



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO:
MÉTODOS DE EVALUACIÓN DEL IMPACTO
AMBIENTAL DE NANOPARTÍCULAS**

Autora: M^a Belén Sena

Tutor: Miguel Ángel Casermeiro Martínez

Convocatoria: Julio - 2018

INDICE:

I.	INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	3
	– APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS	
	– NANOPARTÍCULAS EN EL MEDIO AMBIENTE	
	– MECANISMO DE TOXICIDAD DE LAS NANOPARTÍCULAS	
	– EFECTO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS NANOPARTÍCULAS EN SU TOXICIDAD.	
II.	OBJETIVOS.....	8
III.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
IV.	RESULTADOS.....	8
V.	DISCUSIÓN.....	14
VI.	CONCLUSIONES.....	14

I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La nanotecnología, dedicada al diseño y manipulación de la materia a escala nanométrica, es una de las tecnologías clave del presente siglo. [1]

En general, las nanopartículas (**NPs**) y los nanomateriales (**NMs**) son aquellos que no superan, por lo menos en una de sus dimensiones, los 100 nm. Es por esto que pueden tener nuevas propiedades (reactividad, conductividad, dureza, propiedades ópticas y magnéticas, efectos cuánticos...) que no estén presentes en el mismo material a escala macroscópica, ni sean propias de su forma molecular o atómica.

En teoría, las nanopartículas se pueden producir a partir de casi cualquier compuesto, pero la mayoría de las que se usan en la actualidad se obtienen a partir de **metales de transición, silicio, carbono** (fullerenos C_{60} , SWCN: Single Wall Carbon Nanotubes, MWNT MultiWallNanotubes) y **óxidos metálicos** (ZnO, TiO_2)[2]. En muchos casos las nanopartículas están en forma de nanocristales formados por silicio y metales, dando lugar a los llamados *quantum dots* (QD), nanocristales semiconductores [2].

El principal culpable las nuevas propiedades es el aumento de la relación superficie/volumen, que hace que estas partículas sean más reactivas. Además, para una misma cantidad de compuesto, aquellos contaminantes que se encuentren en escala nanométrica son mayores en número, y por lo tanto pueden ser transportados a más lugares. [3]

APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS Y NANOMATERIALES

Dado que ciertas estructuras biológicas como proteínas, virus o DNA son de tamaño similar al de los nanomateriales, es un hecho que se dan interacciones entre estos y los sistemas biológicos, y por tanto, en los diferentes procesos que regulan [4]. Es por ello que, a la vez que sus características les proporcionan propiedades muy interesantes, aprovechadas en los sectores médico [5-7], ambiental [8] o energético [9] entre otros [10], también les dan el potencial de causar daños al medio ambiente y diferentes organismos. Algunas

de sus aplicaciones, junto con sus beneficios y riesgos, se resumen en la **TABLA 1:**

Tabla 1: Distintas aplicaciones de los nanomateriales, sus riesgos y beneficios.

APLICACIÓN	RIESGOS	BENEFICIOS	REFERENCIA
Geles antimicrobianos con nanopartículas de plata AgNPs	Liberación de antimicrobianos al medio, daños a sistemas microbianos naturales. En la piel: argiria, irritación.	Mejora de la curación de quemaduras y reducción del riesgo de infecciones.	[11,12]
Protectores solares con nanomateriales de TiO ₂ .	Liberación de NPs al medio, posible daño a microorganismos	Solares transparentes de alta protección, aumento del uso de protector solar.	[13] [14]
Administración de fármacos basada en NPS	Hemólisis, formación de coágulos.	Menor toxicidad manteniendo el efecto terapéutico, mayor especificidad.	[15,16]
Aplicaciones médicas de hidroxiapatita y nano-silica en reconstrucción ósea.	Daños a largo plazo debido a los productos del desgaste del material.	Reparación de dientes y hueso usando un material natural ya presente en el cuerpo, se evita una respuesta inmune adversa.	[17]
Nanomateriales para purificar y desalinizar el agua.	Exposición a NPs a través del agua.	Poner remedio a un problema mundial, la escasez de agua dulce.	[18,19]
CNTs en monitores de emisión de campo.	Toxicidad de los CNTs.	Se evita el uso de otros componentes tóxicos, y los CNTs se usan en una cantidad muy pequeña.	[20]

NANOPARTÍCULAS EN EL MEDIO AMBIENTE Y EN LOS ORGANISMOS

Es de suponer que las nanopartículas, de origen natural o antropogénico, tarde o temprano entran en contacto con el medio ambiente, ya sea de forma intencionada o no. Estas emisiones pueden llegar en última instancia a la atmósfera, al agua o al suelo, donde pueden sufrir alteraciones tanto físicas como químicas.

