

Virginia Gómez Jiménez

Aerosoles formados por nanomateriales. Monitorización y evaluación de la exposición en entornos laborales

Departamento
Ingeniería Química y Tecnologías del Medio
Ambiente

Director/es
Irusta, Silvia
Santamaría Remiro, Jesús

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

**AEROSOLIOS FORMADOS POR
NANOMATERIALES: MONITORIZACIÓN Y
EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN EN ENTORNOS
LABORALES**

Autor

Virginia Gómez Jiménez

Director/es

Irusta, Silvia
Santamaría Remiro, Jesús

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente

2014

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA



**AEROSOL FORMADOS POR NANOMATERIALES. MONITORIZACIÓN Y
EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN EN ENTORNOS LABORALES**

ÁREA DE INGENIERÍA QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y TECNOLOGÍAS DEL MEDIO AMBIENTE

Memoria para optar al grado de Doctor por la Universidad de Zaragoza presentada por

VIRGINIA GÓMEZ JIMÉNEZ

ZARAGOZA, 2014

DIRECTORES:

SILVIA IRUSTA

JESÚS SANTAMARÍA

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA



ÁREA DE INGENIERÍA QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y TECNOLOGÍAS DEL MEDIO AMBIENTE

**AEROSOL FORMADOS POR NANOMATERIALES.
MONITORIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN EN
ENTORNOS LABORALES**

Memoria para optar al grado de Doctor por la Universidad de Zaragoza presentada por:

Virginia Gómez Jiménez

Zaragoza, 2014

Jesús Santamaría, Catedrático de Universidad del Departamento Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente de la Universidad de Zaragoza y **Silvia Iruستا**, Profesora del Departamento Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente de la Universidad de Zaragoza,

CERTIFICAN

Que la presente memoria titulada:

“Aerosoles formados por nanomateriales. Monitorización y evaluación de la exposición en entornos laborales”

se ha realizado bajo su dirección por **Virginia Gómez Jiménez**, autorizando su presentación en la modalidad de compendio de publicaciones.

Y para que así conste, firmamos este certificado en Zaragoza a de del
2014

Fdo.: -----

Fdo.: -----

INFORME DEL ORGANISMO RESPONSABLE DEL PROGRAMA DE DOCTORADO

Los doctores:

-
-

que forman parte de la **Comisión Académica responsable del programa de doctorado** al que se acoge la presente tesis en modalidad de compendio de artículos.

CERTIFICAN:

Que la presente Memoria titulada "**Aerosoles formados por nanomateriales. Monitorización y evaluación de la exposición en entornos laborales**", corresponde al trabajo realizado por la Licenciada Dña. Virginia Gómez Jiménez en la Universidad de Zaragoza.

Que el compendio de publicaciones incluido en la presente tesis doctoral está formado por más de 4 artículos publicados en revistas incluidas en la relación de revistas del Journal of Citation Reports con fecha posterior a la de inicio de los estudios de Doctorado de Virginia Gómez cumpliendo los requisitos necesarios para la presentación de la Tesis en la modalidad de compendio de publicaciones según la normativa vigente.

Por tanto autorizan su presentación para optar al grado de Doctor

Para que así conste, expedimos el presente certificado en Zaragoza, a ____ de ____ de 2014

Fdo:

Fdo.:

La presente Tesis Doctoral está constituida por un compendio de trabajos de investigación previamente publicados y/o en proceso de publicación en diversas revistas científicas de carácter internacional.

A continuación se indican las referencias completas de los mismos:

