mediante la aplicación de un modelo de flujo de materia (MFM), en el cual se tiene en cuenta las siguientes condiciones:

- El proceso que se estaba llevando a cabo: síntesis del nanomaterial, manufacturación del producto final que contiene el nanomaterial, uso del producto final o desechado del producto; así como la energía del proceso
- Accidente que se ha producido: explosión, incendio, escape de gas, derrame o sin accidente.
- Volumen afectado por el accidente: Área personal (8 m<sup>3</sup>), sala (50 m<sup>3</sup>), nave industrial (4.000 m<sup>3</sup>) o alrededores (1.000.000 m<sup>3</sup>).
- Características físicas del nanomaterial: Estado físico (líquido o sólido) y características dependientes del estado físico (Viscosidad y solubilidad en el caso de líquido, y pulvurulencia y humedad en el caso de estado sólido); así como la pureza.

## Algoritmos

Para el cálculo de la concentración de nanomaterial liberada en µg / m<sup>3</sup> en la zona afectada por el accidente utilizando la siguiente ecuación:

$$C \left( \frac{\mu g}{m^3} \right) = \frac{M_{NM} * EHP * K_{NM} * A}{V}$$

donde C es la concentración liberada en µg / m<sup>3</sup>, MNM es la masa de nanomaterial en µg, V es el volumen de la instalación / sala en m<sup>3</sup>, y EHP, KNM y A son ponderaciones precalculadas basadas en el potencial de manejo de energía, las propiedades

fisicoquímicas que dependen del estado (viscosidad / solubilidad para líquidos, polvo / humedad para sólidos). El coeficiente de liberación del accidente nos permite crear un modelo probabilístico de análisis de flujo de nanomateriales basado en los coeficientes de transferencia (TC) propuestos por Gottschalk [38] y Spinazze [39]. Las distribuciones de entrada y salida del modelo se han obtenido mediante simulación de Monte Carlo. El algoritmo, implementado en código Python, nos proporciona una ponderación sobre 10 para informar de forma sencilla sobre el grado de emisión de material que ha tenido lugar en ese preciso momento al agua, suelo y/o aire.

La matriz de coeficientes de transferencia utilizada se muestra en la tabla siguiente:

**Tabla 9. Matriz de coeficientes de transferencia**

	Síntesis	Manufact.	Uso	STP	WIP	FIL	Aire	Suelo	Agua	Export.
Síntesis	0	88.90	0	0	0	0	5	0.1	6	0
Manufact.	1/88.9	0	81.4	0	0	0	10.87	0.58	7.15	0
Uso	0	1/81.4	0	5	50	0	5	5	0	35
STP	0	0	1/5	0	97	0	0	0	3	0
WIP	0	0	1/50	1/97	0	30	0	0	0	70
FIL	0	0	0	0	1/30	0	1	0	0	99

## Cálculo de peligrosidad

La peligrosidad se basa en propiedades intrínsecas del nanomaterial. Aquí se evalúan hasta 7 propiedades fisicoquímicas y toxicológicas relacionadas directa o indirectamente con la peligrosidad. Entre ellas:

- Tamaño de partícula
- Potencial Z
- Forma (ratio de aspecto)
- EC50, EC20, LC50, LC20, etc.
- Porcentaje de células viables

- Ciclo celular
- Genotoxicidad (% ADN en cola)

Una búsqueda en la base de datos de NanoSerpA permite encontrar uno o varios de estos parámetros para el nanomaterial estudiado. El algoritmo sigue la premisa de “peor escenario posible”, por lo que, si encuentra varias propiedades con evaluaciones de peligrosidad diferentes, siempre va a mostrar la más peligrosa. En caso de no encontrar información acerca del nanomaterial deseado, se lanzará un mensaje al usuario explicando que no se ha podido realizar este análisis.

También se ha decidido ponderar en una escala de 0 a 10 para facilitar la interpretación del resultado obtenido por parte del usuario final.

### Índice de riesgo

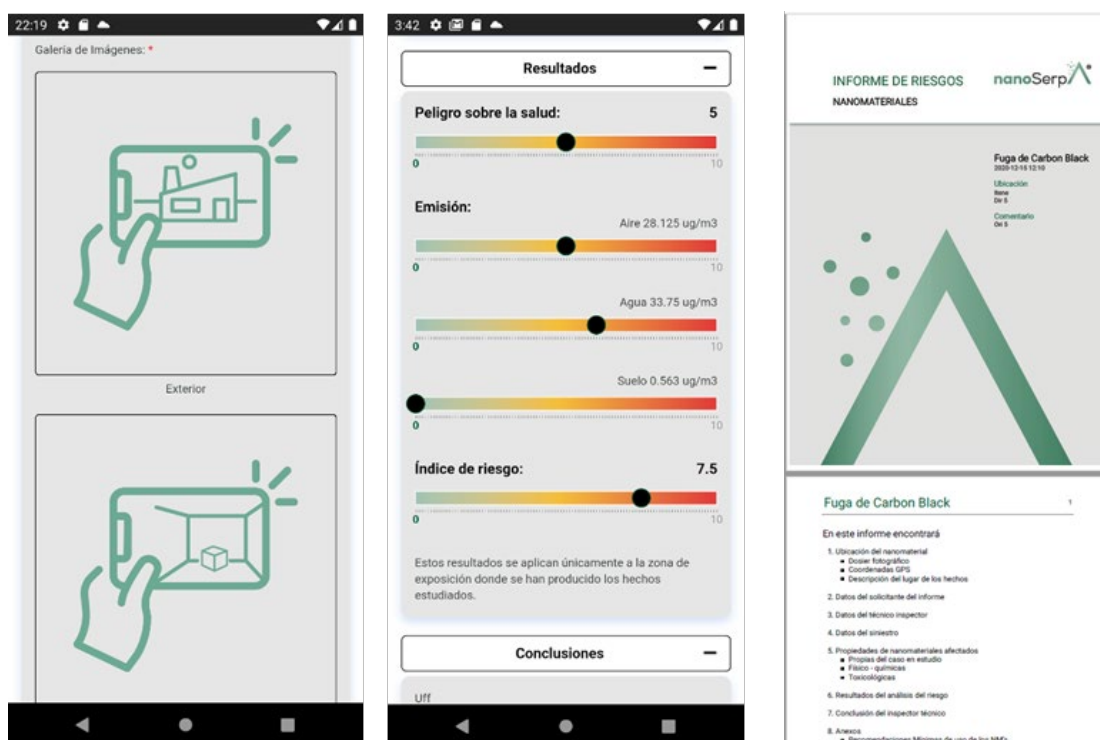
El índice de riesgo se estima en función de los resultados de peligro para la salud y de los de emisiones al medio ambiente. Este tipo de modelos de bandas es muy usado en el ámbito del cálculo del riesgo de nanopartículas. La tabla 1 representa cómo se calcula este índice a partir de ambos resultados.

**Tabla 10. Matriz de cálculo del índice de riesgo en función del peligro sobre la salud y las emisiones**

Emisión Peligro	Muy baja	Baja	Media	Alta	Muy alta
Muy bajo	0	2,5	2,5	5	5
Bajo	2,5	2,5	5	5	7,5
Medio	2,5	5	5	7,5	7,5
Alto	5	5	7,5	7,5	10
Muy alto	5	7,5	7,5	10	10

### Visualizar informe de siniestro

Una vez calculado el peligro sobre la salud, las emisiones al medio ambiente y el índice de riesgo con los diferentes modelos, toda esta información se almacenará de forma local en el dispositivo del usuario en la base de datos de informes de usuario (d), para poder ser consultados posteriormente.



**Figura 35. Generación de informes de riesgo. De izquierda a derecha: Toma de datos de entrada; visualización de resultados; informe en formato pdf**

En este punto, el usuario es redirigido a la ventana de visualización del informe de siniestro. Esta ventana ha sido diseñada para facilitar el entendimiento de los resultados (escalas de 0 a 10 y de color informativo). Este informe de siniestro contiene la información introducida por el usuario acerca de la localización del accidente, descripción y comentarios; así como los resultados obtenidos y el análisis de estos resultados. Este análisis contiene recomendaciones generales, sugerencias de protección personal, equipos de ventilación, zonas de actuación, gestión de residuos entre otros.

En relación a los resultados, el principal hito del proyecto es **la aplicación nanoSerpA**, donde se incluyen el panel de control que da acceso a los módulos de la aplicación, el módulo de evaluación de riesgos, donde se ha incluido la base de datos de propiedades de nanomateriales, y el módulo de peritaje de riesgos, donde se incluye el asistente para la toma de datos y creación de informes, así como los algoritmos de cálculo de riesgos, clave para un análisis robusto de los daños potenciales de un accidente que involucre el uso de nanomateriales, como tales, en forma de mezclas, o embebidos en un artículo

#### 5.7.4.5 Menú interno de información extra de los nanomateriales. Glosario Términos

En este módulo, entre otras cosas disponemos de un glosario de Términos incluidos en la aplicación nanoSerpA, así como los datos del técnico interviniente en la confección del Informe resultante.

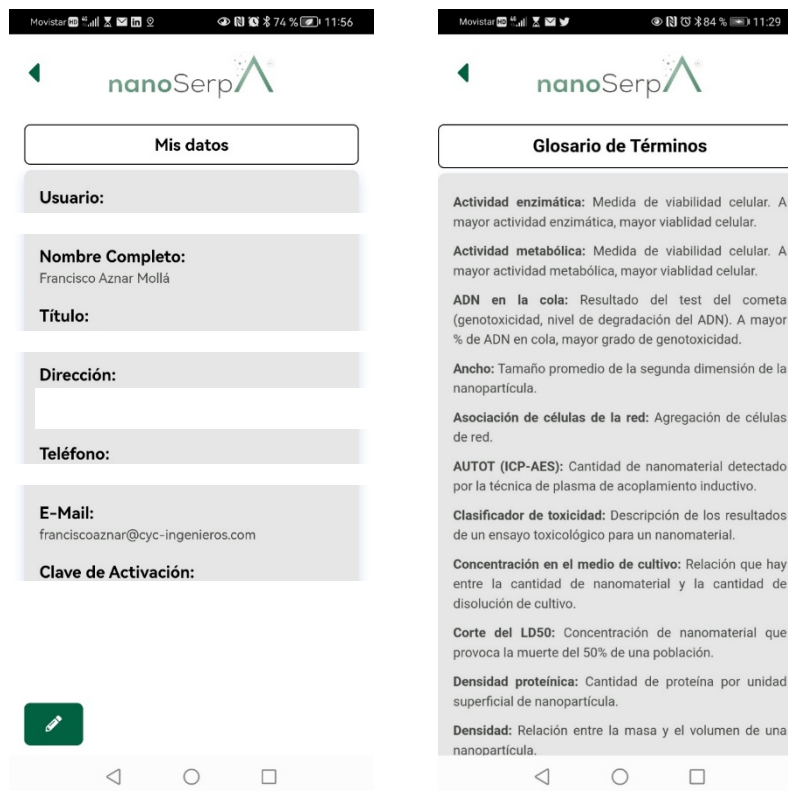


Figura 36. Pantalla introducción de datos del técnico y pantalla de glosario de términos

## Glosario De Términos Incluidos En La Aplicación

**Actividad enzimática:** Medida de viabilidad celular. A mayor actividad enzimática, mayor viabilidad celular.

**Actividad metabólica:** Medida de viabilidad celular. A mayor actividad metabólica, mayor viabilidad celular.

**ADN en la cola:** Resultado del test del cometa (genotoxicidad, nivel de degradación del ADN). A mayor % de ADN en cola, mayor grado de genotoxicidad.

**Ancho:** Tamaño promedio de la segunda dimensión de la nanopartícula.

**Asociación de células de la red:** Agregación de células de red.

**AUTOT (ICP-AES):** Cantidad de nanomaterial detectado por la técnica de plasma de acoplamiento inductivo.

**Clasificador de toxicidad:** Descripción de los resultados de un ensayo toxicológico para un nanomaterial.

**Concentración en el medio de cultivo:** Relación que hay entre la cantidad de nanomaterial y la cantidad de disolución de cultivo.

**Corte del LD50:** Concentración de nanomaterial que provoca la muerte del 50% de una población.

**Densidad proteínica:** Cantidad de proteína por unidad superficial de nanopartícula.

**Densidad:** Relación entre la masa y el volumen de una nanopartícula.

**Diámetro aerodinámico medio másico:** Diámetro de una esfera de densidad unidad con la misma velocidad de depósito gravitacional que la nanopartícula que está siendo medida.

**Diámetro hidrodinámico medio:** Tamaño de una esfera rígida hipotética que se disemina del mismo modo que la nanopartícula que se mide.

**Diámetro interior:** Tamaño medio del núcleo de la nanopartícula.

**Diámetro Z hidrodinámico medio:** Tamaño armónico ponderado por la intensidad de una

esfera rígida hipotética que se disemina del mismo modo que la nanopartícula que se mide.

**Diámetro Z promedio:** Diámetro de partícula armónico ponderado por intensidad.

**Diámetro:** Tamaño medio de la nanopartícula.

**Distribución del tamaño de partícula:** Tamaño medio de nanopartícula siguiendo el protocolo de dispersión.

**EC25:** Concentración de nanomaterial que resulta en una disminución del 25% del crecimiento.

**EC50:** Concentración de nanomaterial que resulta en una disminución del 25% del crecimiento.

**EHP:** Energía de manejo (Energy Handling Potential), fuerza que se le aplica al nanomaterial durante un proceso.

**Espesor:** Dimensión más pequeña de un cuerpo de tres dimensiones.

**Forma:** Conjunto de líneas y superficies que determinan la planta, el contorno o el volumen de una nanopartícula.

**HOMO:** Orbital molecular ocupado de más energía.

**Humedad:** Presencia de un líquido, especialmente agua, a menudo en cantidades traza.

**Índice de polidispersidad:** Grado de variación, o amplitud de una campana gaussiana que representa los tamaños de una nanopartícula.

**Índice de resonancia plasmónica superficial localizada (LSPR):** Oscilación de resonancia de electrones de conducción en la interfase entre el nanomaterial de permitividad negativo y positivo estimulado por luz incidente.

**Intensidad media del diámetro hidrodinámico:** Intensidad de luz dispersada por la técnica DLS.

**LDLO:** Dosis más baja por la que un nanomaterial administrado produce la muerte de un individuo.

**Liberación de LDH:** La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima intracelular, por lo que su elevación es un signo inespecífico de lesión.

**LOG recíproco EC50:** Transformación logarítmica del EC50.

**Longitud media:** Largo promedio de la nanopartícula.

**LUMO:** Orbital molecular no ocupado de más baja energía.

**Mol/NP:** Medida de la cantidad de sustancia por nanopartícula.

**MW:** Propiedad física definida como masa por unidad de cantidad de nanomaterial.

**NM's:** Acrónimo de nanomateriales.

**Partículas por célula:** Número medio de partículas en el interior de una célula.

**Pendiente EC50:** Inclinação de la curva que forma la medida del EC50.

**PM2.5 (materia particulada 2.5):** Son partículas muy pequeñas en el aire que tiene un diámetro de 2.5 micrómetros (aproximadamente 1 diezmilésimo de pulgada) o menos de diámetro.

**Porcentaje de células viables:** Medida relativa de la mortalidad que produce una nanopartícula.

**Posición del pico del LSPR (nm):** Longitud de onda en la que aparece la máxima oscilación de resonancia.

**Potencial Zeta:** Intensidad del campo eléctrico estático de la capa doble en el límite entre la nanopartícula y el fluido.

**Proteína total (ensayo BCA):** Cantidad total de proteína presente en la superficie de las nanopartículas.

**Pulverulencia:** Tendencia de las partículas a mantenerse en suspensión en el aire como respuesta a un estímulo mecánico o aerodinámico.

**Punto de ebullición:** Temperatura a la cual la presión de vapor de la nanopartícula es igual a la presión que la rodea y se transforma en vapor.

**Punto de fusión:** Temperatura en la cual una nanopartícula pasa de un estado sólido a un estado líquido.

**Punto isoeléctrico:** pH al que una nanopartícula tiene carga neta cero.

**Relación de aspecto:** Ratio entre el largo y el ancho de la nanopartícula.



**Solubilidad:** Propiedad de un sólido, líquido o gas de disolverse en un disolvente sólido, líquido o gaseoso.

**Superficie específica:** Parte más externa de una nanopartícula que lo limita o separa de lo que lo rodea.

**Superficie total (SATOT):** Area superficial total de la nanopartícula.

**Tamaño de partícula:** Dimensión, cuerpo, grosor, medida o espesor de la nanopartícula.

**Tamaño del núcleo:** Diámetro medio del núcleo de la nanopartícula.

**Tamaño in situ:** Medida del tamaño de la nanopartícula realizada directamente en el ensayo celular.

**Tamaño primario - 1a dimensión:** Largo promedio de la nanopartícula.

**Tamaño primario - 2a dimensión:** Ancho promedio de la nanopartícula.

**Transformación LOG2:** Transformación logarítmica en base 2.

**Viscosidad:** Resistencia a la deformación gradual por esfuerzo de tensión o cizalla.

### 5.7.5 Diseño y desarrollo de la base de datos de nanomateriales

En esta fase del proyecto nos centraremos en la determinación del perfil morfológico, químico y toxicológico de materiales nanoparticulados como el grafeno, óxidos de grafeno y nano-óxidos metálicos y la construcción de una base de datos con información sobre los niveles de concentración sin efecto adverso observable (NOAEL) para la salud de las personas y organismos diana en medio ambiente.

Esta parte tiene como objetivo principal la creación de la base de datos NanoSerpA, según una serie de criterios de selección en función de las respuestas a los cuestionarios en relación con la actividad y medidas de gestión de riesgos con nanomateriales. Por otro lado, se ha buscado y definido la normativa aplicable en cuanto a la manipulación de nanomateriales, así como las recomendaciones mínimas de uso para llevar a cabo una gestión de riesgos adecuada.

Se llevó a cabo la recopilación de información disponible sobre propiedades fisicoquímicas más relevantes para estimar el impacto toxicológico, así como datos de toxicidad humana por contacto agudo y crónico.

La información se recopiló en formato SQLite para implementarse en la App NanoSerpA

La base de datos permite la consulta de datos fisicoquímicos y toxicológicos de nanomateriales para el usuario final, así como de elemento de cálculo de los posibles riesgos ambientales y para la salud por parte de los diferentes modelos incluidos en la APP. Además, se ha realizado un filtrado de datos para asegurar la calidad de estos, así como la utilización y acceso de estos recursos de manera óptima por parte de la APP.

La primera tarea se centró en la definición de los materiales a incorporar en la base de datos, definiéndose para ello criterios de selección vinculados a las características del material, efectos adversos en la salud y el medio ambiente, y vías potenciales de exposición. En esta tarea se procedió a la búsqueda de información de forma masiva, procediéndose a su organización en una base de datos en el marco de dicha tarea.

Esta base de datos es un eje central de la aplicación NanoSerpA, por lo que se ha elaborado de forma minuciosa y siguiendo una clasificación y un filtrado manual para asegurar el mayor número de nanomateriales disponibles, pero a su vez con la mayor calidad posible. Se han incluido tanto propiedades fisicoquímicas (como tamaño, forma, potencial Z y composición) como toxicológicas (efectos sobre líneas celulares de pulmón, piel e intestino). Estas propiedades toxicológicas analizadas in vitro, se pueden extrapolar a vías de exposición pulmonar, dérmica y oral respectivamente y los órganos diana. Se han incluido también posibles efectos genotóxicos, es decir, su capacidad para producir daños en el material genético de las células.

Para la elaboración de esta base de datos se han incluido datos de diferentes fuentes de información, destacando el repositorio eNanoMapper, donde se incluyen numerosos estudios de propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de más de 600 nanopartículas diferentes.

Para cada tipo de nanomaterial existen numerosas nanopartículas diferentes, lo que resulta en diferentes propiedades. Por ejemplo, para el nanomaterial “Plata”, existen nanopartículas de 18, 35 y 65 nanómetros, cada una con sus características específicas. Al haber incluido numerosas partículas para cada nanomaterial se le permite al usuario final encontrar la nanopartícula con la que está trabajando, o al menos una que sea lo más parecida posible.

Esta base de datos ha sido diseñada para poder ser actualizada con facilidad conforme se vayan generando datos sobre propiedades de nanomateriales por parte de la comunidad científica. Esto le da la posibilidad a la APP de recibir parches de actualización cada cierto tiempo para suplir la posible falta de una nanopartícula muy específica.

La selección de los materiales se basa en la calidad de los datos disponibles, por eso se seleccionaron únicamente datos robustos, considerando criterios como la naturaleza del ensayo realizado, protocolos seguidos, y tipo de fuente, priorizando fuentes gestionadas por entidades gubernamentales. La base de datos está disponible en formato electrónico (.sql, .xlsx y .csv), incluyendo:

- 48 tipos de nanomateriales diferentes
- 545 nanopartículas
- 65 endpoints (= propiedades)

Y para la búsqueda de la normativa aplicable, información de seguridad y recomendaciones mínimas de uso se ha aplicado principalmente el reglamento REACH, así como otras regulaciones específicas de sector tales como FDA/EFSA, EMA o SCCS.

### 5.7.6 Fuentes de datos

La base de datos de la aplicación se nutre de diferentes fuentes de información. En el campo de la nanoseguridad, cabe destacar eNanoMapper (Jeliazkova et al., 2015), un repositorio de acceso público que contiene numerosos estudios de propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de más de 600 nanopartículas diferentes. De esta fuente es de donde se han sacado la mayor parte de los datos para la APP NanoSerpA. En él se incluyen datos de acceso público, como los generados como resultado de los proyectos de investigación financiados por la UE dentro del programa marco FP7: MARINA, MODENA, Nano Wiki o InterTest3.

Otro proyecto europeo que aporta una gran cantidad de datos acerca de nanomateriales es NanoREG, donde se caracterizaron unos 150 nanomateriales diferentes. Sin embargo, estos datos se han descartado y almacenado para versiones posteriores de la App como se explicará más adelante. Además, existen otros datos de acceso privado que no han podido ser incluidos en esta base de datos, como los de los proyectos Calíbrate, Gov4Nano y BIORIMA.

Se han utilizado también datos experimentales para la elaboración de la base de datos del proyecto Sudoe NanoDESK, bases de datos propias de ITENE y datos experimentales recogidos de diferentes artículos científicos (Ruizendaal et al., 2009; De Angelis et al., 2013; Chen et al. 2016; Fisichella et al. 2014; entre otros).

La localización de la Base de Datos que al final utilizamos se encuentra disponible en Zenodo con el DOI 10.5281/zenodo.4289976, y estos datos se pueden descargar mediante petición en el siguiente enlace:

<https://zenodo.org/record/4289976>

Otros artículos/proyectos utilizados para la creación de la base de datos final son:

- Protein corona fingerprinting predicts the cellular interaction of gold and silver nanoparticles (Walkey et al., 2014).
- 2nd Nanosafety Forum for Young Scientists Data.

También se ha trabajado en la recopilación de la información necesaria para abordar los criterios establecidos con anterioridad a través de la recopilación de datos de la literatura científica disponible, incluyendo:

- Publicaciones revisadas por pares sobre medio ambiente, salud y seguridad,
- Resultados públicos e informes de proyectos de investigación,
- Libros y notas técnicas de organismos expertos,
- Páginas web especializadas en nanotecnología, salud humana y medioambiente,
- Consulta de datos de las bases de datos pertinentes, incluida la base de datos del registro de nanomateriales, el registro de sustancias REACH o la base de datos eNanoMapper para obtener información sobre la seguridad de los nanomateriales o los expedientes de registro en línea publicados por la ECHA.
- Consulta con empresas productoras o gestoras de nanomateriales. Para complementar los datos obtenidos, otra fuente importante de información han sido los cuestionarios utilizados para obtener información de las empresas

### 5.7.7 Calidad de los datos.

Para aumentar la calidad de la base de datos se ha llevado a cabo una serie de filtrados, con el objetivo de aumentar la fiabilidad de éstos. Las decisiones de inclusión/exclusión se han realizado gracias a un conocimiento previo generado por la información recabada en proyectos nacionales y europeos en los cuales se tuvieron que desarrollar bases de datos de aspectos fisicoquímicos y toxicológicos de nanomateriales tales como Alertox, NanoDESK y BIORIMA). Además, se han filtrado con respecto a diferentes criterios sabiendo el objetivo final al que se quiere conseguir con la App NanoSerpA, y los inputs necesarios para la ejecución de los modelos de riesgo.

El primero de estos filtros se basó en la completitud del dato. Los datos deben de contener, al menos, un nombre de la nanopartícula en cuestión, que estudio (o endpoints) se está llevando a cabo y que resultado con sus unidades se ha obtenido. Además, los datos de toxicología deben de contener la línea celular empleada. Todos los datos que no cumplieran con este requisito fueron excluidos.

Otro filtro usado fue el de la comparabilidad de los datos. Datos con su propia nomenclatura u ontología que hacen que no se puedan comparar con el resto de los datos fueron descartados.

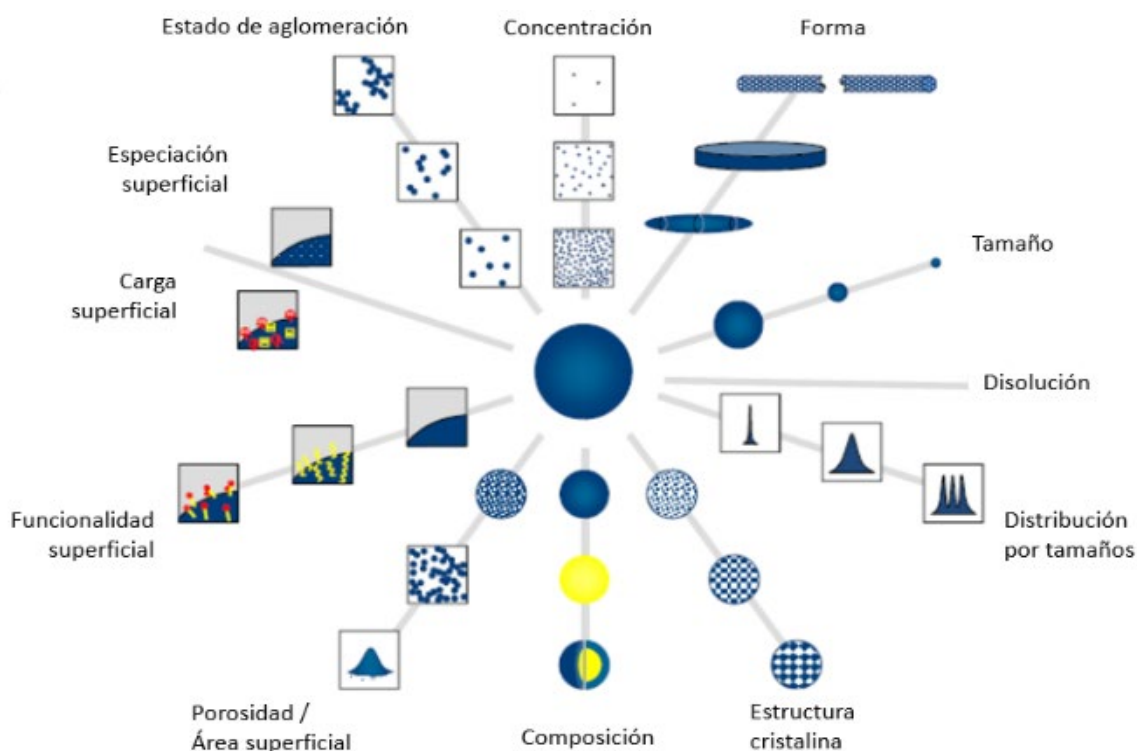
Se filtró además por estudios que fueran relevantes para la aplicación NanoSerpA. Por ejemplo, se eliminaron datos aislados que aportaban información acerca del punto de fusión o ebullición, o el punto isoeléctrico. Muy pocos datos aportaban esta información y se ha considerado que no son relevantes para lograr el objetivo del proyecto.

Como se ha comentado anteriormente, los datos del proyecto NanoREG fueron finalmente eliminados de la primera versión de la base de datos NanoSerpA. Esto ha sido debido a que estas entradas (del orden de 115.000 filas de la base de datos) tienen su propia estructura, y en casi todos los casos se trata de cientos de repeticiones de la misma medida. Por esta razón, se ha decidido eliminarlos de la primera versión de la base de datos, ya que se considera que no aportan información útil para el usuario final, y complicarían su

evaluación por parte de los modelos de riesgo de la APP. En versiones posteriores se evaluará la posible inclusión de estos datos.

### 5.7.8 Contenido de la base de datos

El resultado de la compilación de información previa se ha organizado y jerarquizado en función del riesgo presentado para los diferentes escenarios y nanomateriales. Esta clasificación se traduce en una base robusta de datos (eco)toxicológicos de partículas de relevancia industrial y ambiental, compilada en SQLite para su posterior implementación en el software.



**Figura 37. Esquema de los parámetros a tener en cuenta en la implementación del software**

Los datos incluyen efectos agudos por vía inhalatoria en células de pulmón, efectos genéticos en células alveolares, sensibilización de piel y mucosas oculares, así como detección temprana de la aparición de estrés oxidativo en diversas líneas celulares de interés.

La información de la base de datos es la fuente de alimentación para la creación del algoritmo desarrollado que generará la alerta por riesgo de exposición a nanopartículas.

Usando los criterios de calidad de datos anteriormente descritos, se ha podido obtener una base de datos robusta, la cual contiene:

- **48 tipos de nanomateriales diferentes:** Entre los que se incluyen los más usados por la comunidad de usuarios de nanomateriales, tales como metales, óxidos metálicos, nanomateriales basados en carbono, etc.
- **545 nanopartículas:** Para cada tipo de nanomaterial existen numerosas nanopartículas, cuyas propiedades fisicoquímicas y/o toxicológicas pueden ser extremadamente diferentes, debido a posibles diferencias en sus tamaños, composición o recubrimiento.
- **7 orígenes:** Estudios o proyectos que analizaron propiedades de nanomateriales.
- **2 grandes categorías:** Se han incluido tanto propiedades fisicoquímicas (P-CHEM) como toxicológicas (TOX).
- **65 endpoints:** Tipos de estudios, agrupados en 13 categorías más grandes (*endpointcategory*)

Así pues, el resultado ha sido que se ha elaborado una base de datos robusta sobre propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de nanomateriales, siguiendo unos criterios de selección y filtrado en función de las respuestas a los cuestionarios en relación con la actividad y medidas de gestión de riesgos con nanomateriales. Además, se han añadido una serie de criterios propios en base a un conocimiento previo y experiencias en el sector de la nanoseguridad.

La localización de la Base de Datos que al final utilizamos se encuentra disponible en zenodo con el DOI 10.5281/zenodo.4289976, y estos datos se pueden descargar mediante petición en el siguiente enlace:

<https://zenodo.org/record/4289976>



Este repositorio permite almacenar información a la vez que proporciona un DOI (Digital Object Identifier), por lo que se puede citar en posibles publicaciones futuras.

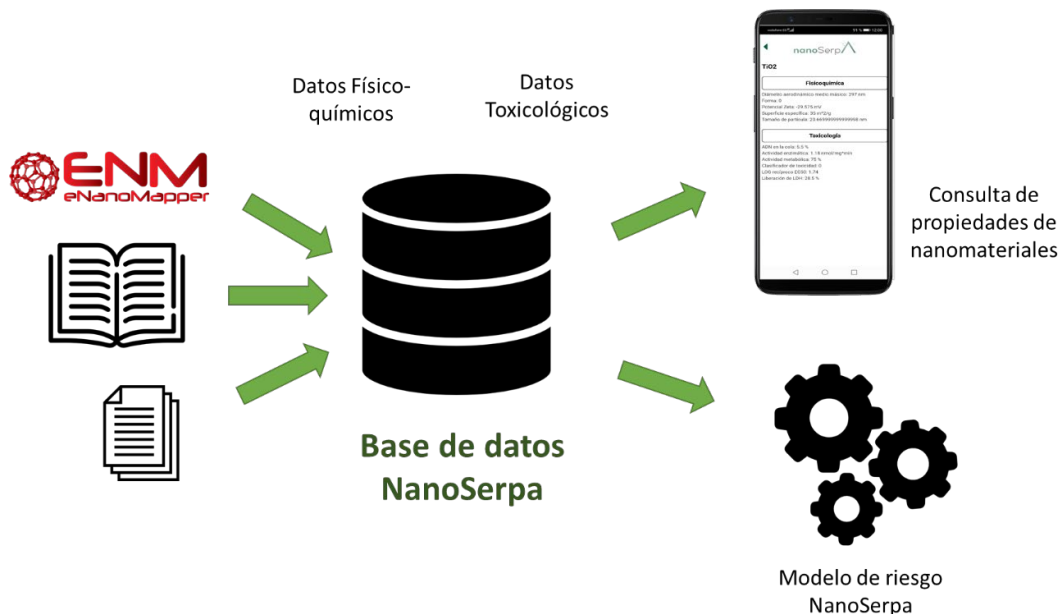


Figura 38. Diseño y uso de la base de datos nanoSerpA

Como se puede ver, la base de datos NanoSerpA es un pilar central de la aplicación, y servirá tanto para consultar propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales, así como fuente de datos para los cálculos elaborados por el modelo de riesgo incluido en la App. Y que como ya hemos mencionado se encuentra disponible en Zenodo con el DOI 10.5281/zenodo.4289976



La base de datos actualmente está formada por una tabla de 24 columnas por 5.137 Filas correspondiendo a 49 tipos de nanomateriales diferentes repartidos en 2 categorías (P-CHEM & TOX) con 6 propietarios y 554 nanopartículas en 66 endpoints diferentes.

Cada entrada de la tabla representa un resultado para un estudio específico (endpoints) de un nanomaterial con unas ciertas condiciones (línea celular, tiempo exposición, concentración, etc.).

Tabla 11. Descripción y ejemplos de las columnas de la base de datos nanoSerpA

<b>Columna</b>	<b>Descripción</b>	<b>Ejemplos</b>
<b><u>Id</u></b>	<a href="#">Identificador único</a>	<a href="#">1</a>
<b><u>nanomaterial</u></b>	<a href="#">Tipo de nanomaterial</a>	<a href="#">Ag</a> <a href="#">Au</a> <a href="#">MWCNTs</a> <a href="#">CeO2</a> <a href="#">Fe0</a>
<b><u>nm_esp</u></b>	<a href="#">Tipo de nanomaterial en español</a>	<a href="#">Plata</a> <a href="#">Oro</a> <a href="#">Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple</a> <a href="#">Dióxido de Cerio</a> <a href="#">Óxido de Hierro (II)</a>
<b><u>name</u></b>	<a href="#">Nombre otorgado por el propietario</a>	<a href="#">Ag NM-300k 65nm 0.1 Bath</a> <a href="#">Ag20Cit 18nm 0.1 Bath</a> <a href="#">Ag20Pep 35nm 0.1 Bath</a> <a href="#">Ag40Pep 500nm 0.1 Bath</a> <a href="#">Ag NM-300 95nm 0 Vortexing</a>
<b><u>publicname</u></b>	<a href="#">Nombre utilizado para su representación</a>	<a href="#">Ag NM-300k</a> <a href="#">Ag20Cit</a> <a href="#">Ag20Pep</a> <a href="#">Ag40Pep</a> <a href="#">Ag NM-300</a>
<b><u>owner_name</u></b>	<a href="#">Propietario, estudio de donde se han sacado esos resultados</a>	<a href="#">MODENA</a> <a href="#">InterTest3</a> <a href="#">NanoWiki</a> <a href="#">FP7 MARINA</a>
<b><u>endpointcategory</u></b>	<a href="#">Bloque que engloba varios tipos de endpoint (por ejemplo, tamaño, grosor, densidad... se</a>	<a href="#">PC GRANULOMETRY SECTION</a> <a href="#">BAO 0003009 SECTION</a> <a href="#">ZETA POTENTIAL SECTION</a> <a href="#">NPO 1709 SECTION</a>

<b><u>Columna</u></b>	<b><u>Descripción</u></b>	<b><u>Ejemplos</u></b>
	<a href="#">encuentran dentro de GRANULOMETRIA)</a>	<a href="#">ASPECT RATIO SHAPE SECTION</a>
<b><u>guidance</u></b>	<a href="#">Protocolo que se ha llevado a cabo en el estudio (por ejemplo, microscopía TEM)</a>	<a href="#">TEM</a> <a href="#">WST-1</a> <a href="#">ZETA POTENTIAL</a> <a href="#">LDH</a> <a href="#">SHAPE</a>
<b><u>topcategory</u></b>	<a href="#">Categoría del estudio (P-CHEM para Propiedades fisicoquímicas, TOX para Propiedades toxicológicas)</a>	<a href="#">P-CHEM</a> <a href="#">TOX</a>
<b><u>endpoint</u></b>	<a href="#">Tipo de estudio (Viabilidad celular, forma, tamaño, ...)</a>	<a href="#">core size</a> <a href="#">ec 25</a> <a href="#">ec 50</a> <a href="#">z potential</a> <a href="#">aspect ratio</a>
<b><u>effectendpoint</u></b>	<a href="#">Especificación del endpoint</a>	<a href="#">PRIMARY SIZE 1ST DIMENSION</a> <a href="#">PRIMARY SIZE 2ND DIMENSION</a> <a href="#">SIZE IN SITU</a> <a href="#">EC25</a> <a href="#">EC50</a>
<b><u>effectendpoint type</u></b>	<a href="#">Si es valor puntual, media, mediana, etc.</a>	<a href="#">NOTESPECIFIED</a>
<b><u>reference year</u></b>	<a href="#">Año en el que se efectuó el estudio</a>	<a href="#">2012</a>
<b><u>reference</u></b>	<a href="#">Referencia al estudio</a>	<a href="#">18</a>
<b><u>loQualifier</u></b>	<a href="#">Mayor, menor o igual que [loValue d]</a>	<a href="#">&gt;=</a> <a href="#">mean</a>
<b><u>loValue d</u></b>	<a href="#">Valor que representa el resultado del estudio (o rango inferior)</a>	<a href="#">14</a>
<b><u>unit</u></b>	<a href="#">Unidades del resultado</a>	<a href="#">nm</a> <a href="#">ug/ml</a> <a href="#">mV</a> <a href="#">m2/g</a> <a href="#">°C</a>
<b><u>upQualifier</u></b>	<a href="#">Mayor, menor o igual que [upValue d]</a>	<a href="#">&lt;=</a> <a href="#">&lt;</a>
<b><u>upValue d</u></b>	<a href="#">Rango superior del resultado del estudio</a>	<a href="#">68</a>

<b><u>Columna</u></b>	<b><u>Descripción</u></b>	<b><u>Ejemplos</u></b>
<b><u>err_d</u></b>	<u>Valor del error del estudio (desviación estándar, ...)</u>	<u>0.076033968</u>
<b><u>errQualifier</u></b>	<u>Tipo de error (std dev, ...)</u>	<u>sd</u> <u>sem</u> <u>std</u> <u>std dev</u>
<b><u>cellLine</u></b>	<u>Línea celular utilizada (toxicología)</u>	<u>NRK-52E</u> <u>THP-1 macrophage</u> <u>A549</u> <u>NCI-H292</u> <u>SK-OV-3</u>
<b><u>tissue_esp</u></b>	<u>Tejido al que pertenece la línea celular, en español</u>	<u>Riñón</u> <u>Monocitos</u> <u>Pulmón</u> <u>Ovario</u> <u>Cerebro</u>
<b><u>organism_esp</u></b>	<u>Organismo al que pertenece la línea celular, en español</u>	<u>Rata</u> <u>Humano</u> <u>Ratón</u> <u>E. Coli</u>
<b><u>interpretation</u></b>	<u>En caso de aportar una interpretación NO NUMÉRICA del resultado</u>	<u>HETEROGENEOUS (ROUND, TRIANGULAR OR TRAPEZIUM-LIKE)</u> <u>AVERAGE ROUND BUT NOT AS MONODISPERSE</u> <u>ROUND</u>
<b><u>exposureDuration</u></b>	<u>Tiempo de exposición a la nanopartícula, en horas</u>	<u>0,5</u>
<b><u>concentration</u></b>	<u>Concentración de nanopartícula aplicada, en ug/ml</u>	<u>0</u> <u>1</u> <u>5</u> <u>10</u> <u>25</u>
<b><u>replicate</u></b>	<u>Número de réplica</u>	<u>Replicate 1</u> <u>Replicate 2</u> <u>Replicate 3</u> <u>Replicate 4</u>

## 5.7.9 Identificación de escenarios

Para la generación de los informes periciales es también importante la identificación del escenario del accidente. Por ello, la aplicación incorpora utilidades para identificar posibles escenarios de riesgo, los aspectos que determinan el potencial de exposición en un accidente o siniestro, y el desarrollo de modelos matemáticos que permiten identificar escenarios críticos en base a parámetros relevantes de productos y procesos.

Así pues, se llevó a cabo la identificación de los principales escenarios de uso de nanomateriales donde puede existir una exposición a materiales en el rango del nanómetro. La identificación se llevó a cabo analizando procesos habituales de fabricación y uso de nanomateriales en instalaciones industriales, considerando sectores como la construcción, energía, electrónica, textil, pinturas o envase y embalaje, entre otros. Los escenarios definidos fueron priorizados considerando el potencial de exposición por vía inhalatoria y dérmica.

## 5.7.10 Medidas recomendadas

Según los resultados del análisis de riesgo de un accidente relacionado con nanomateriales, la aplicación recomienda las medidas de gestión de riesgos que se describen a continuación:

- Si el **peligro sobre la salud es mayor a 5**, debe de aplicarse la jerarquía de control (STOP), considerando:
  - 1) Sustitución del material por otro no peligroso. Si no es posible, modificar la formulación o composición para reducir su riesgo en el origen (SbD).
  - 2) Implementación de controles de ingeniería, incluyendo ventilación forzada y/o sistemas de contención (caja de guantes o salas a presión negativa).

- 3) Implementación de medidas organizativas, priorizando el desarrollo e implementación de procedimientos.
  - 4) Uso de equipos de protección individual (EPIs) acordes a la ruta de exposición.
  - 5) Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.
- **Si el peligro sobre la salud se encuentra entre 2 y 5 se considerará:**
    - 1) Implementación de controles de ingeniería, incluyendo ventilación forzada y/o sistemas de contención (caja de guantes o salas a presión negativa).
    - 2) Uso de equipos de protección individual (EPIs) acordes a la ruta de exposición.
    - 3) Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.
  - **Si las emisiones al aire son mayores a 5 se considerará:**
    - 1) Uso obligatorio de sistemas de filtración de alta eficiencia (ULPA/HEPA).
    - 2) Uso de equipos de protección respiratoria con protección mínima de partículas tipo P2, recomendándose el tipo P3. Se recomienda el uso de medias máscaras combinadas con gafas de seguridad ajustadas a la superficie facial, o máscaras completas.
    - 3) Se recomiendan análisis periódicos en puntos críticos del proceso para verificar un adecuado control de las emisiones al aire.
    - 4) Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.
  - **Si las emisiones al agua son mayores a 5 se considerará:**
    - 1) Verifique la eficacia de los sistemas de tratamiento de aguas residuales.

Se recomienda el uso de sistemas que permitan retirar metales y evitar daños al microbiota de los fangos, en caso de existir tratamiento biológico.

- 2) Utilice sistemas de contención adecuados a las dimensiones de su instalación (cubetas de retención).

Tenga disponible material absorbente (sepiolita o similar) en caso de posibles vertidos de nanomateriales en forma líquida.

- 3) Se recomiendan análisis periódicos en puntos críticos del proceso para verificar un adecuado control de las emisiones al agua.
- 4) Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.

- **Si las emisiones al suelo son mayores a 5 se considerará:**

- 1) Prácticas generales de limpieza para evitar derrames al suelo que puedan ocasionar una posible contaminación.
- 2) Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.

Por tanto, para la gestión de los riesgos con nanomateriales, se ha aplicado la jerarquía de control (STOP) anteriormente expuesta y que se basa en la priorización de la medida de gestión de riesgo en función de su eficacia.

En la práctica, en primer lugar, se estudiaría la sustitución del nanomaterial. Si no es posible, se analizarían los controles técnicos, organizacionales y por último los equipos de protección individual (Figura 40).



## 8. ANEXOS

### RECOMENDACIONES MÍNIMAS DE USO DE LOS NM's

#### Peligro sobre la salud >5:

Debe de aplicarse la jerarquía de control (STOP), considerando:

1. Sustitución del material por otro no peligroso. Si no es posible, modificar la formulación o composición para reducir su riesgo en el origen (SbD).
2. Implementación de controles de ingeniería, incluyendo ventilación forzada y/o sistemas de contención (caja de guantes o salas a presión negativa).
3. Implementación de medidas organizativas, priorizando el desarrollo e implementación de procedimientos.
4. Uso de equipos de protección individual (EPIs) acordes a la ruta de exposición.
5. Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.

#### Peligro sobre la salud 2-5:

Se considerará:

1. Implementación de controles de ingeniería, incluyendo ventilación forzada y/o sistemas de contención (caja de guantes o salas a presión negativa).
2. Uso de equipos de protección individual (EPIs) acordes a la ruta de exposición.
3. Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.

#### Emisiones al aire >5:

Se considerará:

1. Uso obligatorio de sistemas de filtración de alta eficiencia (ULPA/HEPA).
2. Uso de equipos de protección respiratoria con protección mínima de partículas tipo P2, recomendándose el tipo P3. Se recomienda el uso de medias máscaras combinadas con gafas de seguridad ajustadas a la superficie facial, o máscaras completas.
3. Se recomiendan análisis periódicos en puntos críticos del proceso para verificar un adecuado control de las emisiones al aire.
4. Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.

#### Emisiones al agua >5:

A considerar:

1. Verifique la eficacia de los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Se recomienda el uso de sistemas que permitan retirar metales y evitar daños a la microbiota de los fangos, en caso de existir tratamiento biológico.
2. Utilice sistemas de contención adecuados a las dimensiones de su instalación (cubetas de retención). Tenga disponible material absorbente (sepiolita o similar) en caso de posibles vertidos de nanomateriales en forma líquida.
3. Se recomiendan análisis periódicos en puntos críticos del proceso para verificar un adecuado control de las emisiones al agua.
4. Cualquier otra ayuda o técnica, no enunciada, que por las características de la situación con los NM's el Técnico Inspector considere se deben de aplicar.

Figura 40. Recomendaciones anexas al informe generado por la APP nanoSerpA v1.0

## 5.8 VALIDACIÓN DE LA APLICACIÓN APP

Para la validación de la aplicación una vez desarrollada la versión beta, se desarrolló un banco de pruebas para evitar fallos en el uso a través de la siguiente estrategia de validación:

- 1) Validación en emulador virtual
- 2) Validación en dispositivo real

Así pues, tenemos:

**1) Validación en emulador virtual.** Las principales ventajas de este enfoque son:

- Fácil disponibilidad.
- Capacidad para ejecutar dispositivos móviles en múltiples sistemas y redes.
- Capacidad de pruebas parciales, evitando ejecutar APP completa cada vez.
- Económico.
- Alta escalabilidad.
- El mismo script puede ejecutarse en varios dispositivos en paralelo.

Sin embargo, a pesar de que es un primer escalón muy útil para detectar posibles bugs, ofrece algunas desventajas, como que el hardware del dispositivo no se tiene en cuenta, o que al ejecutarse parcialmente se obtienen datos incompletos de los resultados de la simulación, lo que dificulta el análisis completo de los resultados de las pruebas.

**2) Validación en dispositivo real.** Las pruebas en un dispositivo real siempre le ofrecen la mayor precisión y control de los resultados. Para seleccionar dispositivos para las pruebas móviles:

- Análisis para definir los equipos más populares y usados en el mercado.
- Dispositivos con diferentes sistemas operativos.
- Dispositivos con diferentes resoluciones de pantalla.
- Variabilidad de factores entre dispositivos: compatibilidad, tamaño de memoria, conectividad, etc.
- Uso de la batería por parte de la APP

- Posibilidad de interrupciones: llamadas, mensajes, fin de la batería, conectarse para carga, etc.
- Pruebas de recursos del dispositivo
- Falta de espacio para instalar o ejecutar la aplicación.
- Pérdidas de memoria. Preste atención a las ventanas, con mucha información y tareas con un largo flujo de trabajo.
- Instalar, desinstalar actualizar o reemplazar la APP.
- Ausencia de algunas funciones soportadas por la APP (3G, tarjeta SD, geolocalización, etc.).
- Comprobación de que la APP no interfiere con el funcionamiento normal de otras aplicaciones.

Una vez validado el funcionamiento correcto de la APP y los requerimientos del dispositivo soporte, se implementó la información y los algoritmos correspondiente a un caso para evaluar la efectividad de la aplicación.

## 5.9 DEMOSTRACIÓN DEL USO DE LA APP

Se ha hecho una demostración del uso de la App en casos reales de los cuales los datos ya han sido recogidos anteriormente. Se ha probado en 4 casos diferentes:

- 1) Derrame de pintura conteniendo grafeno durante un sprayado.
- 2) Escape de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> de los sistemas de filtrado presentes durante la síntesis.
- 3) Fuga de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> al ser aspiradas durante el trasvase
- 4) Accidentes

Ejemplo 1 - Derrame de pintura con grafeno

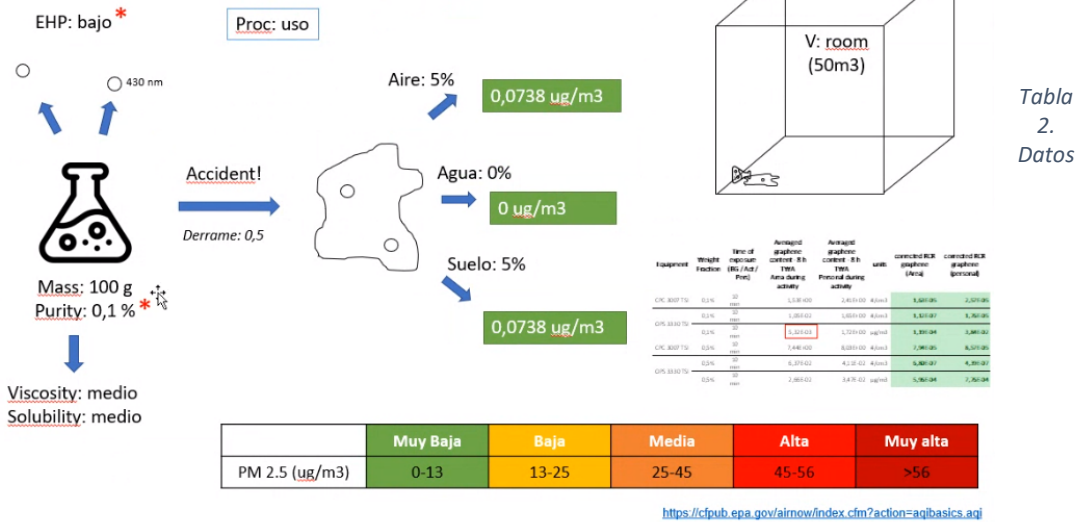


Figura 41. Ejemplo 1.- Derrame de pintura con grafeno

El primer caso comparativo consiste en el derrame accidental de pintura conteniendo grafeno durante un sprayado de pintura de baja densidad. Se estaba sprayando pintura acrílica conteniendo un 0,1% de grafeno m-GO mediante una pistola pulverizadora de gravedad alimentada por un vaso de 0,65 litros de capacidad, capaz de trabajar a una presión máxima de entrada de aire de 8 bar (116 psi), cuando se derramó el contenido del bote al rellenar la pistola. El operario llevaba doble guante de nitrilo, traje Tyvek y máscara completa Dräger con filtro FFP3.

Se medía en el ambiente la posible exposición a grafeno durante el esprayado mediante equipos CPC (TSI-3007) y OPS (TSI-3330), por lo que se registró la posible exposición por vía aérea al grafeno durante el incidente. La Tabla 2 muestra los valores de concentración registrados por los equipos ese día y ponderados al contenido de grafeno de la mezcla.

Tabla 12. Datos medidos durante el derrame de pintura conteniendo grafeno

Equipmen t	Weight Fractio n	Time of exposure (BG / Act / Pers)	Averaged graphene content - 8 h TWA Area during activity	Averaged graphene content - 8 h TWA Personal during activity	unit s	corrected RCR graphene (Area)	corrected RCR graphene (personal)
CPC 3007 TSI	0,1%	10 min	1,53E+00	2,41E+00	#/cm 3	1,63E-05	2,57E-05
OPS 3330 TSI	0,1%	10 min	1,05E-02	1,65E+00	#/cm 3	1,12E-07	1,76E-05
	0,1%	10 min	5,32E-03	1,72E+00	µg/ m3	1,19E-04	3,84E-02
CPC 3007 TSI	0,5%	10 min	7,44E+00	8,03E+00	#/cm 3	7,94E-05	8,57E-05
OPS 3330 TSI	0,5%	10 min	6,37E-02	4,11E-02	#/cm 3	6,80E-07	4,39E-07
	0,5%	10 min	2,66E-02	3,47E-02	µg/ m3	5,96E-04	7,76E-04

**La nomenclatura de la tabla anterior es la siguiente:**

**Equipment:** equipo utilizado para medir la concentración de partículas en aire

**Weight fraction:** fracción de grafeno contenida en los materiales utilizados en el ensayo

**Time.:** tiempo medido total (**BG:** fondo o Background y **Act:** actividad con el material durante el uso).

**Average Graphene... Area during activity:** concentración media en la zona de trabajo a 1 m del trabajador

**Average Graphene... Personal during activity:** concentración media en la zona cercana a la boca del trabajador

**Units:** unidades de medida à # = número de partículas

**Corrected RCR:** risk characterization ratio (índice de riesgo) a 1 m del trabajador en base a la concentración medida en esa zona

**Corrected RCR:** risk characterization ratio (índice de riesgo) en la zona cercana a la boca en base a la concentración medida en esa zona

Como se puede observar, el nivel de riesgo (RCR, cociente entre la exposición del fondo y de la zona personal en torno al trabajador) era bastante menor que 1, lo que implica una posibilidad muy baja de riesgo.

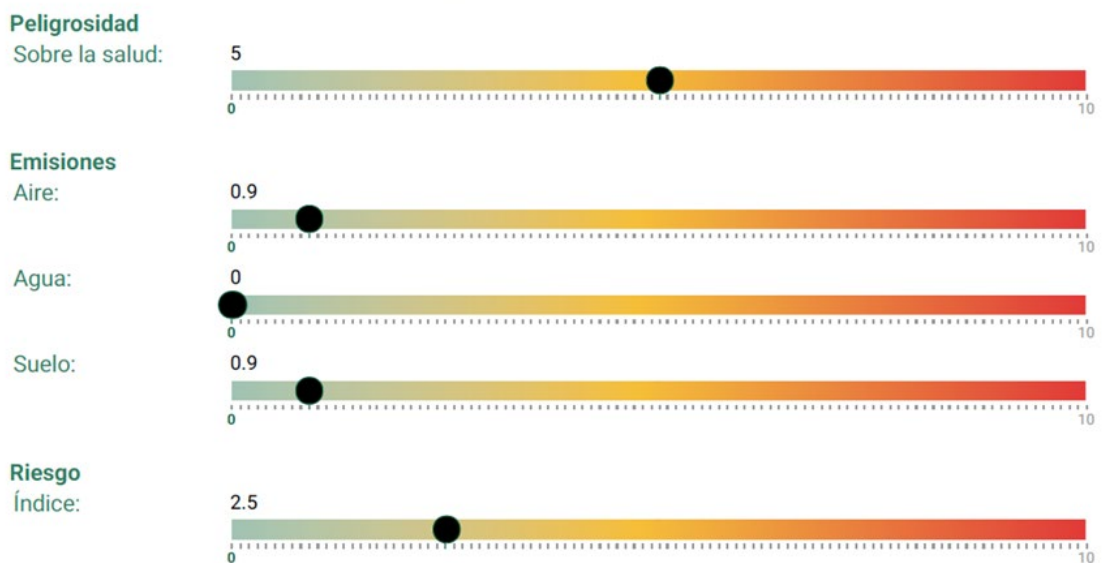
Al aplicar esta información a la App nanoSerpA v1.0, obtenemos el informe que se ha sintetizado en la Figura 5, donde se observa que el riesgo de exposición por vía aérea es muy leve, siendo el riesgo dermal el más probable en este caso.