Por último, podrían ser internalizadas por organismos, causando efectos tóxicos en ellos, y ser transmitidas a lo largo de la cadena alimentaria, afectando a poblaciones y

ecosistemas. (**FIGURA 1**)

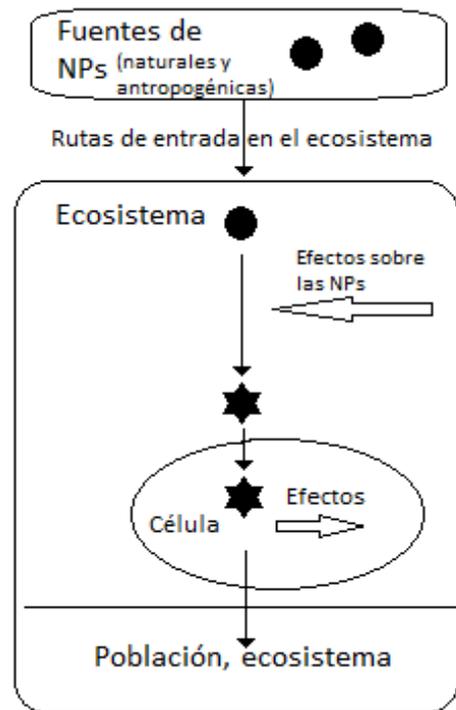


Figura 1: Esquema de eventos que finalizan en la producción de efectos tóxicos en diferentes organismos. Fuente: [21]

Por otro lado, tanto los seres humanos como el resto de organismos están continuamente expuestos al medio. Las principales vías estudiadas son la inhalatoria, la digestiva y la cutánea. Así, las NPs inhaladas pueden pasar a la sangre y al sistema linfático y distribuirse por el organismo a gran cantidad de órganos y tejidos, algunas pueden incluso llegar al cerebro. [21] Las principales rutas de exposición y órganos afectados se representan en la **FIGURA 2**.

Sin embargo, sí es verdad que existen algunas lagunas de conocimiento respecto las rutas de absorción, transporte, distribución e interacción con los sistemas biológicos. [22]

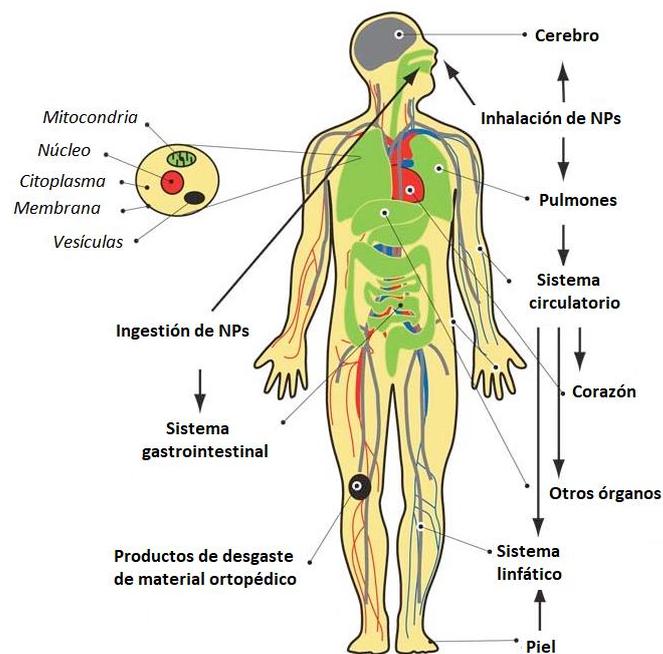


Figura 2: Principales rutas de exposición a nanopartículas y órganos afectados. Fuente: [21]

MECANISMO DE TOXICIDAD DE LAS NPs

Aunque las nanopartículas pueden causar toxicidad por varios mecanismos, el principal es la formación de radicales libres del Oxígeno (**ROS**), que en gran cantidad provocan daños (peroxidación lipídica, alteración de proteínas, mutaciones, escisión del ADN...).

Estos radicales se pueden formar tanto por nanopartículas que contengan metales que catalicen la reacción de Fenton, como por nanomateriales, en principios inertes, capaces de alcanzar las mitocondrias. [23]

EFFECTO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS NPs EN SU TOXICIDAD

En la actualidad, existen muchas variedades de nanopartículas con distinta forma, tamaño, estructura... Esta variedad hace que sea más complicado el análisis de sus riesgos. En general, las propiedades que contribuyen en mayor medida a su toxicidad son:

- **Tamaño y Área superficial:** En general, a menor tamaño, las NPs tienden a una mayor toxicidad pulmonar [24] e inducen respuestas inflamatorias [25]. Esto se puede deber a que cuanto menor es el tamaño, mayor facilidad tienen para entrar en sistemas biológicos y formar complejos con proteínas o modificarlas [26].
- **Forma de la partícula:** las NPs pueden estar en forma de esferas, fibras, tubos... la toxicidad asociada a la forma se relaciona con el efecto que tengan en la fagocitosis por parte de los macrófagos. Se ha visto que es más fácil si la partícula es esférica que si es de tipo fibroso. [27]. Un ejemplo muy representativo es el de la sílice: el tipo amorfo está aprobado por la FDA como aditivo, mientras que el cristalino es cancerígeno [28]. Además, hay estudios en los que se ha concluido que puede influir también la longitud de las fibras [29].
- **Carga:** determina la adsorción de moléculas e iones. Se considera que son más tóxicas las NPs catiónicas que las aniónicas, mientras que las NPs neutras presentan una mayor biocompatibilidad. [30].
- **Composición química:** numerosos estudios han confirmado que la composición química de las NPs sí influye en su toxicidad [31,32], al contrario de lo que se pensaba en un principio.
- **Recubrimiento:** los efectos no deseados de las NPs se pueden eliminar o atenuar recubriendo la nanopartícula con un material adecuado, que, por ejemplo, facilite la endocitosis o modifique su carga. Sin embargo, estos recubrimientos pueden ser degradados por el organismo, convirtiéndose en un peligro. Una de las opciones más empleadas es el polietilenglicol, por ser ampliamente conocido y biocompatible. [33]
- **Medio que contiene las NPs:** parámetro como el pH o la fuerza iónica del medio en que se hallen suspendidas las NPs pueden hacer que su comportamiento sea distinto. Si bien se debe evitar a toda costa que las partículas se agreguen, el uso de algunos agentes dispersantes puede aumentar la toxicidad de las NPs.[34]

II. OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivo realizar una revisión bibliográfica de los conocimientos actuales acerca de los aspectos relacionados con los efectos que tienen las nanopartículas en el ambiente y en los organismos, planteando los siguientes apartados:

- Conocer el impacto medioambiental de las nanopartículas.
- Identificar los procedimientos usados para evaluar la exposición a las NPs.
- Identificar los modelos toxicológicos usados que se aplican a las NPs: *in vivo*, *in vitro* e *in silico*.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se ha realizado mediante la búsqueda de artículos científicos en diferentes bases de datos informatizadas. Las bases de datos que han servido para la localización de artículos que fuesen de utilidad en esta revisión bibliográfica son PubMed, ScienceDirect, ResearchGate, entre otras, y revistas científicas como Elsevier.

Se han seleccionado aquellos artículos más relevantes para la finalidad del estudio, de los que se extrajeron los principales resultados y conclusiones.

IV. RESULTADOS

IMPACTO DE LAS NPS EN EL MEDIOAMBIENTE

Emisión de nanopartículas

Varios estudios documentan la emisión de nanopartículas en las diferentes etapas de su ciclo de vida: producción [35], uso [36] y eliminación o reciclaje. [37]

Destino de las nanopartículas en el medioambiente.

Se han desarrollado modelos para predecir el comportamiento de los nanomateriales en sistemas acuáticos y así evaluar posibles emisiones y distintos escenarios de exposición, así como modelos para predecir la concentración de nanomateriales en el medio ambiente. Estos métodos combinan modelizaciones y técnicas analíticas que se pueden utilizar para validarlos., como la ICP – MS (espectrometría de masas) [38], o la ICP – AES (espectroscopía de emisión atómica) [39].

En 2008 se desarrolló por primera vez un modelo basado en el análisis de flujo de materiales que incluía dos escenarios de emisión, uno que reflejaba el conocimiento actual en ese momento y uno de el peor caso. [40]

Más tarde, en 2013, se intentó desarrollar un modelo del flujo de nanomateriales durante la incineración de desechos y su deposición en vertederos. Se modelizaron nanopartículas de TiO₂, ZnO, Ag y CNT. El estudio puso de manifiesto que la mayor parte del flujo va desde la planta de incineración hasta el vertedero en forma de cenizas.[41]

También se propuso un modelo basado en el flujo de partículas para evaluar la emisión de nanomateriales al medio, incluyendo datos como el consumo per cápita de nanoproducos manufacturados (ENMs:Engineered NanoMaterials), su tiempo de vida y sus concentraciones. El modelo se aplicó a NPs de TiO₂ en protectores solares y pinturas, resultando que la mayoría de las emisiones provenían del uso de solares. [36]

MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN DE LAS NPs

La que mayor importancia cobra en la actualidad es la **exposición ocupacional**. [42]

Actualmente se dispone de modelos simplificados para evaluación de riesgos de exposición:

- **Cuantitativos:**

Equipos que dan diferentes datos (masa por unidad de volumen, nº de partículas por unidad de volumen, área superficial, distribución de tamaño de partícula) que se pueden relacionar con la exposición. Los más utilizados son el

CPC (Condensation Particle Counter), el SMPS (Scanning or Stepped Mobility Particle Sizer) y el ELPI (Electrometer Low Pressure Impactors).

Estos equipos tienen limitaciones a la hora de medir exposiciones de NPs en lugares de trabajo, no resultan adecuados para el muestreo personal, y es difícil discriminar entre las NPs de fondo y las procedentes de la exposición laboral. [43]

- **Cualitativos (control banding)**

Método Stoffenmanager Nano 1.0: herramienta disponible de forma on-line (www.stoffenmanager.nl) para ayudar a los trabajadores a priorizar riesgos por exposición a NPs. Presenta un esquema con dos bandas, una de **exposición** y una de **peligro**, cuya combinación da lugar a bandas de riesgo 1, 2 y 3, siendo la 1 la de mayor prioridad.

Ventajas: fácil uso, conceptos comprensibles y manejo de parámetros de fácil obtención. Permite aplicar medidas de control o decidir si realizar una investigación más exhaustiva de evaluación de riesgos.

Limitaciones: la partícula debe ser insoluble y solo considera las fibras persistentes. [44]

Peligro / Exposición	Peligro				
	A	B	C	D	E
1	3	3	3	2	1
2	3	3	2	2	1
3	3	2	2	1	1
4	2	1	1	1	1

Figura 3: bandas de riesgo. Fuente:[44]

Nanotool 2.0: herramienta on-line (www.controlbanding.net) que, a partir de factores basados en las propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de las NPs a estudiar y del material, asigna un valor de severidad y otro de probabilidad,

que combinados dan lugar a una matriz con 4 niveles de riesgo, cada una con sus correspondientes medidas de control.