1. Gómez V., Irusta S., Balas F. y Santamaria J., "Generation of TiO₂ aerosols from liquid suspensions: Influence of colloid characteristics". *Aerosol Science and Technology*, 2013: p. 1383-1392.
2. Gómez V., Alguacil F. J., y Alonso M., "Deposition of Aerosol Particles below 10 nm on a Mixed Screen-Type Diffusion Battery". *Aerosol and air quality research*, Volume 12, 2012, p. 457-462.
3. Campardelli R., Della Porta G., Gomez V., Irusta S., Reverchon E. y Santamaria J. "Titanium Dioxide nanoparticles encapsulation in PLA by Supercritical Emulsion Extraction to produce photoactivable microspheres". *Journal of Nanoparticle Research*, 2013. 15(10): p. 1-11. H
4. Gomez V., Clemente A., Irusta S., Balas F. y Santamaria J. "Identification of TiO₂ nanoparticles using La and Ce as labels. Application to the evaluation of surface contamination during the handling of nano-sized matter". Manuscrito aceptado en la revista *Environmental Science: Nano*, 2014
5. Gomez V., Irusta, S., Balas F., Navascués N. y Santamaria J. "Unintended emission of nanoparticle aerosols during common laboratory handling operations". *Journal of Hazardous Materials*, 2014. 279(0): p. 75-84
6. Gomez V., Balu A. M., Serrano-Ruiz J. C., Irusta S., Dionysiou D. D., Luque R., y Santamaría J., "Microwave-assisted mild-temperature preparation of neodymium-doped titania for the improved photodegradation of water contaminants". *Applied Catalysis A: General*, 2012, 441-442(0): p. 47-53.
7. Gómez V., Irusta S., Balas F. y Santamaria J., "Intense generation of respirable metal nanoparticles from a low-power soldering unit". *Journal of Hazardous Materials*, Volume 257, 2013, p. 84-9.
8. Gómez V., Levin M., Saber AT., Irusta S., Dal Maso M., Hanoi R., Santamaría J., Jensen K. A., Wallin H. y Koponen I. K., "Nanomaterial release from nanocomposites during reworking process". Aceptado en la revista *Annals of Occupational Hygiene*, 2014

Todos los manuscritos están publicados e indexados en revistas cuyo índice está incluido en el Journal of Citation Reports (JCR) excepto en el caso del artículo 4 del compendio ya que la revista **Environmental Science: Nano**, perteneciente a la Royal Society of Chemistry, es de reciente creación y todavía no ha sido incluida en el JCR.

ÍNDICE

ÍNDICE

TABLA DE ILUSTRACIONES

INTRODUCCIÓN

1 Nanotecnología

- 1.1 ¿Qué son los nanomateriales? Definición de nanomaterial y características
- 1.2 Aplicaciones y productos de consumo
- 1.3 Impacto de la Nanotecnología en el medio ambiente y en la salud

2 Nanoseguridad

- 2.1 Riesgos potenciales de los nanomateriales
- 2.2 Exposición a nanomateriales
- 2.3 Evaluación de riesgo y control de exposición
 - 2.3.1 Partículas aerosolizadas
 - 2.3.2 Superficies contaminadas por nanomateriales
- 2.4 Marcaje y detección específica de nanomateriales

3 Compendio de trabajos y unidad temática

OBJETIVOS

METODOLOGÍA E INSTRUMENTACIÓN

1 Métodos de síntesis y dopado de nanopartículas de óxido de titanio

2 Fotocatálisis

3 Métodos de generación de aerosoles

- 3.1 Nebulización
- 3.2 Evaporación-condensación

4 Detección, medida y caracterización de aerosoles

- 4.1 Técnicas de lectura directa basadas en detección óptica
 - 4.1.1 Contadores ópticos de partículas (OPC)
 - 4.1.2 Detector de tiempo de vuelo
 - 4.1.3 Contador de núcleos de condensación (CPC)
- 4.2 Técnicas basadas en la detección eléctrica.

- 4.2.1 Tipos de cargadores
- 4.2.2 Impactador eléctrico de baja presión (ELPI)
- 4.2.3 Clasificador electrostático (SMPS)
- 4.2.4 Nanoparticle Spectrometer (NPS)
- 4.2.5 Fast Mobility Particle sizer (FMPS)

4.3 Métodos de muestreo

- 4.3.1 Precipitador electrostático (PPT)
- 4.3.2 Recolector de muestras para TEM
- 4.3.3 Ciclón

5 Métodos de filtrado de aerosoles

6 Cámaras de exposición

- 6.1.1 Cámara de exposición I
- 6.1.2 Cámara de exposición II

7 Operaciones de riesgo

- 7.1.1 Contaminación de superficies durante la manipulación de nanomateriales
- 7.1.2 Manipulación de nanopartículas
- 7.1.3 Procesos de soldadura
- 7.1.4 Reprocesado de materiales compuestos

8 Intensidad de emisión

RESULTADOS

1 Generación y captura de aerosoles nanoparticulados

- 1.1 Nebulización de dispersiones coloidales de nanopartículas de óxido de titanio
 - 1.1.1 Síntesis de nanopartículas de óxido de titanio
 - 1.1.2 Caracterización de óxido de titanio nanométrico
 - 1.1.3 Caracterización de los coloides
 - 1.1.4 Caracterización del aerosol
- 1.2 Filtrado de nanopartículas en una batería de difusión mixta
 - 1.2.1 Filtrado de nanopartículas en baterías de difusión
 - 1.2.2 Caracterización de una batería de difusión mixta
- 1.3 Resultado colateral: Nanopartículas de óxido de titanio encapsuladas en microesferas de ácido poliláctico (PLA) con efecto bactericida