**Tabla 13. Datos de nanomateriales afectados**

5. Datos de Nanometariales Afectados

Grupo:	Grafeno
Nanomaterial:	Graphene m-GO
Cantidad:	10 mg
EHP:	Alto
Estado:	Líquido
Viscosidad::	Bajo
Solubilidad::	Bajo
Fisicoquímica:	Espesor: 0.9 nm Tamaño de partícula: 430 nm
Toxicología:	No hay datos
Tipo información:	Medida
Sistema de medición:	Cpcs, Ops

6. Resultados del análisis de riesgo



Estos resultados se aplican únicamente a la zona de exposición donde se han producido los hechos estudiados.

**Figura 42. Extracto del informe generado con la APP nanoSerpA v1.0**

### 5.9.1 Ejemplo 2. Escape de nanopartículas de TiO2 del sistema de filtrado durante la síntesis

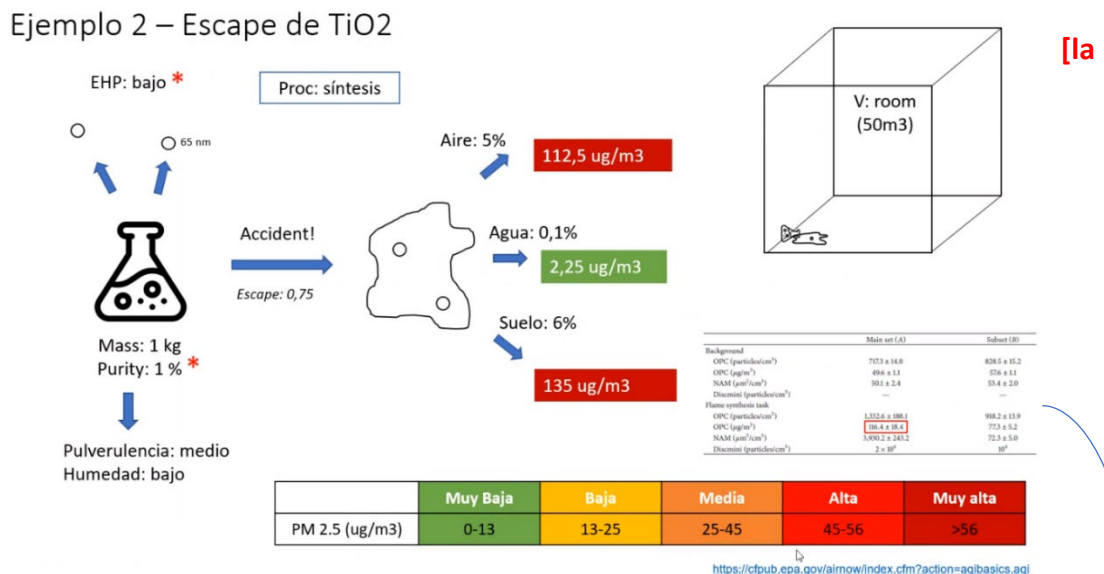



Figura 43. Ejemplo Escape de TiO2

Tabla 14. Resultados de los nano polvos encontrados. Ejemplo 2

	Main set (A)	Subset (B)
<b>Background</b>		
OPC (particles/cm <sup>3</sup> )	717,3 ± 14,0	828,5 ± 15,2
OPC (µg/m <sup>3</sup> )	49,6 ± 1,1	57,6 ± 1,1
NAM (µm <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup> )	50,1 ± 2,4	53,4 ± 2,0
Discmini (particles/cm <sup>3</sup> )	-	-
<b>Flame synthesis task</b>		
OPC (particles/cm <sup>3</sup> )	1.332,6 ± 188,1	828,5 ± 15,2
OPC (µg/m <sup>3</sup> )	116,4 ± 18,4	57,6 ± 1,1
NAM (µm <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup> )	3.930,2 ± 243,2	53,4 ± 2,0
Discmini (particles/cm <sup>3</sup> )	2 × 10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup>

Tabla 15. Valores de la energía de manejo EHP durante un proceso. Ejemplo 2

- \* Nuevos valores EHP (guidenano): \* Pureza
- Muy bajo: 0,05% **(0,0005)**
  - Bajo: 2,5% **(0,025)**
  - Medio: 20% **(0,2)**
  - Alto: 50% **(0,5)**
  - Muy alto: 100% **(1)**
- Usuario en %: 0-100  /100
  - Modelo X/1: 0-1

En este estudio se detectó la presencia de nanoaerosoles en un laboratorio utilizado para fabricar dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>). Los nano polvos de TiO<sub>2</sub> se produjeron mediante síntesis de llama y se recogieron mediante un sistema de filtros de bolsa para su posterior recolección. Sin embargo, se demostró que la eficiencia de recolección de partículas del sistema de filtros de bolsa fue sólo del 20% para un diámetro de partículas de 100 nm, lo que es muy inferior al rendimiento de un filtro de aire de partículas de alta eficiencia (HEPA). Además, el sistema de campana del laboratorio era inadecuado para renovar completamente el aire descargado del sistema de filtros de bolsa. El desequilibrio de las velocidades del flujo de aire entre los sistemas de filtro de bolsa y de campana de laboratorio podría dar lugar a una alta exposición a los nano polvos en los entornos de laboratorio, poniendo en riesgo la integridad de los trabajadores a largo plazo.

Tabla 16. Concentración de partículas durante la síntesis de TiO<sub>2</sub>. Ejemplo 2

	Main set (A)	Subset (B)	Ratio (A/B)
Background			
OPC (particles/cm <sup>3</sup> )	717.3 ± 14.0	828.5 ± 15.2	0.87
OPC (µg/m <sup>3</sup> )	49.6 ± 1.1	57.6 ± 1.1	0.86
NAM (µm <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup> )	50.1 ± 2.4	53.4 ± 2.0	0.94
Discmini (particles/cm <sup>3</sup> )	—	—	—
Flame synthesis task			
OPC (particles/cm <sup>3</sup> )	1,332.6 ± 188.1	918.2 ± 13.9	1.50
OPC (µg/m <sup>3</sup> )	116.4 ± 18.4	77.3 ± 5.2	1.45
NAM (µm <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup> )	3,930.2 ± 243.2	72.3 ± 5.0	54.3
Discmini (particles/cm <sup>3</sup> )	2 × 10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup>	200

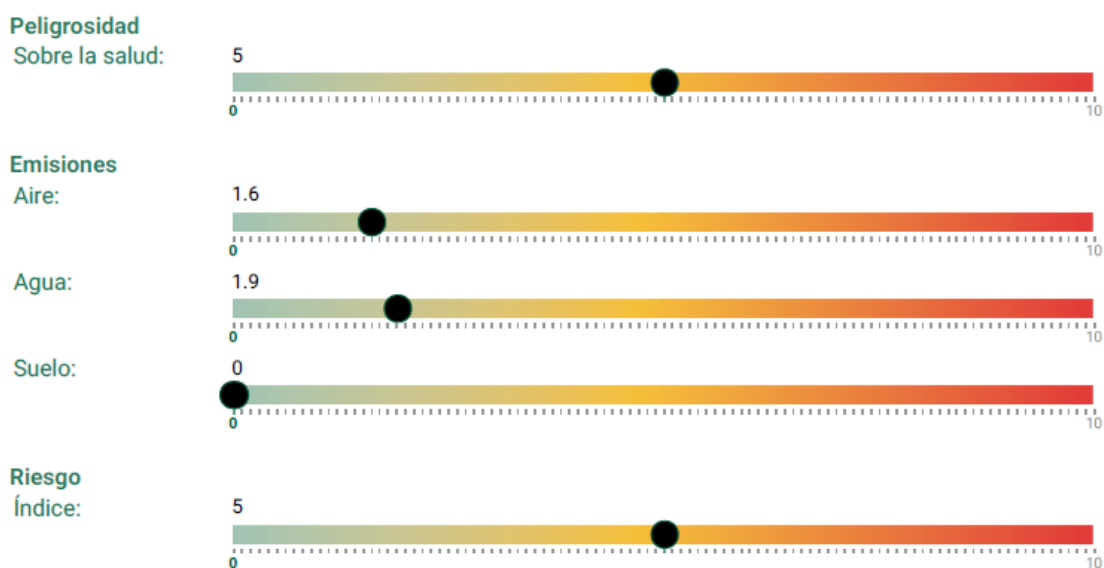


Al introducir esta información en la App nanoSerpA v1.0, se obtiene un informe como el que se muestra en la Figura 44. En él se observa cierto riesgo de emisiones al aire, dado que se confía en los sistemas de filtración y estos no están cumpliendo su papel adecuadamente. A pesar de los sistemas de protección personal presentes (máscara con filtro P3, guantes, batas y gafas de montura universal), habría que revisar los sistemas de ingeniería para mejorar la ventilación en el lugar.

**Tabla 17. Datos de nanomateriales afectados. Ejem. 2**  
5. Datos de Nanometariales Afectados

Grupo:	Dióxido de Titanio
Nanomaterial:	Nanomaterial TiO2
Cantidad:	1 kg
EHP:	Medio
Estado:	Sólido
Pulverulencia::	Medio
Humedad::	Bajo
Fisicoquímica:	Tamaño de partícula: 65 nm
Toxicología:	No hay datos
Tipo información:	Medida
Sistema de medición:	Smpls, nsam, opc, discmini

### 6. Resultados del análisis de riesgo



Estos resultados se aplican únicamente a la zona de exposición donde se han producido los hechos estudiados.

**Figura 44. Extracto del informe generado con la APP nanoSerpA v1.0. Ejem. 2**

---

NOTA Significado:

SMPS = nanoscan que proporciona medidas de la distribución del tamaño de las partículas

NSam = sistema automático de nanomedidas

OPC = contador óptico de partículas

Discmini = contador de partículas portátil testo *DiSCmini* es posible medir de forma eficiente el número y el diámetro promedio de nanopartículas.

### 5.9.2 Ejemplo 3.- Fuga de nanopartículas de SiO<sub>2</sub> de un aspirador

En este caso los trabajadores estaban expuestos a la nanosílice (SiO<sub>2</sub>) de alta concentración emitida al aire al verterla en un contenedor o al trasladar el contenedor. Se comprobó que el uso de una aspiradora con una fuga causada por un sellado inadecuado era el origen de la dispersión de nanosílice en el aire interior.

El estudio concluyó que había un riesgo en la fuga de estas partículas durante el aspirado puesto que, si bien el tamaño de las partículas de nanosílice que se emitían al aire (durante la manipulación de la nanosílice por un trabajador) era en su mayor parte superior a 100 nm o varias micras ( $\mu\text{m}$ ) debido a la coagulación de las partículas, las que se filtraron de la aspiradora tenían un tamaño similar al de la partícula primaria (11,5 nm).

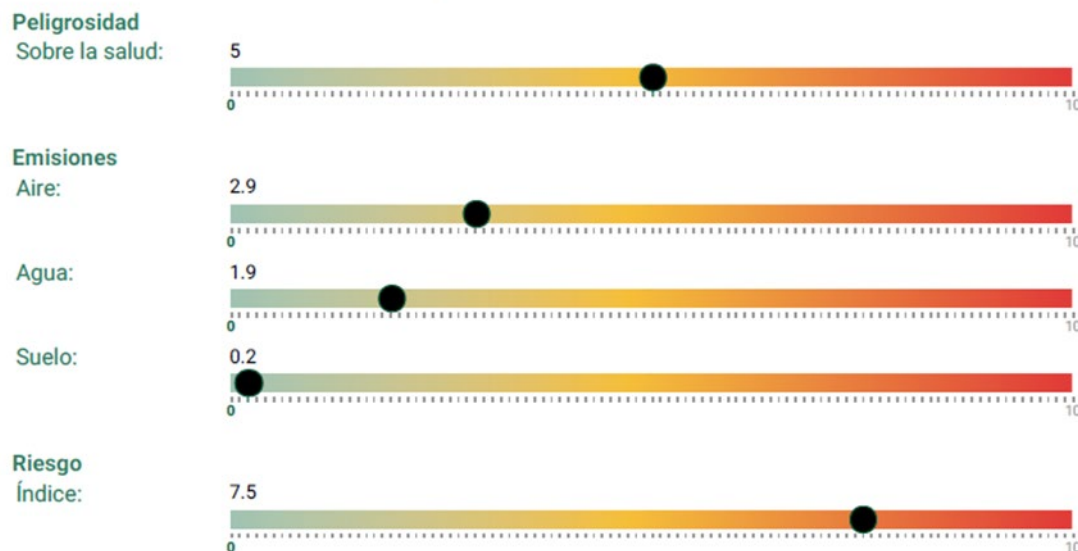
En este caso, los resultados de la App nanoSerpA v1.0 muestran un riesgo mayor para la salud por vía inhalatoria (ver Figura 40), ya que, si bien existe una clara exposición a los nanomateriales fugados, esta exposición es muy breve, puntual, y se cuenta con múltiples controles de ingeniería y protección personal presentes en el lugar de los hechos.

**Tabla 18. Datos de nanomateriales afectados. Ejem. 3**

### 5. Datos de Nanometariales Afectados

Grupo:	Dióxido de Silicio
Nanomaterial:	SiO <sub>2</sub>
Cantidad:	25 kg
EHP:	Alto
Estado:	Sólido
Pulverulencia::	Alto
Humedad::	Bajo
Fisicoquímica:	Potencial Zeta: -25.85 mV Superficie específica: 200 m <sup>2</sup> /g Tamaño de partícula: 16 nm ADN en la cola: 6 % Actividad metabólica: 30 %
Toxicología:	Clasificador de toxicidad: 0 LOG recíproco EC50: 2.2 Liberación de LDH: 52.5 %
Tipo información:	Documental
Sistema de medición:	Equipos TSI

## 6. Resultados del análisis de riesgo



Estos resultados se aplican únicamente a la zona de exposición donde se han producido los hechos estudiados.

Figura 45. Extracto del informe generado con la APP nanoSerpA v1.0

**NOTA:** LDH = enzima lactato deshidrogenasa

### 5.9.3 Ejemplo 4.- Eventos accidentales– gran escala.

La web francesa ARIA Database (<https://www.aria.developpement-durable.gouv.fr/the-barpi/the-aria-database/?lang=en>) recoge diversos accidentes industriales ocurridos en Francia a lo largo de los últimos años. De esta base de datos, se han seleccionado dos accidentes que involucran la liberación de nanomateriales. La evaluación del riesgo se ha simulado mediante el uso de la app, observándose que los resultados obtenidos se encuentran en concordancia con las observaciones realizadas cuando los hechos citados tuvieron lugar. Los inputs introducidos en la aplicación para la evaluación del riesgo se muestran en la Tabla 19.

**Tabla 19. Inputs introducidos en la APP para la valoración del riesgo de los eventos de media-gran escala**

Escenario	Caída de ocho bolsas de TiO <sub>2</sub> en la carretera	Fuga de black carbon durante el transporte
Grupo	TiO <sub>2</sub>	Carbono negro
Nanomaterial	TiO <sub>2</sub>	Carbono negro
Cantidad	100 kg	5 toneladas
EHP	Bajo	Medio
Estado	Sólido	Sólido
Pulvurulencia	Medio	Medio
Humedad	Bajo	Bajo
Viscosidad		-
Solubilidad		-
Propiedades Físico-Químicas	Tamaño: 65 nm	Tamaño: 14 nm Superficie específica: 300 m <sup>2</sup> /g
Toxicología	Sin datos	Actividad metabólica: 50% Liberación de LDH: 1,5% ADN en la cola: 3,5%
Tipo de información	Documental	Documental

El primero de los eventos analizados fue la fuga de black carbon (aproximadamente 5 toneladas) durante su transporte en un depósito neumático. Al introducir esta información en la aplicación nanoSerpA v1.0, se obtiene un informe como el que se muestra en Figura 42 A. El informe muestra un riesgo para la salud medio-alto (5 puntos en una escala del 1 al 10) ya que se liberó una gran cantidad de carbón negro al medio ambiente. Las emisiones obtenidas por aire y suelo son de 1,2 e inexistentes en el caso del agua. Esta última consideración debe tomarse con precaución ya que si este evento tuvo lugar en las proximidades de ríos o lagos estos podrían haber sido afectados por la liberación de estas partículas. Sin embargo, no hay suficiente información sobre el evento para hacer una valoración más detallada. Se estimó además un índice de riesgo medio-alto (7.5 puntos),

este hecho es coherente con las observaciones realizadas durante el evento ya que la vivienda y el paisaje se cubrieron dentro de un perímetro de varios kilómetros.

En cuanto a la seguridad de los trabajadores cabe señalar que, si bien la liberación de black carbon fue grande, el evento se desarrolló en un espacio abierto, por lo que la exposición de los trabajadores en este caso no fue relevante.

El segundo evento recogido fue la caída de 8 sacos de TiO<sub>2</sub> (total aprox.100 kg) durante su transporte por carretera. El informe obtenido se muestra en la Figura 46 B.

Suponiendo que algunas de las bolsas se rompieron durante la caída, se espera una

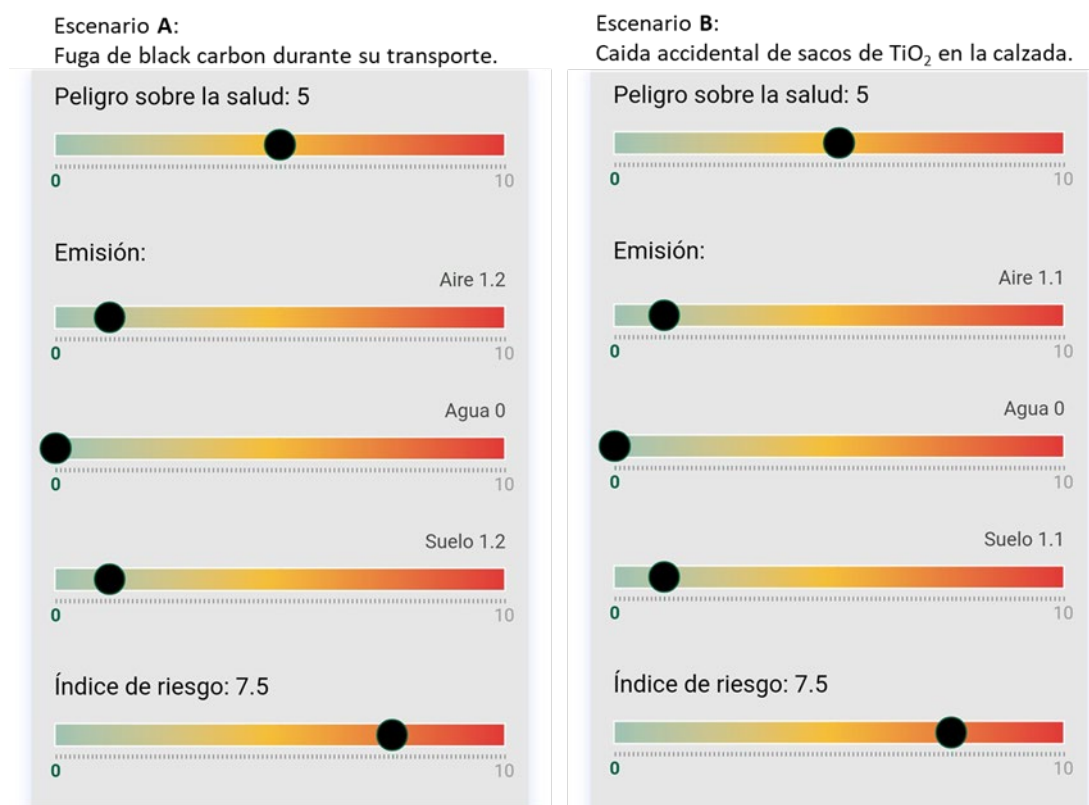


Figura 46. Extracto del informe generado con la APP nanoSerpA para escenarios medio-gran escala

liberación importante de partículas, sin embargo, dado que el evento tuvo lugar en un espacio abierto, los niveles de partículas liberadas al aire presumiblemente serían son bajos. (Emisión de aire 1.1 estimada por la aplicación NanoSerpA). Sin embargo, los trabajadores deben considerar el uso de sistemas de protección personal, mascarilla con

filtro FFP3, guantes, batas y gafas de seguridad cuando recojan los derrames y retiren las bolsas caídas. En este escenario se podría considerar un riesgo para la salud medio (5 puntos en la escala NanoSerpA). La emisión de suelo estimada fue de 1,1. Este hecho es coherente con el escenario real ya que durante el evento quedaron sin recuperar unas decenas de kilogramos de material.

## 5.10 EVALUACIÓN

Se ha demostrado la utilidad y el interés creado en la App nanoSerpA desarrollada en el proyecto. Tanto mediante los cuestionarios como a través el análisis de sensibilidad de los resultados, se han comprobado la afinidad de los resultados del informe generado, adaptándolo a las necesidades manifiestas de los usuarios.

La validación computacional se basa en la validación de la usabilidad de la APP por parte de los usuarios finales y partes interesadas, fijando aspectos tales como claridad del contenido, intuitividad del uso, compatibilidad de sistemas operativos y utilidad de los contenidos y seguridad de los resultados.

Esta tarea se centró en la validación del sistema APP desarrollado de acuerdo con las especificaciones de diseño. Se cubrirán los siguientes aspectos:



Figura 47. Aspecto de la evaluación de la APP

- a) Funcionalidad: Adaptación a las necesidades del usuario, cubriendo todos los aspectos requeridos para la correcta generación del informe final.
- b) Rendimiento: rapidez y fluidez del uso, capacidad para desarrollar múltiples tareas, posibilidad de deshacer o rehacer acciones, modificar y editar información.
- c) Usabilidad: Facilidad de uso de la aplicación, curva de aprendizaje requerida e intuitividad de la cadena de procesos.
- d) Seguridad: Seguridad y robustez en el uso de la aplicación, confidencialidad de los datos.
- e) Durabilidad: capacidad de la APP y los procesos en adaptarse y actualizarse a los cambios en sistemas operativos.

Para desarrollar esta tarea, se seleccionaron 10 usuarios de diferentes sectores industriales y diferentes niveles dentro de la empresa (técnicos de PRL, higienistas, peritos, jefes de área, etc.) y a través de cuestionarios dedicados, se obtuvo una valoración global del uso y utilidad de la APP NanoSerpA.

Los resultados de la evaluación global se implementaron en la APP para mejorar la precisión de los modelos y refinar la funcionalidad, con el fin de refinar los resultados y mejorar su usabilidad, así como optimizar y facilitar la preparación del informe de evaluación del riesgo.

La constatación de los resultados puede realizarse verificando que la aplicación NanoSerpA se encuentra disponible a través de la plataforma Google Play. Los resultados tangibles/observables son los siguientes:



Versión 1.0 de la aplicación software “APP” para dispositivos móviles accesible a través de la plataforma Google Play (<https://play.google.com>), e incluyendo las siguientes funcionalidades:

**1. Módulo de evaluación de riesgos, incluyendo:**

- Base de datos de propiedades de NMs y nanoproduetos con buscador y sistema de filtrado
- Asistente para la descripción de procesos y creación de escenarios de exposición
- Asistente para la evaluación de la probabilidad de exposición y estimación de emisiones al medio ambiente

**2. Módulo de peritaje de riesgos, incluyendo:**

- Función de notificación y descripción de accidentes a través de la aplicación vía correo electrónico y chatbox
- Panel de control para la gestión de informes periciales, incluyendo asistente para la toma de datos (checklist a medida), creación de informes, observaciones y cálculo de daños.
- Envío de planes de acción a clientes y/o personal definido por el usuario de la aplicación dentro de su entidad

**3. Panel de control**

- Gestión de usuarios y perfiles
- Accesos a módulos
- Asistente para la planificación de visitas, gestión y seguimiento de la planificación preventiva.

### 5.10.1 Evaluación de la aplicación por parte de usuarios finales:

Se ha elaborado una encuesta que sirve para evaluar la intención de uso para aquellos usuarios potenciales de la App que aún no la han probado, y como validación del funcionamiento la App para aquellos usuarios que han podido probarla anteriormente.

Este cuestionario se enviará durante los años posteriores al lanzamiento de la App conforme a lo establecido en el calendario de validación y los resultados se irán analizando progresivamente con la finalidad de corregir pequeños defectos y lanzar actualizaciones de la App.

**Tabla 20. Situación en la red de la encuesta sobre la aplicación APP nanoSerpA**

<https://forms.gle/3Z1KfZaAqJ26HJnQ9>

En el Anexo, se muestran las diferentes secciones de la encuesta:

- Sección genérica
- Sección de intención de uso
- Sección de validación de la APP

### 5.10.2 Resultados de la encuesta

Se ha distribuido la encuesta entre fabricantes y usuarios de nanomateriales a diferentes escalas, dándoles la opción de descargarse la versión beta de la App, obteniendo 8 respuestas. Los resultados se muestran a continuación.

En cuanto al perfil de usuario, la mayoría se encuentran relacionados con el sector de la investigación y han trabajado con nanomateriales. La mitad ha tenido algún accidente o percance relacionado con los nanomateriales, aunque siendo del sector de la I+D las cantidades manejadas suelen ser menores.

1. Sector al que pertenece

8 respuestas

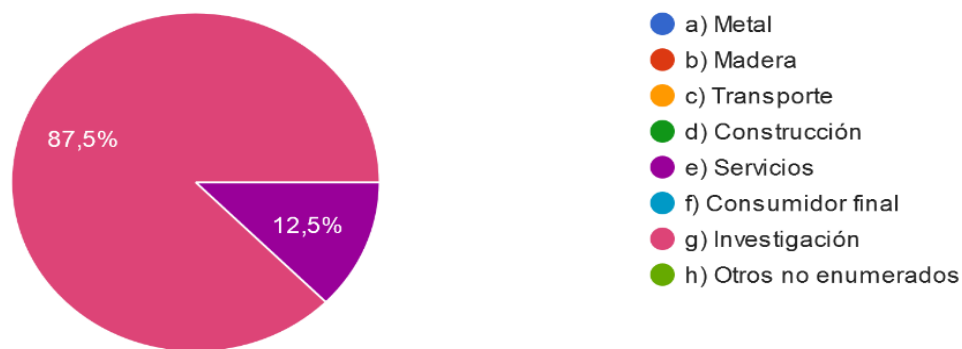


Figura 48. Resultados del sector al que pertenece

2. ¿Trabaja actualmente o ha trabajado con nanomateriales?

8 respuestas

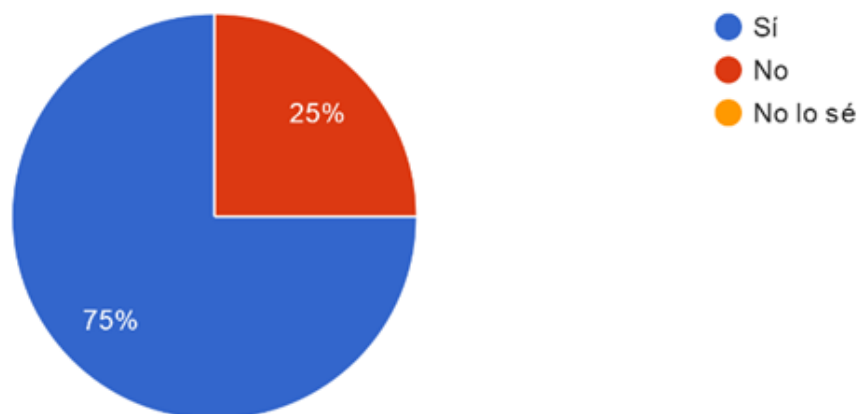


Figura 49. Resultado trabajo con nanomateriales

3. Seleccione una o varias de las siguientes opciones:

4 respuestas

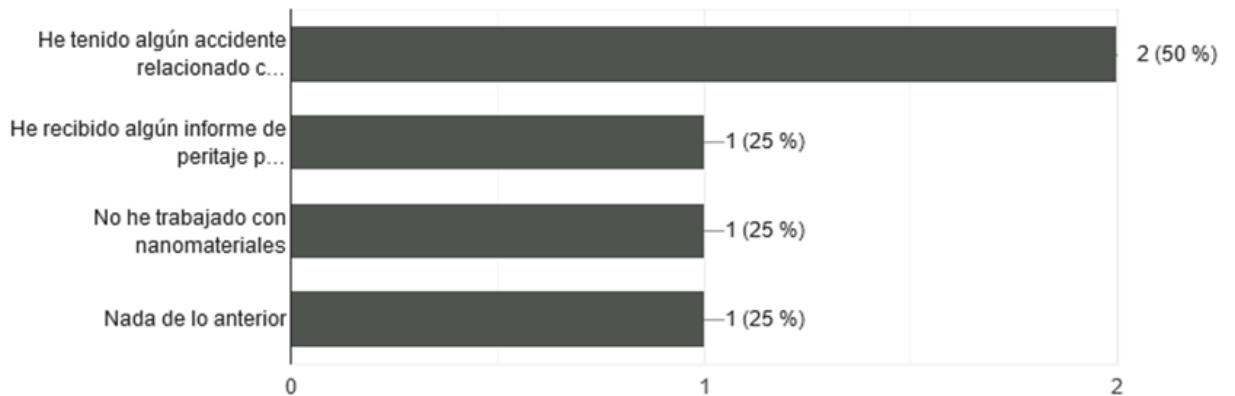


Figura 51. Trabajo con nanomateriales

4. ¿Ha utilizado alguna vez la App NanoSerPa?

8 respuestas

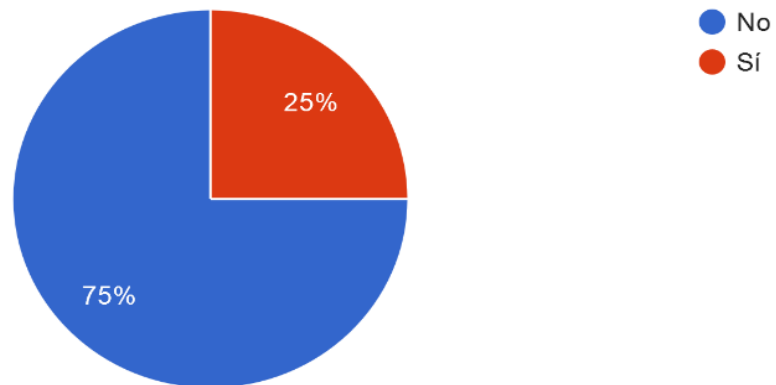


Figura 50. Utilización de la APP nanoSerPA

Los resultados de la intención de uso se muestran a continuación. Se trata de usuarios que aún no han manejado la App NanoSerPA y unánimemente se muestran interesados en la App y sus funcionalidades.

Intención de uso

5. ¿Estaría interesado en una aplicación software que le facilitara la investigación de siniestros con nanomateriales o nanoprodutos?

6 respuestas

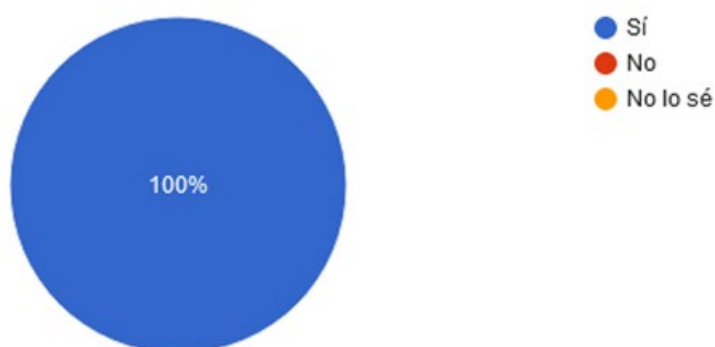


Figura 52. Interés en la APP como herramienta para la investigación de siniestros

6. ¿Estaría interesado en una aplicación software que le permitiera conocer propiedades fisico-químicas y toxicológicas de nanomateriales?

6 respuestas

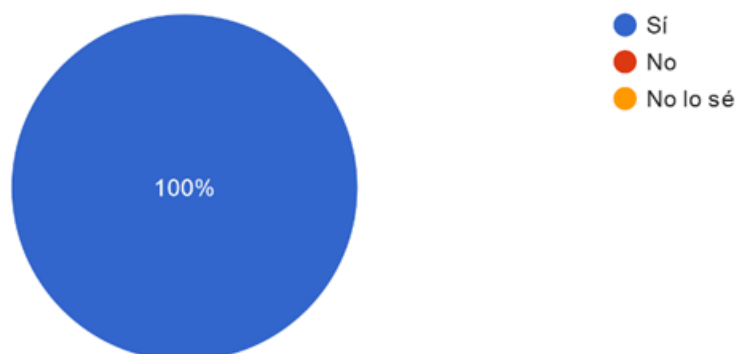
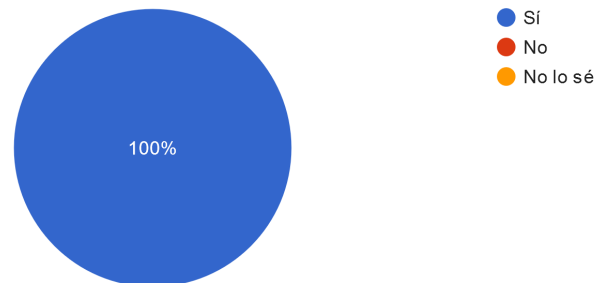


Figura 53. Interés en la APP para conocer propiedades de los nanomateriales

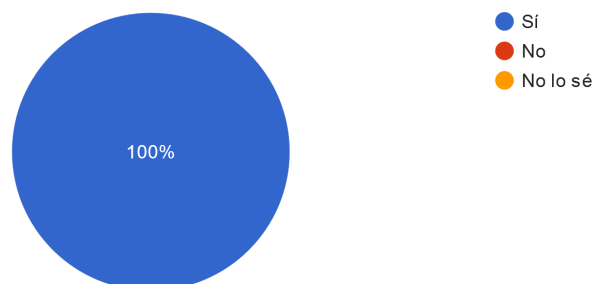
7. ¿Estaría interesado en una aplicación software que le permitiera conocer las medidas de gestión de riesgos frente a accidentes relacionados con nanomateriales?

6 respuestas



8. ¿Estaría interesado en una aplicación software que le permitiera conocer los aspectos regulatorios involucrados en un accidente relacionado con nanomateriales?

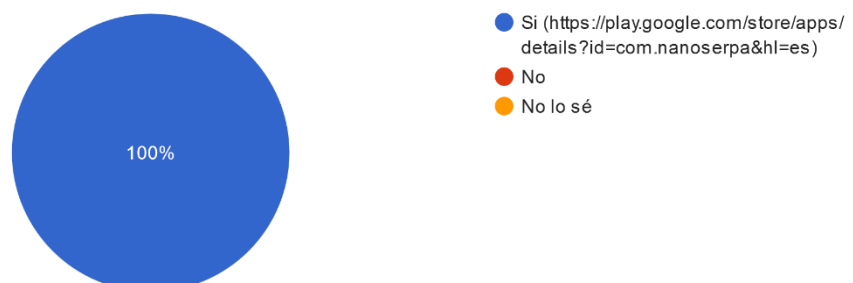
6 respuestas



**Figura 54. interés en la APP para gestión de riesgos**

9. ¿Estaría dispuesto a probar la App NanoSerPa?

6 respuestas



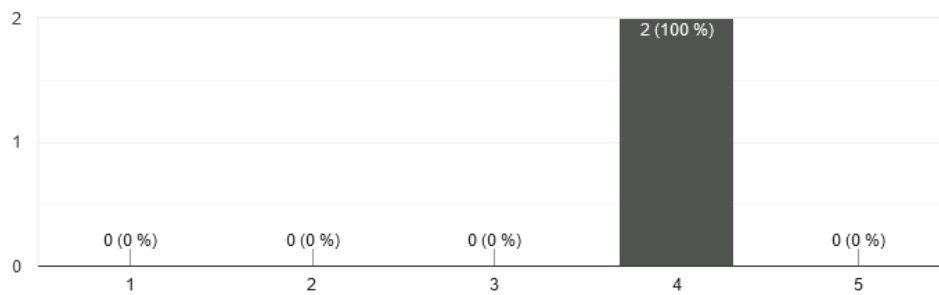
**Figura 55. Interés en la APP para conocer en los aspectos regulatorios de los nanomateriales**

En cuanto a los usuarios que ya conocen la App y se la han descargado para probar, la respuesta es muy favorable, obteniendo quizás peor valoración en las propiedades de los nanomateriales y la generación del informe de valoración de riesgos.

Validación de la App

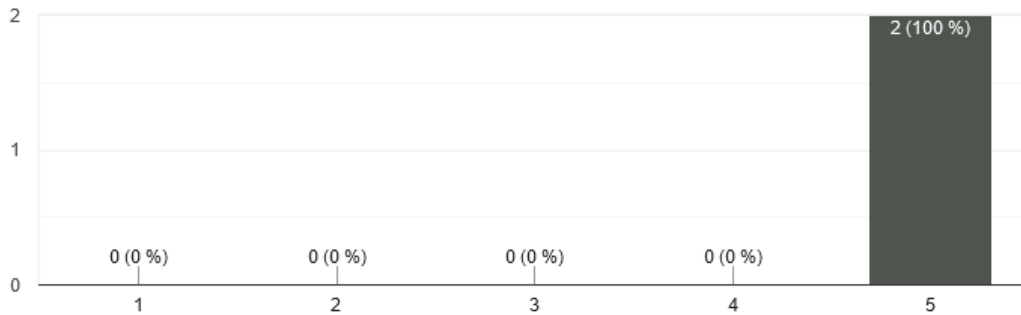
5. Experiencia de uso general

2 respuestas



6. Interfaz de usuario y diseño

2 respuestas



7. Generación de informes de Riesgo de Nanomateriales

2 respuestas

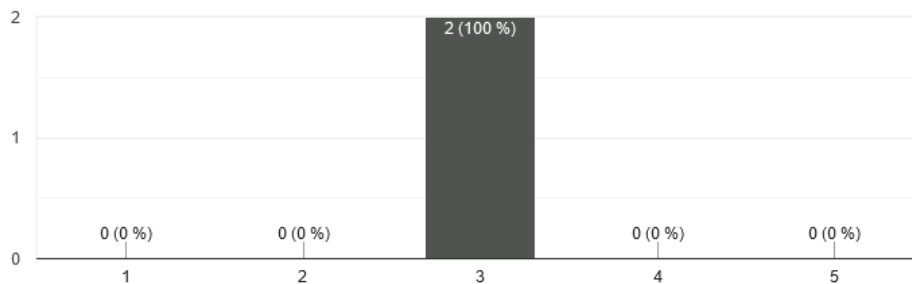
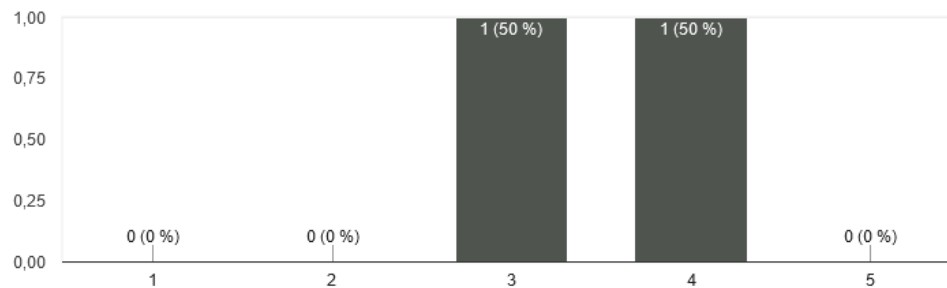


Figura 56. Interés en probar la APP nanoSerpA

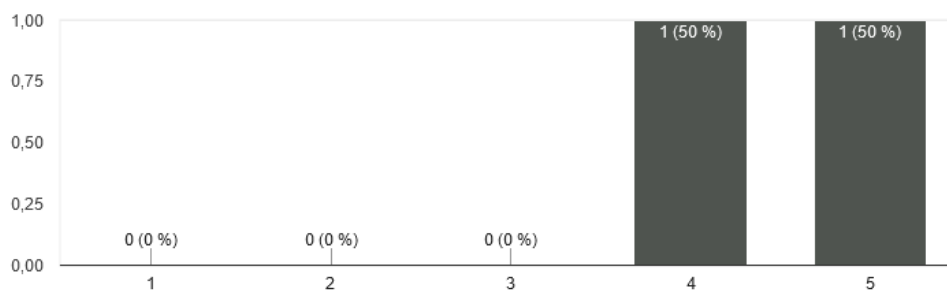
8. Búsqueda de propiedades de nanomateriales

2 respuestas



9. ¿Recomendaría la App?

2 respuestas



**Figura 57. Respuestas de los usuarios que han probado la APP**

De las respuestas obtenidas, se observa un claro interés en el desarrollo de la App, y aunque son muy pocos los usuarios, se planea distribuir esta encuesta tras las sesiones de formación, añadiendo un campo de sugerencias para obtener mejor el impacto de la App en los potenciales usuarios.



## 5.11 COMUNICACIONES PROFESIONALES

Además de los artículos académicos también se han realizado comunicaciones profesionales.

Actualmente, la divulgación del proyecto NanoSerpA se basa en formación presencial y en redes mediante las siguientes vías:

- Impartición de formación en Risk Management con charlas y conferencias tanto en la Universidad Politécnica como para personal técnico y asociaciones de empresarios.
- Presentación en el proyecto REACHingNANO el 11 diciembre 2020. Código proyecto IMDEEA/2019/83
- Producción de un video de presentación de la aplicación en la página web de CyC-ingenieros.com. <https://www.cyc-ingenieros.com/nanoSerpA/>
- Publicación periódica de información en el blog que aparece enlazado en la web <http://www.cyc-ingenieros.com/blog/>, así como en las redes sociales (LinkedIn, Twitter).
- Capacidad de publicación de libros y guías técnicas completas a través de la Editorial Salvaguarda

La difusión juega un papel fundamental en los objetivos del proyecto, dado que se considera como aspecto fundamental la mejora del conocimiento relativo a la caracterización de los riesgos asociados a los NMs y el grafeno.

En base a estos recursos, la promoción de divulgación de la utilización del resultado del proyecto, la APP NanoSerpA se centrará en garantizar la alineación de los resultados del proyecto con las necesidades del sector industrial, garantizando la transmisión de los resultados al mayor número de empresas y profesionales. Para ello, se han previsto las siguientes acciones:

**1. Identificación de partes interesadas “stakeholders”:**

En primer lugar, la estrategia se centrará en la identificación de profesionales interesados en los resultados de proyecto, incluyendo profesionales en activo en empresas, personal académico e investigadores, aseguradoras y empresas de peritaje o servicios de prevención, incluyendo visitas presenciales a empresas dirigidas a la identificación de las necesidades del tejido empresarial, y en particular, aquellas empresas potenciales usuarias de nanomateriales en los sectores de referencia del proyecto.

**2. Creación de material de difusión:**

Con el fin de dar a conocer y despertar interés entre los sectores interesados los resultados del proyecto, se generará el siguiente material divulgativo:

- Creación de la ficha informativa del proyecto en la web de el que suscribe que suscribe con acceso a las últimas noticias y resultados del proyecto, incluyendo accesos los manuales de usuario de los modelos predictivos y la APP, así como a los distintos informes de resultados públicos
- Entradas periódicas en el blog del que suscribe.
- Promoción en redes sociales (LinkedIn, Facebook, Twitter...) de las actividades y resultados del proyecto.
- Notas de prensa escrita y electrónica en medios de comunicación regionales y autonómicos.
- Creación de folletos con la información resumida de los objetivos y el resultado del proyecto para difundir en ferias, reuniones con clientes o de empresas, etc.
- Publicación de artículos con los principales resultados del proyecto en medios especializados nacionales e internacionales.
- E-mailing a través de asociaciones industriales: envío de información, actualizaciones y encuestas de valoración de resultados (feedback).

- Creación de un vídeo divulgativo demostrativo del uso y aplicaciones de la APP desarrollada en el proyecto.

### 3. Comunicaciones presenciales y sesiones de formación:

Organización y participación en sesiones de formación, congresos, seminarios y/o jornadas de difusión abierta, incluyendo acciones dirigidas a sectores específicos y acciones de networking para la promoción del dialogo entre empresas, asociaciones de asegurados y representantes de servicios de prevención.

- Organización de jornadas y seminarios sobre aplicaciones y seguridad referente a nanomateriales en cooperación con empresas, agrupaciones industriales, servicios de prevención o aseguradoras.
- Organización de sesiones de formación y/o talleres prácticos en las sedes de asociaciones o plataformas industriales, o cámaras de comercio o seminarios de servicios de prevención con el fin de promover el uso de la APP NanoSerpA, así como potenciar la familiarización de terminologías e interpretación de resultados relacionados con los riesgos de exposición a nanomateriales.
- Creación de sesiones de formación on-line mediante "webinars".
- Participación en ferias y conferencias relevantes mediante poster o comunicación oral.
- Sesión de transferencia a responsables y/o técnicos de prevención en la necesidad de realización de evaluaciones del riesgo con la APP NanoSerpA relativas al riesgo de la exposición a nanomateriales, incluyendo sesiones prácticas.

## 5.12 POSIBLES FUTUROS DESARROLLOS

La problemática asociada a la nanotecnología tiene un marcado carácter internacional, por tanto, los resultados del proyecto pueden tener un impacto internacional. En la figura inferior (figura 58) se muestra un esquema de la distribución mundial de la producción de nanomateriales.

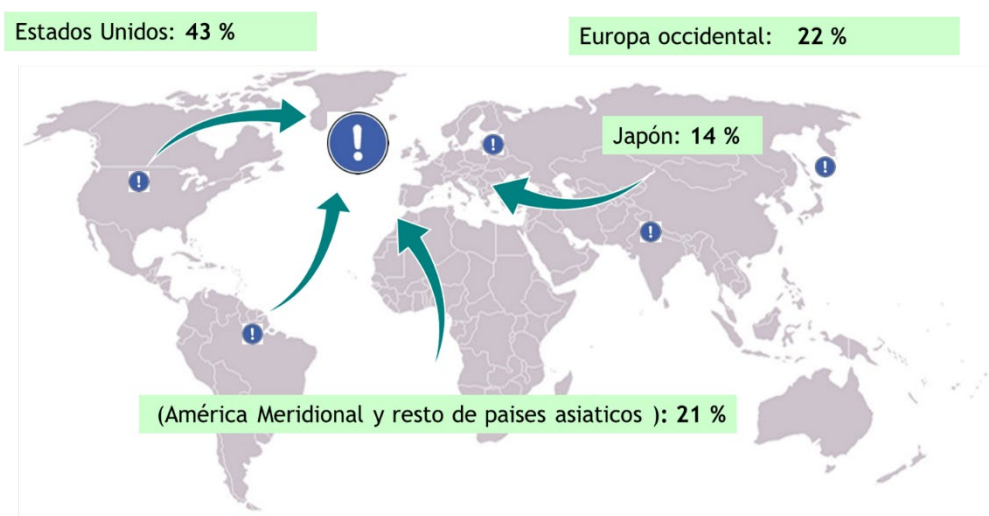


Figura 58. Mapa de producción mundial de nanomateriales

La APP nanoSerpA se realizará en plataforma multi-idioma con objeto de permitir la implementación de nuevos idiomas en posteriores versiones de la aplicación. En una primera fase de comercialización, se plantea abordar el mercado nacional. En una segunda fase, se plantea abordar el mercado europeo, especialmente en Alemania, Francia, Suiza, Italia y Bélgica, países que aglutinan la mayor parte de empresas en Europa occidental. Una vez consolidado este mercado, se podría plantear la entrada en mercados como el estadounidense, donde se espera un fuerte incremento de la producción de productos nanotecnológicos.

En el caso de los usuarios finales pertenecientes al colectivo de gerentes de riesgos y peritos focalizados en el mercado industrial y dirigidos a la dar soporte a las necesidades fruto de actividades industriales y procesos productivos, se prevé igualmente un alto potencial de internacionalización, especialmente considerando la marcada tendencia a la globalización de la actividad económica de los agentes que participan en este mercado, e

incluyendo tanto empresas proveedoras de servicios (oferta) como de potenciales clientes (demanda), que en el caso del aplicaciones nanotecnológicas, estará en continuo crecimiento.

### **Futuras posibles líneas de investigación...**

El mundo de los nanomateriales es cada vez más amplio y rápido, lo que hace que las líneas de investigación de los efectos para la salud y el medio ambiente vayan por detrás de las aplicaciones actuales y futuras. Ello nos da como consecuencia la necesidad de establecer unos principios preventivos que sienten las bases para crear una base preventiva, la creación de una reglamentación obligatoria, establecer los parámetros de salud y seguridad tanto para el trabajador como para el usuario final y por último estudios sobre el impacto en el medioambiente.



**Figura 59. Necesidad de unos principios preventivos**

## 5.13 CONCLUSIONES DESARROLLO DE LA APP nanoSerpA

La utilidad de la aplicación **nanoSerpA** para evaluaciones de riesgo de nanomateriales se probó mediante la simulación de diferentes accidentes para escenarios de pequeña y gran escala. La evaluación de riesgos obtenida parece estar de acuerdo con los datos experimentales cuando estaban disponibles. La comparación de la evaluación obtenida con la aplicación para escenarios reales reportados en la literatura también parece ser consistente.

nanoSerpA v1.0 es una aplicación intuitiva y fácil de usar que permite a los trabajadores, técnicos y todos los usuarios utilizarla sin una formación específica. Además, las entradas necesarias para esta aplicación no son difíciles de encontrar y, por lo general, la información requerida está disponible en las fichas de datos de seguridad.

Además, nanoSerpA v1.0 presenta una lista de acciones preventivas que se pueden aplicar para minimizar o incluso eliminar el riesgo de exposición del trabajador durante una liberación accidental particular de nanomateriales, y ha demostrado ser una herramienta útil para la realización de expertos. informes en el caso de accidentes relacionados con nanomateriales. Además, esta aplicación permite buscar y consultar las propiedades de los nanomateriales más utilizados.

Los niveles de exposición en términos de concentración de número de partículas y distribución de tamaño medidos por medio de instrumentos de lectura directa y muestreadores revelaron la presencia de partículas en el rango nanométrico en la zona de respiración de partículas durante eventos accidentales simulados en una planta piloto, lo que indica una liberación de partículas ultrafinas.

Se observó que los niveles de emisión están directamente influenciados por el tipo de actividad de manejo y no solo por la cantidad utilizada. Por lo tanto, para comprender mejor las actividades que conducen a la exposición de los trabajadores, se necesita un análisis en profundidad de la energía involucrada en el proceso y el modo de aplicación.

## 6 RESUMEN ARTÍCULOS PUBLICADOS

### 6.1 ARTÍCULO (1)

[18] AZNAR-MOLLÁ, Francisco; FITO-LÓPEZ, Carlos; ALVARO, Jose Antonio Heredia. Insights into the potential effects of released engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: environmental issues and future activities for risk assessment and management. Journal of Nanoparticle Research, 2021, vol. 23, no 4, p. 1-19. <https://doi.org/10.1007/s11051-021-05165-w>

#### **INSIGHTS INTO THE POTENTIAL RELEASE OF ENGINEERED NANOMATERIALS FROM POLYMER BASED NANOCOMPOSITES: FUTURE ACTIVITIES FOR RISK ASSESSMENT AND MANAGEMENT**

*“Información sobre los efectos potenciales de los nanomateriales de ingeniería liberados a partir de nanocompuestos de polímeros: problemas ambientales y actividades futuras para la evaluación y gestión de riesgos”.*

<https://doi.org/10.1007/s11051-021-05165-w>

El **objetivo** de este artículo es presentar el estudio efectuado para analizar los efectos potenciales toxicológicos y ecotóxicos de algunos compuestos poliméricos comunes que incorporan nanomateriales (ENMs) al liberarse de los mismos y que se pueden acumular en el suelo, el agua o biota, poniendo en peligro la salud de los organismos vivos y los ecosistemas. La **metodología** utilizada consistió en combinar un conjunto de materiales poliméricos con ENMs para producir películas que se envejecieron en una cámara de envejecimiento rápido utilizando radiación UV para simular la degradación efectos de la luz solar y variaciones de humedad controlada. Las muestras erosionadas se micronizaron para realizar estudios de ecotoxicidad siguiendo protocolos adaptados de la norma de la OCDE<sup>10</sup>

---

• <sup>10</sup> ISSN: 20745761 (en línea) 201, 202 y 207 <https://doi.org/10.1787/20745761>

sobre los invertebrados acuáticos *Daphnia magna* y *Brachionus plicatilis*, el alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* y el invertebrado del suelo *Eisenia foetida*.

El **resultado** del estudio demostró un bajo nivel de toxicidad para la mayoría de los nanocompuestos estudiados, excepto en el caso del nanocompuesto a base de plata (Ag) (PP\_Ag), donde se encontró una alta toxicidad para el invertebrado acuático *Daphnia magna* debido probablemente al efecto de los iones de plata.

**En conclusión**, el estudio de los efectos de los materiales que contienen ENM generados durante los procesos de degradación de nanoprodutos es un área poco investigada. Este trabajo proporciona nuevos datos sobre los efectos potenciales de los materiales liberados de los compuestos de polímeros que contienen ENMs. A la vista de los resultados obtenidos para los diferentes tipos de nanocompuestos estudiados, se han extraído las siguientes conclusiones adicionales:

#### **A. Liberación de nanopartículas por UV.**

- a. Existe una relación compleja entre el grado de desgaste y la liberación de ENM. Se necesita una investigación más enfocada para dilucidar qué parámetros y características relacionadas con los polímeros determinan en gran medida la probabilidad de liberación.
- b. Los resultados mostraron que algunos tipos de nanopartículas retardan la degradación mientras que otras la aceleran con respecto al polímero (epoxi) sin rellenos.

#### **B. Toxicidad en ecosistemas acuáticos**

- a. Los nanocompuestos a base de plata y ZnO mostraron cierto grado de toxicidad para los organismos de agua dulce.
- b. La presencia de plata podría desencadenar el impacto ecotoxicológico de los nanocompuestos poliméricos

#### **C. Toxicidad aguda en suelos**



- c. Las pruebas realizadas muestran que ninguno de los nanocompuestos tuvo una mortalidad superior al 5% de los individuos estudiados para *Eisenia foetida* a la concentración límite de prueba de 1 mg / cm<sup>2</sup>.

A partir de los resultados anteriores, ha quedado claro que el tamaño de las muestras que contienen nanopartículas, y que se descargan al medio ambiente, la probabilidad de impacto en el medio ambiente humano y ambiental cada vez necesita un estudio más profundo, incluyendo un análisis exhaustivo de las diferencias en el potencial de migración de partículas para cada tipo de matriz polimérica. Y el proceso de envejecimiento de los nanocompuestos poliméricos promueve la liberación de ENMs, con potenciales efectos adversos esperados en ambientes naturales.