- Nivel de Riesgo 1 (RL1): Ventilación general.
- Nivel de Riesgo 2 (RL2): Extracción localizada.
- Nivel de Riesgo 3 (RL3): Confinamiento.
- Nivel de Riesgo 4 (RL4): Solicitar asesoramiento externo.

Ventajas: tanto para nanomateriales solubles como insolubles en agua, incluye otras formas además de las fibras persistentes.

Limitaciones: en lo relativo a duración de la tarea, para un tiempo menor a 30 min la puntuación asignada es 0 en exposición, así como si la frecuencia es menor que mensual. [45]

	Extremely Unlikely (0-25)	Less Likely (26-50)	Likely (51-75)	Probable (76-100)
Very High (76-100)	RL 3	RL 3	RL 4	RL 4
High (51-75)	RL 2	RL 2	RL 3	RL 4
Medium (26-50)	RL 1	RL 1	RL 2	RL 3
Low (0-25)	RL 1	RL 1	RL 1	RL 2

Figura 4: niveles de riesgo. Fuente:[45]

MÉTODOS DE EVALUACIÓN TOXICOLÓGICOS

La comunidad científica analiza la toxicidad de las NPs de distintas maneras, a continuación se resumen los métodos junto con los principales efectos observados, clasificados en *in vitro*, *in vivo* e *in silico*:

ESTUDIO	LÍNEAS CELULARES	NPs	EFEECTO	REFERENCIA
IN VITRO	Líneas celulares hepáticas y gonadales de trucha arcoíris, carcinoma hepatocelular y hepatoma de <i>Poeciliopsis lucida</i> .	TiO ₂	Toxicidad despreciable	[46]
	Fibroblastos humanos, carcinoma hepatocelular humano, línea de astrocitos normales	Fullerenos C ₆₀	Estrés oxidativo: oxidación lipídica	[47]
	Fibroblastos de origen humano	CeO ₂	Citotoxicidad, genotoxicidad	[48]
	Células epiteliales de pulmón humano	SiO ₂ + Pb	Genotoxicidad, estrés oxidativo.	[49]
	Células madre espermatozonales	Ag, MoO ₃ , Al	Citotoxicidad	[50]
	Carcinoma hepatocelular humano	Au	Estrés oxidativo	[51]
	Queratinocito humano y carcinoma de pulmón humano	Ag	Citotoxicidad	[52]
	Carcinoma hepatocelular humano	Ag	Aceleración de proliferación celular a bajas dosis. Descenso del metabolismo mitocondrial, citotoxicidad a altas dosis.	[53] [54]
Epitelio alveolar humano y líneas celulares humanas de monocito	Ag, TiO ₂ , CuO	Citotoxicidad moderada	[55]	

IN VIVO	MODELO	NPs	RESULTADO	REFERENCIA
	Algas verdes	TiO₂	Toxicidad, mayor en presencia de radiación UV.	[56]
	Embriones de pez cebra (<i>Danio rerio</i>):	Ag, Au, Pt	Ag: elevada mortalidad, retraso de eclosión, malformaciones en ojos. Pt: reducción del ritmo cardíaco, retraso en eclosión Au: no toxicidad	[57]
	Ranas del género <i>Xenopus</i>	Fe₂O₃, TiO₂, ZnO CuO	CuO, ZnO: anomalías gastrointestinales a concentraciones de 3.16 mg L ⁻¹ (ZnO). A dosis más altas de ZnO: malformaciones	[58][59]
	Ratones	TiO₂ SWCNTs	TiO ₂ : Genotoxicidad SWCNTs: Toxicidad pulmonar (granulomas)	[60] [61]
	Ratas Wistar	AgNPs Au NPs	Ag: alteraciones en el esperma Au: no toxicidad aguda. Bioacumulación	[62][51]
	Macacos	CdSe/CdS/ ZnS quantum dots	No toxicidad	[63]

IN SILICO	MÉTODO	NPs	CARACTERÍSTICAS	REFERENCIA
	nanoQSAR	NPs de óxidos metálicos	Predecir las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los nanomateriales, y para obtener una hipotética toxicidad.	[64]
	consExpoNANO	Nanomateriales en aerosol	Modelar la exposición a nanomateriales en productos en aerosol.	[65]
	PBPK (physiologically based pharmacokinetic)	TiO₂	Predecir serie ADME en el ser humano y animales	[66]

V. DISCUSIÓN

La revisión de la literatura disponible acerca de las nanopartículas realizada pone de manifiesto los efectos que tienen en los organismos, sin embargo, no está claro a qué concentración de NPs se producen estos efectos, ni si los efectos perjudiciales serán resultado de una toxicidad aguda o crónica.

No obstante, este desconocimiento no quiere decir que no existan, si no que faltan datos o tiempo para conocerlos.