2 Marcado, detección e identificación de nanopartículas.

- 2.1 Nanopartículas marcadas
- 2.2 Métodos de detección de contaminación en superficies
- 2.3 Identificación y monitorización de emisiones
 - 2.3.1 Emisiones durante distintas operaciones de manipulación de nanomateriales
 - 2.3.2 Manipulación de distintos nanomateriales
 - 2.3.3 Influencia de las partículas ambientales en las emisiones
- 2.4 Resultado colateral: Fotocatalizadores basados en nanopartículas de óxido de titanio dopadas con neodimio
 - 2.4.1 Caracterización de los catalizadores
 - 2.4.2 Actividad fotocatalítica

3 Estudio de diversas fuentes de emisión

- 3.1 Nanopartículas metálicas en humos de soldadura
 - 3.1.1 Monitorización y caracterización del aerosol generado
- 3.2 Mecanizado de materiales compuestos
 - 3.2.1 Mecanizado de resinas epoxy con nanotubos de carbono
 - 3.2.2 Mecanizado de pintura con nanopartículas de óxido de titanio

CONCLUSIONES

1 Generación y captura de aerosoles

- 1.1 Nebulización de dispersiones coloidales
- 1.2 Filtrado de nanopartículas en una rejilla de difusión mixta
- 1.3 Resultado colateral: Nanopartículas de óxido de titanio encapsuladas en microesferas de PLA con efecto bactericida

2 Marcado, detección e identificación de nanopartículas

- 2.1 Nanopartículas marcadas y métodos de detección
- 2.2 Identificación y monitorización de emisiones de nanomateriales
- 2.3 Resultado colateral: Fotocatalizadores

3 Estudio de diversas Fuentes de emisión

- 3.1 Nanopartículas metálicas en humos de soldadura
- 3.2 Mecanizado de nanocompuestos

COMPENDIO DE PUBLICACIONES

ANEXO I

1 síntesis y caracterización de nanomateriales

- 1.1 Síntesis de nanomateriales
- 1.2 Caracterización de nanomateriales
 - 1.2.1 Técnicas microscópicas
 - 1.2.2 Técnicas de análisis coloidal en medio líquido
 - 1.2.3 Técnicas espectrométricas
 - 1.2.4 Otras técnicas

ANEXO II

- 1.1 Renuncia de los coautores no doctores a la inclusión en otra tesis doctoral de los trabajos incluidos en la presente Tesis.
- 1.2 Áreas temáticas y factor de impacto de las revistas en donde se ha publicado el trabajo realizado.
- 1.3 Aportaciones del doctorando

BIBLIOGRAFÍA

TABLA DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Ejemplo de escala nanométrica según NCI [1]

Figura 2 a) Rutas potenciales de exposición a nanopartículas: inhalación, ingestión, dérmica y parenteral [46] b) Deposición regional y total de partículas inhaladas en el tracto respiratorio según el modelo ICRP [43].

Figura 3 Esquema de operación del nebulizador Philips SideStream adaptado de [88]

Figura 4 Sistema experimental utilizado en los experimentos de nebulización de dispersiones coloidales.

Figura 5 Esquema de operación del OPC adaptado de [106]

Figura 6 Esquema de operación del CPC adaptado de [106]

Figura 7 Esquema de operación e imagen el equipo ELPI. Adaptado de DEKATI

Figura 8 Esquema de operación simplificado de un DMA.

Figura 9 Imagen del Nanoparticle Spectrometer utilizado en la presente tesis.

Figura 10 Esquema de operación simplificado de un FMPS adaptado de TSI.

Figura 11 Esquema de colector de muestras adaptado de [121].

Figura 12 Imagen de un ciclón compatible con un portafiltras adaptada de BGI.

Figura 13 Unidad de filtrado en la que se colocan las rejillas filtrantes formando una batería de difusión.

Figura 14 Esquema de la cámara de guantes sidENTRY™ utilizada como cámara de exposición.

Figura 15 Esquema de la cámara de guantes utilizada como cámara de exposición II.

Figura 16 Esquema del método de recogida y cuantificación de nanomateriales en superficies; (1) toma de muestra (2) disolución de la toallita en agua caliente (3) centrifugado (4) digestión (5) análisis químico.