J Nanopart Res #####  
<https://doi.org/10.1007/s11051-021-05165-w>

RESEARCH PAPER



## Insights into the potential effects of released engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: environmental issues and future activities for risk assessment and management

Francisco Aznar-Mollá · Carlos Fito-López  · Jose Antonio Heredia Alvaro

Received: 21 August 2020 / Accepted: 9 February 2021  
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

**Abstract** The use, production, and disposal of engineered nanomaterials (ENMs) raise concerns about their environmental impact at all stages of the life cycle, considering that nanostructured materials can be released to the air, soil, or water in common industrial processes and/or accidental events, and ultimately accumulate in the soil, water, or biota, endangering the health of living organisms and ecosystems. Within this context, the present study is focused on the analysis of the potential effects of common polymeric composites incorporating ENMs in relevant organisms from soil and aquatic compartments. To this end, a set

of polymeric materials, including PET, PLA, and PP, were compounded with a list of ENMs to produce PP\_Ag, PET\_Ag, PET\_ZnO, and PLA\_SiO<sub>2</sub> films that were aged in a weathering chamber using UV radiation to simulate the degradation effects of sunlight and other relevant environmental factors. Weathered samples were micronized to conduct ecotoxicity studies following adapted OECD protocols on the aquatic invertebrates *Daphnia magna* and *Brachionus plicatilis*, the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, and the soil invertebrate *Eisenia foetida*. The results showed a low level of toxicity for the nanocomposites studied, except in the case of the silver (Ag)-based nanocomposite (PP\_Ag), where a high toxicity was found for the aquatic invertebrate *Daphnia magna* due probably to the effect of silver ions. The aging process of the polymer nanocomposites promotes the release of ENMs, with potential adverse effects expected in natural environments.

### Highlights

- Aging process based on UV light and humidity can trigger the release of ENMs into the environment.
- Silver-based nanocomposites present higher concerns.
- ZnO-based nanocomposites elucidated moderate toxicity.
- Adverse effects on micro-invertebrates are expected in natural environments.

F. Aznar-Mollá  
 Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular  
 Chemistry, University of Jaume I, Castellón, Spain  
 e-mail: al363139@uji.es

C. Fito-López (✉)  
 ITENE, C/ Albert Einstein, 1, 46980 Paterna, Valencia, Spain  
 e-mail: carlos.fito@itene.com

J. A. H. Alvaro  
 Industry Chair Director 4.0, University of Jaume I, Castellón,  
 Spain  
 e-mail: heredia@uji.es

**Keywords** Nanomaterial · Nanocomposites · Ecotoxicity · Risk assessment · Release

### Introduction

The use of engineered nanomaterials (ENMs) is growing continuously due to the benefits of the materials in the nanoscale in applications such as packaging



 Springer

## 6.2 ARTÍCULO (2)

[17] Aznar Mollá, F., Fito-López, C., Heredia Alvaro, J. A., & Huertas-López, F. (2021). New tools to support the risk assessment process of nanomaterials in the insurance sector. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(13), 6985.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>

### NEW TOOLS TO SUPPORT THE RISK ASSESSMENT PROCESS OF NANOMATERIALS IN THE INSURANCE SECTOR

*“Nuevas herramientas para apoyar el proceso de evaluación de riesgos de los nanomateriales en el sector asegurador”*

<https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>

Está comprobado que el incremento del uso de nanomateriales en las últimas décadas y los riesgos que esto puede generar para la salud y el medio ambiente son reales. **El objetivo** del artículo es validar la utilidad de una aplicación para smartphones, nanoSerpA, desarrollada para el sector asegurador como solución para el análisis y evaluación del riesgo emergente, tóxico y ecotóxicos, por la aplicación de la nanotecnología en la industria de nuevos materiales.

**La metodología utilizada** para la validación de los cálculos y la usabilidad ha sido la simulación de diferentes escenarios de exposición para nanomateriales. Para el cálculo del nivel de exposición y estimación de la peligrosidad la aplicación implementa algoritmos basados en modelos publicados en la literatura. El algoritmo de predicción de la probabilidad de la emisión de nanomateriales se basa en un conjunto de variables relevantes vinculadas a las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales, que dependen del estado (viscosidad / solubilidad para líquidos, polvo / humedad para sólidos) y el coeficiente de liberación del accidente o siniestro; se compararon los resultados obtenidos con escenarios reales para corroborar la eficacia de la herramienta y los algoritmos elegidos.

**Los resultados muestran** que la aplicación es útil y las mediciones son muy aproximadas a las reales. Además, la aplicación presenta una lista de acciones preventivas para minimizar el riesgo de exposición del trabajador, en los que se ha tenido en cuenta las liberaciones y emisiones al medio ambiente, los peligros para la salud con diez criterios de valoración diferentes al analizar los peligros

para la salud que pueden probar los nanomateriales, dando como resultado un índice cualitativo de riesgo (en una escala del 0 al 10).

**Se puede concluir que** el uso de herramientas novedosas como esta aplicación puede añadir valor a empresas del sector asegurador permitiéndoles ofrecer a sus clientes una gestión más eficaz de los riesgos asociados a los nanomateriales. NanoSerpA v1.0 es una aplicación intuitiva y fácil de usar que permite a los trabajadores, técnicos y todos los usuarios utilizarla sin una formación específica. Además, la aplicación ha demostrado ser una herramienta útil para la realización de informes en el caso de accidentes relacionados con nanomateriales y permite buscar y consultar las propiedades de los nanomateriales más utilizados.



Article

# New Tools to Support the Risk Assessment Process of Nanomaterials in the Insurance Sector

 Francisco Aznar Mollá <sup>1</sup>, Carlos Fito-López <sup>2,\*</sup> , Jose Antonio Heredia Alvaro <sup>3</sup> and Francisco Huertas-López <sup>2</sup>
<sup>1</sup> Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular Chemistry, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain; al363139@uji.es

<sup>2</sup> ITENE, Technological Institute of Packaging, Transport and Logistics, 46980 Paterna, Spain; maida.domat@itene.com

<sup>3</sup> Industry 4.0 Chair Director, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain; heredia@uji.es

\* Correspondence: carlos.fito@itene.com; Tel.: +34-647521544



**Citation:** Aznar Mollá, F.; Fito-López, C.; Heredia Alvaro, J.A.; Huertas-López, F. New Tools to Support the Risk Assessment Process of Nanomaterials in the Insurance Sector. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 6985. <https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>

Received: 30 March 2021

Accepted: 9 June 2021

Published: 29 June 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** During the last decade, the use of nanomaterials, due to their multiple utilities, has exponentially increased. Nanomaterials have unique properties such as a larger specific surface area and surface activity, which may result in health and environmental hazards different from those demonstrated by the same materials in bulk form. Besides, due to their small size, they can easily penetrate through the environmental and biological barriers. In terms of exposure potential, the vast majority of studies are focused on workplace areas, where inhalation is the most common route of exposure. The main route of entry into the environment is due to indirect emissions of nanomaterials from industrial settings, as well as uncontrollable releases into the environment during the use, recycling and disposal of nano-enabled products. Accidental spills during production or later transport of nanomaterials and release from wear and tear of materials containing nanomaterials may lead to potential exposure. In this sense, a proper understanding of all significant risks due to the exposure to nanomaterials that might result in a liability claim has been proved to be necessary. In this paper, the utility of an application for smartphones developed for the insurance sector has been validated as a solution for the analysis and evaluation of the emerging risk of the application of nanotechnology in the market. Different exposure scenarios for nanomaterials have been simulated with this application. The results obtained have been compared with real scenarios, corroborating that the use of novel tools can be used by companies that offer risk management in the form of insurance contracts.

**Keywords:** nanotechnology; nanomaterial; nanoparticle; ecotoxicity; risk assessment; modeling

## 1. Introduction

The main principle of insurance is that one party, identified as “the insurer,” shall guarantee payment for an uncertain future event related to an incident where potential damages can be expected on different subjects, including human health or the environment. Special types of insurance policies that insure against specific types of risks faced by a particular company are required. In this regard, a nanotechnology-based company needs a policy that covers damage or injury that occurs as a result of an accidental event in the factory, including accidents involving nanomaterials.

Today, engineered nanomaterials (ENMs) are frequently used. Their applications range from scratch-resistant or self-cleaning surface coatings to enhanced cosmetics. Applications in food include objectives to enhance flavor and texture and encapsulate micronutrients to prolong their stability, augmented by packaging applications to prolong shelf life and avoid bacterial contamination. Potential applications in other sectors include environmental remediation to detect and eliminate toxic substances, energy generation and storage plus multiple other commercial uses of novel materials [1]. Besides the wide range of new opportunities offered by these novel materials, concerns have been raised

## 6.3 ARTÍCULO (3)

[19] AZNAR-MOLLÁ, Francisco<sup>1</sup>, Jose Antonio Heredia Alvaro<sup>2</sup>, Oscar Andreu Sanchez<sup>3</sup>, Carlos Fito-López<sup>4</sup>, Inmaculada Colmenar González<sup>4</sup>. Nanosafety analysis of graphene-based polyester resin composites on a life cycle perspective. <https://doi.org/10.3390/nano12122036>

### NANOSAFETY ANALYSIS OF GRAPHENE-BASED POLYESTER RESIN COMPOSITES ON A LIFE CYCLE PERSPECTIVE

*“Análisis de nanoseguridad de compuestos de resina de poliéster a base de grafeno en una perspectiva de ciclo de vida”.*

<https://doi.org/10.3390/nano12122036>

El **objetivo** de este artículo es evaluar la posible liberación de partículas de grafeno y sus aglomerados y agregados como resultado del lijado de muestras compuestas de resina de poliéster a base de grafeno destinadas a ser utilizadas como elemento constructivo, y evaluar los posibles efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente.

La **metodología** seguida ha sido fabricar probetas con resinas a las que se ha añadido nanopartículas, creando nanomateriales que a continuación se degradan con equipos de envejecimiento por rayos U.V. seguidamente se micronizan con equipos de bolas y/o equipos de lijado en un banco de lijado diseñado a medida conectado a dispositivos de medición de resolución de tiempo y tamaño. Y a continuación se estudia la ecotoxicidad en varios organismos vivos mediante equipos de laboratorio. Para ello, se utilizó un contador óptico de partículas y un contador de partículas de condensación para evaluar las distribuciones de tamaño de partículas y la concentración del número de partículas. Se caracterizó adecuadamente la morfología, el tamaño y la composición química de las partículas liberadas con un análisis con microscopio electrónico de barrido/rayos x de dispersión de energía. Se realizó un estudio de detección de toxicidad de nanocompuestos prístinos y basados en grafeno liberados utilizando el macroinvertebrado acuático *Daphnia magna* y líneas celulares epiteliales humanas relevantes como Caco2 y A549.

**Como resultado tenemos** que se observó una liberación significativa de materiales a nanoescala durante las operaciones de mecanizado, incluyendo diferencias atribuidas al % de grafeno y condiciones climáticas. Las pruebas de líneas celulares demostraron un mayor efecto en la línea celular de carcinoma de colon humano Caco2 que en los fibroblastos humanos (línea celular A549). Además, se investigó el potencial toxicológico y de liberación del grafeno y las resinas a base de grafeno considerando la inhalación como la principal vía de exposición a efectos de evaluación de riesgos. Las mediciones en tiempo real demostraron una alta liberación de partículas por debajo de 1  $\mu\text{m}$ ; sin embargo, estas partículas, según las imágenes SEM, estaban compuestas más bien por materiales de matriz que contenían las partículas incrustadas. Era claramente visible que se obtuvo un nivel de concentración más alto para las muestras meteorizadas, lo que sugirió un impacto significativo del proceso de meteorización en la liberación de partículas de tamaño nano y micro. La distribución del tamaño de las partículas no mostró diferencias en el tamaño de las partículas liberadas, lo que sugiere que el tamaño de las partículas podría estar relacionado con las especificaciones del dispositivo de lijado aplicado. Se observó la liberación de partículas de diferentes tamaños relacionadas con la pulverización de las pinturas, mostrando un aumento en la concentración y masa de partículas con respecto a las concentraciones de fondo. Además, también se observó el aporte de partículas ambientales de diferentes formas y composiciones, probablemente polvo y materiales provenientes del proceso de aspersión compuestos principalmente por diferentes metales. No se encontró una diferencia notable en la concentración de partículas debido a la viscosidad de las pinturas, además, no se identificó ninguna población de nanopartículas de grafeno libre mediante microscopía SEM en los filtros muestreados de ninguna de las pinturas probadas. En todos los casos, las partículas parecen estar recubiertas por una gruesa capa de pintura. Sin embargo, el análisis EDX parece no ser suficiente para determinar la composición de los elementos presentes.

**Podemos concluir que** los compuestos liberados al medio ambiente podrían tener un impacto tóxico y ecotóxicos en la salud humana y la biota. Por ello, es necesario considerar los posibles efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente, tanto en la




producción, como por el uso y eliminación de nanomateriales por las condiciones atmosféricas, y el uso y trabajo con nanomateriales. Una evaluación segura de los productos basados en derivados del grafeno es esencial debido a la gran cantidad de aplicaciones de estos productos en aviones, turbinas eólicas, puentes, barcos, automóviles y equipos deportivos, por nombrar algunos. Nuestros datos sugieren que los compuestos relacionados con el grafeno pueden considerarse materiales seguros teniendo en cuenta la ruta de inhalación. Serían necesarias más pruebas para analizar la composición y el espesor de las capas. Los estudios de toxicidad también concluyeron que el grafeno y las resinas de grafeno tienen un perfil de toxicidad bajo. Sin embargo, se necesita más investigación para especificar los efectos subletales, incluidos los ROS y la inflamación. También es importante pasar de un modelo toxicológico descriptivo a uno predictivo para poder utilizar estos nuevos materiales prometedores en múltiples aplicaciones en un contexto seguro para la salud de los humanos y el medio ambiente.





Article

# Nanosafety Analysis of Graphene-Based Polyester Resin Composites on a Life Cycle Perspective

Francisco Aznar Mollá <sup>1</sup>, Jose Antonio Heredia Alvaro <sup>2</sup>, Oscar Andreu Sánchez <sup>3,\*</sup> , Carlos Fito-López <sup>4,\*</sup>  and Inmaculada Colmenar González <sup>4</sup> 

<sup>1</sup> Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular Chemistry, University of Jaume I Castellón, 12071 Castellón de la Plana, Spain; al363139@uji.es

<sup>2</sup> Industry Chair Director 4.0., University of Jaume I Castellón, 12071 Castellón de la Plana, Spain; heredia@uji.es

<sup>3</sup> Laboratory of Ecotoxicology and Environmental Quality, Department of Cellular Biology, Functional Biology and Physical Anthropology, Faculty of Biological Sciences, University of Valencia, Dr. Moliner 50, 46100 Valencia, Spain

<sup>4</sup> ITENE, Technological Institute of Packaging, Transport and Logistics, 46001 Valencia, Spain; inmacolmenar@yahoo.es

\* Correspondence: oscar.andreu@uv.es (O.A.S.); carlos.fito@itene.com (C.F.-L.); Tel.: +34-647521544 (C.F.-L.)

**Abstract:** The use, production, and disposal of engineering nanomaterials (ENMs), including graphene-related materials (GRMs), raise concerns and questions about possible adverse effects on human health and the environment, considering the lack of harmonized toxicological data on ENMs and the ability of these materials to be released into the air, soil, or water during common industrial processes and/or accidental events. Within this context, the potential release of graphene particles, their agglomerates, and aggregates (NOAA) as a result of sanding of a battery of graphene-based polyester resin composite samples intended to be used in a building was examined. The analyzed samples were exposed to different weathering conditions to evaluate the influence of the weathering process on the morphology and size distribution of the particles released. Sanding studies were conducted in a tailored designed sanding bench connected to time and size resolving measurement devices. Particle size distributions and particle number concentration were assessed using an optical particle counter (OPC) and a condensation particle counter (CPC), respectively, during the sanding operation. A scanning electron microscope/energy dispersive X-ray (SEM/EDX) analysis was performed to adequately characterize the morphology, size, and chemical composition of the released particles. A toxicity screening study of pristine and graphene-based nanocomposites released using the aquatic macroinvertebrate *Daphnia magna* and relevant human cell lines was conducted to support risk assessment and decision making. The results show a significant release of nanoscale materials during machining operations, including differences attributed to the % of graphene and weathering conditions. The cell line tests demonstrated a higher effect in the human colon carcinoma cell line Caco2 than in the human fibroblasts (A549 cell line), which means that composites released to the environment could have an impact on human health and biota.

**Keywords:** nanotechnology; nanomaterial; nanoparticle; ecotoxicity; risk assessment; graphene



**Citation:** Aznar Mollá, F.; Heredia Alvaro, J.A.; Sánchez, O.A.; Fito-López, C.; Colmenar González, I. Nanosafety Analysis of Graphene-Based Polyester Resin Composites on a Life Cycle Perspective. *Nanomaterials* **2022**, *12*, 2036. <https://doi.org/10.3390/nano12122036>

Academic Editor: Alberto Bianco

Received: 30 April 2022

Accepted: 2 June 2022

Published: 14 June 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Expectations in the use of engineered nanomaterials (ENMs) have exponentially grown over the last decade. Their unique physicochemical properties enable the development of new products with extraordinary properties, which include size, shape, or surface area, and which can lead to adverse health effects [1].

Graphene and its derivatives are currently being explored for a multitude of applications in electronics, photocatalysis, sensors, medicine, plastics, or construction [2–4]. In addition, new applications of graphene and its derivatives such as biomedical applications, or its

## 7 CONCLUSIÓN FINAL

Debido a la creciente cantidad y diversidad de nanomateriales y sus aplicaciones cada vez más inverosímiles en cualquier actividad de la vida por sus **grandes ventajas y beneficios** en su utilización, **tienen una contraparte** y es que también generan nuevos riesgos para la salud humana y el medio ambiente. Y ello unido a la velocidad que está tomando el desarrollo de los nanomateriales y ante una insuficiente información por parte de los fabricantes tanto, en la síntesis, fabricación y uso por los consumidores, vemos que es necesario investigar en las fuentes y características de los nanomateriales nuevos, en los stakeholders directos e indirectos y sobre todo la probabilidad de impacto y la **cronicidad** de todo ello puede provocar en un futuro no muy lejano, por lo que nos resulta imprescindible realizar evaluaciones objetivas de toda una casuística del amplio espectro de la utilización de ellos, tanto desde su creación, fabricación, combinación y emisiones al aire, a la tierra y al agua por culpa de su manejo o un siniestro cualquiera para conocer su toxicidad para la salud humana y el medio ambiente.

Por lo que la aplicación APP desarrollada, **nanoSerpA v1.0**, es una herramienta útil para evaluar el riesgo de exposición a nanomateriales en diferentes escenarios, incluidos accidentes. Los resultados de las evaluaciones realizadas con esta aplicación y los informes evacuados fueron consistentes con los escenarios reales. Además, la aplicación presenta una biblioteca para buscar y consultar las propiedades de los nanomateriales, así como una lista de acciones preventivas para minimizar o eliminar el riesgo de exposición del trabajador durante una liberación accidental de nanomateriales.

Con todo ello, vemos **nuevas líneas de investigación** como son los efectos nocivos que pudieran aparecer por vía dérmica y ocular, así como otra mucho más complicada como es la limpieza de zonas de trabajo, recogida de productos o enseres contaminados y su transporte a vertederos controlados y especializados.


# 8 PUBLICACION ARTÍCULO (1)

J Nanopart Res (2021) 33:1051–1065  
<https://doi.org/10.1007/s11051-021-05165-w>

RESEARCH PAPER



## Insights into the potential effects of released engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: environmental issues and future activities for risk assessment and management

Francisco Aznar-Mollá · Carlos Fito-López  · Jose Antonio Heredia Alvaro

Received: 21 August 2020 / Accepted: 9 February 2021  
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

**Abstract** The use, production, and disposal of engineered nanomaterials (ENMs) raise concerns about their environmental impact at all stages of the life cycle, considering that nanostructured materials can be released to the air, soil, or water in common industrial processes and/or accidental events, and ultimately accumulate in the soil, water, or biota, endangering the health of living organisms and ecosystems. Within this context, the present study is focused on the analysis of the potential effects of common polymeric composites incorporating ENMs in relevant organisms from soil and aquatic compartments. To this end, a set

of polymeric materials, including PET, PLA, and PP, were compounded with a list of ENMs to produce PP\_Ag, PET\_Ag, PET\_ZnO, and PLA\_SiO<sub>2</sub> films that were aged in a weathering chamber using UV radiation to simulate the degradation effects of sunlight and other relevant environmental factors. Weathered samples were micronized to conduct ecotoxicity studies following adapted OECD protocols on the aquatic invertebrates *Daphnia magna* and *Brachionus plicatilis*, the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, and the soil invertebrate *Eisenia foetida*. The results showed a low level of toxicity for the nanocomposites studied, except in the case of the silver (Ag)-based nanocomposite (PP\_Ag), where a high toxicity was found for the aquatic invertebrate *Daphnia magna* due probably to the effect of silver ions. The aging process of the polymer nanocomposites promotes the release of ENMs, with potential adverse effects expected in natural environments.

### Highlights

- Aging process based on UV light and humidity can trigger the release of ENMs into the environment.
- Silver-based nanocomposites present higher concerns.
- ZnO-based nanocomposites elucidated moderate toxicity.
- Adverse effects on micro-invertebrates are expected in natural environments.

F. Aznar-Mollá  
 Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular  
 Chemistry, University of Jaume I, Castellón, Spain  
 e-mail: a363139@uji.es

C. Fito-López   
 ITENE, C/ Albert Einstein, 1, 46980 Paterna, Valencia, Spain  
 e-mail: carlos.fito@itene.com

J. A. H. Alvaro  
 Industry Chair Director 4.0, University of Jaume I, Castellón,  
 Spain  
 e-mail: heredia@uji.es

**Keywords** Nanomaterial · Nanocomposites ·  
 Ecotoxicity · Risk assessment · Release

### Introduction

The use of engineered nanomaterials (ENMs) is growing continuously due to the benefits of the materials in the nanoscale in applications such as packaging

 Springer



# Insights into the potential effects of released engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: environmental issues and future activities for risk assessment and management

Francisco Aznar-Mollá · Carlos Fito-López · Jose Antonio Heredia Alvaro

Received: 21 August 2020 / Accepted: 9 February 2021  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

**Abstract** The use, production, and disposal of engineered nanomaterials (ENMs) raise concerns about their environmental impact at all stages of the life cycle, considering that nanostructured materials can be released to the air, soil, or water in common industrial processes and/or accidental events, and ultimately accumulate in the soil, water, or biota, endangering the health of living organisms and ecosystems. Within this context, the present study is focused on the analysis of the potential effects of common polymeric composites incorporating ENMs in relevant organisms from soil and aquatic compartments. To this end, a set

of polymeric materials, including PET, PLA, and PP, were compounded with a list of ENMs to produce PP\_Ag, PET\_Ag, PET\_ZnO, and PLA\_SiO<sub>2</sub> films that were aged in a weathering chamber using UV radiation to simulate the degradation effects of sunlight and other relevant environmental factors. Weathered samples were micronized to conduct ecotoxicity studies following adapted OECD protocols on the aquatic invertebrates *Daphnia magna* and *Brachionus plicatilis*, the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, and the soil invertebrate *Eisenia foetida*. The results showed a low level of toxicity for the nanocomposites studied, except in the case of the silver (Ag)-based nanocomposite (PP\_Ag), where a high toxicity was found for the aquatic invertebrate *Daphnia magna* due probably to the effect of silver ions. The aging process of the polymer nanocomposites promotes the release of ENMs, with potential adverse effects expected in natural environments.

## Highlights

- Aging process based on UV light and humidity can trigger the release of ENMs into the environment.
- Silver-based nanocomposites present higher concerns.
- ZnO-based nanocomposites elucidated moderate toxicity.
- Adverse effects on micro-invertebrates are expected in natural environments.

F. Aznar-Mollá  
Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular Chemistry, University of Jaume I, Castellón, Spain  
e-mail: al363139@uji.es

C. Fito-López (✉)  
ITENE, C/ Albert Einstein, 1, 46980 Paterna, Valencia, Spain  
e-mail: carlos.fito@itene.com

J. A. H. Alvaro  
Industry Chair Director 4.0, University of Jaume I, Castellón, Spain  
e-mail: heredia@uji.es

**Keywords** Nanomaterial · Nanocomposites · Ecotoxicity · Risk assessment · Release

## Introduction

The use of engineered nanomaterials (ENMs) is growing continuously due to the benefits of the materials in the nanoscale in applications such as packaging

materials, electronics, paints and inks, building materials, or health care, which have resulted in a wide range of novel industrial applications (Vance et al. 2015).

In the specific case of the polymer-based nanocomposite sector, the use of ENMs as nano-filler or nano-additives allows the development of added value polymeric materials (Marquis et al. 2011), with improved surface properties, dimensional stability, chemical stability, permeability, and other functional properties (e.g., photocatalytic, optical, electrical, magnetic, and thermal stability). Metallic oxide materials (for example, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO) are the most used ENMs in polymer-related applications, including benefits such as optimized UV absorption, mechanical strength, thermal, electrical, and gas barrier properties.

The use of ENMs offers unprecedented technological benefits for the polymer nanocomposite sector as well as human health and environmental risks (Wohlleben and Neubauer 2016; Xia 2015). In this regard, despite the large investments carried out in nano-safety-related issues, the impacts and toxicity of ENMs on the environment are still relatively poorly described (Kabir et al. 2018). A significant fraction of efforts has been focused on occupational exposure and consumer safety as priority areas which results in a lack of information about the potential risks posed by the ENMs used as nano-fillers to the environment.

There is currently a strong scientific consensus that a variety of the characteristics possessed by the nanomaterials, such as small size, high aspect ratio, surface reactivity, or dustiness, can lead to a range of adverse effects in humans and the environment (Pietrojusti et al. 2018). In terms of human health-related effects, current studies show that ENMs may exert greater toxic effects compared with larger particles because of their larger surface area/mass ratio, chemical composition, deeper lung penetration, and ability to translocate to the systemic circulation. Some of the known effects of ENMs include among others inflammation and fibrosis of the lungs, signs of asthma and fibrosis, hepatotoxicity, myocardial infarction, or genotoxicity (Pietrojusti et al. 2018). In contrast, there are still large knowledge gaps with respect to ENMs' environmental effects. However, common ENMs used as nano-fillers are known to display potential toxicity toward a broad range of biota, from microorganisms to plants, animals, and humans, including nano-ZnO (Kabir et al. 2018; Horváth et al. 2013; Hou et al. 2018; Begum et al. 2011), graphene and single-wall

carbon nanotubes (Lalwani et al. 2016), nano-TiO<sub>2</sub> (Dawood 2020), nano-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Pereira et al. 2020), nano-silver (Dedman et al. 2020), or nano-CuO (Li et al. 2020).

Despite current pieces of evidence on the potential ecotoxicity of ENMs, it is currently not possible to precisely assess the ecological impacts of the release of ENMs into the environment due to the variety of transformation processes of ENMs in the environment, ranging from physical alterations to chemical or biological transformations (Li 2017; Li et al. 2016), which may have a strong impact on the effects of ENMs under field conditions (Minh Kim Nguyen et al. 2020; Lehtuo et al. 2020), as well as the scarce existing knowledge on the transport, transformation, degradation, and possible accumulation of ENMs in the environment upon release, all of them of paramount importance for characterizing and evaluating whether a potential risk for humans and the environment is present (Nowack et al. 2013). As a result, the exact action of ENMs under environmentally relevant conditions remains unclear.

Besides, the majority of the environmental-related studies of ENMs are dominated by data from pristine ENMs (Mitrano et al. 2015), and not from product-released ENMs, whose modified physicochemical properties are likely to pose new risks to the environment (Bhuvaneshwari et al. 2017; Diamond et al. 2017; Lei et al. 2016).

In this context, given that the polymer nanocomposites market is gaining momentum due to the excellent mechanical and physicochemical properties achieved with a proper dispersion of ENMs in polymer matrices, and in view of recent estimations where nanocomposites are expected to reach volumes nearing 6 million tons by 2022 (Polymer nanocomposites market by type 2020), the likelihood of unintended environmental release of product-released ENMs during nanocomposite use and end-of-life will tend to increase in the near term, being unavoidable (Lehtuo et al. 2020; Camboni et al. 2019; Calipinar and Ulas 2019).

Recent studies show that an important source of release of materials at the nanometer and micrometer is derived from the mechanical abrasion and thermal degradation of tires, with reported global average emissions of tire wear particles of 6.1 million tons (~1.8% of total plastic production) (Jan Kole et al. 2017; Sommer et al. 2018). It should be noted that multi-walled carbon nanotubes/silica nanocomposites are commonly used as fillers in the rubber matrix of tires. EU tire market is

projected to reach €24 billion by 2024 at a CAGR of 4.5% from 2019 to 2024 in current market studies ([www.psmarketresearch.com/market-analysis/europe-automotive-tire-market](http://www.psmarketresearch.com/market-analysis/europe-automotive-tire-market)), which means a very relevant market to be considered.

Release from nanocomposite materials is considered a rather uncontrollable source of emission into the environment, especially by aging, wear, and tear during the outdoor use phase of the nanocomposite (Nowack et al. 2013), which can generate a heterogeneous and poly-disperse mixture of fragments of a degraded matrix with embedded or surface-protruding ENMs, agglomerates of nanomaterial with some degradation debris attached, and occasionally free nanomaterial (Wohlleben and Neubauer 2016).

In the specific case of the nanocomposite sector, ENM nano-filler release will depend on the chemical composition of the matrix, resulting in different releasing kinetics and fragment characteristics under different degradation scenarios (Lee et al. 2010). A list of potential mechanisms of release has been identified in the literature, including mechanical abrasion, thermal degradation, hydrolysis, or UV exposure, which causes photodegradation (Froggett et al. 2014). Mechanical abrasion plays a crucial role in industrial scenarios, where the nano-enabled products are subjected to machining operations, including cutting, grinding, shredding, sanding, or drilling processes.

Photodegradation, a consequence of weathering phenomena foster by solar irradiance, has also a great impact on the release into the environment of ENMs (Nguyen et al. 2011; Duncan 2014), especially in the case of products directly exposed to solar irradiance such as roofing and outdoor furniture. UV irradiation plays also a crucial role considering that ultraviolet radiation is a catalyst for the organic decomposition of polymers (Nguyen et al. 2012; Petersen et al. 2014; Wang et al. 2013).

It is assumed that a lower degradation of the compound implies a lower probability of the release of nanoparticles to the environment. It should be noted that the robust nano-release evaluations conducted to date do not indicate a high propensity for discreet nanomaterial release, but rather composite particles of matrix with partially or fully embedded nanomaterial (Froggett et al. 2014), with exceptional cases reporting the release of free nanomaterial (Froggett et al. 2014; Kingston et al. 2014).

In terms of workplace exposure, studies concerning the release of ENMs when producing nano-enabled products are very limited (Clark et al. 2012; Brouwer et al. 2016). The vast majority of studies reporting data on workplace measurements between 2000 and 2015 are focused on exposure situations in research laboratories and pilot-scale units (Debia et al. 2016), resulting in scarce information on the potential release of ENMs during the production and use of nano-enabled products, as is the case of the nanocomposite production and use subsequent use.

Machining operations of nano-enabled products that involve the generation of dust, or the performance of tasks that imply that the product wears, are expected to increase the potential for release of ENMs (BAuA 2015). In this regard, in the case of solid nanocomposites, current quantitative evaluations conducted to measure the release of ENMs indicate a low percentage of free nanoparticles and a large number of inhalable (median aerodynamic diameter of between greater than 10  $\mu\text{m}$  and less than 100  $\mu\text{m}$ , thoracic (median aerodynamic diameter between 10  $\mu\text{m}$  and 4  $\mu\text{m}$ ) and respirable (median aerodynamic diameter below 4  $\mu\text{m}$ ) particles composed of composite particles of matrix with partially or fully embedded nanomaterials (Froggett et al. 2014).

Under this context, new studies of the effect of product-released ENMs on the environment, including those generated due to the degradation of polymer-based composites reinforced with ENMs, are urgently needed. Scientific knowledge in this regard is advancing rapidly, and despite the fact that evidence on actual adverse effects is still highly fragmented, there is some concern that ENMs released from nanocomposites can generate a potential hazard linked to the toxicity of the native, free nanoparticle (Vílchez et al. 2015). From a regulatory point of view, data on ENM environmental release and exposure are also required to estimate the associated risk (Giese et al. 2018).

To date, only few research studies have described the potential effects of nanocomposite materials on biota. Significant effects of chitosan/silver, copper, and carbon nanotube nanocomposites on fish were reported by Abu-Elala (Abu-Elala et al. 2018), including oxidative stress, DNA fragmentation, pro-inflammatory cytokines, and pathological alterations. In contrast, the results from a multiple assays covering relevant media from terrestrial to aquatic, including sewage treatment plant (biological activity), soil worms (*Enchytraeus*

*crypticus*), and fish (zebrafish embryo and larvae and trout cell lines), showed little to no toxicity of micron-sized samples of matrices (epoxy, polyolefin, polyoxymethylene, and cement) containing up to 5% content of three ENMs (carbon nanotubes, iron oxide, and organic pigment) (Amorim et al. 2018). This situation demands answers from future research on in vitro and in vivo studies.

The aim of this study is to provide new insights into the potential impact of weathered polymer nanocomposites on the environment using organisms from different trophic levels and ecosystems. To this end, a holistic approach has been adopted for this study to determine the toxicological profiles of relevant nanocomposites which contain various nano-fillers (silica (nanoSiO<sub>2</sub>), zinc oxide (nano-ZnO), and silver (nano-Ag)). In detail, the authors focused on (1) weathering of polymer composite samples containing ENMs and (2) verifying the ecotoxicity of polymers and nanocomposites in the relevant organism, including the invertebrates *Daphnia magna* and *Brachionus plicatilis*, the continental algae *Pseudokirchneriella subcapitata*, and the soil micro-invertebrate *Eisenia foetida*.

## Materials and methods

### Characterization of nano-fillers

Table 1 shows the main properties of the nano-fillers selected and purchased from the Italian company Tec Star, S.r.l. TEM studies were performed using a transmission electron microscope JEOL (model JEM-1010) (1000 kV), with a digital camera MegaView III, and with the software “AnalySIS” for the image acquisition. A scanning electron microscopy (SEM) was used to characterize the surface of the nano-fillers and to corroborate the possible agglomeration of the particle. This characterization was performed using a field emission scanning electron microscope (Hitachi S4100), with a resolution of 1.5 emission nm to 30 kV. The computer includes a BSE AURATA detector of spread and RX RÖNTEC DETECTOR for microanalysis. Particle size distribution and state of agglomeration or aggregation were measured by analyzing with dedicated software several micrographs of the target nano-fillers prepared using an electron microscope.

The gas physical adsorption technique was applied to characterize the surface area and pore size among other relevant properties. In this work, volumetric equipment has been used, from Quantachrome, mode Autosorb-6, to carry out the adsorption isotherm of nitrogen at 77 K. Before analysis, samples were degasified at 473 K (200 °C) during 4 h in degasifying equipment (Quantachrome), to eliminate the humidity and other possible adsorbed substances that can block the porosity of the sample.

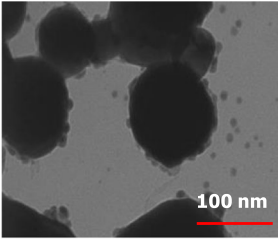
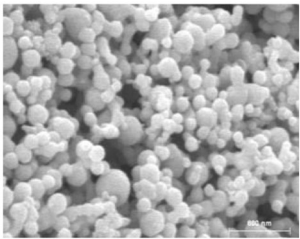
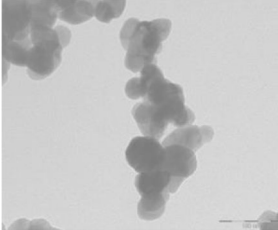
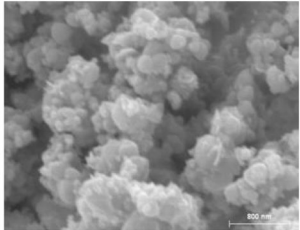
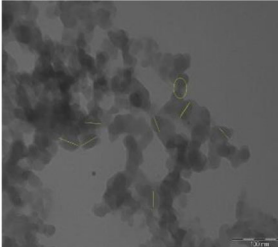
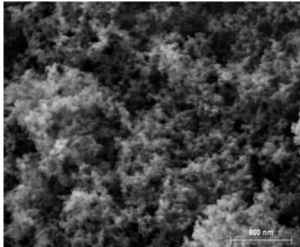
The adsorption isotherms have been analyzed using one of the most widely employed models for the study of porous materials: the theory of Brummer, Emmett, and Teller (BET) to calculate the surface area; the theory of Dubinin-Radushkevich (DR) to calculate the volume of micropores; and the theory BJH to determine the pore size. As the samples do not have an important micropore content, the BJH method has been applied that is useful to determine the size distribution of pores whose size is higher than 20 Å.

### Nanocomposite production

The extrusion processing technique was selected to obtain monolayer films of the nanocomposite materials studied. The extrusion equipment used was a twin-screw extruder (model DSE 20/40D) supplied by Brabender, with Plastograph model GmbH driver. The extruder comprises a double screw with a working range of 25 to 350 °C and an output of 0.5 to 20 kg/h of material. The production phase was conducted following four main stages:

- 1) Drying process to maintain the humidity of selected nano-fillers below 0.5 %,
- 2) Feeding process, where tiny pellets of the raw thermoplastic materials selected (i.e., polypropylene (PP); polyethylene terephthalate (PET), and polylactic acid (PLA)) were gravity fed from a top-mounted hopper into the barrel of the extruder.
- 3) Extrusion: the selected nano-fillers were introduced into the extruder through a side port equipped with a dispenser of solids which was gravimetrically calibrated for each nano-filler. All materials were processed with a theoretic nanoparticle's content of up to 4%, which is a typical content of nano-filler in nanocomposite processing. During this step, the polymer and the nano-fillers were fed to a heated

**Table 1** Main properties of the selected nano-fillers

Material	Supplier	Description	Electron Microscopy: TEM / SEM picture(s)	
<b>Silver - Ag</b>	Tec Star, srl	EC number: 231-13-3 Grey Powder Average primary particle size (nm): 95 nm Shape: spherical		
<b>Zinc oxide - ZnO</b>	Tec Star, srl	EC number: 215-222-5 White powder Average primary particle size (nm): 20 nm Shape: cubic		
<b>Silicon oxide - SiO2</b>	Tec Star, srl	EC number: 231-545-4 Colourless or white powder Average primary particle size (nm): 48 nm Shape: cubic		

chamber and carried along by a feedscrew, so the polymer was melted and mixed with the nano-fillers in a homogeneous manner all along the screw. To obtain films of a thickness of approximately 10  $\mu\text{m}$  and width of 7–8 cm was required to optimize the variables that control the process:

- Temperature profile of the extruder
  - Extrusion screw speed
  - Polymer feeding speed
  - Head thickness on extruder exit
  - Temperature inflow of nanoparticles from the solids feeding side port
- 4) Cooling/pelletizing: the last process comprised the cooling of the composites through a water bath with the aim of obtaining a solid material that was further processed in a pelletizer to obtain small pellets.

Finally, the obtained materials were:

- Polypropylene (PP)
- Polyethylene terephthalate (PET)
- Polylactic acid (PLA)
- PP with silver nanoparticles (PP\_Ag)
- PET with silver nanoparticles (PET\_Ag)
- PET with ZnO nanoparticles (PET\_ZnO)
- PLA with SiO<sub>2</sub> nanoparticles (PLA\_SiO<sub>2</sub>)

#### Characterization of target polymer nanocomposites

The real content of nanoparticles in the processed films was determined by thermogravimetric analysis in processed materials. Using a thermogravimetric balance model Q5000IR from TA instruments, processed films were subjected to the same cycle of thermal degradation. From the residue remaining after completion of the thermal cycle, once the polymer was completely degraded, the inorganic content was determined. For calculating the nanoparticle content, a thermogravimetric



analysis (TGA) was performed on nanoparticles, blank polymers, and nanocomposites.

For each analysis, few milligrams of the sample (5–10 mg) were studied applying a heating rate of 20 °C/min, in the temperature range of 20–900 °C. Weight losses recorded in the thermograms were ascribed to water/volatile compound evaporation and degradation of organic moieties during the applied cycle.

To determine the size characteristics of the polymers and nanocomposites in a solution, the effective size of the nano-fillers after suspension in liquid (hydrodynamic diameter) was analyzed using the dynamic light scattering (DLS) technique. This technique gives the hydrodynamic diameter of the particles, which is the diameter of an equivalent sphere displaying the same diffusion properties in the solvent studied. The hydrodynamic diameter can be understood as an indicator of the size of the material when it is spherical, while the hydrodynamic diameter for non-spherical particles is only a proxy for size. Three consecutive measurements were taken for each sample. The values obtained after each measurement, as well as the mean and standard deviation, are depicted in Table 2.

In the suspension of the polymers, PLA and PP displayed the largest particles while PET and PLA had smaller particle size. After dispersion into the solution, the largest particles of polymers tended to very rapidly sediment to the bottom of the tube, or float at the surface of the liquid, as evidenced by the variations in the repeated measurements. This suggests that large agglomerates sediment out of solution rapidly, which would exclude them from subsequent readings. The presence of large particles and flakes was evidenced in the micrographs, with many long, thin, hair-like fibers observed in most of the micronized polymers and

**Table 2** Hydrodynamic diameter of the materials measured by dynamic light scattering. Results are expressed as the mean particle hydrodynamic diameter (Z-average) in nanometers from three measurements, as well as the standard deviation (sd) for each set of measurements

Sample	Z average (d.nm)	
	Mean	sd
PET + Ag	478.3	404.4
PP + Ag	585.1	148.6
PET + ZnO	468.0	144.7
PLA + SiO <sub>2</sub>	396.5	259.5

nanocomposites. In order to gain a better characterization of the variability of the structure and size of the powders, target polymers and nanocomposites were scrutinized by scanning electron microscopy (SEM) to confirm these observations. Selected samples of the micronized polymer and nanocomposite powders were collected for analysis to confirm the size of the particulate matter, the size distribution, and particle shape (Fig. 1).

#### Release studies: nanocomposite preparation for testing

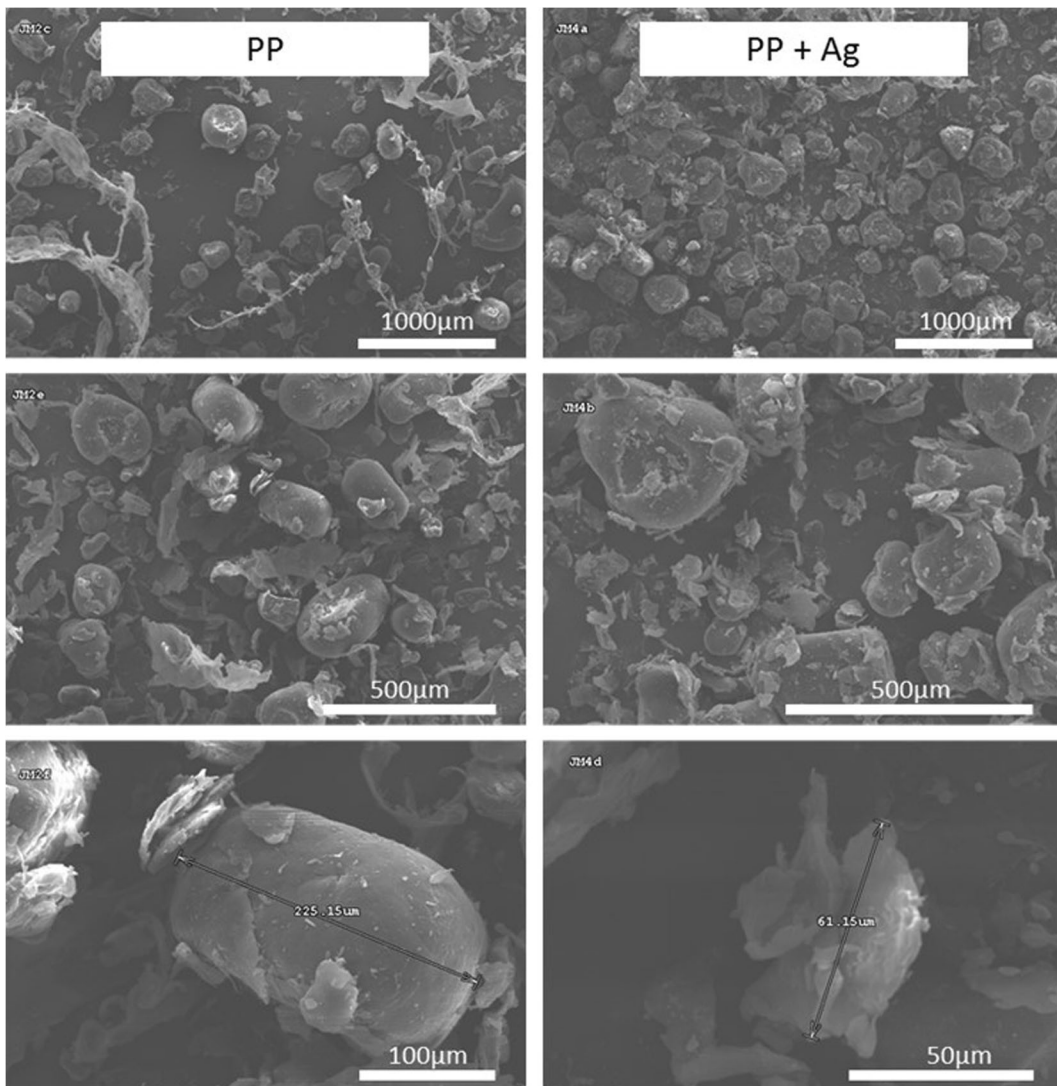
In order to better simulate the worst scenario of nanocomposite state in the environment, processed samples were weathered under controlled UV light, temperature, and humidity conditions in a weathering chamber. That processes degrade the nanocomposite, and thus, behavior of nano-filler release phenomena could be different. Moreover, one of the final states of polymers in the environment is as fine particles. Therefore, for simulating such state and in addition to making them more bio-dispersible for organisms, aged samples were micronized. Aged and micronized samples were then tested for the selected ecotoxicity endpoints following the procedure depicted in Fig. 2.

Processed materials were subjected to accelerated aging under controlled laboratory conditions based on the protocol established by the standard UNE-EN ISO 4892-3 (ISO 2006). The employed equipment was a chamber QUV-se de Q-PANEL LAB PRODUCTS equipped with a UVB-313 (emission peak at 313 nm) lamp (Fig. 3). The total time of exposure was 500 h and the exposure area was a test specimen of 7.5 × 15 cm and 10 μm of thickness. Such conditions emulate degradation that nanocomposites suffer once released in the environment.

Figure 4a–e shows the appearance of some of the samples before and after 500 h of exposure to UV radiation, temperature, and water.

In order to make nanocomposites bio-available for organisms and cells, their size was reduced to the micro-nano size mechanically to obtain a homogenized powder of nanocomposite in a narrow size range to conduct simple (eco)toxicity tests for determining the hazardous potential of the studied nanocomposites.

To this end, a two-stage ball- and jet mill grinding process was defined and optimized to ensure that nano-/microplastics were generated, mimicking a worst-case scenario of real-life exposure potential. The first stage of



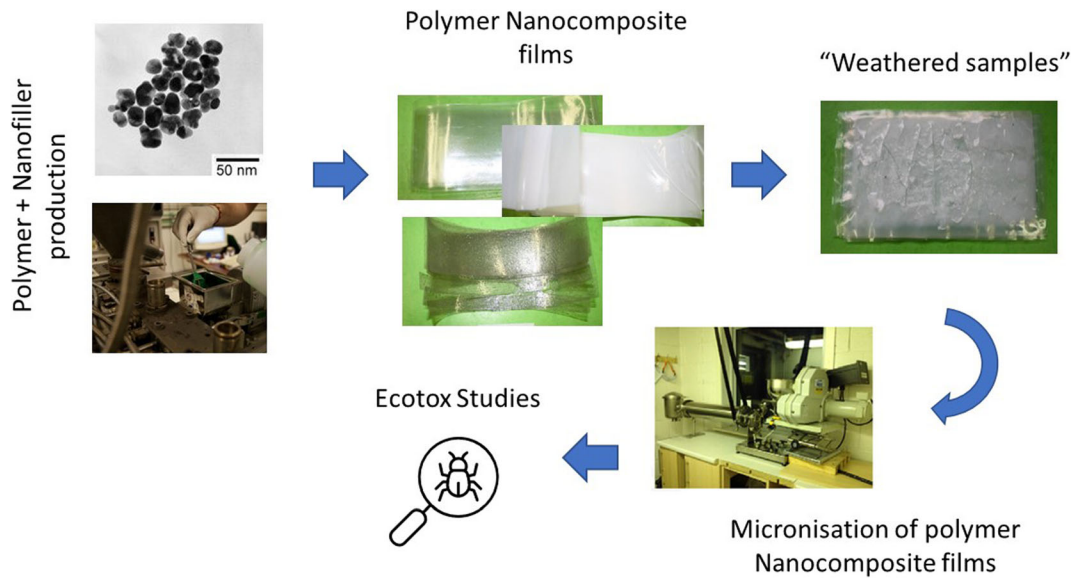
**Fig. 1** Electron microscopy studies

the process was conducted using a high-energy ball-milling approach, where the homogenized nanocomposite powders were ball-milled with stainless steel balls in a stainless steel jar of 500 mL using a Planet-Ball-Grinding machine. A planetary ball mill (Retsch PM400), equipped with 4 grinding stations, was used, including 25 balls of 2 cm diameter. The milling rotation speed was set to 450 rpm, and the cycle time was 10 min. To reduce the particle size, a jet mill process was conducted using a jet miller (Fig. 5), where the nanocomposites are micronized by high-speed collisions generated by a high-speed circumferential flow of dry air. A pressure grinding air and filling air of 50 psi were applied to ensure that agglomerates were broken.

Such reduction of size simulates the worst degradation state of the nanocomposite in the environment. Weathered and unweathered samples were milled and micronized using the device depicted in Fig. 5. In the case of polyethylene, it was necessary to freeze samples prior to their milling as plastic melts easily in the process.

#### Ecotoxicity testing

The ecotoxicological profiling assays included the acute toxicity test in *Daphnia magna* and *Brachionus plicatilis*, a growth inhibition assay in the continental algae *Pseudokirchneriella subcapitata*, and the determination of toxicity in soils in the earthworm *Eisenia*



**Fig. 2** Schematic view of treatments undertaken over samples

*foetida*. A summary of the endpoints studied is depicted in Table 3.

It was necessary to modify the experimental setup due to the need to achieve a good dispersion of the nanocomposites in the testing media, where the properties pH, conductivity, or hardness might induce changes in the morphology or physicochemical properties of the nanocomposites.

Small changes were included in the experimental protocol due to the low solubility of the materials tested. To this end, the protocol for nanoparticle dispersion recommended by the NanoREG project “Ecotoxicology

Test Protocols for Representative Nanomaterials in Support of the OECD Sponsorship Programme’ was implemented, considering the sonication of the samples in MilliQ water.

The selected nanocomposites were weighed out into 5-mL bijoux tubes with a 6-place balance (Sartorius ME5 /SE2) and suspended in their respective culture medium. Preparations were vortexed then sonicated at room temperature for 20 min, using a bath sonicator (Ultrawave Sonicator QS25, 400 W). The stock solutions were then used to prepare serial dilutions to final concentrations.

For all organisms, except algae, the 24- and 48-h EC50 values, as well as their associated 95% confidence intervals (95% CI), were calculated using the EPA-probit v1.5 program (USEPA). This allowed the median lethal concentration (LC50) to be calculated. Statistically significant values were reported in the results when the probability of the result assuming the null hypothesis (*p*) is inferior to 0.05

For algae, the percentage of inhibition (I) of growth was obtained using a MSeXcel (TM) template. The 72-h EC50 supply by the maker, of each material, and the confidence intervals were calculated when setting the starting values allowed.

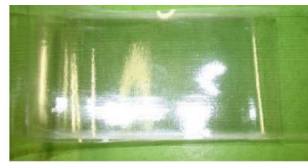
*Acute toxicity in Daphnia magna*

The Daphtokit F™ bioassay (Microbiotest, Ghent, Belgium) was used to estimate the effect of



**Fig. 3** Aging chamber used

**Fig. 4** a PET before (left) and after (right) weathering. b PET + Ag before (left) and after (right) weathering. c PET+ZnO before (left) and after (right) weathering. d PLA before (left) and after (right) weathering. e PLA+SiO<sub>2</sub> before (left) and after (right) weathering



PET before (left) and after (right) weathering



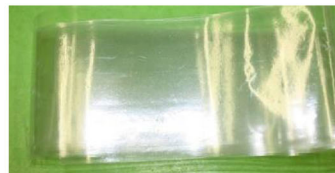
PET+Ag before (left) and after (right) weathering



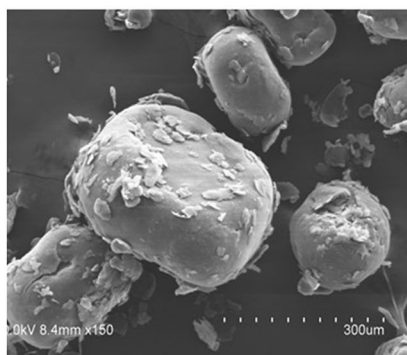
PET+ZnO before (left) and after (right) weathering



PLA before (left) and after (right) weathering



PL+SiO<sub>2</sub> before (left) and after (right) weathering



**Fig. 5** Left: micronizer employed in reducing the size of polymers and nanocomposites. Center: micronized PET-ZnO. Right: micronized nanocomposite. PLA + nanoclay

**Table 3** Model organisms used for ecotoxicity testing

Compartment	Organism	Endpoint	Description	Standard
Freshwater	<i>Daphnia magna</i>	LC50	Acute immobilization test	OECD 202
Marine/estuarine	<i>Brachionus plicatilis</i>	LC50	Acute mortality of the test organisms	ASTM Standard Guide E1440-91
Freshwater	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	NOEC	freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test	OECD 201
Sediment/soil	<i>Eisenia foetida</i>	NOEC – EC50	Acute mortality of the test organisms	OECD 207

nanocomposites on crustacean *D. magna*. The acute toxicity tests were performed according to the Toxkit® protocol. The Daphtoxkit™ F test is performed in accordance with test procedures of OECD Guideline 202 (OECD, 2004) and ISO 6341 (UNE – EN ISO 6341, 2012).

After 24-h and 48-h incubation, the number of dead and immobilized neonates was recorded, versus that of the actively swimming test organisms in each well. The neonates which are not able to swim after gentle agitation of the liquid for 15 s shall be considered to be immobilized, even if they can still move their antennae. Finally, the total number of dead and immobile neonates for each nanoparticle concentration is calculated as well as the mean and the % effect.

To calculate median lethal concentration (LC50), 24- and 48-h EC50 values, as well as their associated 95% confidence intervals (95% CI), were calculated using the EPA-probit v1.5 program (USEPA). Statistically significant values were reported in the results when the probability of the result assuming the null hypothesis (*p*) is inferior to 0.05.

A standard reference toxicity test with K2Cr2O7 was run in parallel to each test series to verify the sensitivity of the *D. magna*.