Es por ello que algunas instituciones como IFA (Instituto de Seguridad Laboral de Alemania) o BSI (British Standards Institution) han propuesto unos valores límite prácticos, como medida de control. Parece ser que se podrían establecer valores límite para NMs con la misma identidad molecular [67]

Por otro lado, los métodos cualitativos son útiles para evaluar riesgos por exposición a NMs, ya que la evaluación cuantitativa es difícil en la actualidad. Sin embargo es importante destacar que estas herramientas han sido desarrolladas para evaluar situaciones de producción a pequeña escala, por lo que, para para aplicarla a procesos industriales, sería necesario modificarlas. [44]

VI. CONCLUSIONES

IMPACTO DE LAS NPS EN EL MEDIO AMBIENTE

- La liberación y exposición a NPs manufacturadas puede ocurrir durante todo su ciclo de vida: síntesis, uso, aplicación o tratamiento de productos que contengan NPs y en el reciclado o eliminación de desechos.

MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A NPs

- Los métodos utilizados para la exposición ocupacional, tanto cuantitativos como cualitativos, son bastante limitados, pero sirven como herramienta a la hora de tomar decisiones en aquellas industrias que estén en contacto con nanomateriales.

MÉTODOS DE EVALUACIÓN TOXICOLÓGICOS

- Los estudios de toxicidad de las nanopartículas *in vitro* e *in vivo* muestran sus efectos negativos en forma de citotoxicidad, genotoxicidad y daño en las mitocondrias a elevadas dosis.
- Para un mismo tipo de NP (por ejemplo TiO₂) no siempre se correlacionan los resultados de estudios *in vitro* e *in vivo*.
- Además de toxicidad, se han hallado fenómenos de acumulación, por lo que sería conveniente estudiar procesos de bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación.
- Los estudios *in silico* son una buena herramienta para predecir efectos toxicológicos tanto en humanos como en animales, siempre complementando a los estudios *in vitro* e *in vivo*.
- Las NPs de las que mayor información se dispone son las de Ag y las de TiO₂, probablemente por su amplio uso.
- La entrada de las nanopartículas al organismo puede causar efectos adversos, y se dispone de conocimientos muy limitados, por lo que se deberían tratar con precaución.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Kevin L. Dreher; Health and Environmental Impact of Nanotechnology: Toxicological Assessment of Manufactured Nanoparticles, *Toxicological Sciences*, Volume 77, Issue 1, 1 January 2004, Pages 3–5, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh041>

[2] C. B. Murray and C. R. Kagan M. G. Bawendi, Synthesis and Characterization of Monodisperse Nanocrystals and Close-Packed Nanocrystal Assemblies, *Annu. Rev. Mater. Sci.* 2000. 30:545–610.

[3] Klaine, S. J., Koelmans, A. A., Horne, N. , Carley, S. , Handy, R. D., Kapustka, L. , Nowack, B. and von der Kammer, F. (2012), Paradigms to assess the

environmental impact of manufactured nanomaterials. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31: 3-14. doi:[10.1002/etc.733](https://doi.org/10.1002/etc.733)]

[4] Supratim G., 2014. *Microbial Biodegradation and Bioremediation*, chapter 3 - Nanotoxicity: Aspects and Concerns in Biological Systems, Elsevier.

[5] De Jong, W. H., & Borm, P. J. (2008). Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *International Journal of Nanomedicine*, 3(2), 133–149.

[6] Zhang, L. , Gu, F. , Chan, J. , Wang, A. , Langer, R. and Farokhzad, O. (2008), Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83: 761-769. doi:[10.1038/sj.clpt.6100400](https://doi.org/10.1038/sj.clpt.6100400)

[7] Xiaohua H., Prashant K J., El-Sayed I. H. and El-Sayed M. A. (2007)Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy, *Nanomedicine* 2:5, 681-693 doi:
<https://doi.org/10.2217/17435889.2.5.681>

[8] Masciangioli, T. and Zhang , W.X, 2003 Peer Reviewed: Environmental Technologies at the Nanoscale: Nanotechnology could substantially enhance environmental quality and sustainability through pollution prevention, treatment, and remediation. *Environ. Sci. Technol.* 37, 5, 102A-108A

[9] Kong, X., & Ohadi, M. (2010, January 1). Applications of Micro and Nano Technologies in the Oil and Gas Industry - Overview of the Recent Progress. Society of Petroleum Engineers. doi:10.2118/138241-MS

[10] Ladan Rashidi & Kianoush Khosravi-Darani (2011) The Applications of Nanotechnology in Food Industry, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:8, 723-730, DOI: [10.1080/10408391003785417](https://doi.org/10.1080/10408391003785417)

[11] Jaya Jain, Sumit Arora, Jyutika M. Rajwade, Pratibha Omray, Sanjeev Khandelwal, and Kishore M. Paknikar, **2009, Silver Nanoparticles in Therapeutics: Development of an Antimicrobial Gel Formulation for Topical Use**; *Molecular Pharmaceutics* 6 (5), 1388-1401 DOI:10.1021/mp900056g

[12] Panyala, N.R.; Peña-Méndez, E. M.; Havel, J. 2008, Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health? *Journal of Applied Biomedicine (De Gruyter Open)*, Vol. 6 Issue 3, p117-129.

[13] A P Popov, A V Priezzhev, J Lademann and R Myllylä, 2005, TiO₂ nanoparticles as an effective UV-B radiation skin-protective compound in sunscreens *Journal of Physics D: Applied Physics*, Vol. 38, Number 15.