Figura 17 Esquema de los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral

Figura 18 Micrografías de microscopía de barrido (SEM) y transmisión (TEM) de nanopartículas comerciales TiO₂ (a, b) y sintetizadas MWTiO₂ (c, d).

Figura 19 Valores de potencial Z medidos a distintos pH en dispersiones coloidales de nanopartículas de MWTiO₂ y TiO₂

Figura 20 Imágenes de microscopía de transmisión electrónica de los agregados esféricos generados mediante la nebulización de dispersiones coloidales de nanopartículas de óxido de titanio a) TiO_2 y b) MWTiO_2

Figura 21 Esquema del a) sistema experimental en el que un aerosol monodisperso y neutro atraviesa el sistema de filtrado y es medido en un contador de núcleos de condensación (CPC). b) Esquema de la unidad de filtrado en la que se colocan las rejillas o mallas que forman la batería de difusión.

Figura 22 Comparación entre las medidas de penetración y las calculadas con el modelo de Chen-Yeh para una batería de difusión formada por seis rejilla de Al en serie

Figura 23 Determinación del diámetro de fibra equivalente para las rejillas mixtas obtenido a partir de los datos experimentales de penetración de nanopartículas neutras.

Figura 24 Esquema de los dos tipos de emulsiones preparadas: W/O/W y S/O/W.

Figura 25 a) Micrografía SEM de partículas submicrométricas producidas con un 1.2% en masa de nanopartículas de óxido de titanio y b) micrografía TEM de una partícula de PLA con óxido de titanio.

Figura 26 Micrografía de alta resolución STEM que muestra a) una nanopartícula de óxido de titanio sin marcar y b) nanopartículas de óxido de titanio marcadas.

Figura 27 Difractogramas de nanopartículas de óxido de titanio, nanopartículas marcadas con lantano y nanopartículas marcadas con cerio.

Figura 28 Micrografía de microscopía de barrido que muestra a) un agregado de tamaño micrométrico recogido tras la manipulación de nanopartículas de óxido de titanio, b) una micrografía ampliada del área marcada y un espectro EDX en el cual se pueden observar señales correspondientes a la presencia de Ti y Ce en la muestra.

Figura 29 a) Concentración de partículas frente al tiempo y b) distribución de tamaños de las partículas generadas en una operación de trasvasado, concentración de partículas durante c) operaciones de molido y transferencia y d) derrame accidental de 1500 mg de nanopartículas de Ce- TiO_2 en polvo.

Figura 30 Micrografías TEM de partículas recogidas a partir de las emisiones producidas durante la manipulación de a) nanopartículas de óxido de titanio, b) nanopartículas de óxido de silíce, c) nanopartículas de óxido de titanio marcadas y d) nanotubos de carbono.

Figura 31 Micrografías STEM de partículas de óxido de titanio recogidas en a) presencia de partículas ambientales o en b) ausencia de estas. En las micrografías se puede observar la diferencia de contraste en las partículas marcadas con cerio debido a su elevado número atómico.

Figura 32 Espectro UV- VIS de varias de nanopartículas de óxido de titanio y de nanopartículas dopadas con neodimio.

Figura 33 Micrografías SEM de una partícula recogida en procesos de soldadura antes a) y después b) de ser seccionada con un haz de iones focalizado.

Figura 34 Micrografías TEM de partículas recogidas en procesos de soldadura.

Figura 35 Distribución de tamaños (a, d y g) y morfología de las partículas generadas mediante un proceso continuo de lijado de materiales basados en resinas epoxy. Los resultados mostrados en a), b) y c) corresponden a un material que no posee nanotubos de carbono en su composición mientras que d) e) y f) corresponden a la resina denominada Epoxy 2 y g), h) e i) corresponden a la resina Epoxy 3.

Figura 36 Distribución de tamaños (a, d, g) y micrografías SEM (b, c, e, f, h , i) de las partículas emitidas durante un proceso continuo de lijado de materiales basados en pinturas. Los resultados mostrados en a), b) y c) corresponden a Paint 1 mientras que d) e) y f) corresponden a Paint 2 y g), h) e i) corresponden a Paint 3.