#### Acute toxicity in *Brachionus plicatilis*

The acute toxicity at 24–48-h assay is based on the mortality of the test organisms. Assays were conducted with ROTOXKIT MTM, a rotifer toxicity screening test for estuarine and marine waters. That aquatic microbioassay, a 24–48-h mortality test, is based on the rotifer *Brachionus plicatilis*. This assay adheres to ASTM Standard Guide E1440-91, using larvae of the estuarine rotifer *Brachionus plicatilis*, which are hatched from cysts.

Rotifer cyst hatching were initiated 24–28 h prior to the start of the toxicity test in hatching medium, consisting of seawater of reduced salinity (20 ppt), at 25 °C, with continuous illumination (light source of min. 3000–4000 lx).

Nanocomposite dispersions for ecotoxicity tests with *Brachionus plicatilis* were prepared by direct addition in Standard Seawater at sufficiently high concentration and sonicated during 50 min in an ultrasound bath at a controlled temperature of 20–25 °C that optimizes their dispersion in the medium. All samples were used freshly prepared (in 1–5 h).

In the scientific literature, there is a lack of information on EC50 values of the studied nanocomposites in acute toxicity to rotifers. Because of that, it was necessary to carry out a previous range-finding test with a huge range and then after that the definitive test. Prepared stock solutions were of 100 ppm in all. A standard reference toxicity test with K2Cr2O7 was run in parallel to each test series to verify the sensitivity of the *Brachionus plicatilis*.

#### Growth inhibition assay in continental algae *Pseudokirchneriella subcapitata*

The growth inhibition of green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* bioassays from MicroBioTests Inc. (Ghent, Belgium) was performed following the standard operational procedures of Algaltoxkit F™ (1996). This test was conducted in accordance with OECD Guideline 201 (OECD, 2002) and the ISO 8692:2012 (UNE – EN ISO 8692, 2012).

Algae beds supplied by MicroBioTests Inc. were employed in toxicity assays, cultured in algal growth medium composed of several mineral salts—with sodium (0.60 mM), ammonium (0.27 mM), calcium (0.12 mM), and magnesium (0.12 mM) as the major cations. Culture

media were prepared in deionized water, sterilized by autoclaving at 121 °C for 15 min or filtration (0.2- $\mu$ m cellulose filter). A UV-vis spectrophotometer at 670 nm was employed for the determination of OD of algae culture medium and the establishment of a calibration curve representing OD vs. algal biomass.

Prior to toxicity testing, appropriate amounts of different samples were dispersed in algae culturing medium, thus covering a wide range of nominal concentrations from 0.01 to 100 mg/L. The resulting dispersions were sonicated for 50 min in an ultrasound bath at a controlled temperature of 20–25 °C. Such treatment improved the degree of dispersion of nanoparticles within the algae medium. All samples were used freshly prepared (in 1–5 h).

Growth inhibition is expressed as the logarithmic increase in biomass (average specific growth rate) during the exposure period. From the average specific growth rates recorded in a series of test solutions, the concentration bringing about a specified % inhibition of growth rate (e.g., 50%) is determined and expressed as the EC50.

#### *Determination of toxicity in soils by mortality in Eisenia foetida*

The test was conducted following the instructions of the OECD 207 guideline (OECD, 1984). *Eisenia foetida* was purchased from an earthworm farm in Barcelona (Spain) and maintained in artificial soil according to the OECD 207 guidelines. According to OECD 207 guidelines, a preliminary limit test, in the range of 100 ppm (mg/kg dry weight of artificial soil) for each NP, was set. The desired amount of each nanocomposite was mixed into 10-g fine quartz sand and then the sand was thoroughly mixed with the artificial soil for about 5 min in a mixer bucket.

Earthworms were adults (at least 2 months old with clitellum) with an individual weight of 300 to 600 mg. Flat-bottomed vials 8 cm in length and 3 cm in diameter were used. Their sides were lined with filter paper cut to a suitable size so it did not overlap appreciably. Used filter paper of 80 to 85 g/m<sup>2</sup>, approximately 0.2 mm thick, medium grade, was used in the tests (area of 70 cm<sup>2</sup>). Figure 6 shows a picture of the organism tested and soil media applied.

The range-finding test was done at a concentration of 1 mg/cm<sup>2</sup> applied to filter paper of the prepared solutions of  $7 \times 10^{-2}$  g/mL

concentration. One milliliter of the solution was pipetted into each vial and evaporated to dryness under a slow stream of filtered compressed air, the vial being rotated horizontally as it dried. The control vial was treated with 1 mL of deionized water.

After drying, 1 mL of milliQ water is added to each vial to moisten the filter paper. Each vial is sealed with parafilm with small ventilation holes. For each treatment, ten replicates, each consisting of one worm per vial, were prepared.

## Results

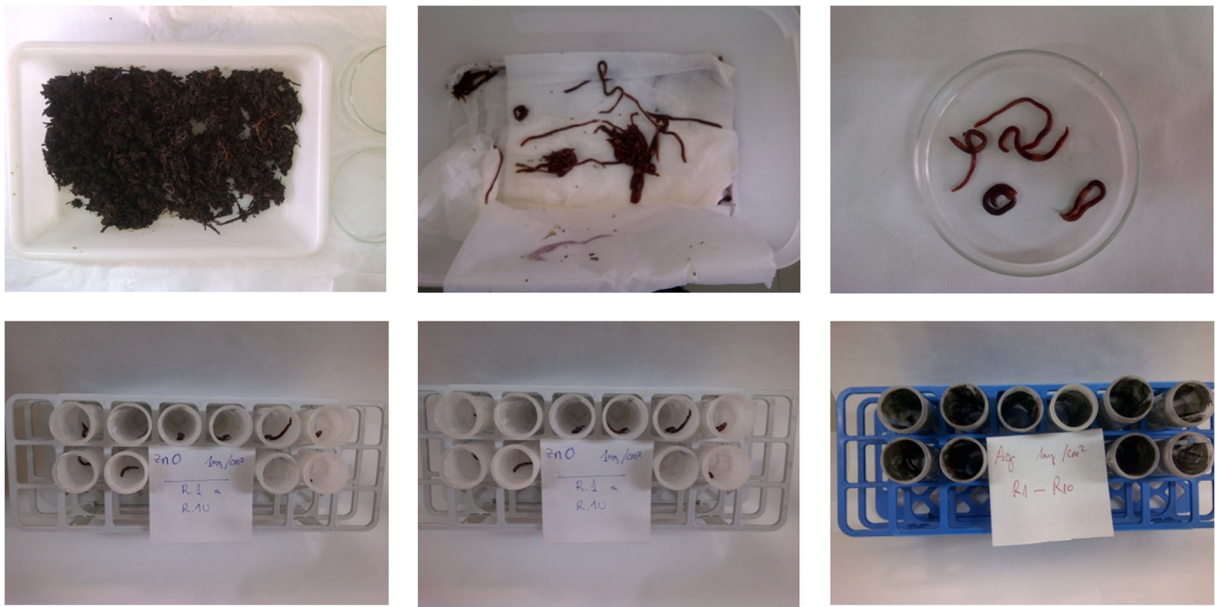
### Physicochemical properties of selected nano-fillers

All the samples analyzed had a big dispersity of particle sizes. This can be due to the agglomeration/aggregation interactions between them, making these particles seem bigger than they really are. Moreover, these agglomeration/aggregation states are detected as it is difficult to determine the superficial boundary, due to the coalescence phenomenon happened. Table 4 summarizes the results of the characterization studies conducted.

### Properties of target nanocomposites

The micronized nanocomposites consist of particles of a variety of shapes and sizes, with numerous flakes and more rounded particles present in the samples collected. There are a large number of particles and flakes which are around 50  $\mu$ m in size with some larger particles reaching over 100  $\mu$ m, although these are less abundant. Flakes of roughly 20  $\mu$ m in size appear to be the most abundant in these samples. This data is summarized in Table 5.

The size distribution of the micronized nanocomposites in suspension was also measured using the DLS (Fig. 7). The data suggests that a high number of large particles or agglomerates are formed in suspension, as initially indicated by the hydrodynamic diameter measurements. However, it should be noted that a major limitation of the DLS techniques is that light scattering (intensity) from smaller particles may be masked by the intensity from the larger particles. This may skew the data to suggest only large particles or agglomerates are



**Fig. 6** Up: earthworms used in the mortality test. Down: incubation of earthworms

present in the sample. Also, the largest agglomerates may not be included as they tended to sink or float out of the range of detection for the light source.

Figure 8 depicts analytical data on the presence of nano-fillers in each material, including median and standard deviation.

Acute toxicity in aquatic ecosystems

The *D. magna* (24-h LC50), *B. plicatilis* (24-h LC50), and *P. subcapitata* (7-h EC50) bioassay validation results were into the allowance range determined by the regulations (Table 6).

- Acute toxicity in *Daphnia magna*

Only weathered PP + Ag presented toxicity to the cladoceran *Daphnia magna*, with an EC50 (24 h and 48

h) value of 4.77 ppm. The other samples tested resulted nontoxic for such organism, giving a EC50 (24 h) and EC50 (48 h) higher than 100 ppm.

The results of the study elucidated a potential release of Ag from the polymer, which means that photodegradation and aging of polymer nanocomposites could foster the release of ENMs into the environment. Silver nano-fillers had already demonstrated an accused ecotoxic potential in previous studies; therefore, special attention had to be taken to PP-Ag. Toxicity was supposed to be generated by ROS and by physical damage caused by the release ENMs.

These results were accorded to the ones expected to obtain because of material characteristics, showing that the incorporation of ENMs into the polymeric matrix limited their toxicity by decreasing their release to the environment.

**Table 4** Results of the physicochemical characterization of selected nano-fillers

Properties	Nano-Ag	Nano-ZnO	Nano-SiO <sub>2</sub>
Average size (nm)	95	20	48
Crystallite size	~ 29 nm	~ 70 nm – hexagonal - Zincite	Amorphous
Specific surface area S <sub>BET</sub> (m <sup>2</sup> /g)	3	9	220
Average pore diameter (Å)	32	31	31
Micropore volume V <sub>DR(N<sub>2</sub>)</sub> (cm <sup>3</sup> /g)	Negligible	Negligible	0.10

**Table 5** Summary of polymer and nanocomposite characteristics determined by SEM and DLS. Mean size and size distribution are provided from the analysis of polymers and nanocomposites in a solution using DLS. The shape is determined from visual observations of the dry powders

Material	Mean size (nm)	Size distribution (nm)	Shape
PET + Ag	478.3	60–3100	Mixed
PP + Ag	585.1	35–5400	Mixed
PET + ZnO	468.0	0.5–5500	Mixed
PLA + SiO <sub>2</sub>	396.5	18–4500	Mixed

- Acute toxicity in *Brachionus plicatilis*

The target nanocomposites presented a mortality percentage of 0% at 24 h and 100 mg/L (Table 7). The study in rotifers concluded that none of the studied samples showed toxicity at the highest tested concentration, 100 ppm, showing a LC<sub>50</sub> (24 h) higher than 100 ppm. Therefore, from this assay, it can be concluded that encapsulation of nano-fillers prevents their ecotoxicity in rotifers.

- Algal growth inhibition test with *Pseudokirchneriella subcapitata*

Observed results from the growth inhibition tests in algae are presented as concentration at 50% growth inhibition (EC<sub>50</sub>) values after 72 h of exposure in Table 8. All the samples tested in the current study were slightly toxic to *P. subcapitata* with nominal EC<sub>50</sub> values higher than 100 ppm.

PET-ZnO samples showed a higher incidence. The 72-h EC<sub>50</sub> values elucidated low toxicity levels for all the samples analyzed, but special attention had to be taken to PET-ZnO, because its 72-h EC<sub>50</sub> value, 99.32 (99.13–100.53) mg/L, could indicate moderate toxicity.

Figure 9 shows a more detailed analysis of the toxicological behavior of ZnO, PET-ZnO, and weathered PET-ZnO (PET-ZnOw) samples on the algal growth inhibition.

#### Toxicity to soil/sediment invertebrates

The acute toxicity tests on the earthworm *Eisenia foetida* were carried out according to the OECD Guideline for testing of chemicals 207, “Earthworm, Acute Toxicity Tests” (OECD 1984). Results of the tests are presented in Fig. 10 and show that neither of the

nanocomposites presented mortality greater than the 5% of the studied individuals for *Eisenia foetida* at the limit test concentration of 1 mg/cm<sup>2</sup>.

## Conclusions

The study on the effects of ENM-containing materials generated during the degradation processes of nano-products is an under-researched area. This work provides new data on the potential effects of released materials from polymer-based composites containing ENMs, which are considered a new emerging pollutant. Our results are one of the first studies on the effects of polydisperse fragments of nanocomposite materials in the micron range released from polymer nanocomposites on organisms in soils and aquatic media. This work also provides new knowledge on the potential effects of micro- and nano-plastics in the environment resulting from the degradation of industrial plastic objects.

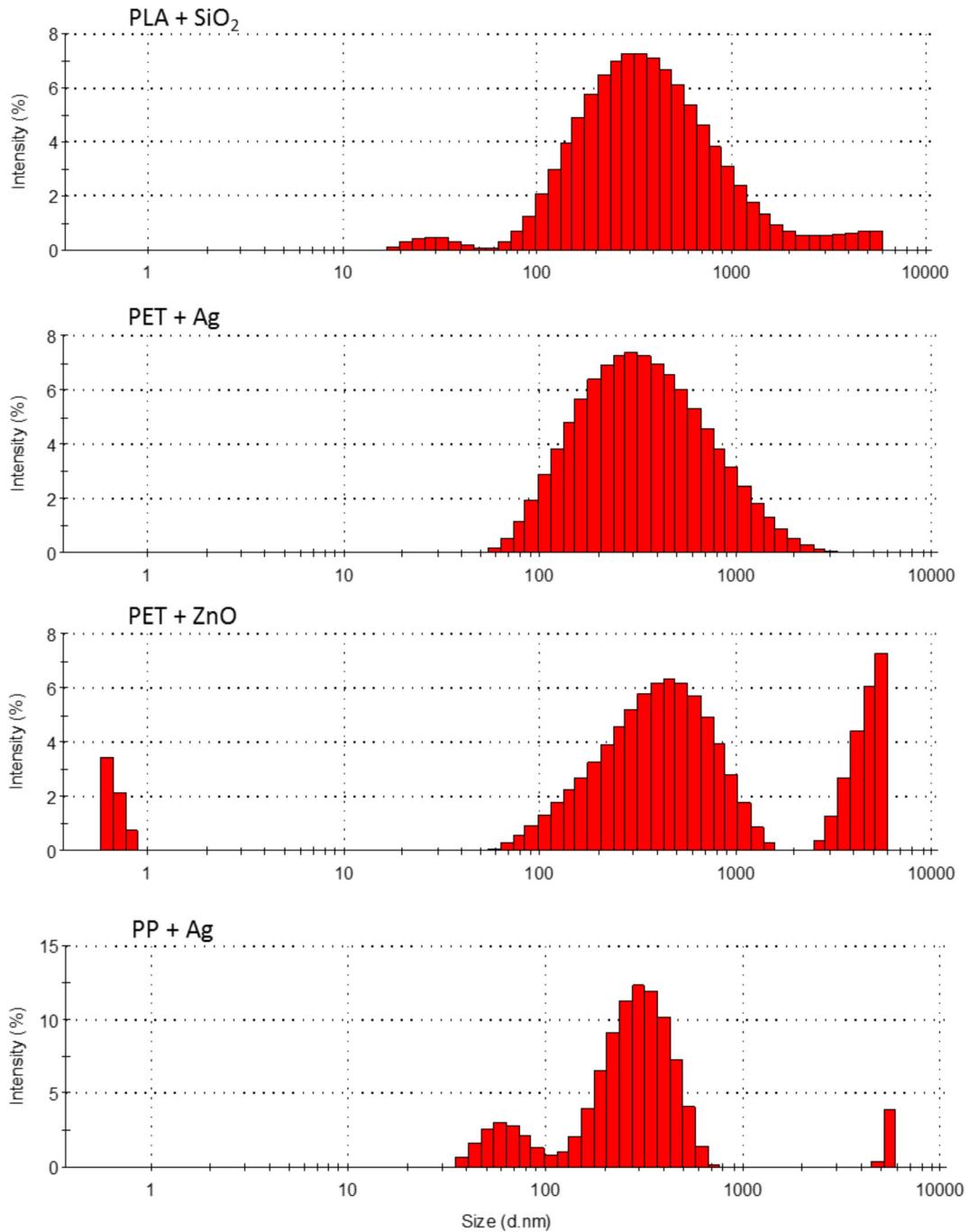
Only in the case of nanocomposite of polypropylene that silver toxicity is observed in *Daphnia magna*, indicating that there are possible mechanisms of nanomaterial release from nanocomposites due to exposure to environmental conditions such as light, temperature, humidity and water, and mechanical stress which degrade the polymeric matrix.

We found no significant effects up to the highest concentration tested. In the case of the freshwater algae *P. subcapitata*, a moderate degree of ecotoxicity of weathered polymers containing ZnO NPs can be anticipated. This is a relevant problem because planktonic microalgae, as primary producers, are the key component in the food chain in the aquatic ecosystems. In addition, they serve as food to zooplankton, which is subsequently consumed by other invertebrates or fishes.

A similar situation can be found for the freshwater organism *Daphnia magna*, where the outcomes of the study showed a higher degree of toxicity for silver-based polymers, which is in line with available data on the acute and chronic toxicities of AgNP in aquatic organisms, being normally associated with the potential effects caused by the release of Ag(+) into the water media.

Generally speaking, although ENMs could show toxicity when incorporated into the polymeric matrix, their toxic behavior for the different organisms is reduced once encapsulated into the polymer. The lack of toxicity appears mainly to be due to the limited ability of



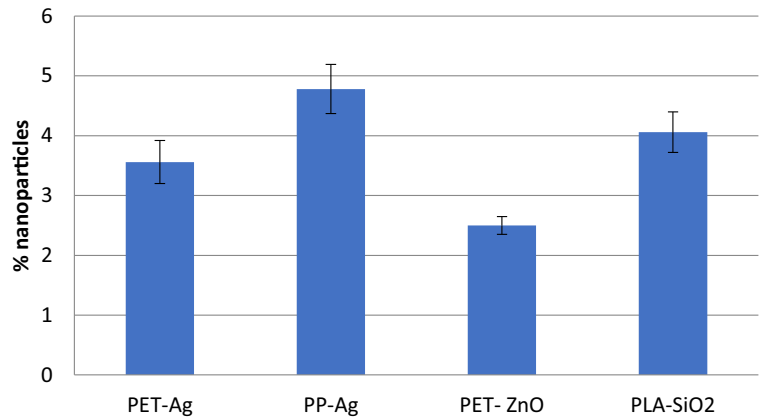


**Fig. 7** Size distribution (by intensity) of nanocomposites in suspension, measured by DLS. The intensity is indicative of the number of particles of a particular size. The % intensity reflects the contribution of a particular size fraction to the total intensity measured

the nano-fillers to interact with model organisms after they have been embedded in the matrix. In this case, it should be considered that if the particles are able to break-free from the polymer matrix that the potential

for toxicity may increase. Attention should be given to the possibility that in vivo, in a biological environment which may be different from the in vitro conditions, some of the native nano-fillers may be released.

**Fig. 8** Content of NPs in processed composite films determined using TGA



**Table 6** Obtained results (mg/L) in the bioassay validation with the reference toxicants and the reference values given by the manufacturer or by the guides

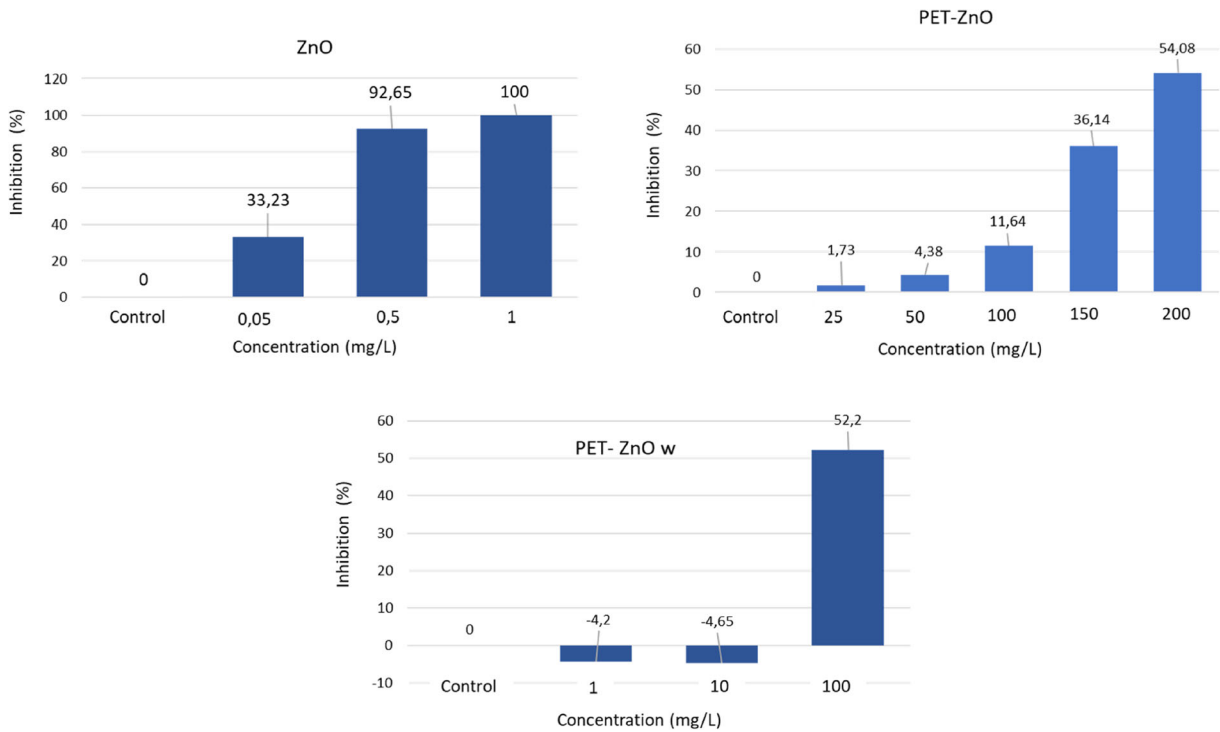
Organism	Toxicant	Endpoint	Result (mg/L)	Reference (mg/L)
<i>D. magna</i>	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	24-h LC <sub>50</sub>	0.142 (0.113–0.156)	0.6–2.1 (manufacturer)
<i>B. plicatilis</i>	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	24-h LC <sub>50</sub>	341 (301–381)	296–401 (manufacturer)
<i>P. subcapitata</i>	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	72-h EC <sub>50</sub>	0.59 (0.55–0.63)	0.56 (manufacturer)

**Table 7** 24-h LC50 *B. plicatilis* values and their confidence interval (95%; mg/L)

Toxicant	Endpoint	Result (mg/L)	CI (95%) (mg/L)
Weathered PP-nano-silver	24-h LC <sub>50</sub>	>100	-
Weathered PLA-SiO <sub>2</sub>	24-h LC <sub>50</sub>	>100	-
Weathered PET-nano-silver	24-h LC <sub>50</sub>	>100	-
Weathered PET-ZnO	24-h LC <sub>50</sub>	>100	-

**Table 8** Concentration of 50% growth inhibition (EC50) values of the algal growth inhibition test with *Pseudokirchneriella subcapitata* after 72 h of exposure to target nanocomposites

Sample	EC50 72 h (ppm)	Confidence limits (95%)
Weathered PP-nano-silver	109.67	108.99–109.74
Weathered PLA-SiO <sub>2</sub>	117.35	114.59–147.48
Weathered PET-nano-silver	>100	-
Weathered PET-ZnO	99.32	99.13–100.53



**Fig. 9** Growth inhibition percentages of *Pseudokirchneriella subcapitata* in each of the tested concentrations with ZnO NPs, PET-ZnO, and PET-ZnOw

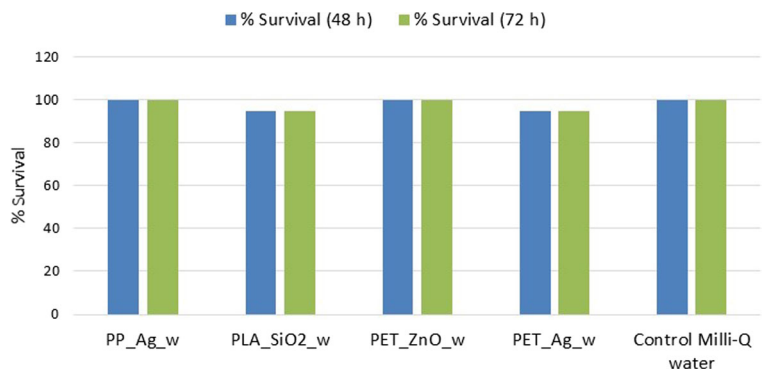
It should also be noted that composites that are designed specifically to confer anti-bacterial activity, such as those that incorporate nano-Ag or nano-ZnO, might cause harm. For example, the interaction of those particles or ions may cause unanticipated negative effects in the environment.

In the terrestrial ecosystem, although none of the materials studies caused a potential risk, the accumulation of particles released over time could be a danger for other organisms living in the ground such as bacteria,

fungi, or earthworms. In addition, released ENMs could migrate from the ground to the groundwater and enter into the aquatic ecosystems.

Besides ecotoxicity, it should be noted that nanocomposites can have an impact on human health considering that larger particles are able to deposit in the alveolar region of the lung. This is particularly known to occur for high aspect ratio fibers and platelets, both observed in the micronized samples. Very little research has been carried out in this area; therefore, additional

**Fig. 10** Percentage of survival of earthworm *Eisenia foetida* exposed to a limit concentration of  $7 \times 10^{-2}$  g/mL ( $1 \text{ mg/cm}^2$ )



toxicological studies can provide information on the impact of the nano- and micron-range material on human health and the environment.

In summary, in view of the results obtained for the different types of nanocomposites studied, the following conclusions have been drawn:

- A. Release of nanoparticles by UV.
  - a. There is a complex relationship between the degree of wear and the release of ENMs. A more focused research is needed to elucidate which parameters and polymer-related characteristics determine to a major extent the likelihood of release.
  - b. The results showed that some types of nanoparticles retard degradation while others accelerate it with respect to polymer (epoxy) without fillers.
- B. Toxicity in aquatic ecosystems
  - a. Silver and ZnO-based nanocomposites showed some degree of toxicity for freshwater organisms.
  - b. The presence of silver could trigger the ecotoxicological impact of polymer nanocomposites
- C. Acute toxicity in soils
  - a. The tests carried out show that none of the nanocomposites had a mortality greater than 5% of the individuals studied for *Eisenia foetida* at the test limit concentration of 1 mg/cm<sup>2</sup>.

From the previous results, it has become clear that the size of the samples that contain nanoparticles, and that are discharged into the environment, the likelihood of impact on the human and environmental environment every time needs a deeper study, including a thorough analysis of the differences in the particle migration potential for each type of polymeric matrix.

**Abbreviations** ENMs, Engineered nanomaterials; NM, Nanomaterial; NP, Nanoparticles; TEM, Transmission electron microscopy; SEM, Scanning electron microscopy

**Acknowledgements** This research was carried out as part of the European project FP7 NanoSafePack project: development of a

guide of best practices for the safe handling and use of nanoparticles in the packaging industries (286362), as well as the LIFE NanoRISK project: Best practices, prevention and protection risk control measures that represent the nanomaterials represented (LIFE12 ENV / ES / 000178)

#### Declarations

**Conflict of interest** The authors declare no competing interests.

**Disclaimer** All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.

#### References

- Abu-Elala NM, AbuBakr HO, Khattab MS et al (2018) Aquatic environmental risk assessment of chitosan/silver, copper and carbon nanotube nanocomposites as antimicrobial agents. *Int J Biol Macromol* 113:1105–1115. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.04>
- Amorim MJB, Lin S, Schlich K, Navas JM, Brunelli A, Neubauer N, Vilsmeier K, Costa AL, Gondikas A, Xia T, Galbis L, Badetti E, Marcomini A, Hristozov D, von der Kammer F, Hund-Rinke K, Scott-Fordsmand JJ, Nel A, Wohlleben W (2018) Environmental impacts by fragments released from nanoenabled products: a multiassay, multimaterial exploration by the SUN. *Approach Environ Sci Technol* 52(3): 1514–1524. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04122>
- BAuA (2015) Safe handling of nanomaterials and other advanced materials at workplace. NANOVALID—Developing reference methods for nanomaterials. Lead author and project monitoring: M. Baron, Federal Institute for Occupational Safety and Health.
- Begum P, Ikhtiar R, Fugetsu B (2011) Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach. and lettuce *Carbon* 49(12):3907–3919
- Bhuvaneshwari M, Sagar B, Doshi S, Chandrasekaran N, Mukherjee A (2017) Comparative study on toxicity of ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles on *Artemia salina*: effect of pre-UV-A and visible light irradiation. *Environ Sci Pollut Res* 24: 5633–5646. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8328-z>
- Brouwer DH, Spaan S, Roff M, Sleuwenhoek A, Tuinman I, Goede H, van Duuren-Stuurman B, Filon FL, Bello D, Cherrie JW (2016) Occupational dermal exposure to nanoparticles and nano-enabled products: Part 2, exploration of exposure processes and methods of assessment. *Int J Hyg Environ Health*. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.05.003>
- Calipinar H, Ulas D (2019) Development of nanotechnology in the world and nanotechnology standards in Turkey. *Procedia Comput Sci* 158:1011–1018
- Camboni M, Hanlon J, Pérez García R, Floyd P (2019) European Chemicals Agency. A state of play study of the market for so called “next generation” Nanomaterials. <https://euon.echa>.

- europa.eu/documents/23168237/24095696/190919\_euon\_study\_next\_generation\_nanomaterials\_en.pdf/d5ecd96d-e016-720a-54ef-574fe392c82a. Accessed Aug 2020
- Clark K, van Tongeren M, Christensen FM, Brouwer D, Nowack B, Gottschalk F, Micheletti C, Schmid K, Gerritsen R, Aitken R, Vaquero C, Gkanis V, Housiadis C, Lopez de Ipina JM, Riediker M (2012) Limitations and information needs for engineered nanomaterial-specific exposure estimation and scenarios: recommendations for improved reporting practices. *J Nanopart Res* 14:970. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-0970-x>.
- Abdel-Latif HMR, Dawood MAO, Menanteau-Ledouble S, El-Matbouli M (2020) Environmental transformation of n-TiO<sub>2</sub> in the aquatic systems and their ecotoxicity in bivalve mollusks: a systematic review. *Ecotoxicol Environ Saf* 200: 110776. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110776>
- Debia M, Bakhiyi B, Ostiguy C, Verbeek JH, Brouwer DH, Murashov V (2016) A Systematic Review of Reported Exposure to Engineered Nanomaterials. *Ann Occup Hyg* 60:916–935. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mew041>
- Dedman CJ, Newson GC, Davies G-L, Christie-Oleza JA (2020) Mechanisms of silver nanoparticle toxicity on the marine cyanobacterium *Prochlorococcus* under environmentally-relevant conditions. *Sci Total Environ* 747:141229. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141229>
- Diamond SA, Kennedy AJ, Melby NL, Moser RD, Poda AR, Weiss CA, Brame JA (2017) Assessment of the potential hazard of nano-scale TiO<sub>2</sub> in photocatalytic cement: application of a tiered assessment framework. *NanoImpact* 8:11–19. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2017.06.006>
- Duncan TV (2014) Release of engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: the effects of matrix degradation. *ACS Appl Mater Interfaces* 7:20–39. <https://doi.org/10.1021/am5062757>
- Froggett SJ, Clancy SF, Boverhof DR et al (2014) A review and perspective of existing research on the release of nanomaterials from solid nanocomposites. *Part Fibre Toxicol* 11:17. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-17>
- Giese B, Klaessig F, Park B et al (2018) Risks, release and concentrations of engineered nanomaterial in the environment. *Sci Rep* 8:1565. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19275-4>.
- Horváth L, Magrez A, Burghard M, Kern K, Forró L, Schwaller B (2013) Evaluation of the toxicity of graphene derivatives on cells of the lung luminal surface. *Carbon* 64:45–60
- Hou J, Wu Y, Li X, Wei B, Li S, Wang X (2018) Toxic effects of different types of zinc oxide nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms. *Chemosphere* 193:852–860
- Jan Kole P, Löhr AJ, Van Belleghem FGJ, Ragas AMJ (2017) Wear and tear of tyres: a stealthy source of microplastics in the environment. *Int J Environ Res Public Health* 14:1–4
- Kabir E, Kumar V, Kim K, Yip ACK, Sohn JR (2018) Environmental impacts of nanomaterials. *J Environ Manag* 225:261–271
- Kingston C, Zepp R, Andrady A, Boverhof D, Fehir R, Hawkins D et al (2014) Release characteristics of selected carbon nanotube polymer composites. *Carbon* 68:33–57
- Lalwani G, D'Agati M, Khan AM, Sitharaman B (2016) Toxicology of graphene-based nanomaterials. *Adv Drug Deliv Rev* 105(Pt B):109–144. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.028>
- Lee J, Mahendra S, Alvarez PJ (2010) Nanomaterials in the construction industry: a review of their applications and environmental health and safety considerations. *ACS Nano* 4:3580–3590
- Lehuto RF, Tancu Y, Maity A, Thwala M (2020) Aquatic toxicity of transformed and product-released engineered nanomaterials: an overview of the current state of knowledge. *Process Saf Environ Protect* 138:39–56. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.03.002>
- Lei C, Zhang L, Yang K, Zhu L, Lin D (2016) Toxicity of iron-based nanoparticle to green algae: effects of particle size, crystal phase, oxidation state and environmental aging. *Environ Pollut* 218:505–512. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.07.030>
- Li L (2017) Fate and biological effects of titanium dioxide nanoparticles in the aquatic environment. In: Department of Environmental Sciences, Faculty of Biological and Environmental Sciences. University of Helsinki, Finland
- Li L, Sillanpää M, Risto M (2016) Influences of water properties on the aggregation and deposition of engineered titanium dioxide nanoparticles in natural waters. *Environ Pollut* 219: 132–138
- Li M, Xu G, Yang X, Zeng Y, Yong Y (2020) Metal oxide nanoparticles facilitate the accumulation of bifenthrin in earthworms by causing damage to body cavity. *Environ Pollut* 263(Part A):114629. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114629>
- Marquis, D, Guillaume, E & Chivas-Joly, C. (2011). Properties of Nanofillers in Polymer. <https://doi.org/10.5772/21694>.
- Minh Kim Nguyen MK, Moon J-Y, Lee Y-C (2020) Microalgal ecotoxicity of nanoparticles: an updated review. *Ecotoxicol Environ Saf* 201:110781. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110781>
- Mitrano DM, Motellier S, Clavaguera S, Nowack B (2015) Review of nanomaterial aging and transformations through the life cycle of nano-enhanced products. *Environ Int* 77: 132–147. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.013>.
- Nguyen T, Pellegrin B, Bernard C, Gu X, Gorham JM, Stutzman P, Stanley D, Shapiro A, Byrd E, Hettenhouser R, Chin J (2011) Fate of nanoparticles during life cycle of polymer nanocomposites. *J Phys Conf Ser* 304:012060
- Nguyen T, Pellegrin B, Bernard C, Rabb S, Stutzman P, Gorham JM, Gu X, Yu LL, Chin JW (2012) Characterization of surface accumulation and release of nanosilica during irradiation of polymer nanocomposites by ultraviolet light. *J Nanosci Nanotechnol* 12:6202–6215
- Nowack B, David RM, Fissan H, Morris H, Shatkin JA, Stintz M, Zepp R, Brouwer D (2013) Potential release scenarios for carbon nanotubes used in composites. *Environ Int* 59:1–11
- Pereira AC, Gonçalves BB, da Silva Brito R, Vieira LG, de Oliveira Lima EC, Rocha TL (2020) Comparative developmental toxicity of iron oxide nanoparticles and ferric chloride to zebrafish (*Danio rerio*) after static and semi-static exposure. *Chemosphere* 254:126792. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126792>
- Petersen EJ, Lam T, Gorham JM, Scott KC, Long CJ, Stanley D, Sharma R, Liddle JA, Pellegrin B, Nguyen T (2014) Methods to assess the impact of UV irradiation on the surface

- chemistry and structure of multiwall carbon nanotube epoxy nanocomposites. *Carbon* 69:194–205
- Pietroiu A, Stockmann-Juvala H, Lucaroni F, Savolainen K (2018) Nanomaterial exposure, toxicity, and impact on human health [published online ahead of print, 2018 Feb 23]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. <https://doi.org/10.1002/wnan.1513>
- Polymer nanocomposites market by type (2020) (carbon nanotubes, nanoclays, metal oxide, ceramics), application (construction, automotive, electrical & electronics, packaging). *Global Opportunity Anal Ind Forecast, 2014-2022*. Accessed on August 17th.
- Sommer F et al (2018) Tire abrasion as a major source of microplastics in the environment. *Aerosol Air Qual Res* 18: 2014–2028
- Vance ME, Kuiken T, Vejerano EP, McGinnis SP, Hochella MF Jr, Rejeski D, Hull MS (2015) Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J Nanotechnol* 6:1769–1780. <https://doi.org/10.3762/bjnano.6.181>
- Vilchez, Alejandro & Fernández-Rosas, Elisabet & González Gálvez, D & Vázquez-Campos, Socorro. (2015). Nanomaterials release from nano-enabled products. [https://doi.org/10.1007/698\\_2015409](https://doi.org/10.1007/698_2015409).
- Wang W-W, Man C-Z, Zhang C-M, Jiang L, Dan Y, Nguyen T-P (2013) Stability of Poly(L-lactide)/TiO<sub>2</sub> nanocomposite thin films under UV irradiation at 254 nm. *Polym Degrad Stab* 98: 885–893
- Wohlleben W, Neubauer N (2016) Quantitative rates of release from weathered nanocomposites are determined across 5 orders of magnitude by the matrix, modulated by the embedded nanomaterial. *NanoImpact* 1:39–45. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2016.01.001>
- Xia T (2015) Safety assessment of carbon nanotube nanocomposites: challenges and perspectives. *JSM Nanotechnol Nanomed* 33:1034

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

## 9 PUBLICACION ARTÍCULO (2)



International Journal of  
*Environmental Research  
 and Public Health*



Article

### New Tools to Support the Risk Assessment Process of Nanomaterials in the Insurance Sector

Francisco Aznar Mollá <sup>1</sup>, Carlos Fito-López <sup>2,\*</sup> , Jose Antonio Heredia Alvaro <sup>3</sup> and Francisco Huertas-López <sup>2</sup>

- <sup>1</sup> Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular Chemistry, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain; al363139@uji.es  
<sup>2</sup> ITENE, Technological Institute of Packaging, Transport and Logistics, 46980 Paterna, Spain; maيدا.domat@itene.com  
<sup>3</sup> Industry 4.0 Chair Director, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain; heredia@uji.es  
 \* Correspondence: carlos.fito@itene.com; Tel.: +34-647521544

**Abstract:** During the last decade, the use of nanomaterials, due to their multiple utilities, has exponentially increased. Nanomaterials have unique properties such as a larger specific surface area and surface activity, which may result in health and environmental hazards different from those demonstrated by the same materials in bulk form. Besides, due to their small size, they can easily penetrate through the environmental and biological barriers. In terms of exposure potential, the vast majority of studies are focused on workplace areas, where inhalation is the most common route of exposure. The main route of entry into the environment is due to indirect emissions of nanomaterials from industrial settings, as well as uncontrollable releases into the environment during the use, recycling and disposal of nano-enabled products. Accidental spills during production or later transport of nanomaterials and release from wear and tear of materials containing nanomaterials may lead to potential exposure. In this sense, a proper understanding of all significant risks due to the exposure to nanomaterials that might result in a liability claim has been proved to be necessary. In this paper, the utility of an application for smartphones developed for the insurance sector has been validated as a solution for the analysis and evaluation of the emerging risk of the application of nanotechnology in the market. Different exposure scenarios for nanomaterials have been simulated with this application. The results obtained have been compared with real scenarios, corroborating that the use of novel tools can be used by companies that offer risk management in the form of insurance contracts.

**Keywords:** nanotechnology; nanomaterial; nanoparticle; ecotoxicity; risk assessment; modeling



**Citation:** Aznar Mollá, F.; Fito-López, C.; Heredia Alvaro, J.A.; Huertas-López, F. New Tools to Support the Risk Assessment Process of Nanomaterials in the Insurance Sector. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 6985. <https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>

Received: 30 March 2021

Accepted: 9 June 2021

Published: 29 June 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

#### 1. Introduction

The main principle of insurance is that one party, identified as “the insurer,” shall guarantee payment for an uncertain future event related to an incident where potential damages can be expected on different subjects, including human health or the environment. Special types of insurance policies that insure against specific types of risks faced by a particular company are required. In this regard, a nanotechnology-based company needs a policy that covers damage or injury that occurs as a result of an accidental event in the factory, including accidents involving nanomaterials.

Today, engineered nanomaterials (ENMs) are frequently used. Their applications range from scratch-resistant or self-cleaning surface coatings to enhanced cosmetics. Applications in food include objectives to enhance flavor and texture and encapsulate micronutrients to prolong their stability, augmented by packaging applications to prolong shelf life and avoid bacterial contamination. Potential applications in other sectors include environmental remediation to detect and eliminate toxic substances, energy generation and storage plus multiple other commercial uses of novel materials [1]. Besides the wide range of new opportunities offered by these novel materials, concerns have been raised



Article

# New Tools to Support the Risk Assessment Process of Nanomaterials in the Insurance Sector

Francisco Aznar Mollá <sup>1</sup>, Carlos Fito-López <sup>2,\*</sup> , Jose Antonio Heredia Alvaro <sup>3</sup> and Francisco Huertas-López <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular Chemistry, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain; al363139@uji.es

<sup>2</sup> ITENE, Technological Institute of Packaging, Transport and Logistics, 46980 Paterna, Spain; maida.domat@itene.com

<sup>3</sup> Industry 4.0 Chair Director, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain; heredia@uji.es

\* Correspondence: carlos.fito@itene.com; Tel.: +34-647521544

**Abstract:** During the last decade, the use of nanomaterials, due to their multiple utilities, has exponentially increased. Nanomaterials have unique properties such as a larger specific surface area and surface activity, which may result in health and environmental hazards different from those demonstrated by the same materials in bulk form. Besides, due to their small size, they can easily penetrate through the environmental and biological barriers. In terms of exposure potential, the vast majority of studies are focused on workplace areas, where inhalation is the most common route of exposure. The main route of entry into the environment is due to indirect emissions of nanomaterials from industrial settings, as well as uncontrollable releases into the environment during the use, recycling and disposal of nano-enabled products. Accidental spills during production or later transport of nanomaterials and release from wear and tear of materials containing nanomaterials may lead to potential exposure. In this sense, a proper understanding of all significant risks due to the exposure to nanomaterials that might result in a liability claim has been proved to be necessary. In this paper, the utility of an application for smartphones developed for the insurance sector has been validated as a solution for the analysis and evaluation of the emerging risk of the application of nanotechnology in the market. Different exposure scenarios for nanomaterials have been simulated with this application. The results obtained have been compared with real scenarios, corroborating that the use of novel tools can be used by companies that offer risk management in the form of insurance contracts.

**Keywords:** nanotechnology; nanomaterial; nanoparticle; ecotoxicity; risk assessment; modeling



**Citation:** Aznar Mollá, F.; Fito-López, C.; Heredia Alvaro, J.A.; Huertas-López, F. New Tools to Support the Risk Assessment Process of Nanomaterials in the Insurance Sector. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 6985. <https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>

Received: 30 March 2021

Accepted: 9 June 2021

Published: 29 June 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

The main principle of insurance is that one party, identified as “the insurer,” shall guarantee payment for an uncertain future event related to an incident where potential damages can be expected on different subjects, including human health or the environment. Special types of insurance policies that insure against specific types of risks faced by a particular company are required. In this regard, a nanotechnology-based company needs a policy that covers damage or injury that occurs as a result of an accidental event in the factory, including accidents involving nanomaterials.

Today, engineered nanomaterials (ENMs) are frequently used. Their applications range from scratch-resistant or self-cleaning surface coatings to enhanced cosmetics. Applications in food include objectives to enhance flavor and texture and encapsulate micronutrients to prolong their stability, augmented by packaging applications to prolong shelf life and avoid bacterial contamination. Potential applications in other sectors include environmental remediation to detect and eliminate toxic substances, energy generation and storage plus multiple other commercial uses of novel materials [1]. Besides the wide range of new opportunities offered by these novel materials, concerns have been raised



because of potential adverse health effects that may arise if NMs are taken up by the human body [2].

While human exposure to NMs may in principle occur during any stage of the material's life cycle, it is most likely in workplaces, where these materials are handled or produced in large quantities or over long periods of time. Inhalation is considered the most critical uptake route as these small particles are able to penetrate deep into the lung and deposit in the gas exchange region. Inhalation exposure to airborne nanomaterials, therefore, needs to be assessed in view of worker protection. However, to date, unlike what happens for gaseous compounds, there is still no methodology clearly established by the scientific community to evaluate the exposure of nanomaterials in the workplace.

The majority of the literature regarding the fate and transformation processes of NMs in the environment focuses on aquatic systems and soils (e.g., Baalousha et al. [3]; Gutleb et al. [4]), since the major part of NMs is known to end up in these two compartments, whereas only 0.1–1.5% of the produced NMs are estimated to be released into the atmosphere during their life cycle [5]. However, since inhalation has been identified as the main penetration route of exposure for human beings, monitoring the presence of NMs in air, especially in workplaces, is crucial.

Many activities involved in engineered nanomaterial (ENM) manufacturing may be a potential source of ENM emissions. In many cases, the major emissions come from the process step generating the nanomaterial, but at a subsequent phase, such as recovering particles from the reactor, milling, drying or further handling may also be a potential NM source [6]. Other processes such as spray drying or milling are more prone to leaks as they are often performed in air at atmospheric pressure conditions [7]. Adopting the corresponding safety measures throughout the NM life cycle can minimize and even avoid the exposure of workers to nanomaterials. Nevertheless, while systematic efforts are made to prevent them, accidental releases may generally still occur in the chemical industry. Major releases are very rare events, but if they occur, they can contribute significantly to the emission of chemicals to the environment and can be a serious hazard to workers if proper precautionary measures are not taken (e.g., personal protective equipment). At each stage of the ENM life cycle, accident scenarios can take place that lead to unintended or uncontrolled releases of ENMs to different environmental compartments: air, water or soil.

Release rates and amounts are very dependent on the release scenario, the safety procedure in place, and the location and environment of the release [8]. They can range from a few kilograms for small releases to several tons in rare cases of major releases. Under an accidental scenario the release form is directly related to the form of ENMs used in the industrial process. Nanoparticles typically agglomerate with agglomerate sizes in the micrometric range.

Several uncontrolled releases involving ENMs have occurred in the past. Some examples can be found in the ARIA database [9]. These accidents had no reported health or environmental consequences but resulted in the release of measurable amounts of ENMs to the immediate surroundings.

Small-scale accidents related to the handle nanomaterials have also been reported in literature, such as leaks from an inadequately sealed vacuum cleaner (Boowok et al. [10]) or the miss function of bag filters (Jin et al. [11]).

To date, there is still a lack of information regarding the threshold limits for occupational exposure. International organizations such as NIOSH have established recommended exposure limits (RELs) for a limited type of particles such as ultrafine TiO<sub>2</sub>, CNT and nanofibers [12,13]. To date, different approaches have been adopted to assess the risk of NM exposure in the workplace. The ideal option would be to carry out a quantitative evaluation by carrying out experimental measurements in the work environment itself. However, this option is not always possible, so qualitative methods are commonly used. These methods can be used to make a first approximation or diagnosis of the hygienic situation derived from the presence of chemical agents and of the necessary preventive measures in each case. Some of the most recognized and used qualitative evaluation meth-

ods for nanomaterials are the CB Nanotool method developed by Zalk et al. [14], applicable for small amounts of NMs, in laboratories or small-scale production, Stoffenmanager Nano (<http://nano.stoffenmanager.nl/>, accessed on 21 October 2020 [15]) and the ISO/TS 12901-2:2014 method (<http://iso.org/> accessed on 17 September 2020 [16]), which are only applicable for research laboratories and industrial scale to assess the inhalation risk of particles with water solubility <0.1 g/L, individual particles, aggregates and agglomerates. Although these methods may be useful, their limitations are crucial.

Moreover, the nanotechnology-related industry requires insurance to efficiently manage risks that arise from running the business, considering the current significant knowledge gaps for nanotechnology risk assessment [17–19]. Several tools are already available for risk assessment, including the Swiss Precautionary Matrix [20,21], NanoRiskCat [22,23], the US Control Banding Nanotool [24] or NanoSafer [25]. However, these models and tools require extensive expertise and knowledge of nano-safety and were made for different purposes and application domains (i.e., inhalation, dermal, sprays, etc.), making them inappropriate for non-experts. Concerning risk management and insurance, a limited number of tools are currently available, including CENARIOS [26], LICARA NanoScan [27] or the IRGC framework [28]. A list of the tools available for risk assessment is shown in Appendix A.

The aim of this study is to present a simple application for the risk assessment of ENMs in the insurance sector, developed by integrating hazard-related data retrieved from the eNanoMapper database [29], and optimized exposure models developed under the SUDOE project NanoDESK [30–33]. These models aimed to evaluate the levels of occupational exposure to nanomaterials, their aggregates and/or agglomerates (NOAA) during the manufacture of polymer nanocomposites, end-of-life processes and/or their use in consumer articles, and the estimation of unintentional emissions of nanomaterials into the environment. Specifically, the present work focuses on (1) the characterization of aerosol particles released under different scenarios, and (2) to assess the potential use of the tool by comparing estimated data with measured data. An operative version of the tool can be downloaded from the URL: <https://www.cyc-ingenieros.com/nanoserpa/> (accessed on 25 February 2011).

## 2. Methodology

### 2.1. Development of the NanoSerpa Application

The application was designed to be used as a library to search and consult the properties of existing nanomaterials and to easily elaborate accident reports where nanomaterials are involved. For the latter, certain input parameters are required from the user: (1) type of nanomaterial; (2) amount of nanomaterials involved in the accident; (3) process that was taking place (synthesis, manufacturing, etc.); (4) type of accident (fire, explosion, etc.); (5) optional comments about the accident. Once all fields are completed, a series of probabilistic models and auxiliary tables will be executed resulting in emission, health hazard values and risk indices. These models have been created using the open software Python [34], and their functionalities are briefly explained below. Figure 1 depicts a flow diagram of the application.

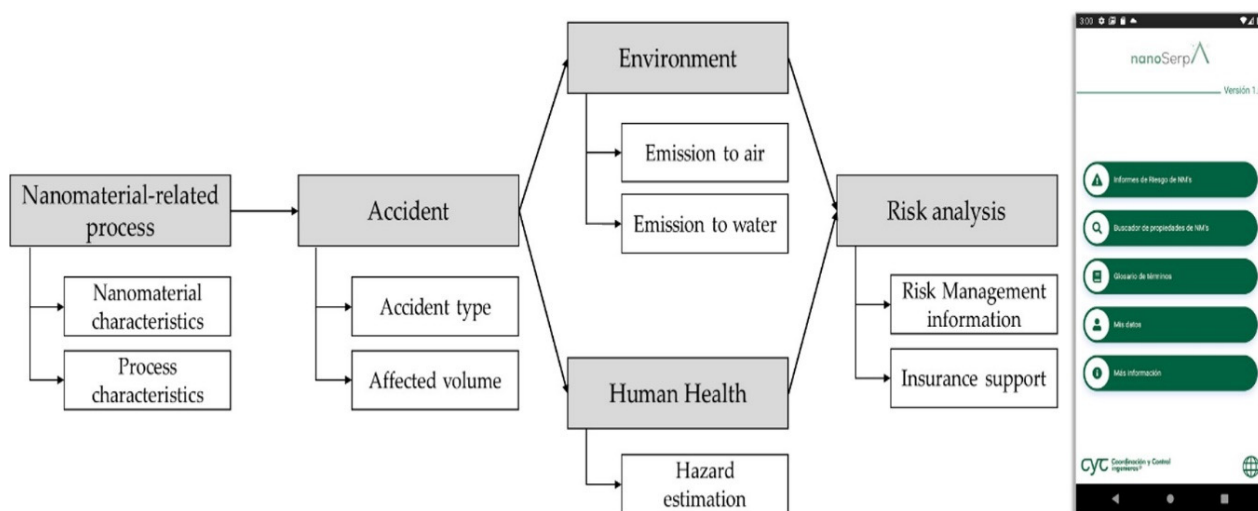


Figure 1. NanoSerpa application flow diagram (left) and screenshot of the app (right).

- Release and emissions to the environment: A material flow model (MFM) has been implemented for the estimation of emissions into the environment. This model has included the most common processes when working with nanomaterials: synthesis, manufacturing, use, sludge treatment disposal, incineration removal and filtration. In addition, different types of accidents such as explosions, burning or fire, gas escapes and spillovers have been introduced.
- Health hazard: This model considers 10 different endpoints when analyzing the health hazards of nanomaterials. This information is available in the NanoSerpa database, which contains information from different data sources, highlighting the eNanoMapper database [29]. eNanoMapper is the biggest European public database hosting nanomaterial characterization data and biological and toxicological information.
- Risk index: The risk index is estimated based on the two models mentioned above. This type of band model is widely used in the field of nanoparticle risk calculation.

#### 2.1.1. Emission/Release Estimation Model

To estimate the exposure potential, the model considers relevant determinants of exposure based on Schneider et al. [35]. The relevant determinants considered were energy and duration of the process/activity, volume of the facility (personal area, room, industrial facility or surrounding area), dustiness (very high (extremely fine and light powder), high (fine powder), medium (coarse powder), low and very low (extremely coarse powder)), solubility, weight fraction (% purity), moisture level, viscosity, and amount used. The NanoSerpa model was developed based on Michael P. Tsang [36] and Ganser et al. [37] and adapted to require the minimum user input as possible, as this was one of the biggest concerns for developing the app.

The concentration of nanomaterial released in  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  in the affected zone by the accident is calculated using the equation below:

$$C \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{m}^3} \right) = \frac{M_{\text{NM}} * \text{EHP} * K_{\text{NM}} * A}{V} \quad (1)$$

where  $C$  is the released nanomaterial concentration in  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,  $M_{\text{NM}}$  is the mass of the nanomaterial in  $\mu\text{g}$ ,  $V$  is the facility/room volume in  $\text{m}^3$ , and  $\text{EHP}$ ,  $K_{\text{NM}}$  and  $A$  are pre-calculated ponderations based on the energy handling potential, physicochemical properties, which are state dependent (viscosity/solubility for liquids, dustiness/moisture for solids), and the liberation coefficient for the accident, respectively.

Then, a probabilistic nanomaterial flow analysis model based on the transfer coefficients (TCs) proposed by Gottschalk [38] and Spinazze [39] was implemented into the

NanoSerpa tool to estimate the different amounts of nanomaterials potentially released due to the manufacturing or usage of nanoparticle-containing products. This mass-balanced-model allows treating all parameters as probability distributions. Therefore, the model output is represented by ENM flow probability distributions. Model input and output distributions were derived by the Monte Carlo method and implemented in the Python code. After running the model, the final emissions to air, water and soil sediment are calculated (as  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) using assumed transfer coefficients shown in Table 1.