[14] Osmond M.J., McCall M.J.; 2010; Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens: An analysis of potential exposure and hazard; *Journal Nanotox.* Vol. 4, - Issue 1, p15-41 <https://doi.org/10.3109/17435390903502028>

- [15] De Jong, W. H., & Borm, P. J. (2008). Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *International Journal of Nanomedicine*, 3(2), 133–149.
- [16] Paul JA Borm, Detlef Müller-Schulte 2006 ; Nanoparticles in drug delivery and environmental exposure: same size, same risks?
<https://doi.org/10.2217/17435889.1.2.235>
- [17] Loo, S.C.J.; Moore, T.; Banik, B.; Alexis, 2010, Biomedical Applications of Hydroxyapatite Nanoparticles; Current Pharmaceutical Biotechnology, Volume 11, Number 4, , pp. 333-342(10) Bentham Science Publishers
<https://doi.org/10.2174/138920110791233343>
- [18] Dankovich, T. A., & Smith, J. A. (2014). Incorporation of copper nanoparticles into paper for point-of-use water purification. *Water Research*, 63, 245–251.
<http://doi.org/10.1016/j.watres.2014.06.022>
- [19] Hanaa M. Hegab, Linda Zou, 2015 Graphene oxide-assisted membranes: Fabrication and potential applications in desalination and water purification, *Journal of Membrane Science*, Vol 484, Pages 95-106,
<https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.03.011>.
- [20] N.S. Lee, D.S. Chung, I.T. Han, J.H. Kang, Y.S. Choi, H.Y. Kim, S.H. Park, Y.W. Jin, W.K. Yi, M.J. Yun, J.E. Jung, C.J. Lee, J.H. You, S.H. Jo, C.G. Lee, J.M. Kim, 2001, Application of carbon nanotubes to field emission displays, *Diamond and Related Materials*, Volume 10, Issue 2, , p265-270,
[https://doi.org/10.1016/S0925-9635\(00\)00478-7](https://doi.org/10.1016/S0925-9635(00)00478-7).
- [21] (2007) *Biointerphases 2*, MR17 Buzea, C; Pacheco I., Robbie, K.
<https://doi.org/10.1116/1.2815690>
- [22] Celia Tanarro Gozalo, Virginia Gálvez Pérez, 2009, Nanopartículas ¿un riesgo pequeño? Seguridad y salud en el trabajo, ISSN 1886-6123, N°. 52, p:34-44
- [23] Sharifi S, Behzadi S, Laurent S, Forrest ML, Stroeve P, Mahmoudi M. Toxicity of nanomaterials. *Chemical Society reviews*. 2012;41(6):2323-2343. doi:10.1039/c1cs15188f.
- [24] Oberdorster G, Ferin J, Lehnert BE. Correlation between particle-size, in-vivo particle persistence, and lung injury. *Environ Health Perspect*. 1994; 102:173–179. [PubMed: 7882925]
- [25] [Holgate ST. Exposure, uptake, distribution and toxicity of nanomaterials in humans. *J Biomed Nanotechnol*. 2010; 6:1–19. [PubMed: 20499827]

- [26] Aggarwal P, Hall JB, McLeland CB, Dobrovolskaia MA, McNeil SE. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. *Adv Drug Delivery Rev.* 2009; 61:428–437.
- [27] Champion JA, Mitragotri S. Role of target geometry in phagocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103:4930–4934. [PubMed: 16549762]
- [28] Petersen EJ, Nelson BC. Mechanisms and measurements of nanomaterial-induced oxidative damage to DNA. *Anal Bioanal Chem.* 2010; 398:613–650. [PubMed: 20563891]
- [29] Hamilton RF, Wu NQ, Porter D, Buford M, Wolfarth M, Holian A. Particle length-dependent titanium dioxide nanomaterials toxicity and bioactivity. *Part Fibre Toxicol.* 2009; 6
- [30] Goodman CM, McCusker CD, Yilmaz T, Rotello VM. Toxicity of gold nanoparticles functionalized with cationic and anionic side chains. *Bioconjugate Chem.* 2004; 15:897–900.]
- [31] Griffitt RJ, Luo J, Gao J, Bonzongo JC, Barber DS. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms. *Environ Toxicol Chem.* 2008; 27:1972–1978. [PubMed: 18690762]]
- [32] Gojova A, Guo B, Kota RS, Rutledge JC, Kennedy IM, Barakat AI. Induction of Inflammation in Vascular Endothelial Cells by Metal Oxide Nanoparticles: Effect of Particle Composition. *Environmental Health Perspectives.* 2007;115(3):403-409. doi:10.1289/ehp.8497.]
- [33] Oberdörster, E. (2004). Manufactured Nanomaterials (Fullerenes, C₆₀) Induce Oxidative Stress in the Brain of Juvenile Largemouth Bass. *Environmental Health Perspectives*, 112(10), 1058–1062. <http://doi.org/10.1289/ehp.7021>
- [34] Sager TM, Porter DW, Robinson VA, Lindsley WG, Schwegler-Berry DE, Castranova V. Improved method to disperse nanoparticles for in vitro and in vivo investigation of toxicity. *Nanotoxicology.* 2007; 1:118–129
- [35] Johnson, A. C., Bowes, M. J., Crossley, A., Jarvie, H. P., Jurkschat, K., Jürgens, M. D., Lawlor, A. J., Park, B., Rowland, P., Spurgeon, D., Svendsen, C.,