Figura 37 Micrografía TEM de partículas emitidas durante el mecanizado de una pintura que contiene nanopartículas de óxido de titanio en su composición

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1 NANOTECNOLOGÍA

“En el fondo, hay espacio de sobra.” Ese fue el título con el que el premio Nobel de Física Richard Feynman comenzó un discurso ante la *American Physical Society* en diciembre de 1959 en el que sentó las bases de un nuevo y sorprendente campo científico, la Nanotecnología. El término como tal se debe al profesor Taniguchi de la Universidad de Tokio quien lo acuñó en 1974. La ASTM (*American Society for Testing and Materials*) se define a la Nanotecnología como un campo que incluye tecnologías que miden, manipulan o incorporan materiales con una o varias de sus dimensiones comprendidas entre 1 y 100 nm. En la Figura 1 se muestra un ejemplo de la escala nanométrica.

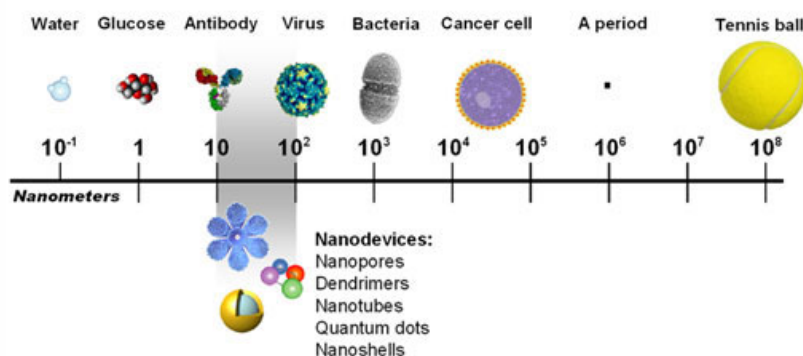


Figura 1. Ejemplo de escala nanométrica según NCI [1]

Han pasado ya más de diez años desde que el *National Science and Technology Council (NSTC)* de Estados Unidos emitiera el primer comunicado sobre Nanotecnología [2]. Durante este tiempo, la Nanotecnología ha supuesto un avance revolucionario tanto para la ciencia como para la tecnología. Desde el 2001 hasta el 2008, el número de descubrimientos científicos, la inversión en I+D, así como el número de trabajadores para la industria nanotecnológica, crecieron a un ritmo promedio del 25% anual [3].

Hasta el momento la Nanotecnología ha cosechado numerosos éxitos. Se ha desarrollado toda una nueva gama de materiales: desde estructuras “pasivas”, como

Introducción

materiales de refuerzo en polímeros, hasta construcciones mucho más sofisticadas o “activas” que permiten la transferencia de información entre nanoestructuras. Muchos de estos adelantos han llegado ya al mercado, existiendo numerosos productos de consumo plenamente desarrollados como se detalla más abajo [4, 5].

1.1 ¿Qué son los nanomateriales? Definición de nanomaterial y características

La Nanotecnología permite controlar la composición y estructura de la materia a escala cercana a la atómica, pudiendo dar lugar a materiales avanzados con propiedades únicas. La Comisión Europea definió el término nanomaterial como un material formado por partículas presentes de forma individual o formando agregados o aglomerados, donde el 50% o más de las partículas poseen una distribución de tamaños en una o en varias dimensiones, en el rango de 1 nm a 100 nm. Este porcentaje puede disminuir hasta en un 1% en algunos casos [6]. Un nanomaterial puede tener múltiples orígenes, generarse de forma natural, accidental o intencionadamente.

Varios grupos de normalización con competencias en la materia han publicado documentos tratando de normalizar la terminología básica que define a los nanomateriales. Según la ISO TS 27687[7] un nano-objeto es un material cuyas dimensiones externas o estructura interna se hallan en la escala nanométrica y que puede demostrar características nuevas comparadas con las del mismo material fuera de la nanoescala. Los nanobjetos engloban a las nanopartículas, la nanofibras o los nanoplatos. En el caso de nanopartículas y partículas ultrafinas, la norma ISO/TR 27628:2007[8] aclara que ambos términos se refieren a partículas con diámetros nominales inferiores a los 100 nm, sin embargo, el término ultrafino suele aplicarse a partículas en suspensión generadas en procesos de combustión o humos de soldadura, etc.

1.2 Aplicaciones y productos de consumo

La Nanotecnología permite controlar la composición y estructura de la materia a escala cercana a la atómica dando lugar a materiales avanzados con propiedades únicas. El mercado nanotecnológico está estimado en un valor de unos veinte billones de euros [9]. Asimismo, el total anual de nanomateriales manufacturados (MNM en sus siglas en inglés) presentes en el mercado a escala global se estima en $11.5 * 10^6$ toneladas.