**Table 1.** Transfer coefficients.

Flow	TCs (%)
ENPP->Air	5.00
ENPP->Water	6.00
ENPP->Soil	0.01
ENPP->NAMF	88.99
NAMF->Air	10.87
NAMF->Water	7.15
NAMF->Soil	0.58
NAMF->Products	81.40
Products->Air	5.00%
Products->Water	0.00%
Products->Soil	5.00%
Products->WIP	50.00%
Products->STP	5.00%
Products->Export	35.00%
STP->Air	0.00%
STP->Water	3.00%
STP->Soil	0.00%
STP->WIP	97.00%
WIP->Filter	30.00%
WIP->Export	70.00%
Filter->Air	1.00%
Filter->Export	99.00%
Air->Water	3.00%
Air->Soil	97.00%

Note: ENPP: production of engineered nanoparticles; NAMF: nano-article manufacturing, production of articles containing nanoparticles; WIP: waste incineration plant; STP: sludge treatment plant.

Uncertainties were taken into account for the input ENP production value and for the TCs, working with distributions. To facilitate the interpretation of results, emission levels have been established based on the extrapolation of the PM<sub>2.5</sub> fraction to the US EPA air quality index [40]. For an emission value below  $13 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , a very low level is established; for a value between 13 and  $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , a low level is established; for a value between 25 and  $45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , a medium level is established; for a value between 45 and  $56 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , a high level is established; and for a value above  $56 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , a very high level is established.

### 2.1.2. Hazard Estimation Model

The hazard estimation model is able to find in the NanoSerpa database up to 10 different endpoints, including 3 physicochemical properties that directly or indirectly affect the potential hazard of the nanomaterials following a structure–property–hazard (SPH) relationship [35] (particle size, Z-potential and aspect ratio) and 7 key toxicological endpoints (EC<sub>20</sub>, EC<sub>50</sub>, LC<sub>20</sub>, LC<sub>50</sub>, % viable cells, cell cycle and genotoxicity/DNA in tail). This database has been built and adapted from different data sources, highlighting eNanoMapper [29] as the biggest nanomaterial database, hosting hundreds of nanomaterial properties. The NanoSerpa database is designed to be updated when new data become available.

For the estimation of the hazard, each endpoint is analyzed independently and evaluated from very low to very high hazard. The worst-case approach is followed in this

model, so if more than one endpoint is found in the database, the worst value is taken for estimating the risk.

### 2.1.3. Risk Index Characterization

Both results (emission and hazard) are taken into account to estimate the potential risk index. Table 2 represents how this index is calculated from the results of the hazard calculation and emission index.

**Table 2.** Calculating the risk index based on health hazard and emission.

Emission Hazard	Very Low	Low	Medium	High	Very High
Very low	0	2.5	2.5	5	5
Low	2.5	2.5	5	5	7.5
Medium	2.5	5	5	7.5	7.5
High	5	5	7.5	7.5	10
Very high	5	7.5	7.5	10	10

## 2.2. NanoSerpa Case Studies

To validate the use of the NanoSerpa application, four events reported in the literature have been simulated:

- SiO<sub>2</sub> nanoparticle leak from a vacuum cleaner
- Release of TiO<sub>2</sub> nanopowder from a bag filter system
- Fall of eight TiO<sub>2</sub> bulk bags on the road
- Leak of black carbon during transportation

Besides, two real cases involving ENMs were analyzed at ITENE facilities:

- Spillage of paint containing graphene during spraying
- Accidental spillage of a dry mortar

In these studies, exposure measurements were carried out applying tier 2 and tier 3 approaches to gather information, considering a suit of instruments to monitor the levels of exposure, including a particle counter (CPC—TSI Model 3007) an optical particle sizer (OPS—TSI Model 3330), which provides data on particle size distributions, as well as the NanoScan SMPS Model 3910, which provides measures of the particle size distribution. Technical personnel, trained in the use of these instruments, recorded all the events that occurred during the entire duration of workplace monitoring in a specific event log.

The inlets of the devices located in the near field (NF) were approximately at a height of  $1.5 \pm 0.1$  m and  $\sim 0.5$  m from the worker. The exposure was assessed by measuring directly in the personal breathing zone (PBZ) of the operator, defined as a 30 cm hemisphere around the mouth and the nose (EN, 2012). Flexible 80 cm Tygon<sup>®</sup> tubes were attached to the inlets of the instruments (CPC 3007, TSI NanoScan, and OPS 3330) to achieve the worker's breathing zone. The far-field (FF) devices (OPS/CPC) were placed from 6 to 12 m.

The direct reading measurement instruments were complemented with filter-based air samples (37 mm cassettes) collected during the sampling campaign for morphological and compositional data of airborne and settled particles, respectively. These air samples were collected from the breathing zone using an APEX (Casella CEL) personal sampling pump at a flow rate of  $3.5 \text{ L min}^{-1}$  and a polycarbonate filter. The samples from the far field locations were also collected at a 1.5 m height. The filters collected were further analyzed by scanning electron microscopy/energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM/EDXS).

The data retrieved from the real exposure scenarios were statistically analyzed to determine the arithmetic mean and maximum and minimum number concentrations in each exposure scenario. Mass concentrations were obtained directly from the OPS.

The background levels were established considering the data on the ENM concentration retrieved before the operations involving ENM began. Comparison of background

levels with measured concentrations (taken when the process is in operation) was carried out to identify any increases in the levels. Any enhanced concentration levels were then assigned to emission sources or activities using the activity/time log. The morphology and chemical nature of the ENMs retained in the polycarbonate filter were used to “speciate” the real-time quantitative measurements in order to distinguish ENM from incidental nanoparticles in the workplace.

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Accidental Spillage of Paint Containing Graphene during Low-Density Paint Spraying

Experimental data have been collected at the ITENE pilot plant during the application of acrylic containing 0.1% m-GO graphene. Acrylic paint was sprayed using a gravity spray gun powered by a 0.65-L glass, capable of working at a maximum air inlet pressure of 8 bar (116 psi), when the contents of the boat were spilled when filling the gun. The operator wore a double nitrile glove, a Tyvek suit and a full mask with an FFP3 filter.

Possible exposure to graphene during paint spraying was measured using a condensation particle counter (CPC—TSI-3007) and an optical particle sizer (OPS—TSI-3330). Measurements of particles in the environment were conducted, so possible air exposure to graphene was recorded during the incident.

Table 3 shows the concentration values recorded by the CPC and OPS that day. The results are weighted to the graphene content of the mixture. The RCR, obtained (Equation (2)) as the quotient between the concentration of the personal or workplace area and a chemical reference toxicity value, is significantly lower than 1, which implies a very low risk possibility. In this case, the mean toxicity values employed are predicted non-effect concentration (PNEC) =  $9.37 \times 10^4$  particles/cm<sup>3</sup> and derived non-effect limit (DNEL) = 0.0446 mg/m<sup>3</sup>, calculated with SECO DNEL Tool [41].

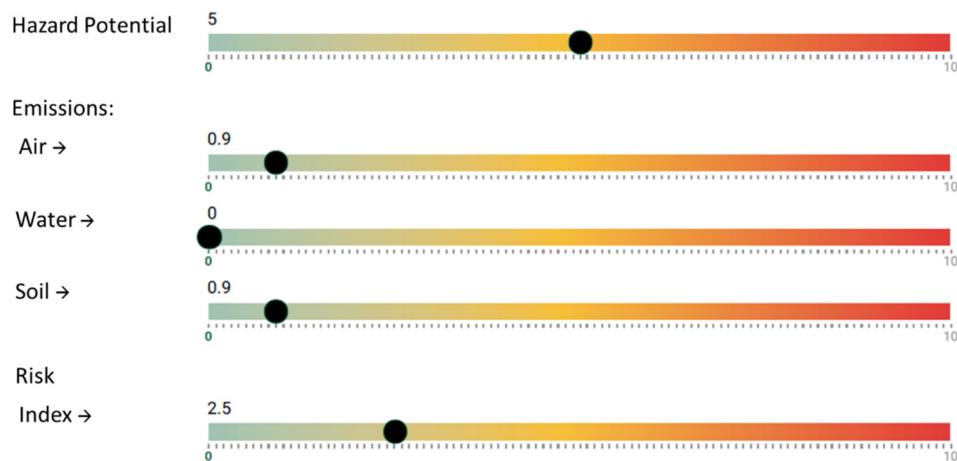
$$RCR_{average} = \frac{Mean\ Exposure}{Mean\ Toxicity} \quad (2)$$

Table 3. Data measured during paint spill containing graphene.

Equipment	Weight Fraction	Time of Exposure (BG/Act/Pers)	Averaged Graphene Content—8 h TWA Workplace	Averaged Graphene Content—8 h TWA Personal	Units	Corrected RCR Graphene (Workplace)	Corrected RCR Graphene (Personal)
CPC 3007 TSI	0.1%	10 min	$1.53 \times 10^0$	$2.41 \times 10^0$	#/cm <sup>3</sup>	$1.63 \times 10^{-5}$	$2.57 \times 10^{-5}$
OPS 3330 TSI	0.1%	10 min	$1.05 \times 10^{-2}$	$1.65 \times 10^0$	#/cm <sup>3</sup>	$1.12 \times 10^{-7}$	$1.76 \times 10^{-5}$
	0.1%	10 min	$5.32 \times 10^{-3}$	$1.72 \times 10^0$	µg/m <sup>3</sup>	$1.19 \times 10^{-4}$	$3.84 \times 10^{-2}$
CPC 3007 TSI	0.5%	10 min	7.44	$8.03 \times 10^0$	#/cm <sup>3</sup>	$7.94 \times 10^{-5}$	$8.57 \times 10^{-5}$
OPS 3330 TSI	0.5%	10 min	$6.37 \times 10^{-2}$	$4.11 \times 10^{-2}$	#/cm <sup>3</sup>	$6.80 \times 10^{-7}$	$4.39 \times 10^{-7}$
	0.5%	10 min	$2.66 \times 10^{-2}$	$3.47 \times 10^{-2}$	µg/m <sup>3</sup>	$5.96 \times 10^{-4}$	$7.76 \times 10^{-4}$

RCR: risk characterization ratio.

By applying this information to the NanoSerpa v1.0 app, we obtain the report that has been summarized in Figure 2. The input data used to run the study is shown in Table 4.



**Figure 2.** Excerpt from the report generated with the NanoSerpa v1.0 app for a spillage of paint containing graphene during spraying. These results apply only to the exposure area where the events studied have occurred.

**Table 4.** Input data for NanoSerpa v1.0 simulated scenarios.

Input Data for NanoSerpa v1.0 Simulated Scenarios	
Group	Graphene
Nanomaterial	Graphene m-GO
Quantity	10 mg
EHP	High
State	Liquid
Dustiness	-
Humidity	-
Viscosity	Low
Solubility	Low
Physical-Chemical Properties	Thickness: 0.9 nm
Toxicology	Size: 430 nm
Type of Information	No data
Measurement	Direct measurement

In Figure 2, it is observed that the risk of air exposure, which is the main penetration route for human exposure, is very low (<1). In this case, the dermal risk would be the most likely. However, when wearing a protective suit Category III, the worker would be well protected for this unexpected event. The estimated emissions to the air and soil would be very low (<1) and non-existent in the case of water emissions.

The risk index obtained with NanoSerpa v1.0 is 2.5, which means a low risk, considering also a very low air emission. The results obtained by the apps agree with the values of RCR experimentally obtained, which also suggest a low risk.

### 3.2. Accidental Spillage of a Dry Mortar

The overall average particle number concentration measured with a TSI condensation particle counter (CPC 3007) during the activity period ( $3.1 \times 10^4$  particles/cm<sup>3</sup>) was significantly above the background level ( $9.6 \times 10^3$  particles/cm<sup>3</sup>). The data from the activity showed several peaks with concentrations up to  $3.5 \times 10^4$  particles/cm<sup>3</sup>, more than 3 times the concentration found in the background. Such a change between activity and background coincided with the accidental spillage of the 25 kg plastic-lined paper bag.

Figure 3 shows the variations in the particle number concentration measured in the PBZ during the operation, with a sharp increase immediately after the accidental spillage of the photocatalytic cement paper bags containing TiO<sub>2</sub> nanoparticles. The highest peak values obtained for this activity were 3.5, 3.1 and 2.7 (×10<sup>4</sup>) particles/cm<sup>3</sup>, which are about 3 and 2.5 times higher than the background levels.

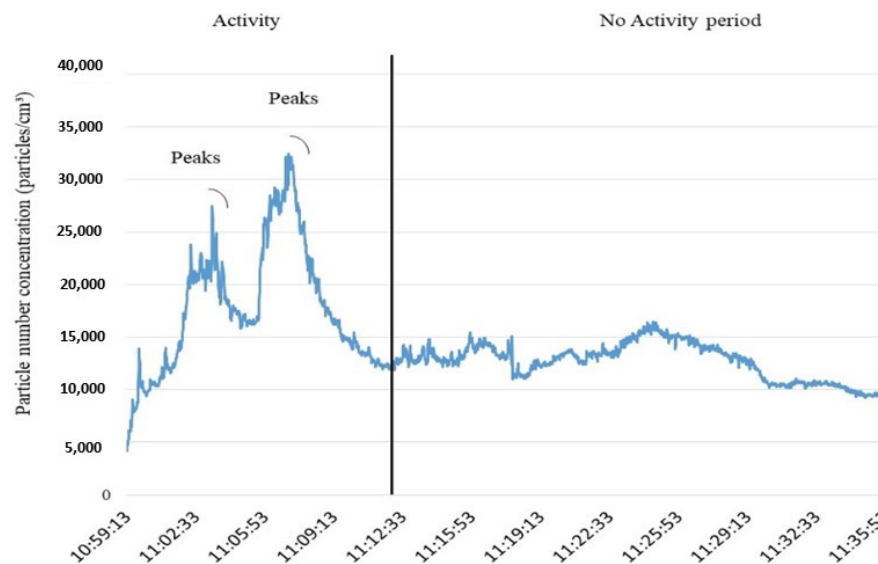


Figure 3. Concentration of particles measured with a CPC during the activity (left) and the background (right).

The analysis of the data measured by the nanoparticle sizer (TSI NanoScan 3910) showed an average particle size of  $\sim 83 \pm 2$  nm. The maximum peaks observed with the CPC were also observed with the SMPS, being mainly due to an increase in the number of particles ranging from 115 to 360 nm, as can be derived from the 3D picture depicted in Figure 4. This figure shows two main modes corresponding to particles with an average particle size of  $\sim 71 \pm 2$  nm and  $\sim 237 \pm 2$  nm, respectively.

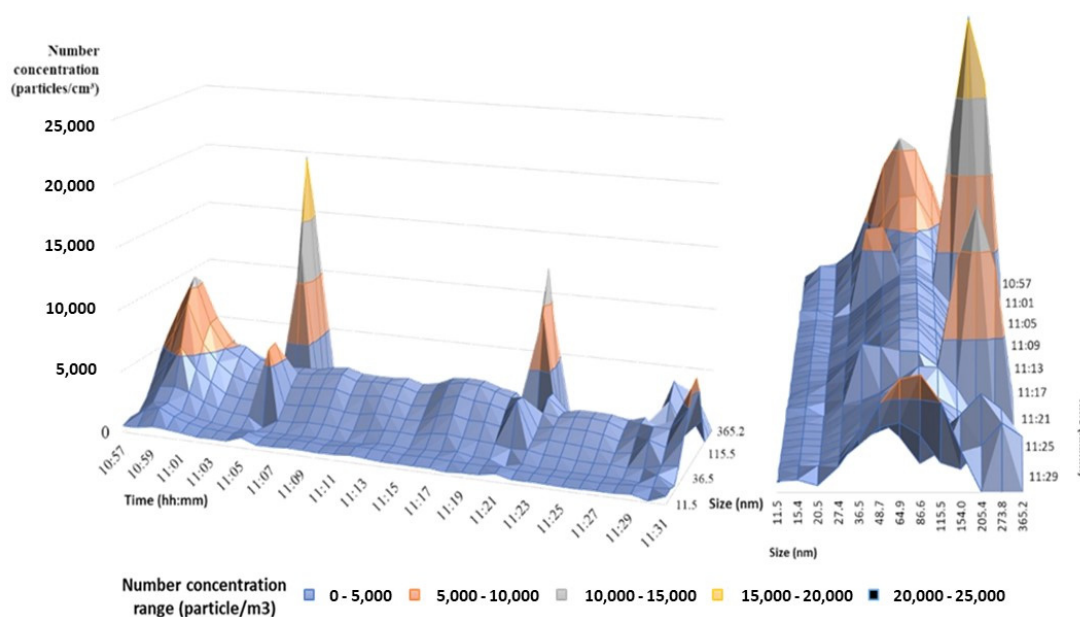


Figure 4. Concentration of particles measured with a NanoScan during an accidental spillage of photocatalytic cement paper bags containing TiO<sub>2</sub> nanoparticles.

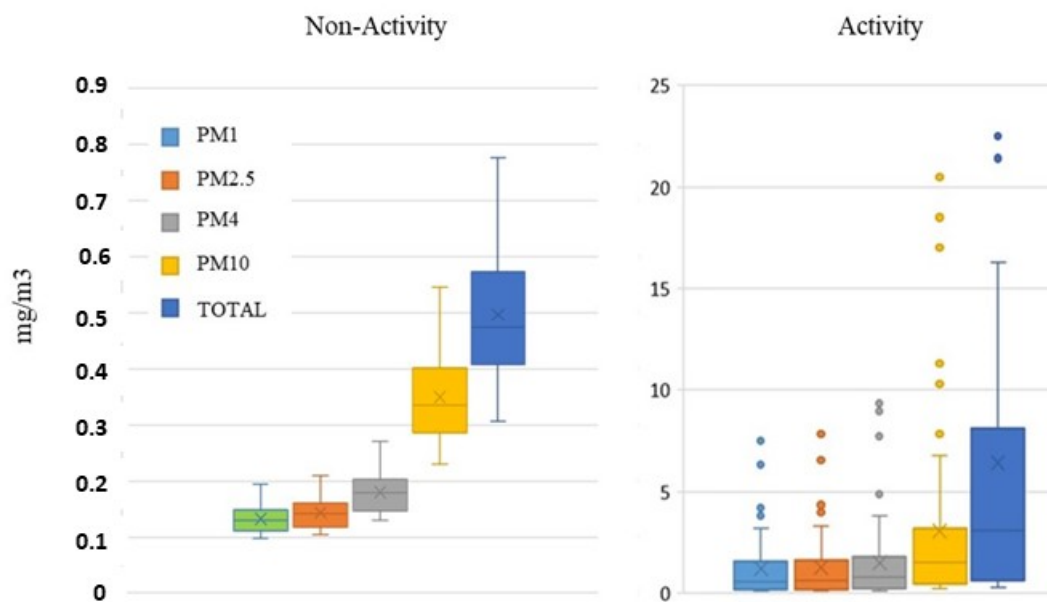


Table 5 shows the overall averages of PM10, PM2.5, PM4 and PM1 during accidental spillage. These PM fractions were found to be significantly above the non-activity levels. All fractions were up to 10 times larger during the accident than during subsequent periods of non-activity.

**Table 5.** Concentrations of PM10, PM4, PM2.5 and PM1 during the activity and non-activity periods.

	PM1	PM2.5	PM4	PM10	Total
Non-activity (mg/cm <sup>3</sup> )	0.133	0.143	0.180	0.350	0.496
Accidental spillage (mg/cm <sup>3</sup> )	1.210	1.260	1.479	3.041	6.415

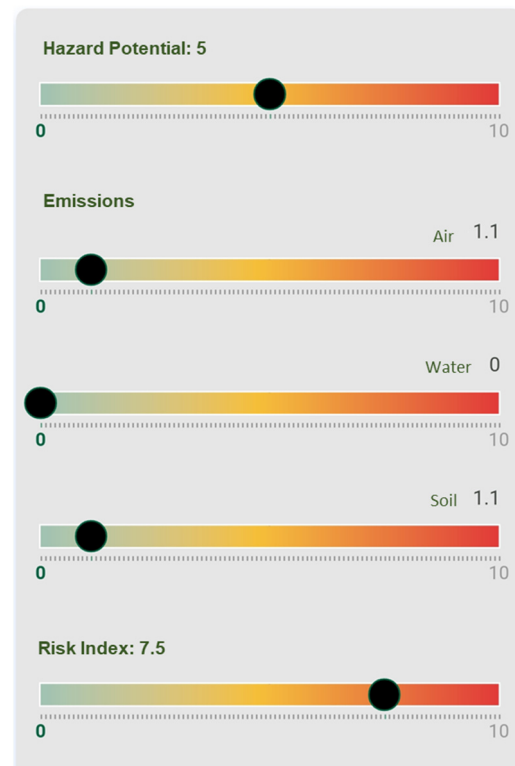
Figure 5 shows a boxplot of the PM fractions analyzed during this event. The data depicted in the figure reinforce the idea that an accidental spillage is able to release particles into the workplace, including both particles in the nanometer range, as derived from the CPC and SMPS, as well as large particles, as measured by the SMPS.



**Figure 5.** Boxplot of PM levels during the accidental event and non-activity periods.

As can be seen from the experimental data reported, the levels of particles measured with the CPC and the Nanoscan device are considerably higher than concentrations during non-activity periods. The RCR, calculated from the quotient of the total concentration (Table 5) and the threshold limit value (10 mg/m<sup>3</sup> for TiO<sub>2</sub>, [42]), is 0.64, which implies a low risk possibility.

As in the previous case, by applying this information to the NanoSerpa v1.0 app, we obtain the report that has been summarized in Figure 6. The input data used to run the study are shown in Table 6.



**Figure 6.** Excerpt from the report generated with the NanoSerpa v1.0 app for an accidental spillage of a dry mortar containing TiO<sub>2</sub>. These results apply only to the exposure area where the events studied have occurred.

**Table 6.** Input data used for NanoSerpa v1.0 simulated scenarios.

Input Data for NanoSerpa v1.0 Simulated Scenarios	
Group	TiO <sub>2</sub>
Nanomaterial	TiO <sub>2</sub>
Quantity	25 kg
EHP	Low
State	Solid
Dustiness	Medium
Humidity	Low
Physical-Chemical Properties	Particle size: 65 nm
Toxicology	No data
Type of Information	Documental
Measurement	Direct measurement

The main penetration route for human exposure during the spillage is inhalation and dermal absorption. In Figure 6, it can be seen that the risk of air exposure is low (1.1 on a scale of 0–10). The same results have been obtained from the experimental risk evaluation. In this case, since the dermal risk could also be important, the use of a protective suit Category III could also be considered for the worker in order to be protected for this unexpected event.

Moreover, although the air emission risk is low, high peak concentrations were measured, leading to concentrations even 10 times higher than non-activity periods in the case

of total particle concentration, summarized in Table 5. This fact is in agreement with the medium–high risk index (7.5) estimated with the NanoSerpa app.

This new app also proposed, considering the hazard potential, a list of preventive/corrective actions that could be taken. For a scale of 2–5, which is the case with this spillage and the rest of the accidental scenarios considered in this work, the suggested actions are as follows:

1. Implementation of engineering controls, including forced ventilation and/or containment systems.
2. Use of individual protective equipment according to the route of exposure.
3. Any technical assistance that, due to the characteristics of the situation and the material, the inspector technician considers necessary to apply.

The estimated emissions to soil would be low (1.1) and non-existent in the case of water emissions. However, since the spillage took place in a closed area with a paved ground, soil emissions are not relevant.

A comparison of the risk characterization ratio (RCR) calculated using experimental data obtained in these two real case scenarios with the risk index and air emissions reported by the NanoSerpa app is shown in Table 7. Information about the risk scale employed in the NanoSerpa app has previously been shown in Table 2.

**Table 7.** Comparison of the risk obtained with the NanoSerpa app and the RCR values obtained from experimental measurements.

Scenario	RCR <sub>EXPERIMENTAL</sub>	NanoSerpa App RISK
Paint spill containing graphene	Workplace: $1.12 \times 10^{-7}$ – $5.96 \times 10^{-4}$ ( $\lll 1$ ): Very low risk Personal: $4.39 \times 10^{-7}$ – $3.84 \times 10^{-2}$ ( $\lll 1$ ): Very low risk	Air emissions: 0.9 (very low risk) Risk index: 2.5 (low risk)
Accidental spillage of a dry mortar containing TiO <sub>2</sub> particles	Workplace: 0.64 ( $<1$ ) low risk Personal: Not directly evaluated but a higher risk could be expected for the peak concentrations observed during measurements	Air emissions: 1.1 (low risk) Risk index: 7.5 (medium–high risk)

As can be seen in Table 7, a comparison between the air emission risk (NanoSerpa) versus the risk calculated from real measurements carried out in the workplace has been done. The same comparison can be done for the risk index and personal RCR. The results obtained are, in both cases, in good agreement.

### 3.3. Literature-Based Scenarios

For the following cases, the experimental data found are not as detailed as in the previous case; therefore, a qualitative comparison has been made. The input data required to run NanoSerpa for each scenario are depicted in Table 8.

#### 3.3.1. SiO<sub>2</sub> Nanoparticle Leak from a Vacuum Cleaner

The following case proposed is the SiO<sub>2</sub> nanoparticle leak from a vacuum cleaner (Booook et al. [10]). In this case, the workers were exposed to the high concentration of nano-silica emitted into the air when poured into a container or when moving the container. It was found that the use of a vacuum cleaner with a leak caused by an inadequate seal was the source of the nano-silica dispersion in the inner air.

**Table 8.** Input data used for NanoSerpa v1.0-simulated scenarios.

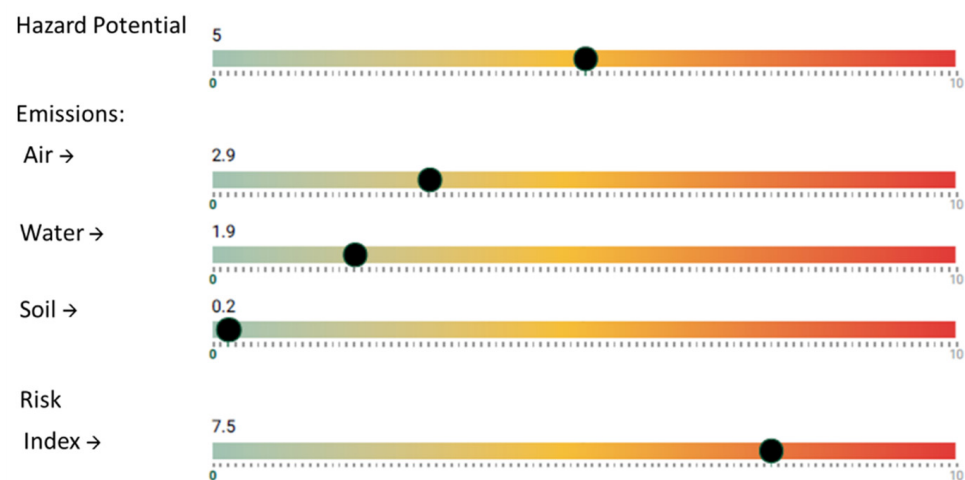
	SiO <sub>2</sub> Nanoparticle Leak from a Vacuum Cleaner	Release of TiO <sub>2</sub> from a Bag Filter System	Fall of Eight TiO <sub>2</sub> Bulk Bags on the Road	Leak of Black Carbon during Transportation
Group	SiO <sub>2</sub>	TiO <sub>2</sub>	TiO <sub>2</sub>	Black carbon
Nanomaterial	SiO <sub>2</sub>	TiO <sub>2</sub>	TiO <sub>2</sub>	Black carbon
Quantity	25 kg	1 kg	100 kg	5 tons
EHP	High	Medium	Low	Medium
State	Solid	Solid	Solid	Solid
Dustiness	High	Medium	Medium	Medium
Humidity	Low	Low	Low	Low
Viscosity	-	-	-	-
Solubility	-	-	-	-
Physical-Chemical Properties	Z-potential: −25.85 mV			
Toxicology	Specific surface: 200 m <sup>2</sup> /g			
Type of Information	Size: 16 nm	Size: 65 nm	Size: 65 nm	Size: 14 nm
Measurement	Specific surface: 300 m <sup>2</sup> /g			

The study concluded that there was a risk of the leakage of these particles during vacuuming. Although the size of the nano-silica particles that were emitted into the air (during the handling of the nano-silica by a worker) was mostly greater than 100 nm or several microns ( $\mu\text{m}$ ) due to the coagulation of the particles, those that filtered from the vacuum cleaner were similar in size to that of the primary particle (11.5 nm). Nanoparticles were generated also during the operation of the filter press and ultrasonic cleaning, but they were oil particles and water particles, respectively (Boowook et al. [12]).

Emissions simulated by the NanoSerpa v1.0 app to water and soil are 1.9 and 0.2, respectively. In this case, the results of the NanoSerpa v1.0 app show a higher risk to inhaled health (risk index 7.5 on a scale of 0–10; see Figure 7). Although there is clear exposure to escaped nanomaterials (air emission 2.9), this exposure is very brief and punctual. The authors conclude that high-concentration nanoparticles are emitted to the air while pouring and transferring nano-silica. Therefore, a respirator capable of capturing nanoparticles must be worn, and activities must be carried out within the HEPA-filtered hood. A regular check on the vacuum cleaner is necessary to prevent leakage of nanoparticles. Additionally, wet cleaning is safer in reducing exposure risk (Boowook et al. [10]).

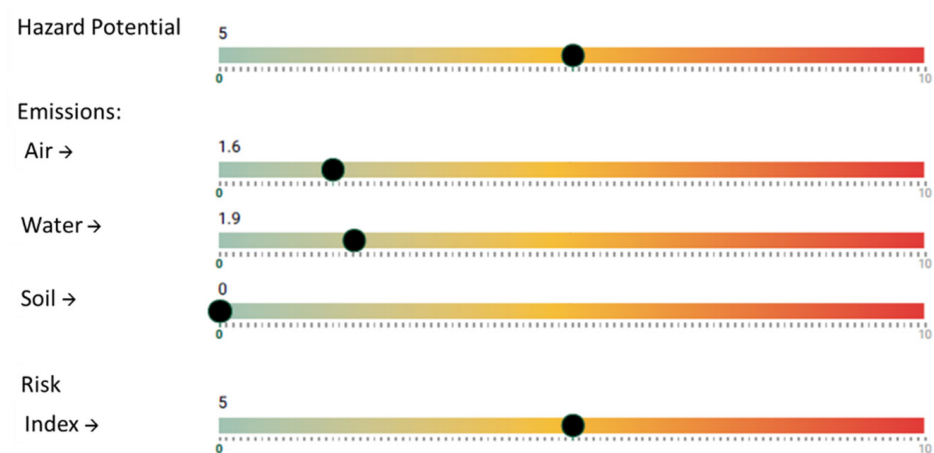
### 3.3.2. Release of TiO<sub>2</sub> Nanopowder from a Bag Filter System

The second real case considered was the release of TiO<sub>2</sub> nanopowder from a bag filter system (Ji et al. [13]). This study detected the presence of nanoaerosols in a laboratory used to manufacture titanium dioxide. TiO<sub>2</sub> nanopowder was produced by flame synthesis and collected using a bag filter system for subsequent harvesting. However, it was shown that the particle collection efficiency of the bag filter system was only 20% for a particle diameter of 100 nm, which is much lower than the performance of a high-efficiency particle air filter (HEPA). In addition, the laboratory hood system was inadequate to completely renew the discharged air from the bag filter system. The imbalance in airflow speeds between bag filter and laboratory hood systems could lead to high exposure to nanopowder in laboratory environments, putting the long-term integrity of workers at risk (Ji et al. [13]).



**Figure 7.** Excerpt from the report generated with the NanoSerpa v1.0 app for a SiO<sub>2</sub> nanoparticle leak from a vacuum cleaner. These results apply only to the exposure area where the events studied have occurred.

By entering this information in the NanoSerpa v1.0 app, a report like the one shown in Figure 8 is obtained. It shows some risk of air emissions (1.6 points), as filtration systems are trusted and they are not fulfilling their role properly. Despite the personal protection systems present (FFP3 filter mask, gloves, gowns and universal mounted goggles), engineering systems should be checked to improve on-site ventilation.



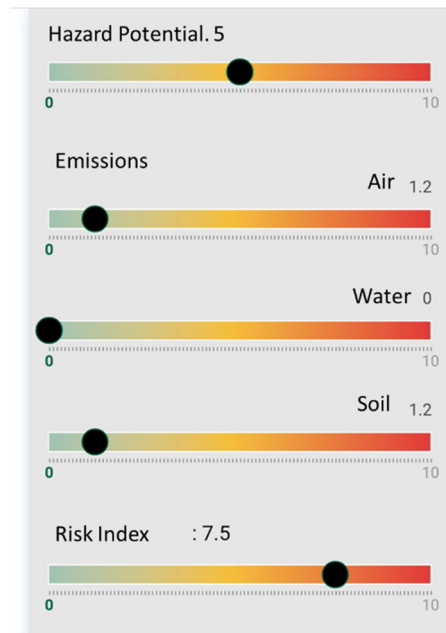
**Figure 8.** Excerpt from the report generated with the NanoSerpa v1.0 app for the release of TiO<sub>2</sub> nanopowder from a bag filter system. These results apply only to the exposure area where the events studied have occurred.

### 3.3.3. Leak of Black Carbon during Transportation

A leak from a pneumatic transport pipe (Blanzay, France in 2012) of about 5 tons of carbon black was studied. By entering the information retrieved from the AIRA website in the NanoSerpa v1.0 app, a report like the one shown in Figure 9 is obtained.

The report shows a medium to high health risk (5 points on a scale of 1–10) since a high quantity of black carbon was released to the environment. Emissions obtained for air and soil are of 1.2 and non-existent in the case of water. This latter consideration should be taken with caution since if there were any rivers or lakes in the proximity, they could have been affected by the release of these particles. However, there is not enough information about the event to make a more detailed assessment. A medium to high risk index (7.5 points) was estimated; this fact is consistent with the observations made during the event since housing and landscape were blanketed within a perimeter of several

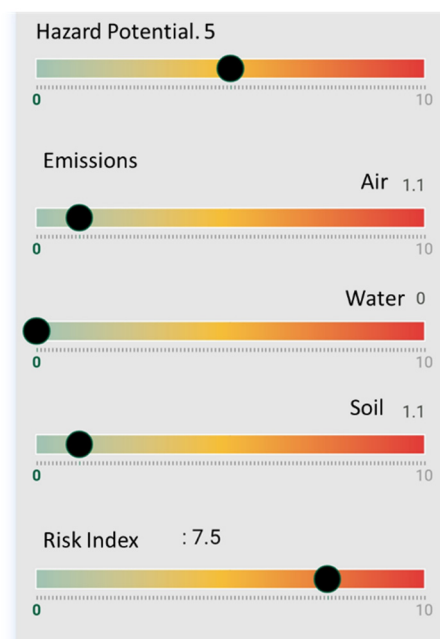
kilometers. Regarding the safety of the workers, it should be noted that although the release of black carbon was large, the event took place in an open space, so the exposure of workers in this case was not relevant.



**Figure 9.** Excerpt from the report generated with the NanoSerpa v1.0 app for a leak of black carbon from a pneumatic transport pipe.

### 3.3.4. Fall of Eight TiO<sub>2</sub> Bulk Bags on the Road

The fall of eight TiO<sub>2</sub> bulk bags (total approx. 100 kg) during its transportation on the road was simulated with the NanoSerpa app. The report obtained is shown in Figure 10.



**Figure 10.** Excerpt from the report generated with the NanoSerpa v1.0 app for a fall of eight TiO<sub>2</sub> bulk bags on the road. These results apply only to the exposure area where the events studied have occurred.

Assuming that some of the bags broke during the fall, an important release of particles should be expected; however, since the event took place in an open space, the levels of particles released into the air are suspected to be low (air emission 1.1 estimated by NanoSerpa app). However, the use of personal protection systems, FFP3 filter mask, gloves, gowns and universal mounted goggles should be considered for workers when collecting spillage and removing fallen bags. In this scenario, a medium health risk could be considered (5 points on the NanoSerpa scale). The soil emission estimated was 1.1. This fact is coherent with the real scenario, since during the event, a few dozen kilograms of material remained unrecovered.

As has been shown in this section, the NanoSerpa app has proven to be useful to the insurance sector. By introducing the few inputs needed (type of nanomaterial, quantity used, etc.), the user can easily obtain a risk index to evaluate the importance of the event in terms of work exposure. Besides, since this app can be installed in smartphones, a quick and easy evaluation of the event can be done, giving the insurance sector the opportunity to streamline procedures and create reports quickly and easily. Moreover, the associated risks for the emissions to the air, water and soil that the NanoSerpa app gives may also be useful as a point of departure to make an environmental impact report associated with the accident or event considered.

#### 4. Conclusions

The utility of the NanoSerpa app for nanomaterial risk assessments was tested by simulating different accidents for small- and big-scale scenarios. The risk evaluation obtained seems to be in good agreement with experimental data when they were available. Comparison of the evaluation obtained with the app for real scenarios reported in literature also seems to be consistent.

NanoSerpa v1.0 is an intuitive, user-friendly application that allows workers, technicians and every user to use it without specific training. Besides, inputs needed for this app are not difficult to find, and usually the required information is available in safety data sheets.

Moreover, NanoSerpa v1.0 presents a list of preventive actions that can be applied to minimize or even eliminate the risk of exposure of the worker during a particular accidental release of nanomaterials, and it has proven to be a useful tool for the realization of expert reports in the case of accidents related to nanomaterials. In addition, this application can be used to search and consult the properties of the most commonly used nanomaterials.

The exposure levels in terms of particle number concentrations and size distribution measured by means of direct reading instruments and samplers revealed the presence of particles in the nanometer range in the particle breathing zone during accidental events simulated in a pilot plant, indicating a release of ultrafine particles.

It was observed that the emission levels are directly influenced by the type of handling activity, and not only by the amount used. Hence, to better understand the activities leading to workers' exposure in the construction sector, an in-depth analysis of the energy involved in the process and the application mode is needed.

**Author Contributions:** Conceptualization, C.F.-L. and F.H.-L.; methodology, C.F.-L. and F.A.M.; validation, J.A.H.A., C.F.-L. and F.A.M.; investigation, J.A.H.A., C.F.-L. and F.A.M.; resources, C.F.-L. and F.A.M.; writing—original draft preparation, F.A.M. and C.F.-L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was carried out as part of the regional project NanoSerpa “Desarrollo de una aplicación software app para el peritaje de riesgos derivados de la fabricación de aplicación de nanomateriales en entorno industriales y materiales de edificación—IMINOD/2019/29,” funded by the Valencian Institute of Business Competitiveness (IVACE).

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** F.A.M., C.F.-L. and J.A.H.A. declare that they have no conflict of interest.

## Appendix A

**Table A1.** Most cited models to assess exposure and manage risk when dealing with nanomaterials and nano-enabled products.

AVAILABLE TOOLS	Criteria									
	Applicable for Workplace Safety	Applicable for Consumer Risk Assessment	Applicable for Environmental Risk Assessment	Comparison with Risk Control Cost	Quantitative Estimation/Information	Uncertainty Analysis	Life Cycle Perspective	Documented Applications	Assessment Tier	
Nanomaterials Control Banding Tool	+	–	–	–	–	–	–	–	Low	
NanoSafer	+	–	–	–	+	–	+	+	Low	
Advanced REACH Tool (ART)	+	–	–	–	+	–	–	+	High	
Precautionary Matrix for Synthetic Nanomaterials	+	+	+	–	–	±	±	–	Low	
Tool for ENM-Application Pair Risk Ranking (TEARR)	+	+	–	–	±	–	±	–	Low	
Dermal Advanced REACH Tool (DART)	+	+	–	–	+	–	–	–	Low/high	
SUN Tiered Occupational and Consumer Exposure Model	+	+	–	–	±	+	–	+	Low/high	
LICARA	+	+	+	+	±	–	+	–	Low	
SUN DSS	+	+	+	Performs socioeconomic analysis (SEA) to check if the benefits of using certain nanoproducts significantly outweigh their risks		+	+	+	+	Low/high
GUIDEnano DSS	+	+	+	–	+	+	+	–	Low/high	

## References

1. *Impact of Engineered Nanomaterials on Health: Considerations for Benefit Risk Assessment*; EASAC Policy Report, JRC Reference Report; Publications Office of the European Union: Luxembourg, 2011.
2. Jeevanandam, J.; Barhoum, A.; Chan, Y.S.; Dufresne, A.; Danquah, M.K. Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2018**, *9*, 1050–1074. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Baalousha, M.; Cornelis, G.; Kuhlbusch, T.; Lynch, I.; Nickel, C.; Peijnenburg, W.; Brink, N.V.D. Modeling nanomaterial fate and uptake in the environment: Current knowledge and future trends. *Environ. Sci. Nano* **2016**, *3*, 323–345. [[CrossRef](#)]
4. Gutleb, A.C.; Cambier, S.; Fernandes, T.; Georgantzopoulou, A.; Kuhlbusch, T.A.J.; Lynch, I.; Macken, A.; Mehennaoui, K.; Mowller, R.; Nickel, C.; et al. Chapter 4: Environmental Fate and Effects of Nanomaterials in Aquatic Freshwater Environments. In *Nanomaterials—A Guide to Fabrication and Applications*; Krishnamoorthy, S., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2015.
5. Keller, A.A.; McFerran, S.; Lazareva, A.; Suh, S. Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *J. Nanopart. Res.* **2013**, *15*, 1–17. [[CrossRef](#)]



6. Baron, M. *Safe Handling of Nano Materials and Other Advanced Materials at Workplaces*; Project Number: F 2268; Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin: Dortmund, Germany, 2015; p. 52.
7. John, A.; Küpper, M.; Manders-Groot, A.; Debray, B.; Lacombe, J.-M.; Kuhlbusch, T. Emissions and Possible Environmental Implication of Engineered Nanomaterials (ENMs) in the Atmosphere. *Atmosphere* **2017**, *8*, 84. [[CrossRef](#)]
8. Giese, B.; Klaessig, F.; Park, B.; Kaegi, R.; Steinfeldt, M.; Wigger, H.; Von Gleich, A.; Gottschalk, F. Risks, Release and Concentrations of Engineered Nanomaterial in the Environment. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1–18. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Le Reference du Retour d'Expérience sur Accidents Technologiques. Available online: <https://www.aria.developpement-durable.gouv.fr/> (accessed on 16 June 2020).
10. Boobook, K.; Hyunwook, K.; Il, J.Y. Assessment of Nanoparticle Exposure in Nansilica Handling Process: Including Characteristics of Nanoparticles Leaking from a Vacuum Cleaner. *Ind. Health* **2014**, *52*, 152–162.
11. Ji, J.H.; Kim, J.B.; Lee, G.; Noh, J.-H.; Yook, S.-J.; Cho, S.-H.; Bae, G.-N. Workplace Exposure to Titanium Dioxide Nanopowder Released from a Bag Filter System. *Biomed Res. Int.* **2015**, *2015*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. NIOSH 2011. *Occupational Exposure to Titanium Dioxide*; Publication No. 2011-160; DHHS (NIOSH) Publication: Cincinnati, OH, USA, 2011.
13. NIOSH 2013. *Occupational Exposure to Carbon Nanotubes and Nanofibers*; Publication No.2013-145; DHHS (NIOSH) Publication: Cincinnati, OH, USA, 2013.
14. Zalk, D.M.; Kamerzell, R.; Paik, S.; Kapp, J.; Harrington, D.; Swuste, P. Risk Level Based Management System: A Control Banding Model for Occupational Health and Safety Risk Management in a Highly Regulated Environment. *Ind. Health* **2010**, *48*, 18–28. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Stoffen Manager Nano. Available online: <http://nano.stoffenmanager.nl/> (accessed on 19 November 2020).
16. ISO/TS 12901-2:2014. Available online: <http://iso.org/> (accessed on 18 September 2020).
17. Hristozov, D.; Gottardo, S.; Semenzin, E.; Oomen, A.; Bos, P.; Peijnenburg, W.; van Tongeren, M.; Nowack, B.; Hunt, N.; Brunelli, A.; et al. Frameworks and tools for risk assessment of manufactured nanomaterials. *Environ. Int.* **2016**, *95*, 36–53. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. West, G.H.; Lippy, B.E.; Cooper, M.R.; Marsick, D.; Burrelli, L.G.; Griffin, K.N.; Segrave, A.M. Toward responsible development and effective risk management of nano-enabled products in the U.S. construction industry. *J. Nanopart. Res.* **2016**, *18*, 1–27. [[CrossRef](#)]
19. Pietroiusti, A.; Stockmann-Juvala, H.; Lucaroni, F.; Savolainen, K. Nanomaterial exposure, toxicity, and impact on human health. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* **2018**, *10*, e1513. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Höck, J.; Hofmann, H.; Krug, H.; Lorenz, C.; Limbach, L.; Nowack, B. *Guidelines on the Precautionary Matrix for Synthetic Nanomaterials*; Federal Office for Public Health and Federal Office for the Environment: Berne, Switzerland, 2008.
21. Höck, J.; Epprecht, T.; Furrer, E.; Hofmann, H.; Höhner, K.; Krug, H. *Guidelines on the Precautionary Matrix for Synthetic Nanomaterials*; Version 2.1.; Federal Office of Public Health and Federal Office for the Environment: Berne, Switzerland, 2011.
22. Hansen, S.F.; Alstrup-Jensen, K.; Baun, A. *NanoRiskCat—A Conceptual Model for Risk Classification of Nanomaterials*; Environmental Project No. 1372 2011; Danish Environmental Protection Agency: Copenhagen, Denmark, 2011.
23. Hansen, S.F.; Jensen, K.A.; Baun, A. NanoRiskCat: A conceptual tool for categorization and communication of exposure potentials and hazards of nanomaterials in consumer products. *J. Nanopart. Res.* **2013**, *16*, 2195. [[CrossRef](#)]
24. Paik, S.Y.; Zalk, D.M.; Swuste, P. Application of a Pilot Control Banding Tool for Risk Level Assessment and Control of Nanoparticle Exposures. *Ann. Occup. Hyg.* **2008**, *52*, 419–428. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Kristensen, H.V.; Hansen, S.V.; Holm, G.R. *Nanopartikler i Arbejdsmiljøet—Viden og Inspiration om Håndtering af Nanomaterialer*; Teknologisk Institut, Center for Arbejdsliv: Copenhagen, Denmark, 2010; ISBN 978-87-92141-28-6.
26. Widler, T.; Meili, C.; Semenzin, E.; Subramanian, V.; Zabeo, A.; Hristozov, D.; Marcomini, A. Organisational Risk Management of Nanomaterials Using SUNDS: The Contribution of CENARIOS®. Innovation, Technology, and Knowledge Management. In *Managing Risk in Nanotechnology*; Murphy, F., McAlea, E.M., Mullins, M., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2016; pp. 219–235.
27. Som, C.; Zondervan-van den Beuken, E.; Van Harmelen, T.; Güttinger, J.; Bodmer, M.; Brouwer, D.; Buist, H.E.; Carroll, R.; Coll, C.; Fransman, W.; et al. *LICARA Guidelines for the Sustainable Competitiveness of Nanoproducts*; Dübendorf: St. Gallen, Switzerland, 2014.
28. IRGC. Risk Governance: Towards an Integrative Approach. 2005. Available online: [http://www.irgc.org/publications/coreconcepts-of-risk-governance/IRGC\(2007\)Nanotechnologyrisk](http://www.irgc.org/publications/coreconcepts-of-risk-governance/IRGC(2007)Nanotechnologyrisk) (accessed on 16 September 2020).
29. eNanoMapper Database. Available online: <https://data.enanomapper.net> (accessed on 24 October 2020).
30. Nanodesk Tools: The Platform. Available online: <http://sdoenanodesk.net/elearning> (accessed on 17 September 2020).
31. Nowack, B. Evaluation of environmental exposure models for engineered nanomaterials in a regulatory context. *NanoImpact* **2017**, *8*, 38–47, ISSN 2452-0748. [[CrossRef](#)]
32. Monteiro, J.V.D.; Banerjee, S.; Ramachandran, G. B2Z: An R Package for Bayesian Two-Zone Models. *J. Stat. Softw.* **2011**, *43*, 1–23. [[CrossRef](#)]
33. Nicas, M. *Mathematical Models for Estimating Occupational Exposure to Chemicals, Chapter Two-Zone Model*; AIHA Press: Fairfax, VA, USA, 2000; pp. 51–56.
34. Python. Available online: <https://www.python.org/> (accessed on 29 November 2020).

35. Schneider, T.; Brouwer, D.H.; Koponen, I.K.; Jensen, K.A.; Fransman, W.; Van Duuren-Stuurman, B.; Van Tongeren, M.; Tielemans, E. Conceptual model for assessment of inhalation exposure to manufactured nanoparticles. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* **2011**, *21*, 450–463. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Tsang, M.P.; Li, D.; Garner, K.L.; Keller, A.A.; Suh, S.; Sonnemann, G.W. Modeling human health characterization factors for indoor nanomaterial emissions in life cycle assessment: A case-study of titanium dioxide. *Environ. Sci. Nano* **2017**, *4*, 1705–1721. [[CrossRef](#)]
37. Ganser, G.H.; Hewett, P. Models for nearly every occasion: Part II—Two box models. *J. Occup. Environ. Hyg.* **2016**, *14*, 58–71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Gottschalk, F.; Scholz, R.W.; Nowack, B. Probabilistic material flow modeling for assessing the environmental exposure to compounds: Methodology and an application to engineered nano-TiO<sub>2</sub> particles. *Environ. Model. Softw.* **2010**, *25*, 320–332. [[CrossRef](#)]
39. Spinazzè, A.; Cattaneo, A.; Borghi, F.; Del Buono, L.; Campagnolo, D.; Rovelli, S.; Cavallo, D.M. Probabilistic approach for the risk assessment of nanomaterials: A case study for graphene nanoplatelets. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2019**, *222*, 76–83. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Air Quality Index (AQI) Basics. Available online: <https://www.airnow.gov/aqi/aqi-basics/> (accessed on 24 September 2020).
41. Simple European Calculator of DNEL Tool (SECO). *Characterisation of Dose [Concentration]-Response for Human Health R.8*; ECHA: Bern, Switzerland, 2012.
42. ACGIH. *TLVs® and BEIs® Based on the Documentation of the Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices*; American Conference of Governmental Industrial Hygienists: Cincinnati, OH, USA, 2009.

# 10 PUBLICACION ARTÍCULO (3)






nanomaterials



Article

## Nanosafety Analysis of Graphene-Based Polyester Resin Composites on a Life Cycle Perspective

 Francisco Aznar Mollá <sup>1</sup>, Jose Antonio Heredia Alvaro <sup>2</sup>, Oscar Andreu Sánchez <sup>3,\*</sup> , Carlos Fito-López <sup>4,\*</sup>  and Inmaculada Colmenar González <sup>4</sup> 

- <sup>1</sup> Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular Chemistry, University of Jaume I Castellón, 12071 Castellón de la Plana, Spain; al363139@uji.es
  - <sup>2</sup> Industry Chair Director 4.0., University of Jaume I Castellón, 12071 Castellón de la Plana, Spain; heredia@uji.es
  - <sup>3</sup> Laboratory of Ecotoxicology and Environmental Quality, Department of Cellular Biology, Functional Biology and Physical Anthropology, Faculty of Biological Sciences, University of Valencia, Dr. Moliner 50, 46100 Valencia, Spain
  - <sup>4</sup> ITENE, Technological Institute of Packaging, Transport and Logistics, 46001 Valencia, Spain; inmacolmenar@yahoo.es
- \* Correspondence: oscar.andreu@uv.es (O.A.S.); carlos.fito@itene.com (C.F.-L.); Tel.: +34-647521544 (C.F.-L.)

**Abstract:** The use, production, and disposal of engineering nanomaterials (ENMs), including graphene-related materials (GRMs), raise concerns and questions about possible adverse effects on human health and the environment, considering the lack of harmonized toxicological data on ENMs and the ability of these materials to be released into the air, soil, or water during common industrial processes and/or accidental events. Within this context, the potential release of graphene particles, their agglomerates, and aggregates (NOAA) as a result of sanding of a battery of graphene-based polyester resin composite samples intended to be used in a building was examined. The analyzed samples were exposed to different weathering conditions to evaluate the influence of the weathering process on the morphology and size distribution of the particles released. Sanding studies were conducted in a tailored designed sanding bench connected to time and size resolving measurement devices. Particle size distributions and particle number concentration were assessed using an optical particle counter (OPC) and a condensation particle counter (CPC), respectively, during the sanding operation. A scanning electron microscope/energy dispersive X-ray (SEM/EDX) analysis was performed to adequately characterize the morphology, size, and chemical composition of the released particles. A toxicity screening study of pristine and graphene-based nanocomposites released using the aquatic macroinvertebrate *Daphnia magna* and relevant human cell lines was conducted to support risk assessment and decision making. The results show a significant release of nanoscale materials during machining operations, including differences attributed to the % of graphene and weathering conditions. The cell line tests demonstrated a higher effect in the human colon carcinoma cell line Caco2 than in the human fibroblasts (A549 cell line), which means that composites released to the environment could have an impact on human health and biota.

**Keywords:** nanotechnology; nanomaterial; nanoparticle; ecotoxicity; risk assessment; graphene



**Citation:** Aznar Mollá, F.; Heredia Alvaro, J.A.; Sánchez, O.A.; Fito-López, C.; Colmenar González, I. Nanosafety Analysis of Graphene-Based Polyester Resin Composites on a Life Cycle Perspective. *Nanomaterials* **2022**, *12*, 2036. <https://doi.org/10.3390/nano12122036>

Academic Editor: Alberto Bianco

Received: 30 April 2022

Accepted: 2 June 2022

Published: 14 June 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).




### 1. Introduction

Expectations in the use of engineered nanomaterials (ENMs) have exponentially grown over the last decade. Their unique physicochemical properties enable the development of new products with extraordinary properties, which include size, shape, or surface area, and which can lead to adverse health effects [1].

Graphene and its derivatives are currently being explored for a multitude of applications in electronics, photocatalysis, sensors, medicine, plastics, or construction [2–4]. In addition, new applications of graphene and its derivatives such as biomedical applications, or its

## Article

# Nanosafety Analysis of Graphene-Based Polyester Resin Composites on a Life Cycle Perspective

Francisco Aznar Mollá<sup>1</sup>, Jose Antonio Heredia Alvaro<sup>2</sup>, Oscar Andreu Sánchez<sup>3,\*</sup> , Carlos Fito-López<sup>4,\*</sup>   
and Inmaculada Colmenar González<sup>4</sup> 

<sup>1</sup> Research Line Sustainable Chemistry and Supramolecular Chemistry, University of Jaume I Castellón, 12071 Castellón de la Plana, Spain; al363139@uji.es

<sup>2</sup> Industry Chair Director 4.0., University of Jaume I Castellón, 12071 Castellón de la Plana, Spain; heredia@uji.es

<sup>3</sup> Laboratory of Ecotoxicology and Environmental Quality, Department of Cellular Biology, Functional Biology and Physical Anthropology, Faculty of Biological Sciences, University of Valencia, Dr. Moliner 50, 46100 Valencia, Spain

<sup>4</sup> ITENE, Technological Institute of Packaging, Transport and Logistics, 46001 Valencia, Spain; inmacolmenar@yahoo.es

\* Correspondence: oscar.andreu@uv.es (O.A.S.); carlos.fito@itene.com (C.F.-L.); Tel.: +34-647521544 (C.F.-L.)