Thompson, I. P., Barnes, R. J., Williams, R. J. and Xu, N. (2011). An assessment of the fate, behaviour and environmental risk associated with sunscreen TiO₂ nanoparticles in UK field scenarios. *Science of the Total Environment* **409**(13): 2503-2510. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2011.03.040

[36] Arvidsson, R. , Molander, S. and Sandén, B. A. (2012), Particle Flow Analysis. *Journal of Industrial Ecology*, 16: 343-351. doi:[10.1111/j.1530-9290.2011.00429.x](https://doi.org/10.1111/j.1530-9290.2011.00429.x)

[37] Ruiz Gallardo O. *Nanomateriales y salud laboral. Estudio del impacto económico de una propuesta de solución reglamentaria*. Trabajo de Fin de Carrera, Universidad Politécnica de Cataluña, 2015

[38] Scheffer, A., Engelhard, C., Sperling, M. et al. *Anal Bioanal Chem* (2008) 390: 249. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1576-5>

[39] Sıtkı Baytak, Fahmida Zereen, Zikri Arslan, Preconcentration of trace elements from water samples on a minicolumn of yeast (*Yamadazyma spartinae*) immobilized TiO₂ nanoparticles for determination by ICP-AES, *Talanta*, Volume 84, Issue 2, 2011, Pages 319-323, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.01.020>.

[40] Mueller N.C., Nowack, B; 2008; Exposure Modeling of Engineered Nanoparticles in the Environment *Environ. Sci. Technol.*, 2008, 42 (12), pp 4447–4453 DOI: 10.1021/es7029637

[41] Ralf Kaegi, Andreas Voegelin, Christoph Ort, Brian Sinnet, Basilius Thalmann, Jasmin Krismer, Harald Hagendorfer, Maline Elumelu, Elisabeth Mueller, 2013, Fate and transformation of silver nanoparticles in urban wastewater systems, *Water Research*, Vol 47, Issue 12, p3866-3877, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.11.060>.

[42] Schneider T, Brouwer DH, Koponen IK *et al*. Conceptual model for assessment of inhalation exposure to manufactured nanoparticles. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2011; **21**: 450–63.

[43] Tanarro, C. and Gálvez, V., Nanopartículas: ¿Un riesgo pequeño?, Instituto de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2009.]

[44] C. Tanarro Gozalo, “NTP 877: Evaluación del riesgo por exposición a nanopartículas mediante el uso de metodologías simplificadas.”

[45] instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo (INSHT) NTP 877. Evaluación del riesgo por exposición a nanopartículas mediante el uso de metodologías simplificadas

[46] Bermejo-Nogales, A., Connolly, M., Rosenkranz, P., Fernández-Cruz, M., & Navas, J. M. (2017). Negligible cytotoxicity induced by different titanium dioxide nanoparticles in fish cell lines. *Ecotoxicology and environmental safety*, 138(), 309-319. doi: [10.1016/j.ecoenv.2016.12.039](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.12.039)

[47] Christie M.SayesaAndre M.GobinbKevin D.AusmancJoeMendezzaJennifer L.WestbcVicki L.Colvinac 2005 Nano-C60 cytotoxicity is due to lipid peroxidation, *Biomaterials* Volume 26, Issue 36, , Pages 7587-7595 doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.05.027>

[48] Melanie Auffan, Jerome Rose, Thierry Orsiere, Michel De Meo, Antoine Thill, Ophelie Zeyons, Olivier Proux, Armand Masion, Perrine Chaurand, Olivier Spalla, Alain Botta, Mark R. Wiesner & Jean-Yves Bottero (2009) CeO₂ nanoparticles induce DNA damage towards human dermal fibroblasts *in vitro*, *Nanotoxicology*, 3:2, 161-171, DOI: [10.1080/17435390902788086](https://doi.org/10.1080/17435390902788086)

[49] Lu, C., Yuan, X., Li, L., Zhou, W., Zhao, J., Wang, Y., & Peng, S. (2015). Combined exposure to nano-silica and lead induced potentiation of oxidative stress and DNA damage in human lung epithelial cells. *Ecotoxicology and environmental safety*, 122(), 537-544. doi: [10.1016/j.ecoenv.2015.09.030](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.09.030)

[50] L aura Braydich-Stolle, Saber Hussain, John J. Schlager, Marie-Claude Hofmann; 2005, *In Vitro* Cytotoxicity of Nanoparticles in Mammalian Germline Stem Cells, *Toxicological Sciences*, Volume 88, Issue 2, p.412–419, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi256>

[51] Carlos Lopez-Chaves, Juan Soto-Alvaredo, Maria Montes-Bayon, Jörg Bettmer, Juan Llopis, Cristina Sanchez-Gonzalez, 2018, Gold nanoparticles: Distribution, bioaccumulation and toxicity. In vitro and in vivo studies, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, Vol 14, Issue 1, Pages 1-12 <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.08.011>

[52] Garvey, M., Padmanabhan, S. and Pillai, S. (2017) 'In vitro cytotoxicity of water soluble silver (Ag) nanoparticles on HaCat and A549 cell lines', *Journal of Toxicology and Pharmacology*, 1(3), 016 (8pp)

[53] Renata Rank Miranda, Arandi Ginane Bezerra Jr, Ciro Alberto Oliveira Ribeiro, Marco Antônio Ferreira Randi, Carmen Lúcia Voigt, Lilian Skytte, Kaare Lund Rasmussen, Frank Kjeldsen, Francisco Filipak Neto, Toxicological interactions of silver nanoparticles and non-essential metals in human hepatocarcinoma cell line, *Toxicology in Vitro*, Volume 40, 2017, Pages 134-143, <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.01.003>.