**Abstract:** The use, production, and disposal of engineering nanomaterials (ENMs), including graphene-related materials (GRMs), raise concerns and questions about possible adverse effects on human health and the environment, considering the lack of harmonized toxicological data on ENMs and the ability of these materials to be released into the air, soil, or water during common industrial processes and/or accidental events. Within this context, the potential release of graphene particles, their agglomerates, and aggregates (NOAA) as a result of sanding of a battery of graphene-based polyester resin composite samples intended to be used in a building was examined. The analyzed samples were exposed to different weathering conditions to evaluate the influence of the weathering process on the morphology and size distribution of the particles released. Sanding studies were conducted in a tailored designed sanding bench connected to time and size resolving measurement devices. Particle size distributions and particle number concentration were assessed using an optical particle counter (OPC) and a condensation particle counter (CPC), respectively, during the sanding operation. A scanning electron microscope/energy dispersive X-ray (SEM/EDX) analysis was performed to adequately characterize the morphology, size, and chemical composition of the released particles. A toxicity screening study of pristine and graphene-based nanocomposites released using the aquatic macroinvertebrate *Daphnia magna* and relevant human cell lines was conducted to support risk assessment and decision making. The results show a significant release of nanoscale materials during machining operations, including differences attributed to the % of graphene and weathering conditions. The cell line tests demonstrated a higher effect in the human colon carcinoma cell line Caco2 than in the human fibroblasts (A549 cell line), which means that composites released to the environment could have an impact on human health and biota.

**Keywords:** nanotechnology; nanomaterial; nanoparticle; ecotoxicity; risk assessment; graphene



**Citation:** Aznar Mollá, F.; Heredia Alvaro, J.A.; Sánchez, O.A.; Fito-López, C.; Colmenar González, I. Nanosafety Analysis of Graphene-Based Polyester Resin Composites on a Life Cycle Perspective. *Nanomaterials* **2022**, *12*, 2036. <https://doi.org/10.3390/nano12122036>

Academic Editor: Alberto Bianco

Received: 30 April 2022

Accepted: 2 June 2022

Published: 14 June 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Expectations in the use of engineered nanomaterials (ENMs) have exponentially grown over the last decade. Their unique physicochemical properties enable the development of new products with extraordinary properties, which include size, shape, or surface area, and which can lead to adverse health effects [1].

Graphene and its derivatives are currently being explored for a multitude of applications in electronics, photocatalysis, sensors, medicine, plastics, or construction [2–4]. In addition, new applications of graphene and its derivatives such as biomedical applications, or its

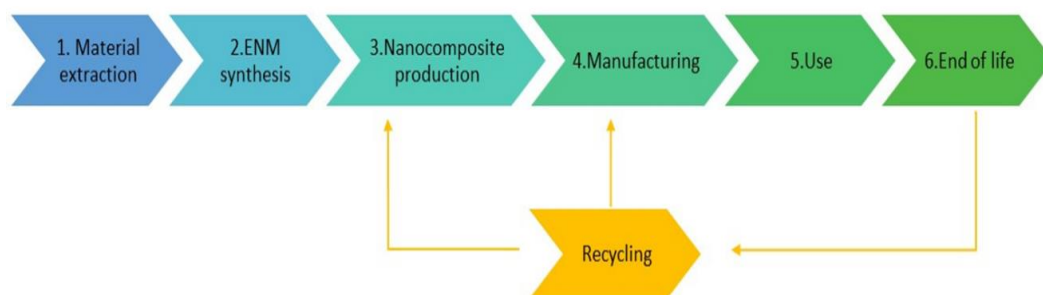
use in a wearable respiration sensor among others, have been recently published [5,6]. Considering the large commercial interest in graphene products and their fast expansion, safe and sustainable development of graphene-related materials (GRMs) in technologies and products requires close attention due to the potential impact of these materials on human health and the environment [3].

The release of graphene particles during the manufacture, use, and end-of-life may reach the environment, including the atmosphere, and aquatic or terrestrial compartments, where the variety of target species and physical chemical factors creates a complex challenge. In fact, some studies have shown evidence of the potential effects of graphene-related materials on aquatic and terrestrial organisms [7,8]. In general, there are still large knowledge gaps with respect to graphene's environmental and toxicological effects [9,10]; the (eco)toxicological information that can be extracted from the few developed studies is not adequate to be applicable to real case scenarios in which consumers use graphene-related polymer composites as components of final products.

In this sense, the evaluation of their potential release has gained importance in recent years, motivating the need to better understand the potential hazards posed by the production and use of polymer-based nanocomposites. A list of activities associated with a high potential for releasing particles has been identified in the literature including diffusion, desorption, or matrix degradation. The latter is related to processes such as mechanical abrasion, thermal degradation, hydrolysis, and UV exposure [11]. The release of particles associated with these activities might be particles of a matrix alone, free-standing particles, partially protruding or fully embedded particles in the polymer matrix, or in limited cases, in the form of dissolved ionic compounds. Since the form and nature of the particles released may lead to different human/environmental effects, several studies have focused on identifying the nature and extent of nanoparticles and nanoparticle-containing fragments released from nano-enabled products because of weathering [12,13]. Evaluations conducted to date do not indicate a high propensity for discreet nanomaterial release, but rather composite particles of a matrix with partially or fully embedded nanomaterial [14]. The few available studies have reported a release of particles with an aerodynamic diameter smaller than 10  $\mu\text{m}$ , which can penetrate to the alveolar region of the lung [15]. Particles with a size of  $\sim 200$  nm have also been identified in sanding operations [16].

As mentioned above, the evaluation of the activities with a potential release of nanomaterials is important in order to establish control and safety measures to prevent exposure to nanomaterial particles of workers, consumers, and any person who may be in contact with these materials during their life cycle. Generally, the steps in the life cycle of nano-enabled products are divided as follows: (1) material extraction, (2) synthesis of the ENM, (3) nanocomposite production, (4) product manufacturing, (5) use, (6) end of life, and (7) recycling [17].

These steps are presented in the scheme shown on Figure 1. As mentioned above, some data are available on graphene exposures [4,18–20]. These studies have mainly focused on the synthesis stage in pilot plants [20,21], leading to a lack of information on exposure to particulate matter throughout its life cycle.



**Figure 1.** Life-cycle steps of nano-enabled products.

The aim of this study is to present a set of measurements for the release of particles in Stages 5 and 6 of the life cycle. For this purpose, two different scenarios were studied: (1) abrasion and weathering of a pioneering graphene-based polyester resin and (2) use of painting spray containing graphene material.

Moreover, the characterization of aerosol particles released after mechanical abrasion on graphene-reinforced epoxy composites under different UV weathering conditions was also conducted.

Once composites are produced and marketed, they are exposed to several machining processes such as cutting, drilling, and sanding. Nanomaterial release from nanocomposites during these types of processes has received special attention in the literature when it takes place at the manufacturing stage, since it they are a potential source of particle release. In addition, high volumes of nanocomposites are handled in these processes [16,17]. However, there is a lack of information regarding the release of particles during machining processes in the use of the final product (Step 5, Figure 1).

Additionally, one of the current challenges in the paint and coating industry is to apply nanotechnology to achieve environmentally friendly and durable coatings.

One of the most promising anti-corrosion technologies is the addition of graphene nanoplatelets (GNPs) into paints and coatings. This modification potentially reduces the usage and application time for paint and the effort required to extend the life of capital assets such as bridges or automotive vehicles. In this sense, applied graphene materials (AGM) and related materials should to be considered in the occupational and environmental impact of using paints, coatings, and propellant cans containing graphene [22].

As mentioned above, the evaluation of activities with potential release of nanomaterials is important in order to establish control and safety measures to prevent exposure from nanomaterial particles of workers, consumers, and any person who may be in contact with these material during their life cycle. The aim of this study is to present our first safety assessment of a pioneering graphene-based polyester resin with usages on a wide range of applications, highlighting the building sector. Specifically, the assessment focuses on: (1) the characterization of aerosol particles released after mechanical abrasion on graphene-reinforced epoxy composites, as well as the analysis of the exposure potential during the application of graphene based coatings; (2) the quantification of the amounts of protruding and free-standing graphene platelets in the abraded particles, and (3) the assessment of the potential effects of the pristine and abraded graphene particles released on the aquatic micro invertebrate *Daphnia magna* and human cell lines. *Daphnia magna* was selected due to its importance as a model organism in various biological disciplines, from aquatic ecology to biomedical sciences. The cell lines A549 and Caco-2 were selected due to the relevance for improving current knowledge on the cellular response to foreign particles deposited in the lungs or in the gastrointestinal tract due to an accidental uptake by biota, which signify acute inhalation and oral uptake toxicity in vitro.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Materials

Graphene powder and related polyester resin were provided by Graphenglass ([www.graphenglass.com](http://www.graphenglass.com), accessed on 15 April 2022). The material consisted of graphene particles of 10–55  $\mu\text{m}$  size formed by 2–6 graphene sheets with a BET surface  $> 250 \text{ m}^2/\text{g}$ . The properties of graphene are listed in Table 1.

**Table 1.** Properties of the graphene incorporated into the polymeric matrix.

Property	Description/Value
Flake thickness (nm)	0.8–2 (2–6 monolayers)
Particle size ( $\mu\text{m}$ )	10–55
Brunauer–Emmett–Teller (BET) surface area ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	$>250$
Purity	$>98\%$
Specific gravity (20 °C)	1.18

The BET surface area was determined by nitrogen physisorption at 196 °C (model AS1, Quantachrome, Boynton Beach, FL, USA). The sample in the form of dried powder was first degassed for 24 h at 200 °C.

## 2.2. Synthesis of the Graphene-Polyester Composite

The manufacturing process of the nanocomposite followed four phases: silanization of graphene oxide, resin dispersion, curation, and post-curation.

The silanization of the graphene oxide was done in a water solution via magnetic agitation and sonic treatment. In this case, 1 g of MPS (methacryl oxypropyl-trimethoxysilane) was dispersed dropwise in 125 mL of distilled water and 1–3 drops of CIH were added. The aqueous solution was agitated for 15 min at a controlled temperature. Next, 125 g of graphene oxide was added progressively, while maintaining the magnetic agitation for 30 min. The solution of graphene was agitated in a magnetic mixing device. Optimization and control of silane addition, processing times, sonic power, and exact temperature control are essential in the silanization process. In this case, the combination was realized through a 10 h process of sonication (with 20 kHz frequency), maintaining the mixture in vibration, and following alternate 20 min cycles of operation and shutdown at 65 °C. The resulting functionalized graphene oxide was dried at 110 °C for 4 h to remove water, solvents, and reaction by-products.

The dispersion of the resin was performed with the addition of initiators and catalyzers. Following the curing cycle, a post curing cycle was needed to consolidate the resulting vitrification in the resin increasing the temperature after gelation. To prepare the composite at different wt%, polyester resin was dispersed into functionalized graphene oxide to obtain samples with the different percentages of the silanized graphene relative to the polymeric resin. The resin was dispersed progressively for 20 min under magnetic vibration. To initiate the polymerization reactions, methyl ethyl ketone and 1–8 wt% of cobalt octoate 6% was added (depending on the graphene proportion), and stirred for 2 min at 40 °C. The combination was sonicated for 30 min (with 20 kHz frequency) maintaining the mixture in vibration, followed by alternate 2 min cycles of operation and shutdown, maintaining a controlled temperature.

After curing for 24 h at 20 °C, the composite was post cured for 4 h at 60 °C in order to increase the polymer vitrification and to obtain the resulting nanocomposite.

Table 2 depicts the list of graphene-polyester composite samples produced and analyzed under the scope of the present study.

**Table 2.** List of graphene-polyester composite samples.







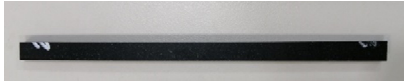







Sample ID	Description	Picture (Nanocomposite Pieces)
M1 (B0) &0	Graphene%: 0 Weathering (h): 500	
M6 (B0) &0	Graphene%: 0 Weathering (h): 1000	
M11 (4) &0	Graphene%: 0 Weathering (h): 0	
M5 (1) JH91	Graphene%: 1 Weathering (h): 500	
M10 (1) JH91	Graphene%: 1 Weathering (h): 1000	

Table 2. Cont.

Sample ID	Description	Picture (Nanocomposite Pieces)
M14 (1) JH91	Graphene%: 1 Weathering (h): 0	
M4 (2) JH92	Graphene%: 3 Weathering (h): 500	
M9 (2) JH91	Graphene%: 3 Weathering (h): 1000	
M13 (2) JH91	Graphene%: 3 Weathering (h): 0	
M3 (3) JH93	Graphene%: 10 Weathering (h): 500	
M8 (3) JH91	Graphene%: 10 Weathering (h): 1000	
M12 (3) JH91	Graphene%: 10 Weathering (h): 0	
M2 (4) JH94	Graphene%: 50 Weathering (h): 500	
M7 (4) JH94	Graphene%: 50 Weathering (h): 1000	

### 2.3. Physicochemical Characterization of Graphene-Based Resins

The rheological properties of the polyester resin and the resulting composite were determined with a rheometer (TA instruments, AR2000, Barcelona, Spain) operated in cone and plate arrangements (stainless steel cone, with a 40 mm diameter and a 4° cone angle) at 25 °C.

Morphology and thickness of the composite pieces were determined by cross-section and surface SEM using a Hitachi 4800 microscope Toledo, OH, USA. The FTIR spectra were evaluated on a Perkin Elmer 781 spectrophotometer, Madrid, Spain, on the powder samples between 400 and 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Typical properties of the resin were as follow: specific gravity measured at 25 °C of 1.10, viscosity at 25 °C (Rhéomat 37.35  $\text{s}^{-1}$ ) from 2.0 to 2.5 dPas, acid value from 19 to 23 mg KOH/g, and volatile content from 41 to 45. Table 3 depicts the main physicochemical properties of the cured graphene-based resins.

Table 3. Properties cured graphene-based resins.

Property	Value (Cured Composite)
Young's modulus	3800 MPa
Fracture strain	2%
Tensile strength	60 Pa
Hardness (GYZJ 934-1)	40
Volatile content	41–45%
Water absorption (24 h/23 °C)	15
Heat deflection temperature	70 °C
Specific gravity (20 °C)	1.18 2 C
Acid value	19–23 mg KOH/g



#### 2.4. Weathering Process

For the weathering process, a UV chamber was used to simulate the environmental degradation conditions. The test was carried out in an accelerated weathering instrument purchased from the Heraeus Company (Model Suntest CPS+, Hanau, Germany). A two-phase approach was conducted, including a first phase to replicate dry atmospheric conditions at 50 °C, followed by an immersion process, where the temperature of the black body was automatically assigned as a function of the irradiance, to simulate wet atmospheric conditions. The testing program applied included alternative cycles of wet and dry conditions of 500 h for 20 days. The same process was repeated to reach a total weathering time of 1000 h. Table 4 summarizes the weathering process conditions.

**Table 4.** Weathering process conditions in Test 1 and Test 2. Minimum (Min), Average (Av) and Maximum (Max) values are listed.

Test	Hours	Temperature (°C) (Min/Av/Max)	HR (%) (Min/Av/Max)
1	481 h	24.6/62.62/82.9	5.5/10.21/43.4
2	537 h	18.5/58.23/84.9	7.0/18.81/72.3
Total	1018 h		

#### 2.5. Abrasion Process and Particle Collection

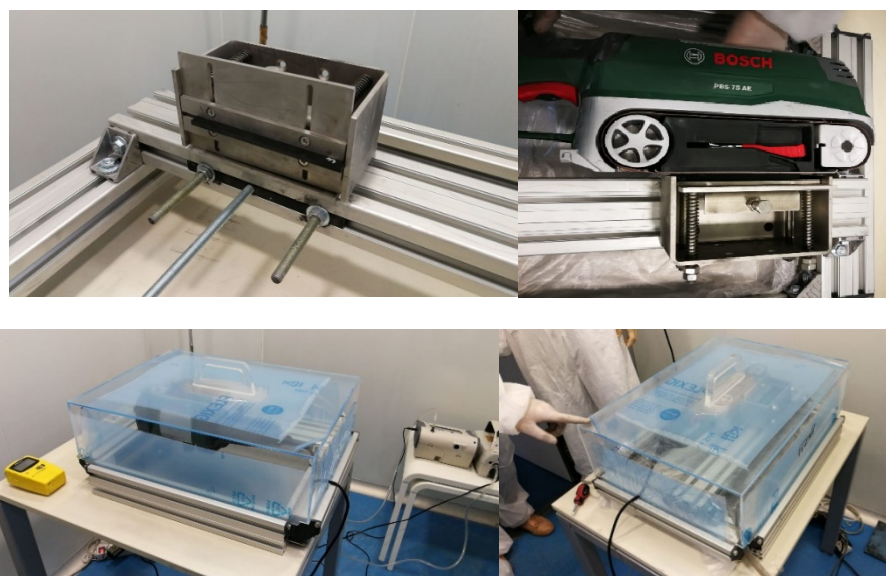
In this study, a sanding bench including and a mechanical sander and tailored designed clamping system to guarantee a homogeneous sanding process to promote reproducibility was applied. Temperature (range 20–25 °C) and humidity (range 40–50% relative humidity) were monitored. A Bosch sander (Model Bosch PBS 75 AE, Madrid, Spain) equipped with a sanding belt was used to simulate the sanding process on the surface of the graphene-based composites. A medium (G/K 120) grit-sized sanding paper from the brand Piranha (Black & Decker, Madrid Spain) was applied to the sanding machine.

The graphene-based composite pieces were sanded at the low-speed position of the sander for 20 s. The released particles from the abrasion/sanding area were collected in a stainless aluminum tray, which had been placed under the sanding belt. Released particles were analyzed using a multimetric measurement approach. Two instruments were used, including an optical particle sizer (OPS) (Model 3330, TSI, Shoreview, MN, USA) and a condensation particle counter (CPC) (Model 3077, TSI, Shoreview, MN, USA). In parallel, the particles were collected on polycarbonate filters with a pore size of 0.2 µm mounted on 37 mm open-faced cassettes. Figure 2 shows photographs of the sanding bench.

The morphology of the pristine and the released particles from the composites was characterized using a HITACHI S-1800 Toledo, OH, USA scanning electron microscope (SEM) equipped with EDX Toledo, OH, USA to analyze the elemental composition of the materials released.

The background concentration, generated by the running abrasion module without sample contact but with the sanding machine operating (Figure 1), was investigated before the studies to characterize the level and nature of the background particle concentrations.

The inlets of the devices were located at a height of  $10 \pm 0.2$  cm and ~0.5 m from the source of the particles (sanding belt) using flexible Tygon® (Tecnyfluor, Barcelona, Spain) tubes attached to the inlets of the instruments. The main specifications of the suite of instruments used are listed in Table 5. The background concentration in the room was measured without sanding and with the sander turned off.



**Figure 2.** Sanding bench for abrasion and particle collection.

**Table 5.** Instrumentation used in the measurement campaign.

Sample ID	Function	Specifications
Condensation particle Counter Model 3007 (CPC) (TSI)	Quantify the particle number concentration	Size range, 0.01 to > 1.0 $\mu\text{m}$
Optical particle sizer (OPS) Model 3330 (TSI)	Classifies in concentration of number and particle size	Concentrations up to $10^5$ particles/ $\text{cm}^3$
Apex air sampling Pump (Casella pump)	Obtain samples in filtering media to elucidate chemical nature by SEM	Size range, 0.3–10 $\mu\text{m}$ in up to 16 channels

### 2.6. Spray of Paints Containing Graphene Nanoparticles (GNP)

Five cans of paint (~2700 g each) of different viscosities (high, medium, and low), which were free of or containing GNPs types of paints, were tested. The paints were mixed before spraying with a curing agent.

Each paint sample was mixed with the curing agent within its own can and mixed with a pint mixer connected to a drill. After few minutes of mixing, the can was feed immediately to an airless spray machine (Standard Hi-Boy Series—Graco, Minneapolis, MN, USA) at constant pressure (3000 psi) with 3 different tip sizes (415, 421, and 427) depending on the viscosity of the paint (see Table 6) and sprayed at around 50 cm from a surface placed at the end of the exposure chamber.

**Table 6.** Spraying characteristics for each paint.

	Low Visc Free	Low Visc GNP	Mid Visc GNP	High Visc GNP	High Visc Free
Pressure (psi)	3000	3000	3000	3000	3000
Tip size	415	415	421	427	427

Sampling filters, 37 mm in size and made of PVC and PTFE, were used to deposit particles collected in the air and to characterize chemical composition, aggregation state, and shape by microscopy techniques (SEM/EDX).

Between tests, up to 7 liters of cleaning solvents with toluene, methyl acetate, and xylene was flushed through the spray gun to clean the conduits. The fact that the last paint did not contain graphene and was sprayed after paints with graphene served to test if graphene particles from previous processes could still be found after cleaning and spraying.

The background was also tested before the spray process to compare with the particles present in the ambient before the tests.

### 2.7. Ecotoxicity

For the ecotoxicity studies, the Daphtoxkit F<sup>TM</sup> bioassay (Microbiotest, Ghent, Belgium) was used to estimate the effect of pristine and abraded graphene particles on the crustacean *D. magna*. Daphnia are planktonic crustaceans, characteristic of fresh water, with a size range between 0.5 and 3 mm. The acute toxicity tests were performed according to the Toxkit<sup>®</sup> protocol. The Daphtoxkit<sup>TM</sup> F test was performed in accordance with test procedures of the OECD Guideline 202 (OECD, 2004) and ISO 6341 (UNE—EN ISO 6341, 2012).

The test was performed on neonates born from Epiphyas (resistance eggs) of Daphnia 72–80 h at a controlled temperature of 20–22 °C and light (6000 lux) in the OECD 202 medium previously aerated. The neonates placed in the trial, therefore, did not exceed 24 h of life. The Daphnia were fed spirulina during the two hours prior to the assay. The assay was carried out in conditions of darkness and at a temperature of 23 °C.

To calculate the median lethal concentration (LC50), 24- and 48-hour EC50 values, as well as their associated 95% confidence intervals (95% CI) were calculated using the EPA-probit v1.5 program (USEPA).

A standard reference toxicity test with K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> was run in parallel to each test series to verify the sensitivity of the *D. magna*.

### 2.8. Toxicity Studies

**(a) Respiratory impact** Several assays were applied to the in vitro lung models to measure the levels of cytotoxicity (cell death, or a reduction in cell viability), oxidative stress, and inflammation.

The A549 cell line was selected as a representative cell of the alveolar epithelium of the gas-exchange region of the lung. The A549 epithelial cells were grown in continuous culture in DMEM medium containing 10% FCS (Life Technologies, Alcobedas, Madrid, Spain), non-essential amino acids (diluted from 100× stock solution, Sigma, St. Louis, MO, USA), sodium pyruvate (1 mM, Life Technologies, Alcobedas, Madrid, Spain), L-glutamine (diluted from 100× stock solution, Life Technologies, Alcobedas, Madrid, Spain), penicillin (100 U, Sigma, St. Louis, MO, USA), and streptomycin (100 µg/mL, Sigma, St. Louis, MO, USA). This was designated complete medium. Cells were removed from culture by trypsinization and plated into 96-well plates at  $2 \times 10^5$  cells/mL (100 µL/well). The plates were incubated for 24 h at 37 °C, the wells were washed with medium, and treatments were added to each well in a final volume of 100 µL in complete medium.

**(b) Oral Route—ingestion** As in the previous case, several assays were applied to the in vitro Caco-2 cell model to measure the levels of cytotoxicity (cell death, or a reduction in cell viability), oxidative stress, and inflammation that occurred in response to exposure to pristine and abraded materials.

Caco-2 cell lines were cultivated for 10 days and then seeded at densities of 105 to 106 cells per ml (0.1 mL per well) in a 96-well plate by trypsinizing and centrifuging at  $8.4 \times g$  for 5 min. After a 24-h exposure, cell viability was measured using the conventional 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT; ATCC) reduction assay.

In both, fibroblasts and Caco-2, the ability of each material to generate reactive oxygen species (ROS) was determined using the DCFH-DA assay. Dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) is able to cross cell membranes and enter cells where it is cleaved to form DCFH. The presence of ROS causes oxidation of DCFH into DCF which is fluorescent

and can be evaluated to indicate a change in oxidative stress. ROS values are expressed as the percentage of fluorescence intensity relative to the control wells.

Figure 3 shows a micrograph of the cell lines used, taken using an inverted microscope.

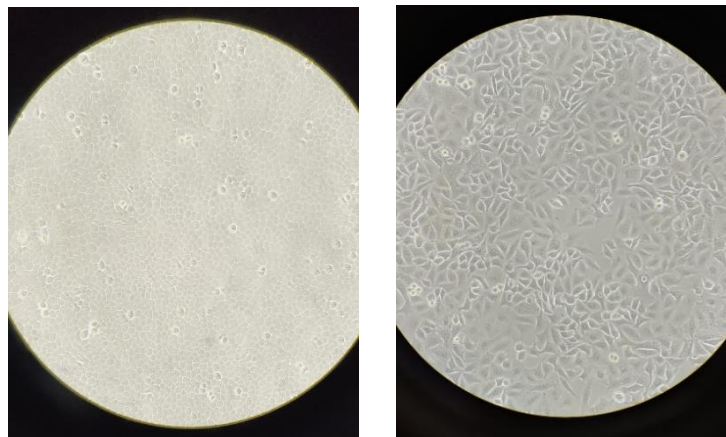


Figure 3. (Right) A549 cell line micrograph; (Left) Caco-2 cell line.

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Abrasion Test

Figure 4 shows the variations in the particle number concentration for the 14 samples processed during the operation. The minimum concentration reflects the background levels of particles before starting the sanding operation, reaching values below  $6 \times 10^3$  particles  $\text{cm}^{-3}$ , which can be derived from the grey column depicted in it (secondary axis).

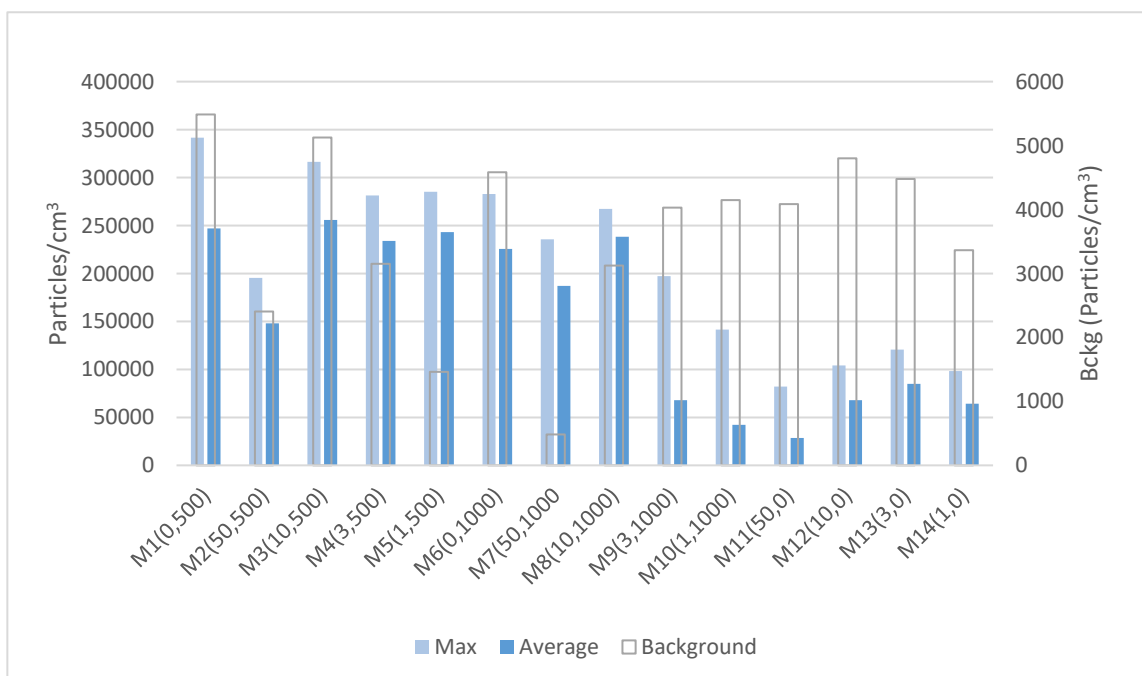


Figure 4. Concentration of particles measured with a CPC during the sanding activity. Maximum and average concentration values are referred to along the Y axis.

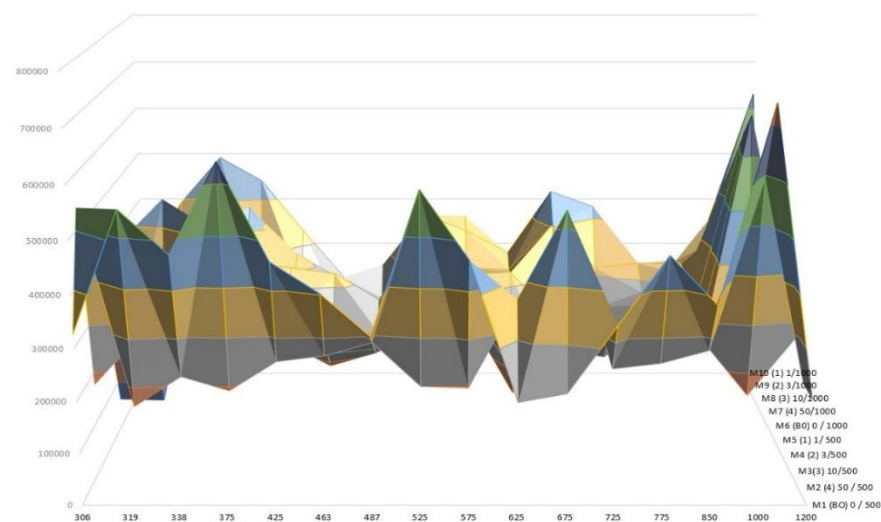
A large increase immediately after the beginning of the sanding operation was observed; the highest obtained peak values reached up to  $3.5 \times 10^5$  particles  $\text{cm}^{-3}$ , which was about 50 times higher than the background levels.

The concentration of particles in the nano range measured by the CPC showed that weathered samples released a higher amount of submicron particles ( $\text{\O} < 1 \mu\text{m}$ ), especially significant for samples subjected to a 500 h aging process, where the maximum peaks were observed. Such an issue denotes an alteration of the polymer surface, allowing a higher rate of particle release.

The differences between aging processes (1000 h vs. 500 h) were not significant, therefore, it has been suggested that the polymer's surface layer plays a relevant role in the exposure potential.

The levels of particles released for no-weathered samples was relatively low, with particles reaching a peak of  $\sim 1.4 \times 10^5$  particles  $\text{cm}^{-3}$  (for sample M10), and an average particle level concentration of  $6 \times 10^5$  particles  $\text{cm}^{-3}$ . This was in contrast to the high average levels found for weathered samples, with average levels of  $2.2 \times 10^5$  particles  $\text{cm}^{-3}$  and  $1.35 \times 10^5$  particles  $\text{cm}^{-3}$  for samples subjected to a weathering period of 500 and 1000 h, respectively.

The analysis of the data measured by the particle sizer (TSI OPS 3300) showed different modes corresponding with particles with an average particle size of  $\sim 320 \pm 2 \text{ nm}$ ,  $\sim 540 \pm 2 \text{ nm}$ , and  $\sim 1150 \pm 2 \text{ nm}$ . The maximum peaks were observed for particles above  $1 \mu\text{m}$  (Figure 5), being mainly due to the number of particles embedded in the polymeric matrix, as can be derived from the SEM picture depicted in Figure 6.

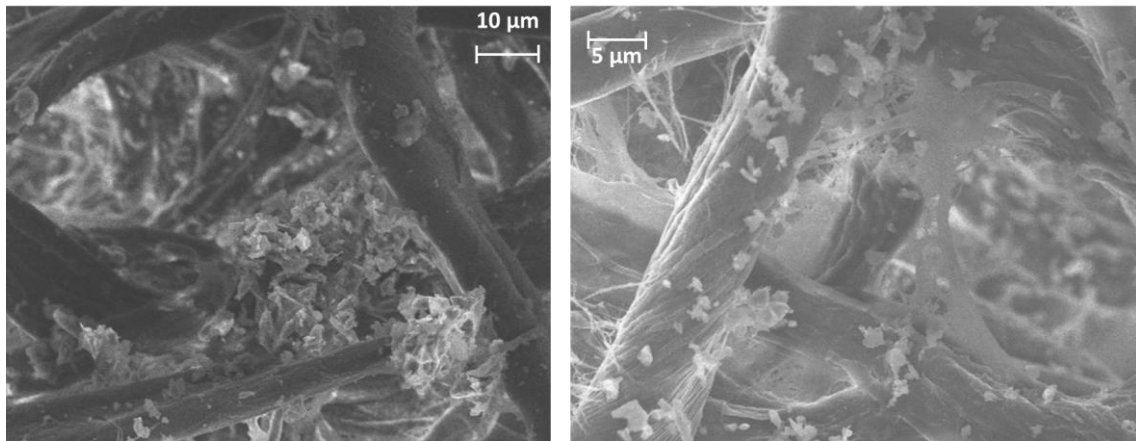


**Figure 5.** Size distribution of particles measured during the sanding process.

The SEM images show only wear particles from the resin material. Therefore, it can be assumed that the abraded resin is the main source of the particles released. There was no free-graphene particles collected. These graphene nanoparticles were embedded in the matrix or attached to the surface of these particles indicating the importance of measuring micrometric-sized particles in addition to nanosized particles. These observations highlight the fact that the use of a matrix when handling nanomaterials greatly minimizes the exposure of workers to airborne nanoparticles.

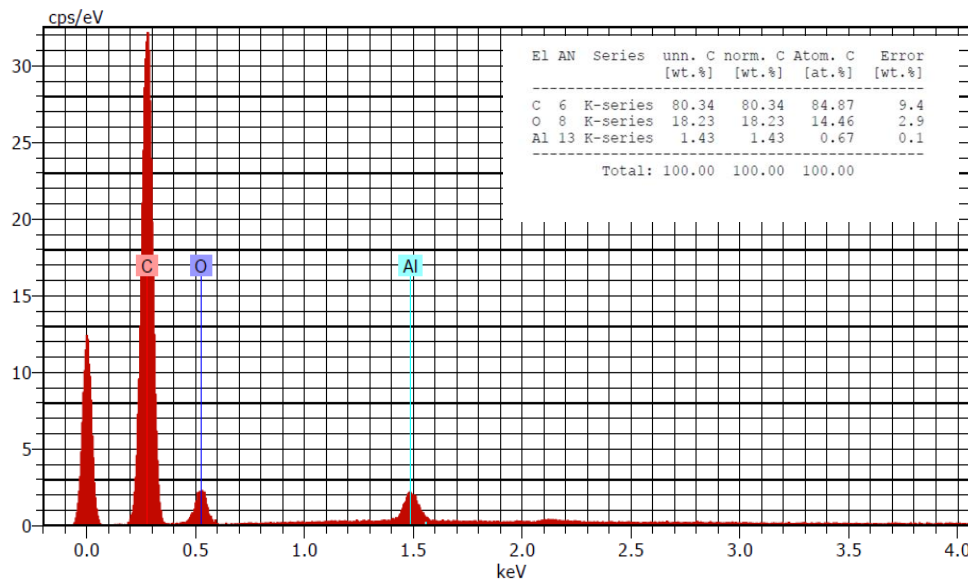
The SEM/EDX analysis of sander emission also revealed a reasonable amount of carbon agglomerates ranging from  $0.1$  to  $20 \mu\text{m}$ .

A large number of particles collected in the filters. Figure 6 includes an EDX spectrum identifying the elements that are represented in the filtration media. Carbon, oxygen, and aluminium were the elements identified with an abundance of  $\sim 80\%$ ,  $18\%$ , and  $1\%$ , respectively.



**Figure 6.** Detail of SEM images including particles collected in filters during the abrasion process.

Figure 7 includes an EDX spectrum identifying the elements that are represented in the filtration media.



**Figure 7.** SEM/EDX analysis of particles collected in filters during the abrasion process. Elements identified: carbon (C), oxygen (O) and aluminium (Al).

### 3.2. Paint Spraying

Real-time devices were used to characterize the size of the particles and droplets emitted during spraying. Three different devices were used, placed at fixed positions near the target surface (open face), except for one device which was portable and was fitted to the operator within their particle breathing zone (PBZ). The real-time particle devices included two TSI 3007 CPCs, an OPS TSI 3330, and an Aerotrak (TSI 9350, Shoreview, Minnesota, USA) counter. Mass concentrations and mass-based size distributions were estimated by calculations from particle number concentrations and number-based size distribution data.

As mentioned above, PVC and PTFE filters were used to collect the material deposited during spray tests and being analyzed by SEM-EDX.

Figure 8 shows the particle number concentration (for sizes  $<1 \mu\text{m}$ ) obtained with two CPCs when low, mid, and high viscosity graphene containing paints were sprayed in the testing room. In addition, the free-graphene paints were also tested in order to compare the difference in the particle distribution when graphene was formula present in the paints.

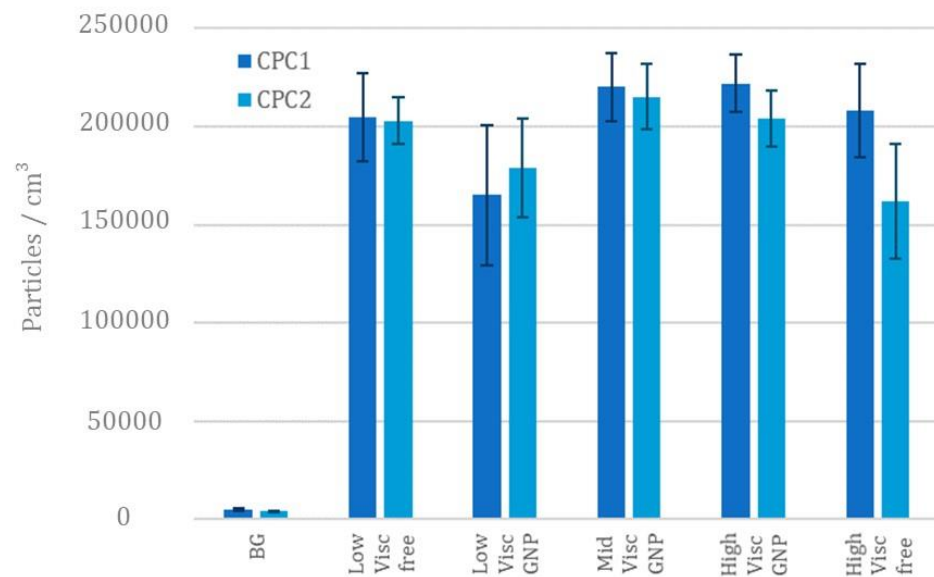


Figure 8. Comparison of the mean PNC of both CPCs.

Although the number of particles released during spraying was 2 to 3 orders of magnitude greater than that of the background, the number of particles under the micron fluctuated around  $2 \times 10^5$  particles/cm<sup>3</sup>. In addition, we observed that there was no remarkable difference in the concentration due to the viscosity of the paints. The particle size distributions also had similar trends regardless of whether the paint contained graphene or not. Based on this data, it was not possible to discriminate the paints that did or did not contain the GNP. The difference between the measures of the two CPCs is within the deviation of the measures, thus, they are comparable and the spray within the exposure chamber is uniform.

The results obtained from the OPS device showed a similar behaviour for the mid and high-viscosity paints containing GNPs, while the low viscosity showed a higher release of particles below the micron and a lower release of particles above the micron. Although the low viscosity free paint has a distribution shifted to particles below 1 µm, the other paints are up to three orders of magnitude greater than the background, and a multimodal distribution appears with peaks at 0.5, 1.0, 1.7 and 3.0 µm (Figure 9).

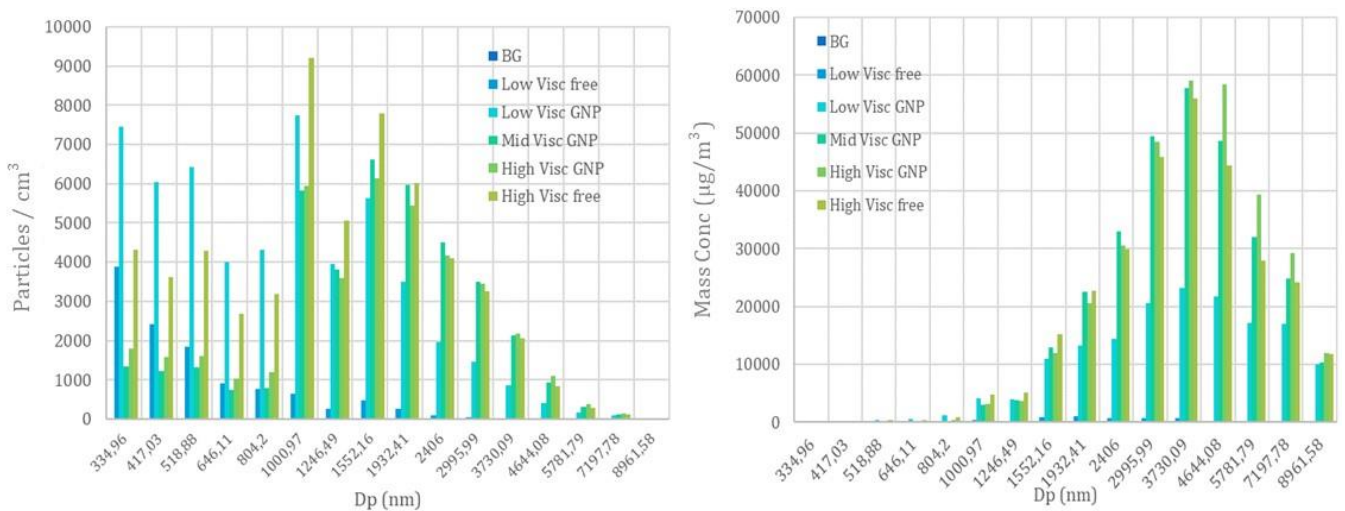
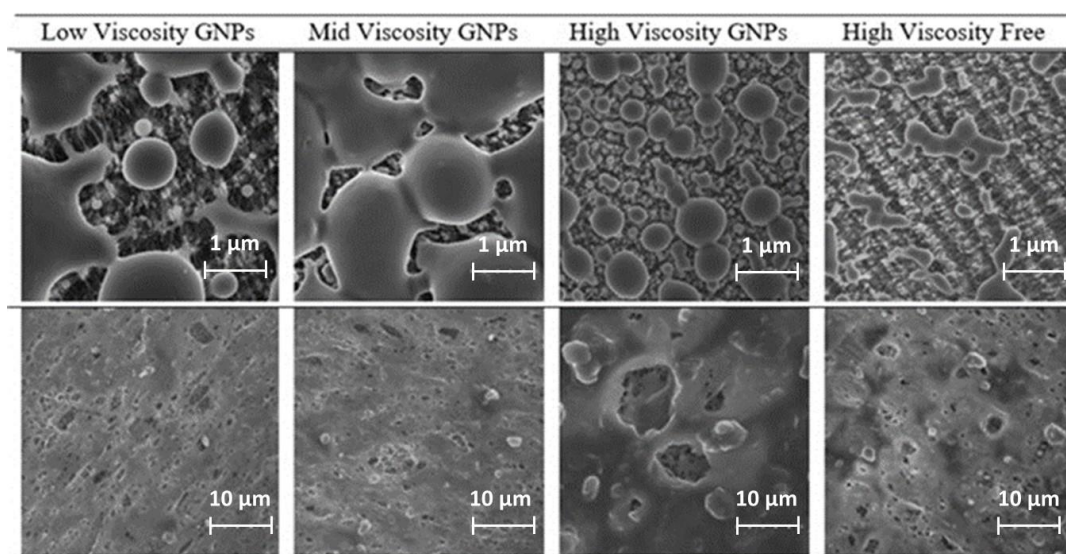


Figure 9. Plot of the particle number concentration (left) and mass concentration taken from the OPS device (right).

A similar behaviour was found for the Aerotrak results, where the low viscosity, free-GNP paint has a distribution shifted to the smaller diameters with the highest concentrations, while in the other cases, particles between 5 and 25  $\mu\text{m}$  do not exceed the 1000 particles.

Regarding the mass distribution obtained with the OPS device, there are clear peaks at 1.0, 1.8–2.0, 3.7, and 7.1  $\mu\text{m}$ , which coincide with the previous peaks (recall that submicron particles have no mass and large particles occur in much lower concentrations).

For the analysis of the impact filters by SEM, no free GNPs were observed for airless spraying. The GNP particles observed were always coated by a layer of paint and the higher the viscosity of the paint the thicker the coating of the GNP. Borders appear to be rounder on higher densities, although further testing should be made to determine the composition and thickness of this coating. Figure 10 shows the SEM images for the two types of filters collected.



**Figure 10.** SEM images for the PTFE (upper row) and PVC (lower row) filters collected.

Due to the smoother surface of the PVC filter, particles are more easily deposited in them, while in the PTFE, mainly drops remain, despite having a smaller pore size. The gathered particles in PVC filters are integrated onto a layer of paint in most cases.

From the background analysis, a contribution of ambient particles is observed. This contribution consists of particles with different shapes and compositions, probably dust, composed mainly of different metals. In the elemental analysis, silicon and iodine appear, in addition to the elements of the filter and the constant presence of aluminum through all samples. However, the EDX analysis seems to not be enough to determine the composition of the elements present, due to the difficulty of discerning the background and filter elements from the carbon of the particles.

Particle sizes were calculated by Image J and appear along with the images with a number indicating the length of each particle in microns. It can be seen that the particles detected in the PVC filters have diameters between 7 and 15  $\mu\text{m}$ .

### 3.3. Ecotoxicity Analysis

The results on the aquatic toxicity of graphene showed that the immobility and mortality of the microcrustacean *Daphnia magna* was not affected, indicating a low acute toxicity in micro invertebrates. These results indicate that no alterations were identified at the organism level, however, alterations at the cellular level such as increased ROS generation cannot be discarded. It should be noted that the lack of altered individual responses may suggest low ecological consequences related to exposure to graphene composites.



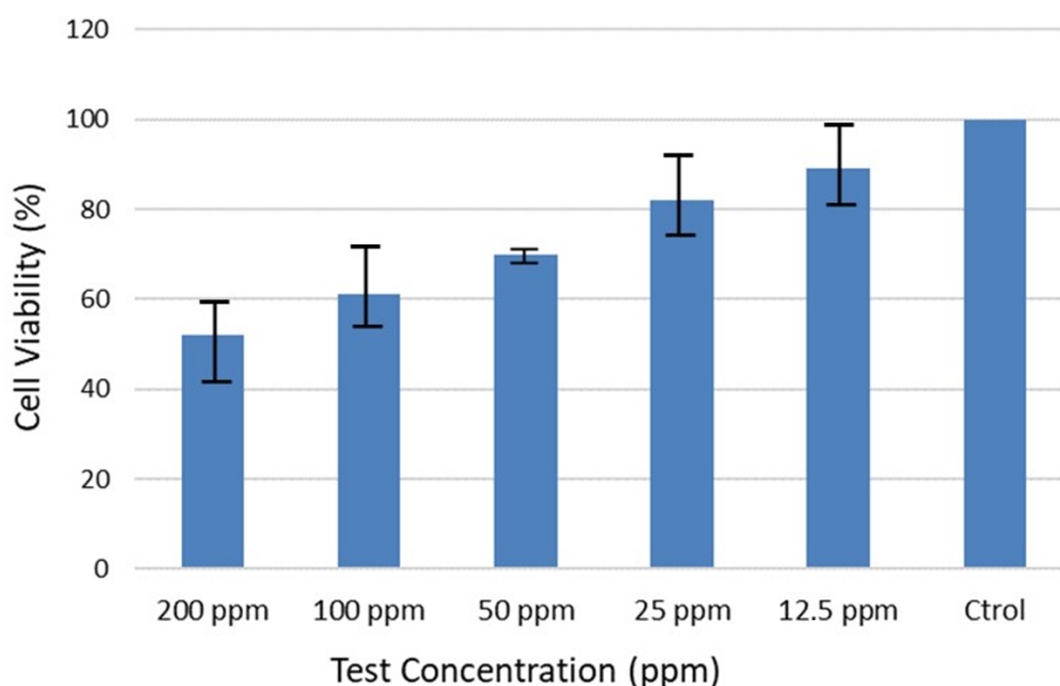
Table 7 depicts the effect concentration levels (EC) for the samples analyzed.

**Table 7.** Ecotoxicity measured as EC<sub>50</sub> values at 24 and 48 h.

	% GR/Trat.	EC <sub>50</sub> mg/L—24 h	EC <sub>50</sub> mg/L—48 h
N0206	Pure/pristine	318	146
M1 (B0)	0%/500 h	>100 (516)	>100 (304)
M2 (4)	50%/500 h	>100 (358)	>100 (221)
M6 (B0)	0%/1000 h	>100 (437)	>100 (251)
M7 (4)	50%/1000 h	>100 (298)	>100 (157)
M11 (4)	1%/0 h	>100 (381)	>100 (240)
M14 (1)	50%/0 h	>100 (216)	>100 (142)

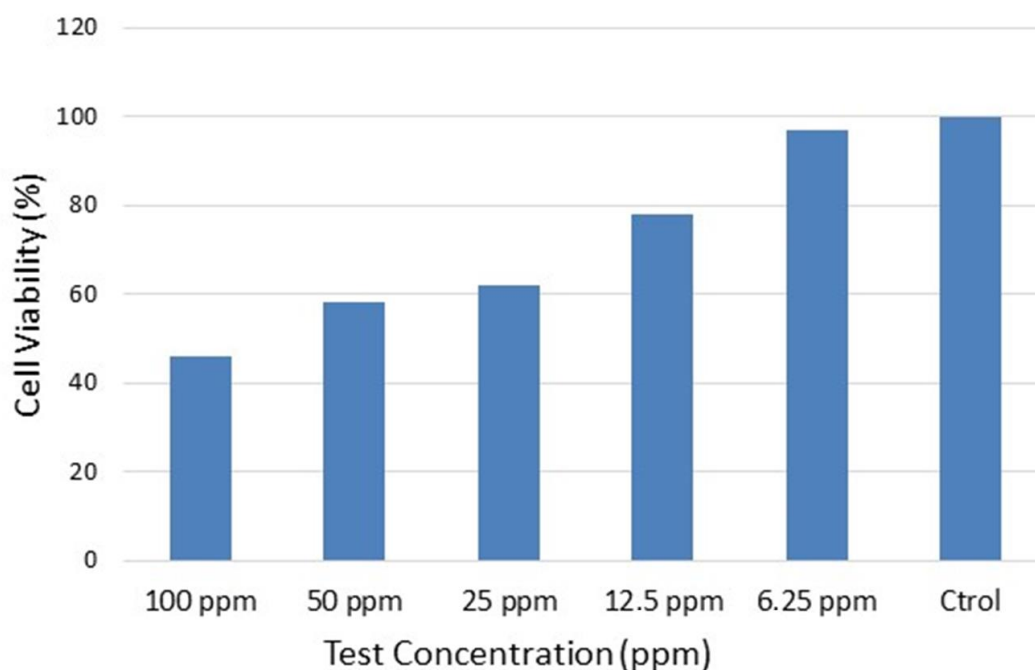
### 3.4. Toxicity Analysis

The cell viability showed a dose-dependent pattern for pristine graphene to A549 cells in the concentration range of 1.5 to 200 ppm, with a first effect at a concentration higher than 25 ppm (cytotoxicity above 80%), which indicates a low toxicity potential of graphene in this cell-free system. This dose-dependent effect of the particles can be found in Figure 11, where the effect of the particles over time at different doses is depicted. For example, for 50 ppm of graphene, the cell viability was 71% after 24 h of exposure.



**Figure 11.** Effect of graphene on the generation of cytotoxic effects in human skin fibroblast cells.

Concerning the Caco-2 cell line, the cell viability also showed a dose-dependent pattern for pristine graphene in the concentration range from 6.25 to 100 ppm, with a first effect at a concentration higher than 12.5 ppm (cytotoxicity above 60%), which indicates a low to moderate toxicity potential of graphene in this cell-free system. This dose-dependent effect of the particles can be found in Figure 12, where the effect of the particles over time at different doses is depicted. For example, for 100 ppm of graphene, the cell viability calculated was 46.33% after 24 h of exposure. This means that the cytotoxic potential for the oral route is higher than the one observed for the A549 cell line.



**Figure 12.** Effect of graphene on the generation of cytotoxic effects in the colon adenocarcinoma cell line.

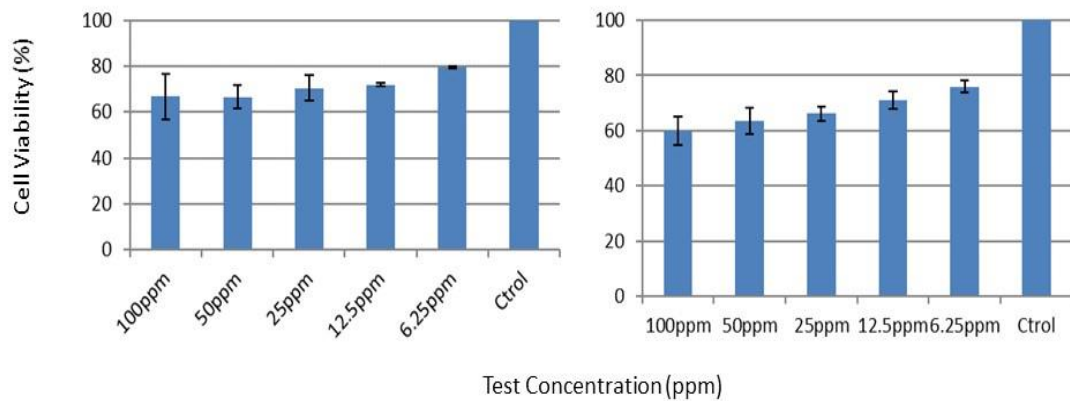
Table 8 shows the effect concentration values calculated, including lower and upper limits. The dose range chosen is expansive in order to include relevant exposure concentrations (lower range) but also higher concentrations to allow EC50 values to be calculated for comparison and ranking purposes. On the basis of the data retrieved using A549 and Caco-2 cells, the toxicity for graphene was estimated to be 205 and 68 ppm for the inhalation and oral route, respectively, which means that the oral route is of prime importance.

**Table 8.** Toxicity measured as EC50 values at 24 and 48 h.

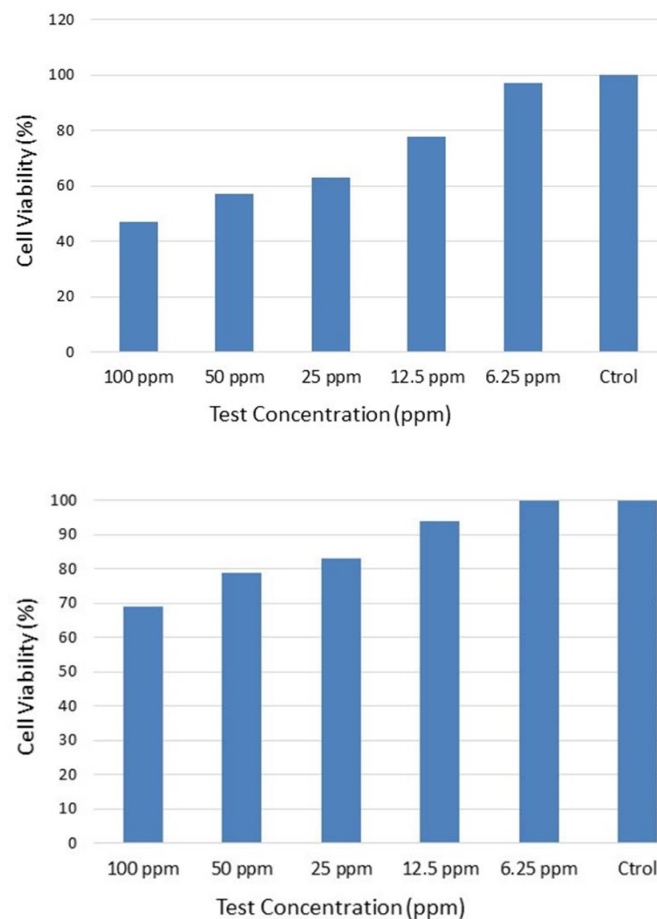
	Value	Low Limit	Upper Limit
EC50 A549	205 ppm	140.7	376.5
EC50 Caco2	68 ppm	36.1	1245.0

Figure 13 shows the effects of the graphene-related composites on the A549 cells. Our results suggest that cell viability was not decreased by the pristine composite and the graphene-based composite sample, which was in agreement with other recent reports that showed non-toxicological effects of graphene-related composites. The EC50 values were above 100 ppm, which means that the samples tested could be considered to be non-toxic. These results also suggest that the graphene-based composite induced much less response in the A549 cells than that of the graphene nanosheets.

Similarly, Figure 14 shows the effects of the graphene-related composites on the Caco-2 cells. A similar behavior to the one observed for the A549 cells can be identified. Notwithstanding, a higher level of decrease was observed for the Caco-2 cell line. The EC50 values were above 100 ppm, which means that the samples tested could be considered to be non-toxic. These results also suggest that the graphene-based composite induced much less response in the A549 cells than that of the graphene nanosheets.

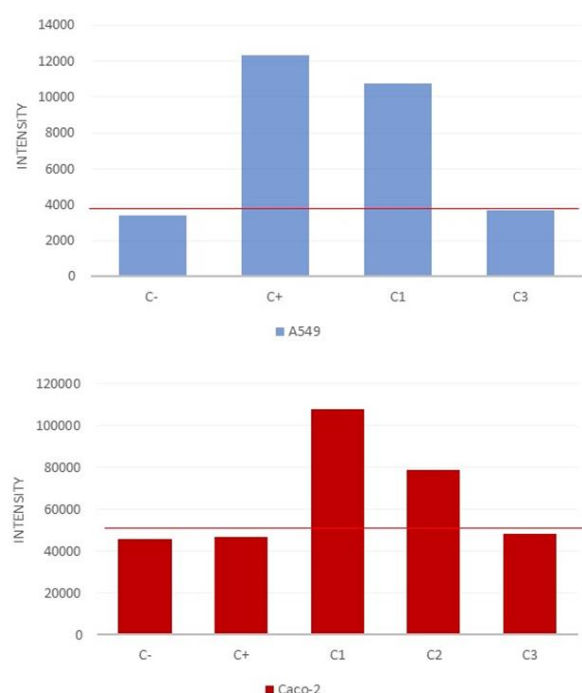


**Figure 13.** Effect of graphene-related composites on the generation of cytotoxic effects in human skin fibroblast cells: **(Right)** Pristine nanocomposite; **(Left)** graphene-based composite sample (M14, 50% of graphene).



**Figure 14.** Effect of graphene-related composites on the generation of cytotoxic effects in Caco-2 cells: **(Top)** Pristine nanocomposite; **(Bottom)** graphene-based composite sample (M14, 50% of graphene).

Regarding the ROS generation, both cell lines show a base production, identified in Figure 15 as negative control C-. In the case of the A549 cell line, a concentration of up to 20 ppm in the media generated a significant response in the cell, however, the tested concentrations of 10 and 5 ppm did not cause an increase above the C- response. The Caco-2 cell line was more sensitive to graphene, with a high increase in the ROS generation at 10 ppm, where the A549 did not show any adverse response.



**Figure 15.** ROS generation in the cell lines A549 (top) and Caco-2 (bottom) after an exposure period of 24 h. Concentrations: C1, 20 ppm; C2, 10 ppm; C3, 5 ppm.

The results on the toxicity of graphene and graphene composite samples are summarized in Table 9.

**Table 9.** Toxicity results for samples analyzed.

% GR/Trat.		A549		Caco-2	
		EC <sub>50</sub> mg/L—24 h	ROS	EC <sub>50</sub> mg/L—24 h	ROS
N0206	Pure/pristine	205	+C1	68	+C2
M14 (1)	50%/0 h	68	+C1	>100	+C2

#### 4. Conclusions

In the present work, we aimed to assess the current level of human and environmental hazard of GBMs and to emphasize the importance of understanding the structure and the activity relationships that underlie the potential toxicity of these materials.

A safe assessment for products based on graphene derivatives is essential because of the huge number of applications of these products in aircraft, wind turbines, bridges, ships, cars, and sports equipment, to name a few.

In addition, the toxicological and release potential of graphene and graphene-based resins was investigated considering inhalation as the main route of exposure for risk assessment purposes.

Furthermore, real-time measurements demonstrated a high release of particles below 1  $\mu\text{m}$ ; however, these particles, according to the SEM images, were rather made up from matrix materials, which contained the embedded particles. It was clearly visible that a higher concentration level was obtained for weathered samples, which suggested a significant impact of the weathering process on the release of nano- and micro-sized particles. The particle size distribution did not show differences in the size of the particles released, suggesting that the size of the particles could be related to the specifications of the sanding device applied.

Our data suggest that graphene-related composites can be considered to be safe materials considering the inhalation route.

The release of particles of different sizes related to the spraying of the paints was observed, showing an increase in particle concentration and mass with respect to background concentrations. In addition, the contribution of ambient particles of different shapes and compositions, probably dust and materials from the spraying process composed mainly of different metals, was also observed.

No remarkable difference in the particle concentration due to the viscosity of the paints was found, moreover, no population of free-graphene nanoparticles was identified by SEM microscopy in the filters sampled from any of the tested paints. In all cases, particles seem to be coated by a thick layer of paint.

Nevertheless, the EDX analysis seems to be not enough to determine the composition of the elements present. Further testing would be necessary to analyze the composition and thickness of the layers.

The toxicity studies also concluded that graphene and graphene resins have a low toxicity profile. However, more investigation is needed to specify sublethal effects, including ROS and inflammation. Nevertheless, it is hoped that as this framework is populated with additional studies, ideally using GMRs that have undergone rigorous characterization, including the structure–activity relationship of these materials. Indeed, it is also important to move from a descriptive to a predictive toxicological model in order to be able to use these promising GRMs in multiple applications in a safe context for humans and the environment.

**Author Contributions:** Conceptualization, C.F.-L.; methodology, C.F.-L. and F.A.M.; validation, J.A.H.A., C.F.-L. and F.A.M.; investigation, J.A.H.A., C.F.-L., F.A.M. and O.A.S.; resources, C.F.-L. and F.A.M.; writing—original draft preparation, F.A.M., C.F.-L. and I.C.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was carried out as part of the regional project NanoSerpa “Desarrollo de una aplicación software app para el peritaje de riesgos derivados de la fabricación de aplicación de nanomateriales en entorno industriales y materiales de edificación -IMINOD/2019/29”, funded by the Valencian Institute of Business Competitiveness (IVACE).

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** Francisco Aznar Mollá, Carlos Fito-López, Jose Antonio Heredia Alvaro, Oscar Andreu Sánchez and Inmaculada Colmenar González declare that we have no conflict of interest.

## References

1. Pietroiusti, A.; Stockmann-Juvala, H.; Lucaroni, F.; Savolainen, K. Nanomaterial exposure, toxicity, and impact on human health. *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.* **2018**, *10*, e1513. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Dasari, B.; Nouri, J.M.; Brabazon, D.; Naher, S. Graphene and derivatives—Synthesis techniques, properties and their energy applications. *Energy* **2017**, *140*, 766–778. [[CrossRef](#)]
3. Bianco, A.; Prato, M. Safety concerns on graphene and 2D materials: A Flagship perspective. *2D Mater.* **2015**, *2*, 030201. [[CrossRef](#)]
4. Park, M.V.; Bleeker, E.A.; Brand, W.; Cassee, F.R.; Van Elk, M.; Gosens, I.; De Jong, W.H.; Meesters, J.A.; Peijnenburg, W.J.; Quik, J.T.; et al. Considerations for Safe Innovation: The Case of Graphene. *ACS Nano* **2017**, *11*, 9574–9593. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Khols, A.; Maurer, D.M.; Dehghanehnavi, F.; Zheng, S.Y. Vertically Aligned Carbon Nanotubes as a Unique Material for Biomedical Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2022**, *14*, 6287–6306. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Wang, S.; Jiang, Y.; Tai, H.; Liu, B.; Duan, Z.; Yuan, Z.; Pan, H.; Xie, G.; Du, X.; Su, Y. An integrated flexible self-powered wearable respiration sensor. *Nano Energy* **2019**, *63*, 103829. [[CrossRef](#)]
7. Netkueakul, W.; Korejwo, D.; Hammer, T.; Chortarea, S.; Rupper, P.; Braun, O.; Calame, M.; Rothen-Rutishauser, B.; Buerki-Thurnherr, T.; Wick, P.; et al. Release of graphene-related materials from epoxy-based composites: Characterization, quantification and hazard assessment in vitro. *Nanoscale* **2020**, *12*, 10703–10722. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Ahamed, M.; Akhtar, M.J.; Khan, M.A.M.; Alaizeri, Z.M.; Alhadlaq, H.A. Evaluation of the Cytotoxicity and Oxidative Stress Response of CeO<sub>2</sub>-RGO Nanocomposites in Human Lung Epithelial A549 Cells. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 1709. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Zhang, X.; Zhou, Q.; Zou, W.; Hu, X. Molecular mechanisms of developmental toxicity induced by Graphene Oxide at predicted environmental concentrations. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, *51*, 7861–7871. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

10. Pretti, C.; Oliva, M.; Di Pietro, R.; Monni, G.; Cevasco, G.; Chiellini, F.; Pomelli, C.; Chiappe, C. Ecotoxicity of pristine graphene to marine organisms. *Ecotox. Environ. Saf.* **2014**, *101*, 138–145. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Sadegh Hassani, S.; Daraee, M.; Rashidi, A.M. Application of graphene-(polymer and ceramic) nano-396 composite in oil and gas industry. In *Handbook of Polymer and Ceramic Nanotechnology*; Hussain, C., Thomas, S., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2019.
12. John, A.C.; Küpper, M.; Manders-Groot, A.M.; Debray, B.; Lacombe, J.-M.; Kuhlbusch, T.A. Emissions and Possible Environmental Implication of Engineered Nanomaterials (ENMs) in the Atmosphere. *Atmosphere* **2017**, *8*, 84. [[CrossRef](#)]
13. Nasirzadeh, N.; Azari, M.R.; Rasoulzadeh, Y.; Mohammadian, Y. An assessment of the cytotoxic effects of graphene nanoparticles on the epithelial cells of the human lung. *Toxicol. Ind. Health* **2019**, *35*, 79–87. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Zanni, E.; De Bellis, G.; Bracciale, M.P.; Broggi, A.; Santarelli, M.L.; Sarto, M.S.; Palleschi, C.; Uccelletti, D. Graphite Nanoplatelets and *Caenorhabditis elegans*: Insights from an in Vivo Model. *Nano Lett.* **2012**, *12*, 2740–2744. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Gao, X.; Lowry, G.V. Progress towards standardized and validated characterizations for measuring physicochemical properties of manufactured nanomaterials relevant to nano health and safety risks. *NanoImpact* **2018**, *9*, 14–30. [[CrossRef](#)]
16. Froggett, S.J.; Clancy, S.F.; Boverhof, D.R.; Canady, R.A. A review and perspective of existing research on the release of nanomaterials from solid nanocomposites. *Part. Fibre Toxicol.* **2014**, *11*, 17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. González-Gálvez, D.; Janer, G.; Vilar, G.; Vílchez, A.; Vázquez-Campos, S. Chapter 3. The life cycle of engineered nanoparticles. In *Modelling the Toxicity of Nanoparticles*; Tran, L., Banares, M.A., Rallo, R., Eds.; Advances in Experimental Medicine and Biology; Springer: Cham, Switzerland, 2017; Volume 947, pp. 41–69. [[CrossRef](#)]
18. Lee, J.H.; Han, J.H.; Kim, J.H.; Kim, B.; Bello, D.; Kim, J.K.; Lee, G.H.; Sohn, E.K.; Lee, K.; Ahn, K.; et al. Exposure monitoring of graphene nanoplatelets manufacturing workplaces. *Inhal. Toxicol.* **2016**, *28*, 281–291. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Lo, L.M.; Hammond, D.; Bartholomew, I.; Almaguer, D.; Heitbrink, W.; Topmiller, J. *Engineering Controls for Nano-Scale Graphene Platelets during Manufacturing and Handling Processes*; National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH): Washington, DC, USA, 2011.
20. Vaquero, C.; Wendelbo, R.; Egizabal, A.; Gutierrez-Cañas, C.; de Ipiña, J.L. Exposure to graphene in a pilot production plant. *J. Phys. Conf. Ser.* **2019**, *1323*, 012005. [[CrossRef](#)]
21. Boccuni, F.; Ferrante, R.; Tombolini, F.; Natale, C.; Gordiani, A.; Sabella, S.; Iavicoli, S. Occupational exposure to graphene and silica nanoparticles. Part I: Workplace measurements and samplings. *Nanotoxicology* **2020**, *14*, 1280–1300. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Applied Graphene Materials. *Graphene Containing/Doped Coatings Require Any Additional Control Measures in Industrial and DIY use? Workshop*; Applied Graphene Materials: Manchester, UK, 2019.

# 11 ANEXOS nanoSerpA

## 11.1 ANEXO 1. MANUAL DEL USUARIO DE LA APLICACIÓN NANOSERPA

A continuación, se detallan cada una de las funciones disponibles de la aplicación, acompañadas de capturas de pantalla para facilitar su interpretación.

### 11.1.1 Pantalla Principal

En esta pantalla se muestra el menú principal de la aplicación que permite acceder a las diferentes funcionalidades de la App.

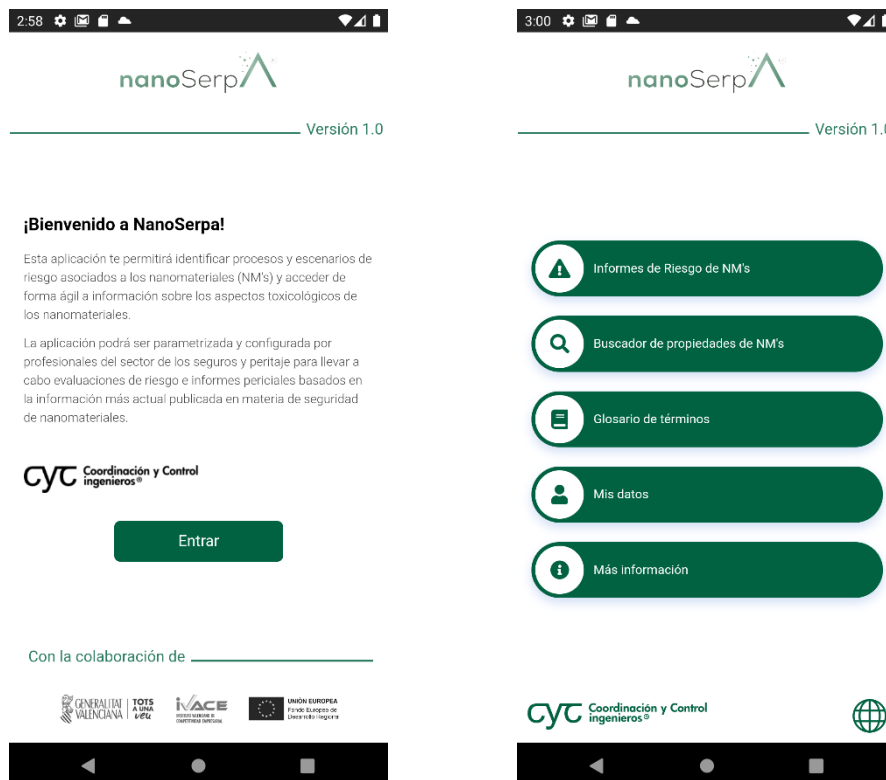


Figura 60. nanoSerpA. Pantalla de bienvenida y menú principal

## 11.1.2 Informes de Riesgo de NM's

La primera opción del menú principal nos muestra los informes de riesgo introducidos en el sistema y nos permite consultarlos si se pulsa sobre su título y/o agregar uno nuevo con el botón + situado en la parte inferior izquierda.

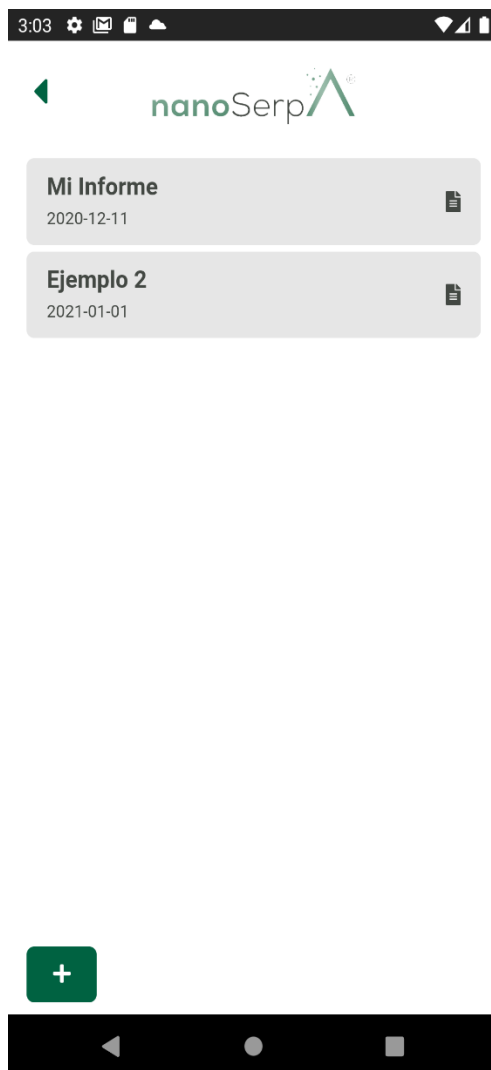


Figura 61. Informes de riesgo disponibles



### 11.1.3 Crear un Informe de Riesgos

Cuando se crea un informe se debe introducir información acerca de diferentes apartados relacionados con la Empresa, Ubicación, Evento / Siniestro, Nanomateriales y finalmente las Conclusiones. Cada uno de estos apartados puede expandirse o contraerse pulsando sobre el botón +/- del título de cada apartado.

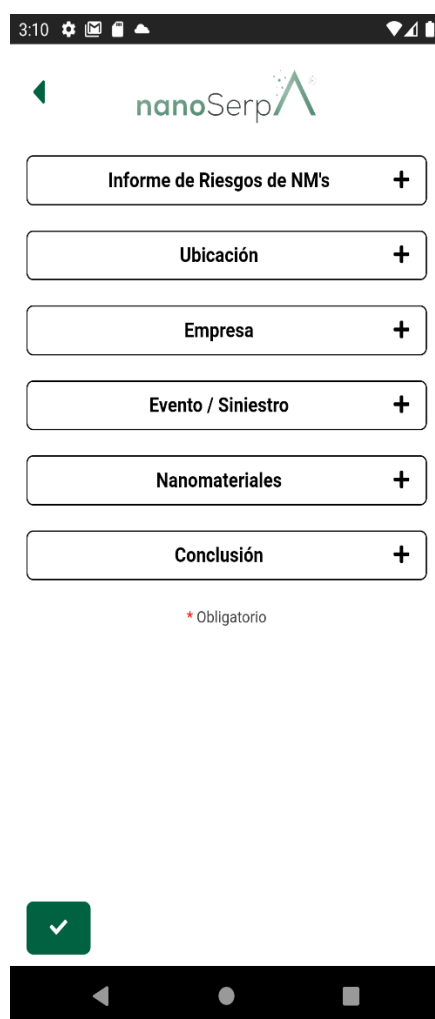
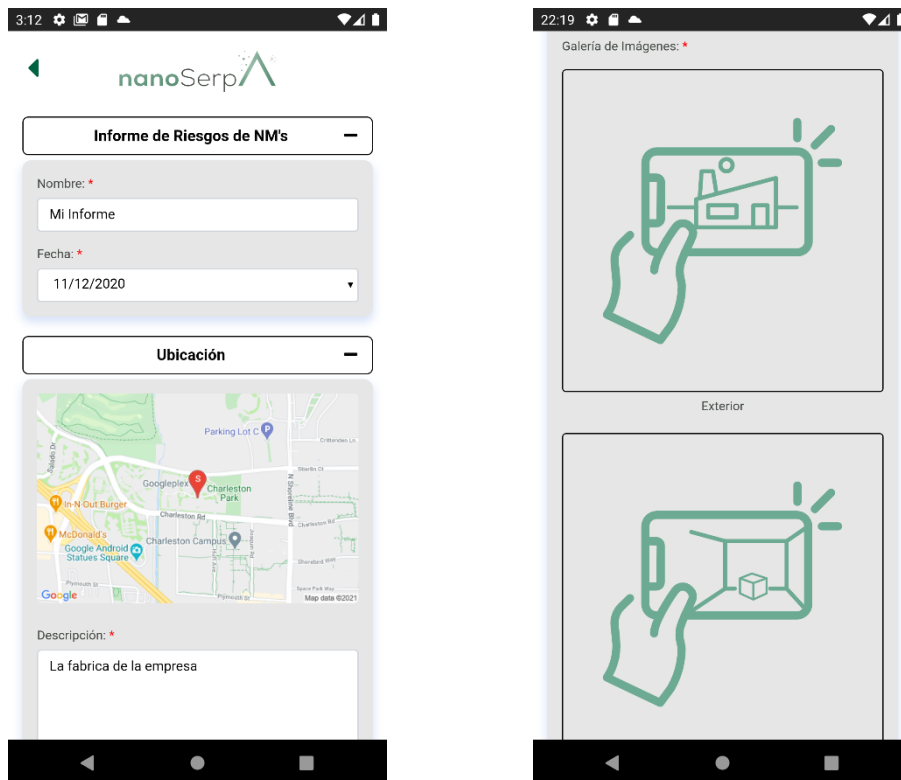


Figura 62. Creación de un nuevo informe de riesgo

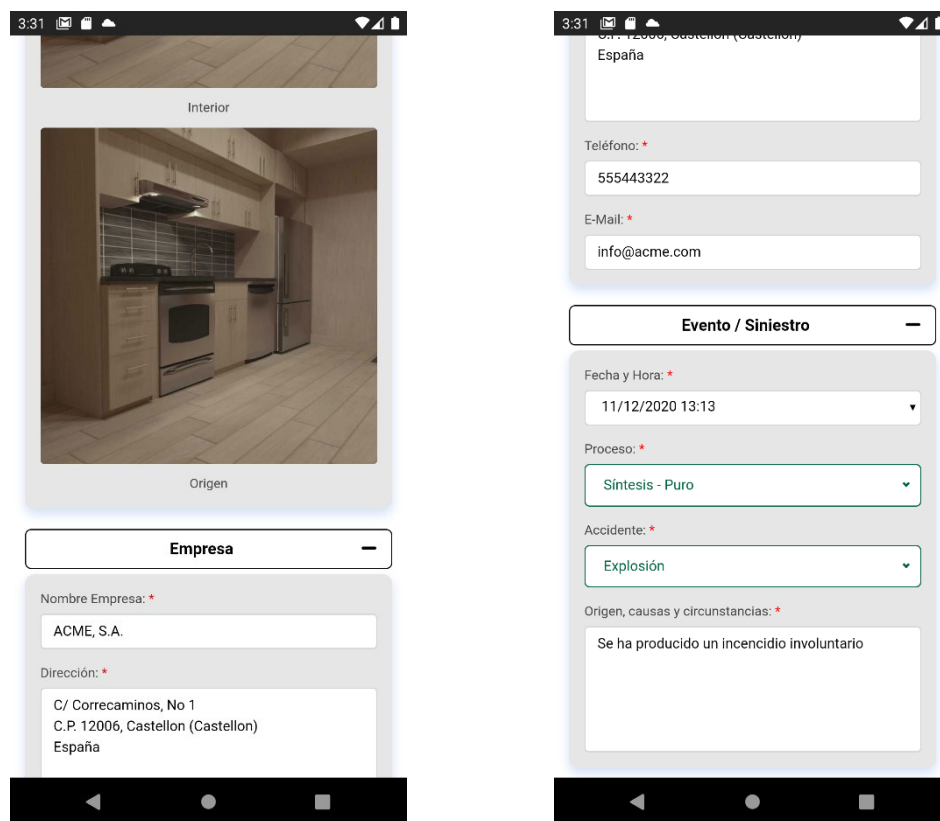
El primer apartado permite asignarle un nombre al informe. El segundo apartado nos permite introducir la localización y fotografías tanto del exterior, interior y el origen del siniestro.



**Figura 63. Parámetros de entrada-información general**

Para asignar una imagen o cambiarla por otra distinta sólo hay que pulsar sobre dicha imagen y se permitirá al usuario elegir una imagen desde su galería de fotos. De esta forma, se permite al usuario a realizar tantas fotografías como desee previamente para luego asignar la que mejor se adapte a la información requerida.

Los dos siguientes apartados permite introducir información acerca de la empresa donde se produce el siniestro y sobre el accidente en sí mismo.



3:31

Interior

Origen

**Empresa**

Nombre Empresa: \*  
ACME, S.A.

Dirección: \*  
C/ Correcaminos, No 1  
C.P. 12006, Castellon (Castellon)  
España

3:31

555443322

info@acme.com

**Evento / Siniestro**

Fecha y Hora: \*  
11/12/2020 13:13

Proceso: \*  
Síntesis - Puro

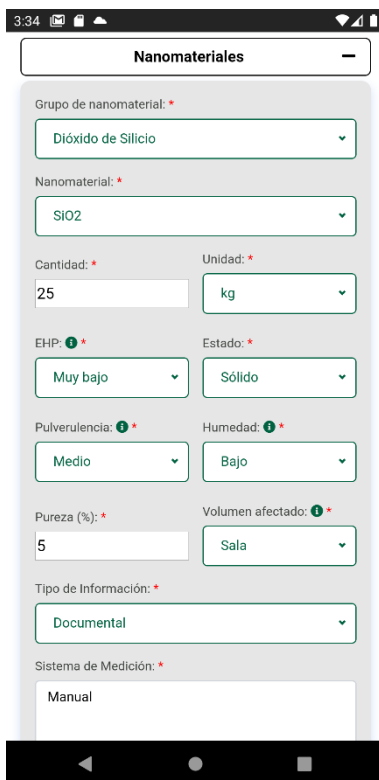
Accidente: \*  
Explosión

Origen, causas y circunstancias: \*  
Se ha producido un incendio involuntario

**Figura 64. Parámetros de entrada-información del siniestro**

La información específica acerca del nanomaterial involucrado se introduce en el siguiente apartado. Principalmente se solicita la siguiente información.

- Grupo y nombre del nanomaterial.
- Cantidad y su unidad.
- E.H.P.
- Estado físico (Sólido o líquido).
- En consecuencia, su Pulvurulencia y Humedad, o Viscosidad y Solubilidad.
- Pureza (%).
- Volumen Afectado.
- La fuente de la información aportada.



The screenshot shows a mobile application interface for entering nanomaterial parameters. The screen is titled "Nanomateriales" and contains several input fields and dropdown menus. The parameters are as follows:

Parameter	Value
Grupo de nanomaterial	Dióxido de Silicio
Nanomaterial	SiO2
Cantidad	25
Unidad	kg
EHP	Muy bajo
Estado	Sólido
Pulverulencia	Medio
Humedad	Bajo
Pureza (%)	5
Volumen afectado	Sala
Tipo de Información	Documental
Sistema de Medición	Manual

**Figura 65. Parámetros de entrada – Información acerca de los nanomateriales**

En último lugar, existe un apartado para introducir la conclusión acerca del siniestro que se ha producido. La primera vez, todavía no se dispone de todos los resultados de análisis de emisiones y riesgo y por tanto esta conclusión sólo será tentativa.

Para guardar el informe, hay que pulsar el botón de confirmación que se encuentra en la parte inferior derecha.

### 11.1.4 Consultar / Exportar un Informe de Riesgos

Para consultar un informe de riesgos se debe pulsar sobre la entrada correspondiente cuando se muestra el listado de “Informes de Riesgos de NMs” desde el menú principal.

Se mostrará la misma información que se introdujo al darse de alta, pero en modo sólo lectura.

Cada vez que se guarda un informe, automáticamente, se calcularán las emisiones y el riesgo para la salud a partir de toda la información introducida.

Sólo cuando se consulta un informe se muestran visualmente los índices de riesgo calculados.

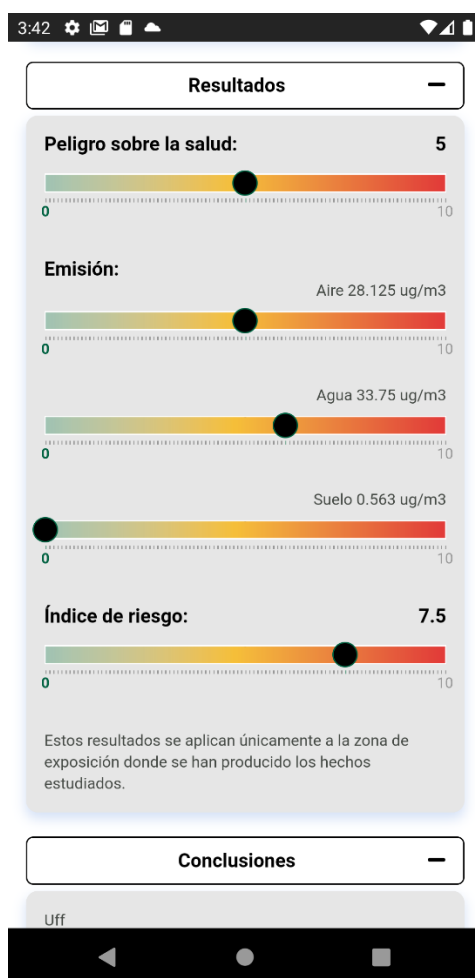
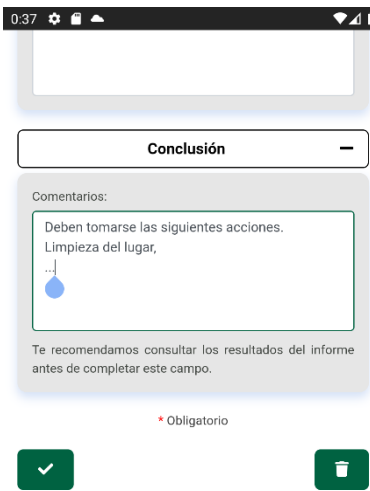


Figura 66. Resultados de un informe de riesgo

### 11.1.5 Modificar un Informe de Riesgos / Introducir Conclusiones.

Si se desea modificar algún apartado del informe de riesgos debe consultarse primero el Informe de Riesgo correspondiente y luego pulsar sobre el “lápiz” que aparece en la parte inferior izquierda al final del informe.

Una vez analizados todos los apartados y los riesgos calculados, se puede introducir unas conclusiones / acciones a llevar a cabo antes de generar un documento PDF.



**Figura 67. Adición de conclusiones**

### 11.1.6 Compartir un Informe de Riesgos.

Finalmente, se puede compartir el Informe de Riesgos en versión PDF, el cual puede imprimirse y/o enviarse por correo, whatsapp, etc. Esta opción está disponible cuando se consulta el Informe de Riesgo al pulsar sobre el icono de “compartir” que aparece en la parte inferior derecha al final del informe.

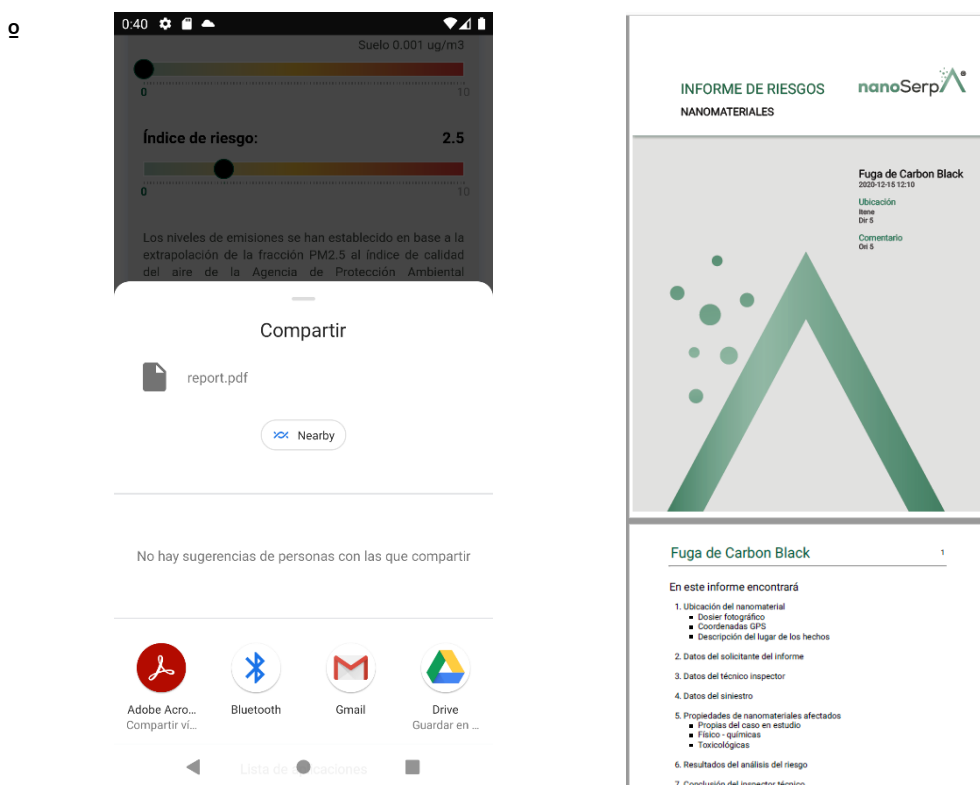


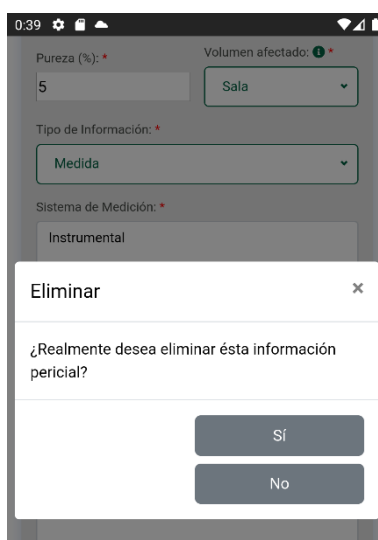
Figura 68. Compartir informe de riesgo (izq) y informe en formato pdf (der)

### 11.1.7 Eliminar un Informe de Riesgos.

Si se desea eliminar un informe de riesgos debe pulsarse la entrada correspondiente cuando se muestra el listado de “Informes de Riesgos de NMs” desde el menú principal y pulsar sobre la “papelera” que aparece en la parte inferior derecha del final del informe.

Para eliminarlo definitivamente se solicitará una confirmación de la operación.

**¡Atención: Esta operación no es recuperable!**



**Figura 69. Eliminación de informe de riesgo**

### 11.1.8 Buscador de Propiedades de NM's

Desde la opción “Buscador de Propiedades de NM's” del menú principal se puede acceder a una funcionalidad de la App que permite buscar un nanomaterial para mostrar sus propiedades fisicoquímicas / toxicológicas.

Se muestra una pantalla en la que permite utilizar diferentes filtros que se aplican de forma acumulativa al elegir diferentes valores de los selectores. Si se desea volver a comenzar “reiniciando” la búsqueda sólo hay que pulsar sobre el botón que aparece en la parte inferior derecha.





1:43

nanoSerp

**Tipo de nanomaterial**  
Todas

**Tamaño (nm)**  
Todas

**Radio de aspecto**  
Todas

**Potencial Z (mV)**  
Todas

**Nanopartícula**  
Todas

**Resultados 394**

Mostrar Reiniciar

Figura 70. Buscador de nanomateriales

Puede saberse cuántos nanomateriales cumplen las condiciones de filtro observando el contador que se muestra al final de las condiciones de filtro.



1:46

nanoSerp

**Tipo de nanomaterial**

Cobre

**Tamaño (nm)**

69

**Radio de aspecto**

Todas

**Potencial Z (mV)**

Todas

**Nanopartícula**

Metal nanoparticle Cu60

**Resultados 1**

Mostrar Reiniciar

Figura 71. Ejemplo de búsqueda de un nanomaterial

Sólo cuando este contador indique un solo NM se “mostrarán” sus propiedades al pulsar el botón que aparece en la parte inferior izquierda

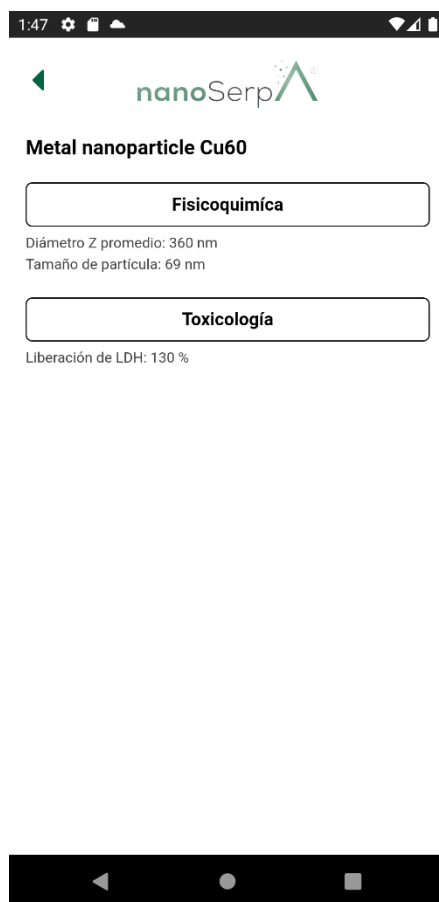


Figura 72. Resultado de la búsqueda de propiedades de un nanomaterial

## 11.1.9 Mis Datos

Cuando se genera el documento PDF a partir de la información introducida del siniestro, se anexa información acerca del técnico / profesional que introduce la información y va a emitir sus conclusiones. Desde la opción “Mis datos” del menú principal se permite consultar estos datos.

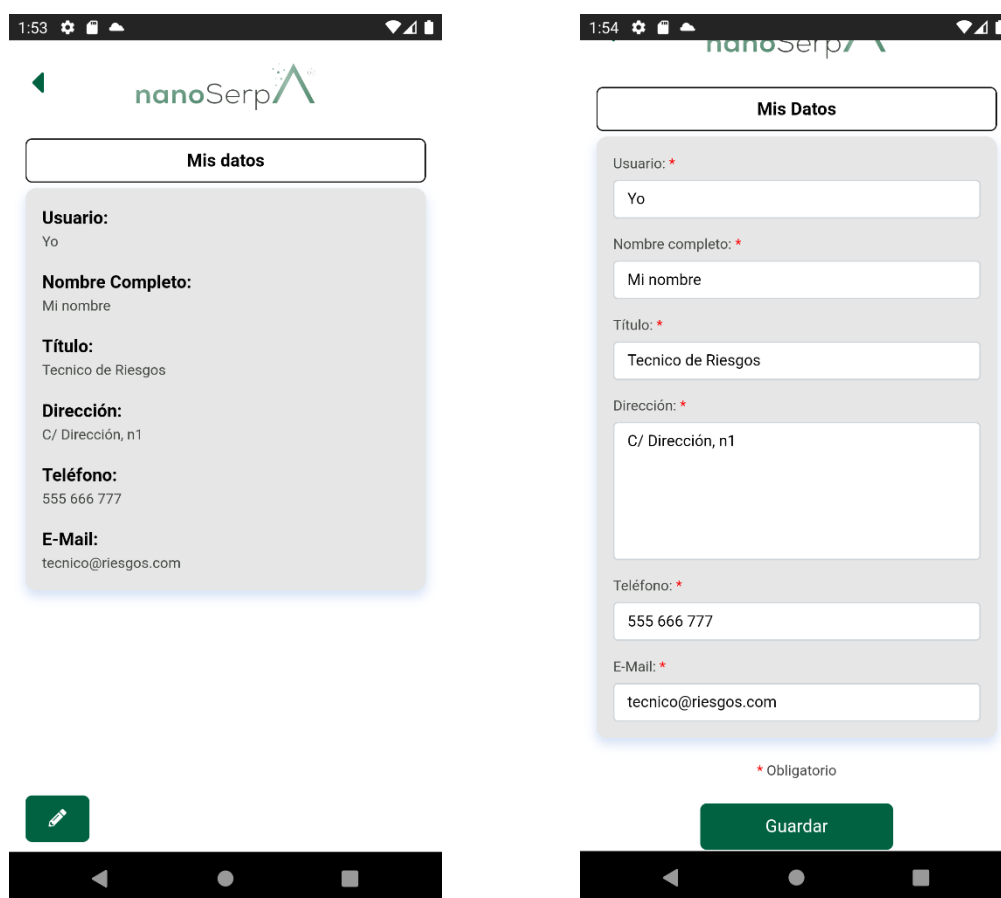



Figura 73. Visualización de los datos personales (izq) y edición (der)

Si se pulsa el botón del “lápiz” se permite modificar esta información. Una vez introducida la información actualizada a través del formulario se pulsa el botón “Guardar” para que los cambios se queden almacenados.

## 11.2 ANEXO 2 DE LA APLICACIÓN NANOSERPA

### 11.2.1 Encuesta de Nanotecnología y grafeno



#### Nanotecnología y grafeno

Desde Coordinación y Control Ingenieros (CYC), empresa cuya actividad fundamental es la gerencia de riesgos y la realización de informes periciales, le invitamos a participar en la presente encuesta, diseñada con el objetivo de conocer los potenciales riesgos asociados a la fabricación, uso y comercialización de nanomateriales, identificar posibles situaciones de accidentes, y valorar posibles daños para los bienes, las personas y el medio ambiente.

La encuesta se enmarca dentro del proyecto NanoSerPa, cofinanciado por el Instituto Valenciano de la Competitividad Empresarial (IVACE) bajo el expediente nº IMINOD/2019/29, dentro del programa de proyectos de innovación de PYME (INNOVA-CV).

El proyecto tiene como objetivo principal el desarrollo de una nueva App para dispositivos móviles y dirigida a la evaluación, investigación y cuantificación económica del impacto en la salud y el medio ambiente de accidentes en entornos industriales donde se producen y/o manipulan nanomateriales.

Le agradecemos de antemano su participación. Puede contactar con el equipo del proyecto a través del correo electrónico [cyc.nanoserpa@gmail.com](mailto:cyc.nanoserpa@gmail.com).

#### Nanotecnología y grafeno

Preguntas de la población en estudio

1. Sector al que perteneces

Metal

Madera

Transporte

Construcción

Servicios

Consumidor final

Otros no enumerados

2. Tamaño de la empresa

1 a 5

6 a 15

15 a 50

50 a 100

Más de 100

**Figura 74. Encuestas de nanotecnología y grafeno**

3. ¿Cuál es su rol en la cadena de suministro?

- Fabricante
- Usuario intermedio
- Distribuidor
- Consumidor

4. ¿Dispone de Servicio de Prevención Ajeno?

- Sí
- No

5. ¿Ha habido algún accidente laboral en su empresa en los últimos 3 años?

- Ninguno
- Entre 1 y 3
- Más de 3

6. ¿Dispone de alguna norma internacional de clasificación como la ISO 9001, ISO14000 u otra?

- ISO 9001
- ISO 14001
- Otras

7. ¿Dispone de algún sistema de control de la producción, como LEAN, SAP, CAP, MRP u otra?

- Sí
- No
- NS/NC

8. ¿Dispone de servicios de mantenimiento preventivo para la maquinaria?

- Lo hace una empresa externa
- El mantenimiento se hace conjuntamente con una empresa externa
- No hay mantenimiento preventivo, solo reparaciones.

9. ¿Dispone de póliza de seguros para Responsabilidad Civil?

- General
- Patronal
- Cruzada
- De Producto
- Otras
- NS/NC

10. Sus proveedores y empresas de mantenimiento ¿disponen de póliza de seguros de Responsabilidad Civil?

- Sí
- No
- Sí, pero no sé si es suficiente
- NS/NC

Nanomateriales y grafeno

1. ¿Conoce lo que es un nanomaterial?

- Sí  
 No

2. ¿Sabía que el grafeno es un nanomaterial?

- Sí  
 No

3. ¿Conoce las ventajas y propiedades técnicas de los nanomateriales y/o grafeno en la tecnología, medicina, energía, nutrición, cosméticos, nuevos materiales, electrónica, biotecnología?

- Sí  
 No

4. ¿Utiliza y/o está expuesto a varios nanomateriales?

- Sí  
 No  
 NS/NC

5. ¿Está expuesto a los nanomateriales y/o al grafeno en su trabajo o empresa?

- Nanomateriales en general  
 Al grafeno  
 NS/NC

6. ¿Sabía que hay distintos tipos de grafeno?

- Sí  
 No

7. ¿Conoce si hay que tener alguna precaución para la seguridad y la salud en el manejo de los nanomateriales y/o grafeno al estar expuesto a él?

- Sí  
 No



8. ¿Conoce cómo identificar la presencia de nanomateriales y/o grafeno en un producto?

- Sí  
 No

9. En su empresa o actividad, ¿se toman medidas de protección para la salud y el medioambiente cuando está en presencia de nanomateriales y/o grafeno o con productos fabricados con ellos?

- Protección para vías oculares  
 Protección para vías auditivas  
 Protección para la piel y parental  
 Protección para vías respiratorias  
 Medidas para evitar la contaminación de alimentos y digestivas

10. ¿Su empresa ha tenido un accidente trabajando con los NM o nanoproducidos?

- Sí  
 No

11. ¿Qué escenario de accidente ha sufrido o piensa que es factible?

- Derrame con liberación en el área de trabajo
- Derrame/fuga con emisión posible al medio ambiente
- Fuga directa del reactor
- Caída de recipientes móviles con rotura y liberación en el área de trabajo
- Caída de recipientes móviles con emisión posible al medio ambiente
- Incendio en áreas con presencia de NMs y/o Nanoproductos
- Explosión en áreas con presencia de NMs y/o Nanoproductos

12. ¿Qué áreas de su empresa se han visto involucradas?

- Almacén
- Producción
- Logística
- Laboratorio
- Planta piloto
- Otro: \_\_\_\_\_

13. ¿Se actualiza y revisa la evaluación de los riesgos en la empresa con relación a los nanomateriales y/o grafeno?

- Sí
- No

14. ¿Existe obligación de identificar, evaluar y controlar los riesgos por exposición a nanomateriales y/o grafeno?

- Sí
- No
- NS/NC

15. ¿Conoce si los envases y embalajes que se utilizan para contener nanomateriales y/o grafeno han de ser especiales para su seguridad?

- Sí
- No
- NS/NC

16. ¿Los fabricantes de nanomateriales y/o grafeno están en colaboración con Uds. para desarrollar nuevos productos más eficientes?

- Sí
- No

17. ¿Dispone almacenado en su empresa: nanomateriales y/o grafeno?

- No
- Sí, hasta 10 gramos
- Sí, más de 100 gramos
- Sí, más de 1 Kg.
- Sí, más de 100 Kg.

18. Su almacén de nanomateriales y/o grafeno, ¿están diferenciados de los otros productos almacenadas?

- Sí
- No
- NS/NC

19. ¿Cuál es el estado físico de los nanomateriales y/o grafeno con los que Ud. puede tener contacto?

- En polvo
- Con partículas en suspensión en el ambiente
- En disolución en líquidos
- Como componente de otros materiales
- NS/NC

20. ¿Conoce cuáles son los procesos que pueden conducir a la liberación de partículas manométricas y/o grafeno en el aire o a su deposición sobre superficies de trabajo?

- Por corte
- Por trituración
- Por abrasión
- Por impacto mecánico
- Por combustión
- NS/NC

21. ¿Se identifican los peligros y toxicidad de los nanomateriales y/o grafeno en su actividad diaria?

- Sí
- No

22. ¿Considera factible alguno de los siguientes daños?

- Bienes
- Personas
- Medio ambiente

23. ¿Ha llevado a cabo una valoración económica de los posibles daños?

- Sí  
 No

24. ¿Dispone de control de los valores límites ambientales de nanomateriales y/o grafeno en su actividad diaria?

- Sí  
 No

25. ¿Dispone de información morfológica de los nanomateriales y/o grafeno en su actividad diaria? (forma y tamaño, especialmente en el caso de fibras y en relación con la aplicabilidad de los criterios de la OMS)

- Sí  
 No

26. ¿Dispone de datos sobre Biopersistencia, solubilidad en agua o medios biológicos de los nanomateriales y/o grafeno en su actividad diaria?

- Sí  
 No

27. ¿Dispone de datos sobre la capacidad de emisión de polvo del producto fabricado con nanomateriales y/o grafeno?

- Sí  
 No

28. ¿Dispone de datos sobre inflamabilidad del producto fabricado y la liberación de nanomateriales y/o grafeno como consecuencia del incendio?

- Sí  
 No

29. ¿Conoce qué trabajadores pueden estar expuestos en cada tarea y los factores individuales, como es su estado de salud y susceptibilidad personal, el sexo, la situación de embarazo y lactancia natural en las trabajadoras o en los hábitos personales en su puesto de trabajo?

- Sí  
 No

30. ¿Conoce cuáles son las posibles vías de entrada de los nanomateriales y/o grafeno en el cuerpo humano?

- Sí  
 No

31. ¿Conoce cuál es la frecuencia de la probable exposición de los trabajadores a los nanomateriales y/o grafeno en su empresa?

- Sí
- No

32. ¿Conoce a qué concentraciones y durante cuánto tiempo están expuestos los trabajadores a las nanopartículas y/o grafeno en su empresa?

- Sí
- No

33. ¿Dispone su empresa de zonas diferenciadas para la manipulación de los nanomateriales y/o el grafeno?

- Sí
- Sí, y además son herméticas
- No

34. ¿Tiene su empresa en cuenta la exposición laboral a los nanomateriales y/o grafeno en la incorporación del nanomaterial al producto intermedio o final?

- Sí
- No



35. ¿Tiene su empresa en cuenta la exposición laboral a los nanomateriales en la eliminación de residuos?

- Sí  
 No

36. ¿Tiene su empresa en cuenta la exposición laboral a los nanomateriales durante las operaciones de mantenimiento?

- Sí  
 No

37. ¿Tiene su empresa en cuenta la exposición laboral y tratamiento de residuos de los nanomateriales en sus envases, embalajes y transporte?

- Sí  
 No

38. ¿Cree que se ha de investigar más en las implicaciones que tiene para la salud y el medioambiente, la utilización de nanotecnología y/o grafeno en su uso diario?

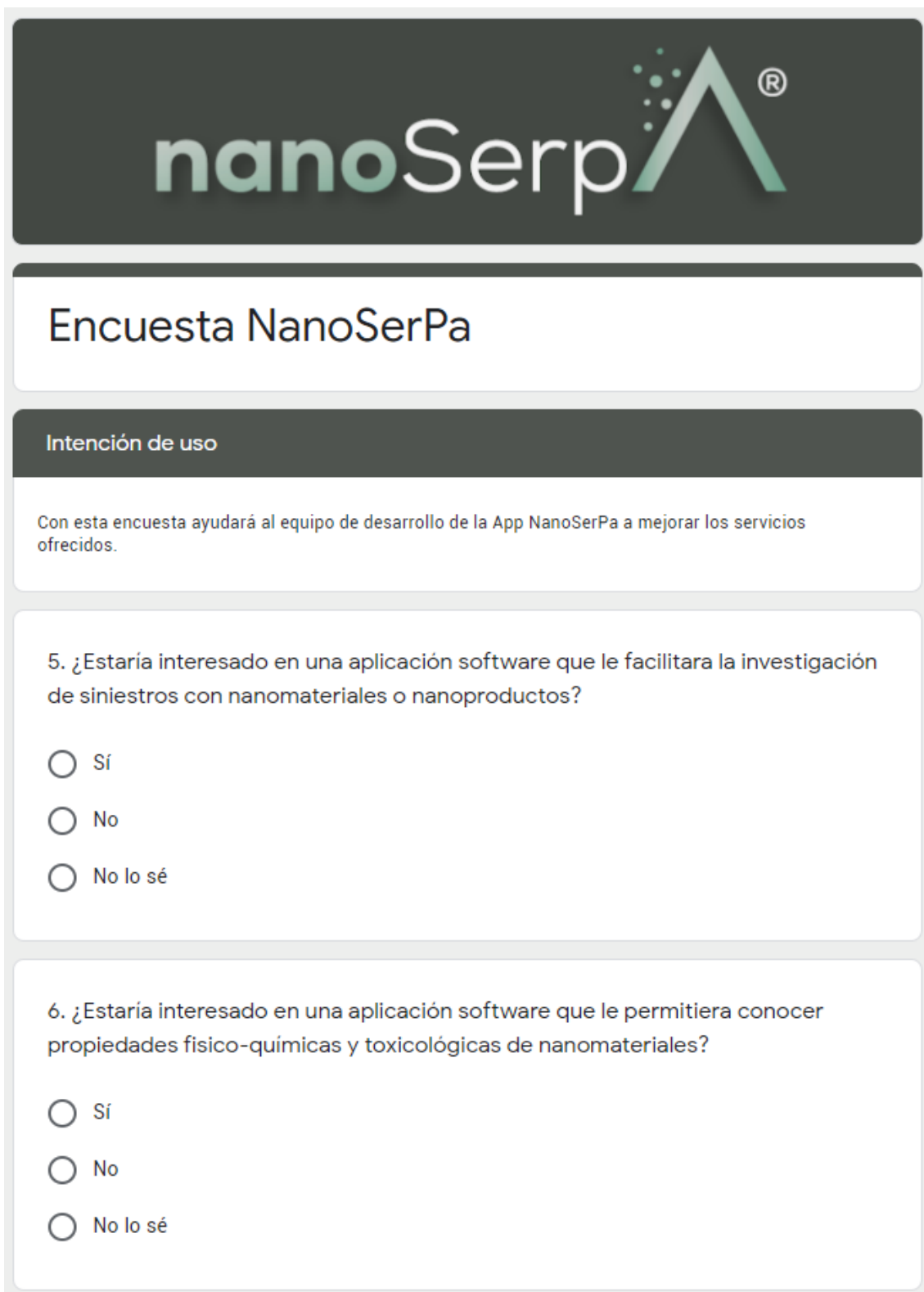
- Sí  
 No

## 11.2.2 Anexo Cuestionario de intención de uso.

Este apartado de la encuesta está dirigido para aquellos usuarios potenciales de la App. Aquí se muestran preguntas que pueden aportar información acerca del potencial uso de la App por parte de los usuarios finales. Además, al final de la encuesta se proporciona el link de descarga de la App y así intentar fomentar su instalación.