[54] [In Vitro Toxicity of Silver Nanoparticles at Noncytotoxic Doses to HepG2 Human Hepatoma Cells Koji Kawata, Masato Osawa, and Satoshi Okabe *Environmental Science & Technology* 2009 43 (15), 6046-6051 DOI: 10.1021/es900754q]

[55] Comparative toxicity of 24 manufactured nanoparticles in human alveolar epithelial and macrophage cell lines; Sophie Lanone Email author, Françoise Rogerieux, Jorina Geys, Aurélie Dupont, Emmanuelle Maillot-Marechal, Jorge Boczkowski, Ghislaine Lacroix and Peter Hoet; *Particle and Fibre Toxicology* 2009:14 <https://doi.org/10.1186/1743-8977-6-14>

[56] Skocaj M, Filipic M, Petkovic J, Novak S. Titanium dioxide in our everyday life; is it safe? *Radiology and Oncology*. 2011;45(4):227-247. doi:10.2478/v10019-011-0037-0.

[57] P. V. Asharani, Yi lianwu, Zhiyuan Gong & Suresh Valiyaveetil (2010) Comparison of the toxicity of silver, gold and platinum nanoparticles in developing zebrafish embryos, *Nanotoxicology*, 5:1, 43-54, DOI: 10.3109/17435390.2010.489207

[58] Dumont J.N., Schultz T.W., Buchanan M.V., Kao G.L. (1983) Frog Embryo Teratogenesis Assay: *Xenopus* (FETAX) — A Short-Term Assay Applicable to Complex Environmental Mixtures. In: Waters M.D., Sandhu S.S., Lewtas J., Claxton L., Chernoff N., Nesnow S. (eds) *Short-Term Bioassays in the Analysis of Complex Environmental Mixtures III*. Environmental Science Research, vol 27. Springer, Boston, MA

[59] Shawna Nations, Mike Wages, Jaclyn E. Cañas, Jonathan Maul, Chris Theodorakis, George P. Cobb, Acute effects of Fe₂O₃, TiO₂, ZnO and CuO nanomaterials on *Xenopus laevis*, *Chemosphere*, Volume 83, Issue 8, 2011, Pages 1053-1061, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.061>.]

[60] Titanium Dioxide Nanoparticles Induce DNA Damage and Genetic Instability *In vivo* in Mice Benedicte Trouiller, Ramune Reliene, Aya Westbrook, Parrisa

Solaimani and Robert H. Schiestl Cancer Res November 3 2009 DOI:
10.1158/0008-5472.CAN-09-2496

[61]Chiu-Wing Lam, John T. James, Richard McCluskey, Robert L. Hunter;
Pulmonary Toxicity of Single-Wall Carbon Nanotubes in Mice 7 and 90 Days After
Intratracheal Instillation, Toxicological Sciences, Volume 77, Issue 1, 1 January
2004, Pages 126–134, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg243>

[62]Francielle T. Mathias, Renata M. Romano, Marina M. L. Kizys, Teresa
Kasamatsu, Giselle Giannocco, Maria I. Chiamolera, Magnus R. Dias-da-Silva &
Marco A. Romano (2014) Daily exposure to silver nanoparticles during prepubertal
development decreases adult sperm and reproductive parameters, Nanotoxicology,
9:1, 64-70, DOI: [10.3109/17435390.2014.889237](https://doi.org/10.3109/17435390.2014.889237)

[63] Ling Ye, Ken-Tye Yong, Liwei Liu, Indrajit Roy, Rui Hu, Jing Zhu, Hongxing
Cai, Wing-Cheung Law, Jianwei Liu, Kai Wang, Jing Liu, Yaqian Liu, Yazhuo Hu,
Xihe Zhang, Mark T. Swihart & Paras N. Prasad, A pilot study in non-human
primates shows no adverse response to intravenous injection of quantum dots,
2012, Nature Nanotechnology volume 7, pag 453–458 doi:10.1038/nnano.2012.74

[64] Using nano-QSAR to predict the cytotoxicity of metal oxide nanoparticles

Tomasz Puzyn, Bakhtiyor Rasulev, Agnieszka Gajewicz, Xiaoke Hu, Thabitha P.
Dasari, Andrea Michalkova, Huey-Min Hwang, Andrey Toropov, Danuta
Leszczynska & Jerzy Leszczynski Nature Nanotechnology volume 6, pages 175–
178 (2011)]

[65] <https://www.consexponano.nl/>]

[66] Gerald Bachler, Natalie von Goetz & Konrad Hungerbuhler (2015) Using
physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling for dietary risk
assessment of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles, Nanotoxicology, 9:3, 373-380,
DOI: [10.3109/17435390.2014.940404](https://doi.org/10.3109/17435390.2014.940404)

[67] Schulte, P.A., Murashov, V., Zumwalde, R. et al. J Nanopart Res (2010)
Occupational exposure limits for nanomaterials: state of the art 12: 1971.
<https://doi.org/10.1007/s11051-010-0008-1>