La muestra de las secciones que se han estudiado de la encuesta realizada es la siguiente:

- Sección genérica
- Sección de intención de uso
- Sección de validación de la APP



The image shows a survey interface for NanoSerPa. At the top, there is a dark grey header with the NanoSerPa logo in white and green. Below the header, the title "Encuesta NanoSerPa" is displayed in a white box. The main content area has a dark grey header with the text "Intención de uso". Below this, a white box contains the text: "Con esta encuesta ayudará al equipo de desarrollo de la App NanoSerPa a mejorar los servicios ofrecidos." The survey consists of two questions, each with three radio button options: "Sí", "No", and "No lo sé".

**Intención de uso**

Con esta encuesta ayudará al equipo de desarrollo de la App NanoSerPa a mejorar los servicios ofrecidos.

5. ¿Estaría interesado en una aplicación software que le facilitara la investigación de siniestros con nanomateriales o nanoproduetos?

Sí

No

No lo sé

6. ¿Estaría interesado en una aplicación software que le permitiera conocer propiedades fisico-químicas y toxicológicas de nanomateriales?

Sí

No

No lo sé

Figura 75. Encuestas nanoSerPA


7. ¿Estaría interesado en una aplicación software que le permitiera conocer las medidas de gestión de riesgos frente a accidentes relacionados con nanomateriales?

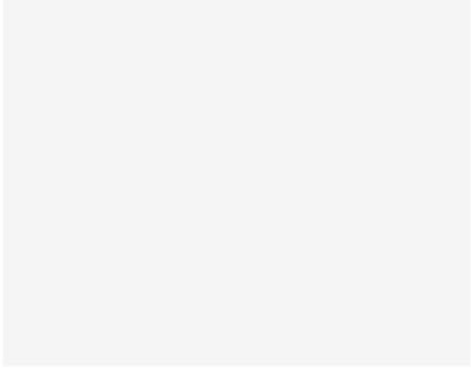
- Sí
- No
- No lo sé

8. ¿Estaría interesado en una aplicación software que le permitiera conocer los aspectos regulatorios involucrados en un accidente relacionado con nanomateriales?

- Sí
- No
- No lo sé

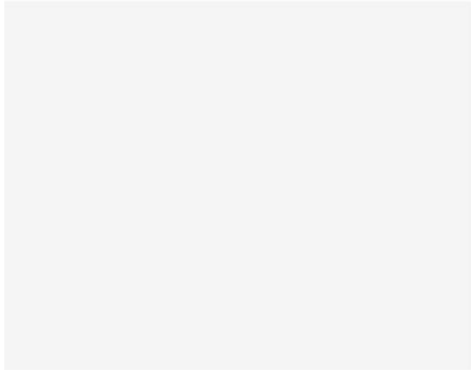
9. ¿Estaría dispuesto a probar la App NanoSerPa?





Si  
([https://drive.google.com/file/d/1JP\\_Tt69hUuu5mWxD-beVD7WSdaJjmytIA/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1JP_Tt69hUuu5mWxD-beVD7WSdaJjmytIA/view?usp=sharing))

No



No lo sé

Atrás    Enviar

### 11.2.3 Cuestionario. Sección genérica.



The image shows a screenshot of a survey form titled "Encuesta NanoSerPa". At the top, there is a dark banner with the "nanoSerp" logo, where "nano" is in green and "Serp" is in white, followed by a stylized green triangle with a registered trademark symbol. Below the banner, the text is as follows:

**Encuesta NanoSerPa**

Desde Coordinación y Control Ingenieros (CYC), empresa cuya actividad fundamental es la gerencia de riesgos y la realización de informes periciales, le invitamos a participar en la presente encuesta, diseñada con el objetivo de conocer los potenciales riesgos asociados a la fabricación, uso y comercialización de nanomateriales, identificar posibles situaciones de accidentes, y valorar posibles daños para los bienes, las personas y el medio ambiente.

La encuesta se enmarca dentro del proyecto NanoSerPa, cofinanciado por el Instituto Valenciano de la Competitividad Empresarial (IVACE) bajo el expediente nº IMINOD/2019/29, dentro del programa de proyectos de innovación de PYME (INNOVA-CV).

El proyecto tiene como objetivo principal el desarrollo de una nueva App para dispositivos móviles y dirigida a la evaluación, investigación y cuantificación económica del impacto en la salud y el medio ambiente de accidentes en entornos industriales donde se producen y/o manipulan nanomateriales.

Le agradecemos de antemano su participación. Puede contactar con el equipo del proyecto a través del correo electrónico [cyc.nanoserpa@gmail.com](mailto:cyc.nanoserpa@gmail.com)

**\*Obligatorio**

Dirección de correo electrónico \*

Tu dirección de correo electrónico \_\_\_\_\_

Figura 76. Encuesta nanoSerPA, genérica

1. Sector al que pertenece

- a) Metal
- b) Madera
- c) Transporte
- d) Construcción
- e) Servicios
- f) Consumidor final
- g) Investigación
- h) Otros no enumerados

2. ¿Trabaja actualmente o ha trabajado con nanomateriales?

- Sí
- No
- No lo sé

3. Seleccione una o varias de las siguientes opciones:

- He tenido algún accidente relacionado con nanomateriales
- He recibido algún informe de peritaje por parte de una empresa externa
- Otro: \_\_\_\_\_

4. ¿Ha utilizado alguna vez la App NanoSerPa? \*

No

Sí

Siguiente

Nunca envíes contraseñas a través de Formularios de Google.

Este contenido no ha sido creado ni aprobado por Google. [Notificar uso inadecuado](#) - [Términos del Servicio](#) - [Política de Privacidad](#)

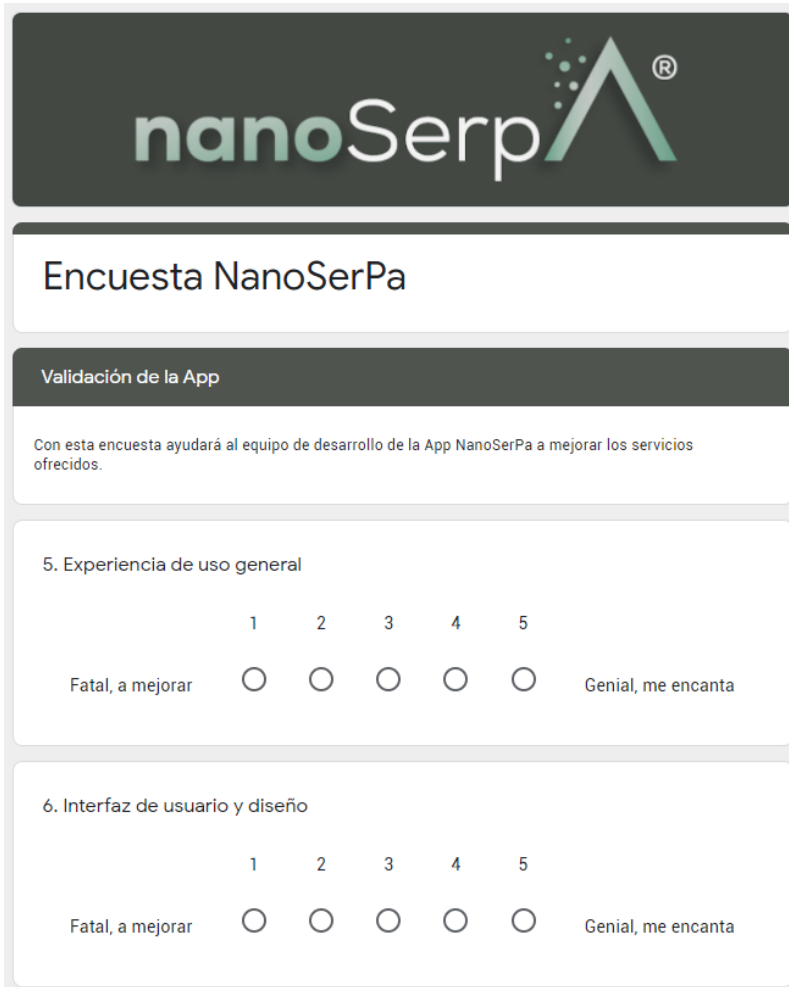
Google Formularios



## 11.2.4 Cuestionario. Sección de validación de la APP.

Aquellos usuarios que hayan podido navegar por la App, serán redirigidos a esta parte de la encuesta, para que, mediante unas sencillas preguntas, puedan evaluar el grado de satisfacción con las diferentes funcionalidades de la App NanoSerpA.

La Figura 4 muestra este último fragmento de la encuesta.



The image shows a mobile application interface for a survey. At the top, there is a dark header with the 'nanoSerpA' logo in white and green. Below the header, the title 'Encuesta NanoSerPa' is displayed in a white box. The main content area has a dark background with the text 'Validación de la App' in white. Below this, a white box contains the text: 'Con esta encuesta ayudará al equipo de desarrollo de la App NanoSerPa a mejorar los servicios ofrecidos.' The survey consists of two questions, each with a 5-point Likert scale. The first question is '5. Experiencia de uso general' and the second is '6. Interfaz de usuario y diseño'. Each question has five radio buttons labeled 1 to 5, with 'Fatal, a mejorar' on the left and 'Genial, me encanta' on the right.

Figura 77. Cuestionarios validación

7. Generación de informes de Riesgo de Nanomateriales

	1	2	3	4	5	
Fatal, a mejorar	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Genial, me encanta

8. Búsqueda de propiedades de nanomateriales

	1	2	3	4	5	
Fatal, a mejorar	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Genial, me encanta

9. ¿Recomendaría la App?

	1	2	3	4	5	
Para nada	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Por supuesto

Atrás

Enviar

Nunca envíes contraseñas a través de Formularios de Google.

Este contenido no ha sido creado ni aprobado por Google. [Notificar uso inadecuado](#) - [Términos del Servicio](#) - [Política de Privacidad](#)

Google Formularios

## 12 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Las referencias bibliográficas utilizadas para el tema de la **base de datos** ha sido la siguiente:

- 1) Chen, N., Song, Z. M., Tang, H., Xi, W. S., Cao, A., Liu, Y., & Wang, H. (2016). Toxicological effects of Caco-2 cells following short-term and long-term exposure to Ag nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 974.
- 2) De Angelis, I., Barone, F., Zijno, A., Bizzarri, L., Russo, M. T., Pozzi, R., ... & Rossi, F. (2013). Comparative study of ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles: physicochemical characterisation and toxicological effects on human colon carcinoma cells. *Nanotoxicology*, 7(8), 1361-1372.
- 3) Fisichella, M., Berenguer, F., Steinmetz, G., Auffan, M., Rose, J., & Prat, O. (2014). Toxicity evaluation of manufactured CeO<sub>2</sub> nanoparticles before and after alteration: combined physicochemical and whole-genome expression analysis in Caco-2 cells. *BMC genomics*, 15(1), 700.
- 4) Jeliaskova, N., Chomenidis, C., Doganis, P., Fadeel, B., Grafström, R., Hardy, B., ... & Kohonen, P. (2015). The eNanoMapper database for nanomaterial safety information. *Beilstein journal of nanotechnology*, 6(1), 1609-1634.
- 5) Ruizendaal, L., Bhattacharjee, S., Pournazari, K., Rosso-Vasic, M., de Haan, L. H., Alink, G. M., ... & Zuilhof, H. (2009). Synthesis and cytotoxicity of silicon nanoparticles with covalently attached organic monolayers. *Nanotoxicology*, 3(4), 339-347.
- 6) Walkey, C. D., Olsen, J. B., Song, F., Liu, R., Guo, H., Olsen, D. W. H., ... & Chan, W. C. (2014). Protein corona fingerprinting predicts the cellular interaction of gold and silver nanoparticles. *ACS nano*, 8(3), 2439-2455.

## 13 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS UTILIZADAS

### 13.1 PROYECTOS DE NANOMATERIALES

- [1] SAFENANO, proyecto cofinanciado por IVACE y los Fondos FEDER de la Unión Europea (IMAMCM/2015/1) se centró en la obtención de un inventario de datos y una serie de herramientas que permitan evaluar y seleccionar medidas de gestión del riesgo para el control de la exposición y la reducción de emisiones nanométricas en el sector de envases y embalajes.
- [2] Proyectos en el área de la seguridad de nanomateriales de ámbito Europeo, como: NanoMICEX (FP7), NanoSafePack (FP7), REACHnano (LIFE), NanoRISK (LIFE), MODENA (Cost Action), Ecotexnano (LIFE), NanoMONITOR (LIFE), y NanoDESK (Interreg SUDOE), generando datos robustos en materia de toxicidad y exposición en sectores como envase y embalaje, textil y pigmentos.
- [3] Proyectos en el área de la seguridad de nanomateriales de ámbito nacional, los proyectos NanoIntech (Cdti-CIEN), donde ITENE trabaja en la caracterización de la toxicidad y exposición en procesos de fabricación de materiales nanocompuestos, lubricantes, tintas y recubrimientos de piezas de automoción, e InnoAroma (MIMECO-RETOS), donde ITENE trabaja en la aplicación de métodos de química informática orientados al diseño de nanopartículas seguras para su uso en sectores como cosmética, pinturas y envase y embalaje.

### 13.2 REFERENCIAS EN EL CUERPO DE LA TESIS

- [1] Dasari Shareena, T.P., McShan, D., Dasmahapatra, A.K. *et al.* A Review on Graphene-Based Nanomaterials in Biomedical Applications and Risks in Environment and Health. *Nano-Micro Lett.* **10**, 53 (2018). <https://doi.org/10.1007/s40820-018-0206-4>
- [2] Liao, C.; Li, Y.; Tjong, S.C. Graphene Nanomaterials: Synthesis, Biocompatibility, and Cytotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, **19**, 3564. <https://doi.org/10.3390/ijms19113564>

- [3] JEEVANANDAM, Jaison, et al. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 2018, vol. 9, no 1, p. 1050-1074.
- [4] MACOUBRIE, Jane, et al. Public perceptions about nanotechnology: Risks, benefits and trust. *Journal of Nanoparticle Research*, 2004, vol. 6, no 4, p. 395-405.
- [5] MULLINS, Martin, et al. The insurability of nanomaterial production risk. *Nature Nanotechnology*, 2013, vol. 8, no 4, p. 222-224.
- [6] JUGANSON, Katre, et al. NanoE-Tox: New and in-depth database concerning ecotoxicity of nanomaterials. *Beilstein journal of nanotechnology*, 2015, vol. 6, no 1, p. 1788-1804.
- [7] TAKESHITA, Tyler, et al. Increasing the representation accuracy of quantum simulations of chemistry without extra quantum resources. *Physical Review X*, 2020, vol. 10, no 1, p. 011004.
- [8] LAHNER, Zorah; CREMERS, Daniel; TUNG, Tony. Deepwrinkles: Accurate and realistic clothing modeling. En *Proceedings of the European Conference on Computer Vision (ECCV)*. 2018. p. 667-684.
- [9] JING, Zhifeng, et al. Polarizable force fields for biomolecular simulations: Recent advances and applications. *Annual Review of biophysics*, 2019, vol. 48, p. 371-394.
- [10] KUHNBUSCH, Thomas AJ; WIJNHOFEN, Susan WP; HAASE, Andrea. Nanomaterial exposures for worker, consumer and the general public. *NanoImpact*, 2018, vol. 10, p. 11-25.
- [11] BUNDSCHUH, Mirco, et al. Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to?. *Environmental Sciences Europe*, 2018, vol. 30, no 1, p. 1-17.
- [12] EDE, James D., et al. Risk analysis of cellulose nanomaterials by inhalation: current state of science. *Nanomaterials*, 2019, vol. 9, no 3, p. 337.

- [13] SINGH, Ragini; SINGH, Sanjay. Nanomanipulation of consumer goods: effects on human health and environment. En *Nanotechnology in Modern Animal Biotechnology*. Springer, Singapore, 2019. p. 221-254
- [14] ZHAO, Jian, et al. Engineered nanomaterials in the environment: Are they safe?. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2021, vol. 51, no 14, p. 1443-1478.
- [15] JI, Zuowei, et al. Nanomaterial databases: data sources for promoting design and risk assessment of nanomaterials. *Nanomaterials*, 2021, vol. 11, no 6, p. 1599.
- [16] PAVLICEK, Anna, et al. A European nano-registry as a reliable database for quantitative risk assessment of nanomaterials? A comparison of national approaches. *NanoImpact*, 2021, vol. 21, p. 100276.
- [17] Aznar Mollá, F., Fito-López, C., Heredia Alvaro, J. A., & Huertas-López, F. (2021). New tools to support the risk assessment process of nanomaterials in the insurance sector. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(13), 6985. <https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>
- [18] AZNAR-MOLLÁ, Francisco; FITO-LÓPEZ, Carlos; ALVARO, Jose Antonio Heredia. Insights into the potential effects of released engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: environmental issues and future activities for risk assessment and management. *Journal of Nanoparticle Research*, 2021, vol. 23, no 4, p. 1-19. <https://doi.org/10.1007/s11051-021-05165-w>
- [19] AZNAR-MOLLÁ, Francisco<sup>1</sup>, Jose Antonio Heredia Alvaro<sup>2</sup>, Oscar Andreu Sanchez<sup>3</sup>, Carlos Fito-López<sup>4</sup>, Inmaculada Colmenar González<sup>4</sup>. Nanosafety analysis of graphene-based polyester resin composites on a life cycle perspective. <https://doi.org/10.3390/nano12122036>
- [20] POMERANTSEVA, Ekaterina, et al. Energy storage: The future enabled by nanomaterials. *Science*, 2019, vol. 366, no 6468, p. eaan8285.
- [21] HU, Yong; NIEMEYER, Christof M. From DNA nanotechnology to material systems engineering. *Advanced Materials*, 2019, vol. 31, no 26, p. 1806294.

- [22] SUDHA, Parappurath N., et al. Nanomaterials history, classification, unique properties, production and market. En *Emerging applications of nanoparticles and architecture nanostructures*. Elsevier, 2018. p. 341-384.
- [23] WINKLER, David A. Role of artificial intelligence and machine learning in nanosafety. *Small*, 2020, vol. 16, no 36, p. 2001883.
- [24] DAVID, Madalina Elena, et al. Nanomaterials used in conservation and restoration of cultural heritage: an up-to-date overview. *Materials*, 2020, vol. 13, no 9, p. 2064. MARTÍNEZ, Guillermo, et al. Environmental impact of nanoparticles' application as an emerging technology: A review. *Materials*, 2020, vol. 14, no 1, p. 166.
- [25] SU, Shei Sia; CHANG, Isaac. Review of production routes of nanomaterials. *Commercialization of nanotechnologies—a case study approach*, 2018, p. 15-29.
- [26] DONIA, D. T.; CARBONE, M. Fate of the nanoparticles in environmental cycles. *International journal of environmental science and technology*, 2019, vol. 16, no 1, p. 583-600.
- [27] WŁODARCZYK, Renata; KWARCIAK-KOZŁOWSKA, Anna. Nanoparticles from the cosmetics and medical industries in legal and environmental aspects. *Sustainability*, 2021, vol. 13, no 11, p. 5805.
- [28] SOBHY, Caroline S., et al. Insights on the influence of nano-Titanium dioxide and nano-Zinc oxide on mechanical properties and inhibiting of steel reinforcement. *Case Studies in Construction Materials*, 2022, p. e01017.
- [29] MANJUNATHA, R. L.; NAIK, Dhananjay; USHARANI, K. V. Nanotechnology application in agriculture: A review. *J Pharmacogn Phytochem*, 2019, vol. 8, p. 1073-1083.
- [30] ZHOU, Yiqun, et al. Crossing the blood-brain barrier with nanoparticles. *Journal of controlled release*, 2018, vol. 270, p. 290-303.
- [31] MAO, Bin-Hsu, et al. Silver nanoparticles have lethal and sublethal adverse effects on development and longevity by inducing ROS-mediated stress responses. *Scientific reports*, 2018, vol. 8, no 1, p. 1-16.

- [32] KHAN, Ibrahim; SAEED, Khalid; KHAN, Idrees. Nanoparticles: Properties, applications, and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 2019, vol. 12, no 7, p. 908-931
- [33] BIERKANDT, Frank S., et al. The impact of nanomaterial characteristics on inhalation toxicity. *Toxicology Research*, 2018, vol. 7, no 3, p. 321-346.
- [34] RIST, Sinja; HARTMANN, Nanna Bloch. Aquatic ecotoxicity of microplastics and nanoplastics: lessons learned from engineered nanomaterials. En *Freshwater microplastics*. Springer, Cham, 2018. p. 25-49.
- [35] MARTÍNEZ, Guillermo, et al. Environmental impact of nanoparticles' application as an emerging technology: A review. *Materials*, 2020, vol. 14, no 1, p. 166.
- [36] MODENA, Mario M., et al. Nanoparticle characterization: what to measure?. *Advanced Materials*, 2019, vol. 31, no 32, p. 1901556.
- [37] SALEEM, Junaid; SHAHID, Usman Bin; MCKAY, Gordon. Environmental nanotechnology. *Handbook of Environmental Materials Management, Springer International Publishing, Cham*, 2018, p. 1À32.
- [38] LEAD, Jamie R., et al. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects—an updated review. *Environmental toxicology and chemistry*, 2018, vol. 37, no 8, p. 2029-2063.
- [39] RAFTIS, Jennifer B.; MILLER, Mark R. Nanoparticle translocation and multi-organ toxicity: a particularly small problem. *Nano Today*, 2019, vol. 26, p. 8-12.
- [40] THORLEY, Andrew J., et al. Critical determinants of uptake and translocation of nanoparticles by the human pulmonary alveolar epithelium. *Acs Nano*, 2014, vol. 8, no 11, p. 11778-11789.
- [41] ISIGONIS, Panagiotis, et al. Risk governance of emerging technologies demonstrated in terms of its applicability to nanomaterials. *Small*, 2020, vol. 16, no 36, p. 2003303.
- [42] SPINAZZÈ, Andrea, et al. Exposure to airborne particles associated with the handling of graphene nanoplatelets. *La Medicina del Lavoro*, 2018, vol. 109, no 4, p. 285.



- [43] FONSECA, Ana Sofia, et al. Occupational exposure and environmental release: the case study of pouring TiO<sub>2</sub> and filler materials for paint production. *International journal of environmental research and public health*, 2021, vol. 18, no 2, p. 418.
- [44] ISIGONIS, Panagiotis, et al. Risk governance of emerging technologies demonstrated in terms of its applicability to nanomaterials. *Small*, 2020, vol. 16, no 36, p. 2003303.
- [45] VISSER, Maaïke, et al. Towards health-based nano reference values (HNRVs) for occupational exposure: Recommendations from an expert panel. *NanoImpact*, 2022, vol. 26, p. 100396.
- [46] Test de bioconcentración OECD 305 Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos es un organismo de cooperación internacional compuesto por 38 estados, cuyo objetivo es coordinar sus políticas económicas y sociales. La OCDE fue fundada en 1961 y su sede central se encuentra en el Château de la Muette en París.
- [47] The complete citation for this work is as follows: Vaishnavi, V. and Kuechler, W. (2004). "Design Science Research in Information Systems," January 20, 2004; last updated: October 23, 2013. URL: <http://www.desrist.org/design-research-in-information-systems/>
- [48] Directriz 207 de la OCDE (OCDE, 1984) <https://doi.org/10.1787/20745761>
- [49] Development of a best practices guide for the safe handling and use of nanoparticles in packaging industries. Project Acronym: NanosafePACK. Grant Agreement: 286362 Deliverable. D2.2 Report on the toxicity and ecotoxicity of nanocomposites containing nanoclays and metal oxide nanoparticles. Coordinator of the deliverable IOM. Date of preparation: 14/08/2014. Nature of the deliverable: Consortium.
- [50] Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de prevención de Riesgos Laborales. BOE núm 269, de 10/11/1995. Entrada en vigor: 10/02/1996. Departamento Jefatura del Estado. Referencia BOE-A-1995-24292. <https://www.boe.es/eli/es/l/1995/11/08/31/con> Última actualización publicada el 08/09/2022

## 13.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS UTILIZADAS EN LAS PUBLICACIONES REALIZADAS

### 13.3.1 ARTÍCULO 1

Fuente: B Artículo 1 art. 1 11051\_2021\_5165 CS

#### INFORMACIÓN SOBRE LOS EFECTOS POTENCIALES DE LOS NANOMATERIALES DE INGENIERÍA LIBERADOS A PARTIR DE NANOCOMPUESTOS DE POLÍMEROS: PROBLEMAS AMBIENTALES Y ACTIVIDADES FUTURAS PARA LA EVALUACIÓN Y GESTIÓN DE RIESGOS

---

Referencias: <https://doi.org/10.1007/s11051-021-05165-w>

- [1] **Abu-Elala NM, AbuBakr HO, Khattab MS et al (2018)** Aquatic environmental risk assessment of chitosan/silver, copper and carbon nanotube nanocomposites as antimicrobial agents. *Int J Biol Macromol* 113:1105–1115. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.04>.
- [2] **AmorimMJB, Lin S, Schlich K, Navas JM, Brunelli A, Neubauer N, Vilsmeier K, Costa AL, Gondikas A, Xia T, Galbis L, Badetti E, Marcomini A, Hristozov D, von der Kammer F, Hund-Rinke K, Scott-Fordsmand JJ, Nel A, Wohlleben W (2018)** environmental impacts by fragments released from nanoenabled products: a multiassay, multimaterial exploration by the SUN. *Approach Environ Sci Technol* 52(3): 1514–1524. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04122>
- [3] **BAuA (2015)** Safe handling of nanomaterials and other advanced materials at workplace. NANOVALID–Developing reference methods for nanomaterials. Lead author and project monitoring: M. Baron, Federal Institute for Occupational Safety and Health.
- [4] **Begum P, Ikhtiari R, Fugetsu B (2011)** Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach. And lettuce *Carbon* 49(12):3907–3919
- [5] **Bhuvaneshwari M, Sagar B, Doshi S, Chandrasekaran N, Mukherjee A (2017)** Comparative study on toxicity of ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles on *Artemia salina*: effect of pre-UVA and visible light irradiation. *Environ Sci Pollut Res* 24: 5633–5646. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8328-z>
- [6] **Brouwer DH, Spaan S, Roff M, Sleuwenhoek A, Tuinman I, Goede H, van Duuren-Stuurman B, Filon FL, Bello D, Cherrie JW (2016)** Occupational dermal exposure to nanoparticles and nano-enabled products: Part 2, exploration of exposure processes

- and methods of assessment. *Int J Hyg Environ Health*.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.05.003>.
- [7] **Calipinar H, Ulas D (2019)** Development of nanotechnology in the world and nanotechnology standards in Turkey. *Procedia Comput Sci* 158:1011–1018.
- [8] **Camboni M, Hanlon J, Pérez García R, Floyd P (2019)** European Chemicals Agency. A state of play study of the market for so called “next generation” Nanomaterials.  
[https://euon.echa.europa.eu/documents/23168237/24095696/190919\\_euon\\_study\\_next\\_generation\\_nanomaterials\\_en.pdf/d5ecd96de016-720a-54ef-574fe392c82a](https://euon.echa.europa.eu/documents/23168237/24095696/190919_euon_study_next_generation_nanomaterials_en.pdf/d5ecd96de016-720a-54ef-574fe392c82a).  
Accessed Aug 2020
- [9] **Clark K, van Tongeren M, Christensen FM, Brouwer D, Nowack B, Gottschalk F, Micheletti C, Schmid K, Gerritsen R, Aitken R, Vaquero C, Gkanis V, Housiadas C, Lopez de Ipina JM, Riediker M (2012)** Limitations and information needs for engineered nanomaterial-specific exposure estimation and scenarios: recommendations for improved reporting practices. *J Nanopart Res* 14:970. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-0970-x>.
- [10] **Abdel-Latif HMR, Dawood MAO, Menanteau-Ledouble S, El-Matbouli M (2020)** Environmental transformation of n-TiO<sub>2</sub> in the aquatic systems and their ecotoxicity in bivalve mollusks: a systematic review. *Ecotoxicol Environ Saf* 200:110776.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110776>
- [11] **Debia M, Bakhiyi B, Ostiguy C, Verbeek JH, Brouwer DH, Murashov V (2016)** A Systematic Review of Reported Exposure to Engineered Nanomaterials. *Ann Occup Hyg* 60:916–935. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mew041>
- [12] **Dedman CJ, Newson GC, Davies G-L, Christie-Oleza JA (2020)** Mechanisms of silver nanoparticle toxicity on the marine cyanobacterium *Prochlorococcus* under environmentally relevant conditions. *Sci Total Environ* 747:141229.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141229>
- [13] **Diamond SA, Kennedy AJ, Melby NL, Moser RD, Poda AR, Weiss CA, Brame JA (2017)** Assessment of the potential hazard of nano-scale TiO<sub>2</sub> in photocatalytic cement: application of a tiered assessment framework. *NanoImpact* 8:11–19.  
<https://doi.org/10.1016/j.impact.2017.06.006>
- [14] **Duncan TV (2014)** Release of engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: the effects of matrix degradation. *ACS Appl Mater Interfaces* 7:20–39. <https://doi.org/10.1021/am5062757>

- [15] **Froggett SJ, Clancy SF, Boverhof DR et al** (2014) A review and perspective of existing research on the release of nanomaterials from solid nanocomposites. Part Fibre Toxicol 11:17. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-17>
- [16] **Giese B, Klaessig F, Park B et al** (2018) Risks, release and concentrations of engineered nanomaterial in the environment. Sci Rep 8:1565. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19275-4>.
- [17] **Horváth L, Magrez A, Burghard M, Kern K, Forró L, Schwaller B** (2013) Evaluation of the toxicity of graphene derivatives on cells of the lung luminal surface. Carbon 64:45–60
- [18] **Hou J, Wu Y, Li X, Wei B, Li S, Wang X** (2018) Toxic effects of different types of zinc oxide nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms. Chemosphere 193:852–860
- [19] **Jan K, Löhr AJ, Van Belleghem FG, Ragas AMJ** (2017) Wear and tear of tyres: a stealthy source of microplastics in the environment. Int J Environ Res Public Health 14:1–4
- [20] **Kabir E, Kumar V, Kim K, Yip ACK, Sohn JR** (2018) Environmental impacts of nanomaterials. J Environ Manag 225:261–271
- [21] **Kingston C, Zepp R, Andrady A, Boverhof D, Fehir R, Hawkins D et al** (2014) Release characteristics of selected carbon nanotube polymer composites. Carbon 68:33–57
- [22] **Lalwani G, D'Agati M, Khan AM, Sitharaman B** (2016) Toxicology of graphene-based nanomaterials. Adv Drug Deliv Rev 105(Pt B):109–144. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.028>
- [23] **Lee J, Mahendra S, Alvarez PJ** (2010) Nanomaterials in the construction industry: a review of their applications and environmental health and safety considerations. ACS Nano 4:3580–3590
- [24] **Lehutso RF, Tancu Y, Maity A, Thwala M** (2020) Aquatic toxicity of transformed and product-released engineered nanomaterials: an overview of the current state of knowledge. Process Saf Environ Protect 138:39–56. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.03.002>
- [25] **Lei C, Zhang L, Yang K, Zhu L, Lin D** (2016) Toxicity of iron-based nanoparticles to green algae: effects of particle size, crystal phase, oxidation state and environmental aging. Environ Pollut 218:505–512. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.07.030>

- [26] **Li L (2017)** Fate and biological effects of titanium dioxide nanoparticles in the aquatic environment. In: Department of Environmental Sciences, Faculty of Biological and Environmental Sciences. University of Helsinki, Finland
- [27] **Li L, Sillanpää M, Risto M (2016)** Influences of water properties on the aggregation and deposition of engineered titanium dioxide nanoparticles in natural waters. *Environ Pollut* 219: 132–138
- [28] **Li M, Xu G, Yang X, Zeng Y, Yong Y (2020)** Metal oxide nanoparticles facilitate the accumulation of bifenthrin in earthworms by causing damage to body cavity. *Environ Pollut* 263(Part A):114629. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114629>
- [29] **Marquis, D, Guillaume, E & Chivas-Joly, C. (2011).** Properties of Nanofillers in Polymer. <https://doi.org/10.5772/21694>.
- [30] **Minh Kim Nguyen MK, Moon J-Y, Lee Y-C (2020)** Microalgal ecotoxicity of nanoparticles: an updated review. *Ecotoxicol Environ Saf* 201:110781. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110781>
- [31] **Mitrano DM, Motellier S, Clavaguera S, Nowack B (2015)** Review of nanomaterial aging and transformations through the life cycle of nano-enhanced products. *Environ Int* 77: 132–147. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.013>.
- [32] **Nguyen T, Pellegrin B, Bernard C, Gu X, Gorham JM, Stutzman P, Stanley D, Shapiro A, Byrd E, Hettenhouser R, Chin J (2011)** Fate of nanoparticles during life cycle of polymer nanocomposites. *J Phys Conf Ser* 304:012060
- [33] **Nguyen T, Pellegrin B, Bernard C, Rabb S, Stutzman P, Gorham JM, Gu X, Yu LL, Chin JW (2012)** Characterization of surface accumulation and release of nanosilica during irradiation of polymer nanocomposites by ultraviolet light. *J Nanosci Nanotechnol* 12:6202–6215
- [34] **Nowack B, David RM, Fissan H, Morris H, Shatkin JA, Stintz M, Zepp R, Brouwer D (2013)** Potential release scenarios for carbon nanotubes used in composites. *Environ Int* 59:1–11
- [35] **Pereira AC, Gonçalves BB, da Silva Brito R, Vieira LG, de Oliveira Lima EC, Rocha TL (2020)** Comparative developmental toxicity of iron oxide nanoparticles and ferric chloride to zebrafish (*Danio rerio*) after static and semi-static exposure. *Chemosphere* 254:126792. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126792>
- [36] **Petersen EJ, Lam T, Gorham JM, Scott KC, Long CJ, Stanley D, Sharma R, Liddle JA, Pellegrin B, Nguyen T (2014)** Methods to assess the impact of UV irradiation on the surface chemistry and structure of multiwall carbon nanotube epoxy nanocomposites. *Carbon* 69:194–205

- [37] **Pietroiusti A, Stockmann-Juvala H, Lucaroni F, Savolainen K** (2018) Nanomaterial exposure, toxicity, and impact on human health [published online ahead of print, 2018 Feb 23]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. <https://doi.org/10.1002/wnan.1513>
- [38] **Polymer nanocomposites market by type (2020)** (carbon nanotubes, nanoclays, metal oxide, ceramics), application (construction, automotive, electrical & electronics, packaging). Global Opportunity Anal Ind Forecast, 2014-2022. Accessed on August 17th.
- [39] **Sommer F et al (2018)** Tire abrasion as a major source of microplastics in the environment. Aerosol Air Qual Res 18: 2014–2028
- [40] **Vance ME, Kuiken T, Vejerano EP, McGinnis SP, Hochella MF Jr, Rejeski D, Hull MS** (2015) Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. Beilstein J Nanotechnol 6:1769–1780. <https://doi.org/10.3762/bjnano.6.181>
- [41] **Vílchez, Alejandro & Fernández-Rosas, Elisabet & González Gálvez, D & Vázquez-Campos, Socorro.** (2015). Nanomaterials release from nano-enabled products. [https://doi.org/10.1007/698\\_2015409](https://doi.org/10.1007/698_2015409).
- [42] **WangW-W, Man C-Z, Zhang C-M, Jiang L, Dan Y, Nguyen T-P** (2013) Stability of Poly(L-lactide)/TiO<sub>2</sub> nanocomposite thin films under UVirradiation at 254 nm. PolymDegrad Stab 98:885–893
- [43] **Wohlleben W, Neubauer N** (2016) Quantitative rates of release from weathered nanocomposites are determined across 5 orders of magnitude by the matrix, modulated by the embedded nanomaterial. NanoImpact 1:39–45. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2016.01.001>
- [44] **Xia T (2015)** Safety assessment of carbon nanotube nanocomposites:challenges and perspectives. JSM Nanotechnol Nanomed 33:1034

## 13.3.2 ARTÍCULO 2

Fuente: C Artículo 2 art 3 ijerph-18-06985 CS

### NUEVAS HERRAMIENTAS PARA APOYAR EL PROCESO DE EVALUACIÓN DE RIESGOS DE LOS NANOMATERIALES EN EL SECTOR ASEGURADOR

---

Referencias <https://doi.org/10.3390/ijerph18136985>

- [1] *Impact of Engineered Nanomaterials on Health: Considerations for Benefit Risk Assessment*; EASAC Policy Report, JRC Reference Report; Publications Office of the European Union: 2011. Luxembourg (Luxembourg)
- [2] Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9, 1050–1074. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>.
- [3] Baalousha, M.; Cornelis, G.; Kuhlbusch, T.; Lynch, I.; Nickel, C.; Peijnenburg, W.; Brink, N.V.D. Modeling nanomaterial fate and uptake in the environment: Current knowledge and future trends. *Environ. Sci. Nano* **2016**, 3, 323–345, <https://doi.org/10.1039/c5en00207a>
- [4] Gutleb, A.C.; Cambier, S.; Fernandes, T.; Georgantzopoulou, A.; Kuhlbusch, T.A.J.; Lynch, I.; Macken, A.; Mehennaoui, K.; Mowller, R.; Nickel, C.; et al. Chapter 4: Environmental Fate and Effects of Nanomaterials in Aquatic Freshwater Environments. In *Nanomaterials—A Guide to Fabrication and Applications*; Krishnamoorthy, S., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2015.
- [5] Keller, A.A.; McFerran, S.; Lazareva, A.; Suh, S. Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *J. Nanopart. Res.* **2013**, 15, 1–17, [doi:10.1007/s11051-013-1692-4](https://doi.org/10.1007/s11051-013-1692-4).
- [6] Baron, M. *Safe Handling of Nano Materials and Other Advanced Materials at Workplaces*; Project Number: F 2268; Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin: 2015; p. 52. Dortmund, Germany

- [7] John, A.; Küpper, M.; Manders-Groot, A.; Debray, B.; Lacome, J.-M.; Kuhlbusch, T. Emissions and Possible Environmental Implication of Engineered Nanomaterials (ENMs) in the Atmosphere. *Atmosphere* **2017**, *8*, 84.
- [8] Giese, B.; Klaessig, F.; Park, B.; Kaegi, R.; Steinfeldt, M.; Wigger, H.; Von Gleich, A.; Gottschalk, F. Risks, Release and Concentrations of Engineered Nanomaterial in the Environment. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1–18, [doi:10.1038/s41598-018-19275-4](https://doi.org/10.1038/s41598-018-19275-4)
- [9] Le Reference du Retour d'Expérience sur Accidents Technologiques. Available online: <https://www.aria.developpement-durable.gouv.fr/> (accessed on 16/06/2020).
- [10] Boowook, K.; Hyunwook, K.; Il, J.Y. Assessment of Nanoparticle Exposure in Nansilica Handling Process: Including Characteristics of Nanoparticles Leaking from a Vacuum Cleaner. *Ind. Health* **2014**, *52*, 152–162.
- [11] Ji, J.H.; Kim, J.B.; Lee, G.; Noh, J.-H.; Yook, S.-J.; Cho, S.-H.; Bae, G.-N. Workplace Exposure to Titanium Dioxide Nanopowder Released from a Bag Filter System. *Biomed Res. Int.* **2015**, *2015*, 1–9.
- [12] NIOSH 2011. *Occupational Exposure to Titanium Dioxide*; Publication No. 2011-160; DHHS (NIOSH) Publication. Cincinnati, Ohio. US. 2011
- [13] NIOSH 2013. *Occupational Exposure to Carbon Nanotubes and Nanofibers*; Publication No.2013-145;
- [14] Zalk, D.M.; Kamerzell, R.; Paik, S.; Kapp, J.; Harrington, D.; Swuste, P. Risk Level Based Management System: A Control Banding Model for Occupational Health and Safety Risk Management in a Highly Regulated Environment. *Ind. Health* **2010**, *48*, 18–28.
- [15] Stoffen Manager Nano Available online: <http://nano.stoffenmanager.nl>. (accessed on 19/11/2020).
- [16] ISO/TS 12901-2:2014 . Available online upon purchase: <http://iso.org/> (accessed on 18/09/2020)
- [17] Hristozov, D.; Gottardo, S.; Semenzin, E.; Oomen, A.; Bos, P.; Peijnenburg, W.; van Tongeren, M.; Nowack, B.; Hunt, N.; Brunelli, A.; et al. Frameworks and tools for risk



- assessment of manufactured nanomaterials. *Environ. Int.* **2016**, *95*, 36–53, [doi:10.1016/j.envint.2016.07.016](https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.07.016).
- [18] West, G.H.; Lippy, B.E.; Cooper, M.R.; Marsick, D.; Burrelli, L.G.; Griffin, K.N.; Segrave, A.M. Toward responsible development and effective risk management of nano-enabled products in the U.S. construction industry. *J. Nanopart. Res.* **2016**, *18*, 1–27, [doi:10.1007/s11051-016-3352-y](https://doi.org/10.1007/s11051-016-3352-y).
- [19] Pietroiusti, A.; Stockmann-Juvala, H.; Lucaroni, F.; Savolainen, K. Nanomaterial exposure, toxicity, and impact on human health. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* **2018**, *10*, e1513, [doi:10.1002/wnan.1513](https://doi.org/10.1002/wnan.1513).
- [20] Höck, J.; Hofmann, H.; Krug, H.; Lorenz, C.; Limbach, L.; Nowack, B.; et al. *Guidelines on the Precautionary Matrix for Synthetic Nanomaterials*; Federal Office for Public Health and Federal Office for the Environment: Berne, Switzerland, 2008.
- [21] Höck, J.; Epprecht, T.; Furrer, E.; Hofmann, H.; Höhner, K.; Krug, H.; et al. *Guidelines on the Precautionary Matrix for Synthetic Nanomaterials*; Version 2.1.; Federal Office of Public Health and Federal Office for the Environment: Berne, Switzerland, 2011.
- [22] Hansen, S.F.; Alstrup-Jensen, K.; Baun, A. *NanoRiskCat—A Conceptual Model for Risk Classification of Nanomaterials*; Environmental Project No. 1372 2011; Danish Environmental Protection Agency: 2011. Copenhagen. Denmark
- [23] Hansen, S.F.; Jensen, K.A.; Baun, A. NanoRiskCat: A conceptual tool for categorization and communication of exposure potentials and hazards of nanomaterials in consumer products. *J. Nanopart. Res.* **2013**, *16*, 2195, [doi:10.1007/s11051-013-2195-z](https://doi.org/10.1007/s11051-013-2195-z).
- [24] Paik, S.Y.; Zalk, D.M.; Swuste, P. Application of a Pilot Control Banding Tool for Risk Level Assessment and Control of Nanoparticle Exposures. *Ann. Occup. Hyg.* **2008**, *52*, 419–428, [doi:10.1093/annhyg/men041](https://doi.org/10.1093/annhyg/men041).
- [25] Kristensen, H.V.; Hansen, S.V.; Holm, G.R. *Nanopartikler i Arbejdsmiljøet—Viden og Inspiration om Håndtering af Nanomaterialer*; Teknologisk Institut, Center for Arbejdsliv: Copenhagen, Denmark, 2010; ISBN: 978-87-92141-28-6.
- [26] Widler, T.; Meili, C.; Semenzin, E.; Subramanian, V.; Zabeo, A.; Hristozov, D.; Marcomini, A. Organisational Risk Management of Nanomaterials Using SUNDS: The

- Contribution of CENARIOS®. Innovation, Technology, and Knowledge Management. In *Managing Risk in Nanotechnology*; Murphy, F., McAlea, E.M., Mullins, M., Eds.; Springer: 2016; pp. 219–235.
- [27] Som, C.; Zondervan-van den Beuken, E.; Van Harmelen, T.; Güttinger, J.; Bodmer, M.; Brouwer, D.; Buist, H.E.; Carroll, R.; Coll, C.; Fransman, W.; et al. *LICARA Guidelines for the Sustainable Competitiveness of Nanoproducts*; St. Gallen, Zeist, Dußendorf. 2014.
- [28] IRGC. Risk Governance: Towards an Integrative Approach. 2005. Available online: <http://www.irgc.org/publications/coreconcepts-of-risk-governance/IRGC> (2007) Nanotechnology risk (accessed on 16/09/2020).
- [29] Title. Available online: Data.eNanoMapper.net (accessed on 24/10/2020).
- [30] Title. Available online: <http://sdoenanodesk.net/elearning> (accessed on 17/09/2020).
- [31] Bernd Nowack. Evaluation of environmental exposure models for engineered nanomaterials in a regulatory context, *NanoImpact*,. Volume 8,2017, Pages 38-47, ISSN 2452-0748. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2017.06.005>.
- [32] Monteiro, J.V.D.; Banerjee, S.; Ramachandran, G. B2Z : An R Package for Bayesian Two-Zone Models. *J. Stat. Softw.* **2011**, *43*, 1–23.
- [33] Nicas, M. *Mathematical Models for Estimating Occupational Exposure to Chemicals, Chapter Two-Zone Model.*; AIHA Press: 2000; pp. 51–56. Fairfax, VA. US
- [34] Python. Available online: <https://www.python.org/> (accessed on 29/11/2020).
- [35] Schneider, T.; Brouwer, D.H.; Koponen, I.K.; Jensen, K.A.; Fransman, W.; Van Duuren-Stuurman, B.; Van Tongeren, M.; Tielemans, E. Conceptual model for assessment of inhalation exposure to manufactured nanoparticles. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* **2011**, *21*, 450–463, [doi:10.1038/jes.2011.4](https://doi.org/10.1038/jes.2011.4).
- [36] Tsang, M.P.; Li, D.; Garner, K.L.; Keller, A.A.; Suh, S.; Sonnemann, G.W. Modeling human health characterization factors for indoor nanomaterial emissions in life cycle

- assessment: A case-study of titanium dioxide. *Environ. Sci. Nano* **2017**, *4*, 1705–1721, doi:10.1039/C7EN00251C.
- [37] Ganser, G.H.; Hewett, P. Models for nearly every occasion: Part II—Two box models. *J. Occup. Environ. Hyg.* **2016**, *14*, 58–71, [doi:10.1080/15459624.2016.1213393](https://doi.org/10.1080/15459624.2016.1213393).
- [38] Gottschalk, F.; Scholz, R.W.; Nowack, B. Probabilistic material flow modeling for assessing the environmental exposure to compounds: Methodology and an application to engineered nano-TiO<sub>2</sub> particles. *Environ. Model. Softw.* **2010**, *25*, 320–332.
- [39] Spinazzè, A.; Cattaneo, A.; Borghi, F.; Del Buono, L.; Campagnolo, D.; Rovelli, S.; Cavallo, D.M. Probabilistic approach for the risk assessment of nanomaterials: A case study for graphene nanoplatelets. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2019**, *222*, 76–83, [doi:10.1016/j.ijheh.2018.08.011](https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.08.011).
- [40] Air Quality Index (AQI) Basics Available online: <https://www.airnow.gov/aqi/aqi-basics/> (accessed on 24/09/2020).
- [41] Simple European Calculator of DNEL Tool (SECO). *Characterisation of Dose [Concentration]-Response for Human Health R.8*; ECHA:2012. Bern, Switzerland.
- [42] ACGIH. TLVs® and BEIs® Based on the Documentation of the Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices; American Conference of Governmental Industrial Hygienists: Cincinnati, OH, USA, 2009.

### 13.3.3 ARTÍCULO 3

**Fuente: | Artículo 3 art 2 Integrated Manuscript Graphene Safety CS**

**ANÁLISIS DE NANOSEGURIDAD DE COMPUESTOS DE RESINA DE POLIÉSTER A BASE DE GRAFENO EN UNA PERSPECTIVA DE CICLO DE VIDA**

---

**Referencias:** <https://doi.org/10.3390/nano12122036>

- [1] Pietroiusti A, Stockmann-Juvala H, Lucaroni F, Savolainen K. Exposición a nanomateriales, toxicidad e impacto en la salud humana. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2018; 10.1002/wnan.1513.
- [2] Ch, Bhagya lakshmi & Nouri, Jamshid & Brabazon, Dermot & Naher, Sumsun. Grafeno y derivados – Técnicas de síntesis, propiedades y sus aplicaciones energéticas. *Energía*, 2017; 140: 766-778.
- [3] Bianco, A.; Prato, M. Preocupaciones de seguridad sobre el grafeno y los materiales 2D: una perspectiva emblemática. *2D Mater.* 2015; 2, 030201.
- [4] Margriet V.D.Z. Park,\* Eric A.J. Bleeker, Walter Brand, Flemming R. Cassee, Mirlo de Alce, Ilse Gosens, Wim H. de Jong, Johannes A.J. Meesters, Willie J.G.M. Peijnenburg, Joris T.K. Quik, Rob J. Vandebriel, y Adriënnne J.A.M. Sips. Consideraciones para la innovación segura: el caso del grafeno. *ACS Nano* 2017, 11, 9574-9593.
- [5] Andrea C. Ferrari, et al. Science and technology roadmap for graphene, related two-dimensional crystals, and hybrid systems. *Nanoescala*, 2015; 7: 4598-4810
- [6] Velram Balaji Mohan, Kin-tak Lau, David Hui, Debes Bhattacharyya. Materiales a base de grafeno y sus compuestos: una revisión sobre la producción, las aplicaciones y las limitaciones del producto. *Composites Parte B: Ingeniería*, 2018; 142: 200-220
- [7] Sadegh Hassani S, Daraee M, Rashidi A.M. (2019). Aplicación de Grafeno- (Polímero y Cerámica) Nano-Compuesto en la Industria del Petróleo y Gas. En: Hussain C., Thomas S. (eds) *Handbook of Polymer and Ceramic Nanotechnology*. Springer, Cham.
- [8] Sandeep N. Tripathi. (2017). Nanocompuestos de poliolefina/grafeno: una revisión. *RSC Adv.*, 7, 23615. [DOI: 10.1039/c6ra28392f](https://doi.org/10.1039/c6ra28392f).
- [9] Ou et al. (2016). Toxicidad de las nanopartículas de la familia del grafeno: una revisión general de los orígenes y mecanismos. *Parte Fibra Toxicol* 13,57.

- [10] Das S, Singh S, Singh V, Joung D, Dowding J.M, Reid D, Seal S. (2013). Densidad del grupo funcional oxigenado sobre el óxido de grafeno: su efecto sobre la toxicidad celular. *Parte Syst Char*, 30(2), 148–157. <https://doi.org/10.1002/ppsc.201200066>
- [11] Mittal S, Kumar V, Dhiman N, Chauhan L. K. S, Pasricha R y Pandey A. K. (2016). Propiedades físico-químicas basadas en la toxicidad diferencial del óxido de grafeno/óxido de grafeno reducido en células pulmonares humanas mediadas por estrés oxidativo. *Scie Rep*, 6, 6–16. <https://doi.org/10.1038/srep39548> .
- [12] Gurunathan S, Kang M.-H, Jeyaraj M, Kim J.H. (2019). Citotoxicidad diferencial de diferentes tamaños de nanopartículas de óxido de grafeno en células de leydig (TM3) y sertoli (TM4). *Nanomateriales*, 9, 139.
- [13] De Marzi L, Ottaviano L, Perrozzi F, Nardone M, Santucci S, De Lapuente J, Borrás M, Treossi E, Palermo V, Poma A (2014). Evaluación citotóxica dependiente del tamaño de la escama del óxido de grafeno en líneas celulares A549, CaCo2 y vero in vitro. *J Biol Regul Homeost Agents* 28(2):281–289.
- [14] Chang Y, Yang ST, Liu JH, et al. (2011). Evaluación in vitro de la toxicidad del óxido de grafeno en células A549. *Toxicol Lett.*; 200(3):201-210. [doi:10.1016/j.toxlet.2010.11.016](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.11.016)
- [15] Netkueakul W, Korejwo D, Hammer T, Chortarea S, Rupper P, Braun O, Calame M, Rothen-Rutishauser B, Buerki-Thurnherr T, Wick P y Wang W, *Nanoscale*, 2020, DOI: 10.1039/C9NR10245K.
- [16] Ahamed M, Akhtar M.J, Khan M.A.M, Alaizeri Z.M, Alhadlaq H.A. (2019). Evaluación de la citotoxicidad y respuesta al estrés oxidativo de nanocompuestos CeO<sub>2</sub>-RGO en células epiteliales pulmonares humanas A549. *Nanomateriales*, 9, 1709
- [17] Zhang X, Zhou Q, Zou W, Hu X, Molecular mechanisms of developmental toxicity induced by Graphene Oxide at predicted environmental concentrations, *Environ. Sci. Technol.* 51 (2017) 7861e7871, <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01922>
- [18] Pretti C, Oliva M, Di Pietro R, Monni G, Cevasco G, Chiellini F, Pomelli C, Chiappe C (2014) Ecotoxicidad del grafeno prístino para organismos marinos. *Ecotox Environ Seguridad* 101:138–145
- [19] F. Ahmed, D.F. Rodríguez. Investigación de los efectos agudos del óxido de grafeno en la comunidad microbiana de aguas residuales: un estudio de caso. *J. Hazard. Mater.*, 256–257 (2013), pp. 33-39, 10.1016/j.jhazmat.2013.03.064.

- [20] Zanni E, Palleschi C, Uccelletti D, De Bellis G, Sarto MS, 443 Bracciale MP, Broggi A, Santarelli, ML. (2012). Graphite Nanoplatelets and *Caenorhabditis elegans*: Insights from an in Vivo Model. *Nano Lett.*, 12, 6, 2740–2744. [doi/10.1021/nl204388p](https://doi.org/10.1021/nl204388p)
- [21] Astrid C. J, Küpper M, Manders A, Debray B, Lacombe J.M y Kuhlbusch, T.A.J. (2017). Emisiones y posible implicación ambiental de los nanomateriales de ingeniería (ENM) en la atmósfera. *Atmósfera*. 8. 10.3390/atmos8050084.
- [22] Nasirzadeh N, Azari M.R, Rasoulzadeh Y & Mohammadian, Y. (2019). Una evaluación de los efectos citotóxicos de las nanopartículas de grafeno en las células epiteliales del pulmón humano. *Toxicol Ind Health*, 35(1), 79–87. <https://doi.org/10.1177/0748233718817180>
- [23] Xiaoyu G, Gregory V.L, (2018). Avance hacia caracterizaciones estandarizadas y validadas para medir las propiedades fisicoquímicas de nanomateriales manufacturados relevantes para los riesgos de salud y seguridad nano. *NanoImpact*, 9, 14-30. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2017.09.002>
- [24] Froggett S.J, Clancy S.F, Boverhof D.R, et al. (2014). Una revisión y perspectiva de la investigación existente sobre la liberación de nanomateriales a partir de nanocompuestos sólidos, Parte. *Fibra Toxicol.*, 11.
- [25] Nguyen T, Pellegrin B, Bernard C, Rabb S, Stutzman P, Gorham J.M, Gu X, Yu L, Chin J. W. (2012). Caracterización de la acumulación superficial y liberación de nanosílice durante la irradiación de nanocompuestos poliméricos por luz ultravioleta. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2012, 12, 6202–6215.
- [26] Duncan T.V. 2014. Liberación de nanomateriales diseñados a partir de nanocompuestos de polímeros: los efectos de la degradación de la matriz. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7, 20–39. <http://dx.doi.org/10.1021/am5062757>
- [27] Comité Europeo de Normalización (CEN) Definiciones de la fracción del tamaño de las atmósferas del lugar de trabajo para la medición de partículas en el aire, Londres, Inglaterra, 1993
- [28] Koponen IK, Jensen KA, Schneider T. (2009). Lijar polvo de nanopartículas que contienen pinturas: caracterización física. *J Phys: Conf Ser*, 151:012048