Existen numerosos productos de consumo basados en Nanotecnología. Según el *Project on Emerging Nanotechnologies* (PEN)[10], que comenzó en el 2005, se han identificado más de 1.850 productos producidos por más de 500 empresas localizadas en unos 30 países distintos [11]. Estos datos sirven para estimar el impacto directo que la Nanotecnología tiene tanto en los consumidores como en la sociedad.

Muchos de los nanomateriales que dominan el mercado nanotecnológico han sido utilizados durante décadas, como el negro de humo (*carbon black*) que se usa principalmente como sistemas de refuerzo en neumáticos y otros productos de goma [12] o la sílice amorfa que se utiliza en numerosas aplicaciones [13] desde relleno funcional en polímeros [14], hasta aditivo en productos alimentarios [15].

Cada día se incorporan al mercado nuevos nanomateriales, cosechando muchos de ellos un gran éxito. Por citar algunos ejemplos, el óxido de titanio nanométrico [16] es utilizado como filtro UV en protectores solares y pinturas [17], las nanopartículas de plata presentan propiedades antimicrobianas que se aplican en una variedad de escenarios y los nanotubos de carbono permiten fabricar materiales compuestos, los llamados *Nanocomposites* [18-20] utilizados en gran medida en la industria aeroespacial (desarrollo de materiales superligeros y recubrimientos de alta resistencia en superficies aerodinámicas) y en la industria automotriz y de transporte. De hecho, los nanotubos de carbono se citan a menudo como un ejemplo clásico de material de éxito. Esto ha sido posible gracias al desarrollo de procesos de producción escalable y de bajo coste, que han permitido disponer de nanotubos de carbono a un precio razonable[21].

Introducción

Las previsiones para los próximos años apuntan a una expansión significativa de la Nanotecnología [3], esperándose un crecimiento que va desde un volumen global de unos 200 millones de euros hasta los dos trillones en el 2015. Además, el Programa Marco de investigación e innovación de la Unión europea Horizonte 2020 (H2020), ha identificado a la Nanotecnología como una de las áreas tecnológicas claves para impulsar la competitividad de Europa [22].

1.3 Impacto de la Nanotecnología en el medio ambiente y en la salud

Como hemos visto, los avances en Nanotecnología suponen un gran impacto en el mercado tecnológico y en la sociedad ya que permiten el diseño de soluciones innovadoras en múltiples áreas y el desarrollo de nuevos productos de consumo. Este progreso ha dado lugar a una gran paradoja. Sin embargo, muchas de las características de los nanomateriales que son útiles y deseables en aplicaciones biomédicas y tecnológicas, como su gran reactividad o su capacidad de “cruzar” barreras biológicas, pueden representar un riesgo potencial tanto para la salud como para el medio ambiente [23]. Dada la amplísima variedad de nanomateriales disponibles y el ritmo al que se generan, nos enfrentamos a un enorme potencial positivo en cuanto a sus propiedades, pero también a riesgos potenciales que todavía no se conocen suficientemente. El desconocimiento de los riesgos que estos nuevos materiales pueden presentar ha despertado la preocupación de la sociedad [24]. Es ineludible el desarrollo de una evaluación de riesgos especializada en este tipo de materiales que cubra tanto los efectos para la salud de los trabajadores y los consumidores, como sobre el medio ambiente. Como consecuencia, ha surgido una nueva área de investigación denominada “Nanoseguridad” (*Nanosafety*), que evalúa y estudia los riesgos potenciales de los nanomateriales así como su utilización segura.

2 NANOSEGURIDAD

La nanoseguridad trata de evaluar, identificar y controlar los posibles efectos negativos que la Nanotecnología pueda tener en la salud o el medio ambiente. Para poder asegurar un desarrollo positivo de la Nanotecnología es necesario un enfoque multidisciplinar que va más allá de una evaluación de riesgos tradicional [25]. Puesto que debe abarcar el ciclo completo de los nanomateriales incluyendo su producción, utilización y disposición final o reciclaje, esta nueva disciplina integra conocimientos provenientes de áreas tan dispares como la toxicología, la ingeniería química e industrial, la ciencia de materiales, la física de aerosoles y las ciencias ambientales.

La Nanoseguridad se encuentra en pleno auge, dentro de la líneas principales de actuación del programa marco europeo Horizonte 2020 se incluyen el desarrollo y la aplicación seguras de la Nanotecnología [26]. Recientemente, el Instituto Finlandés de Salud Ocupacional (Finnish Institute of Occupational Health) ha publicado un plan estratégico para los próximos 10 años sobre Nanoseguridad en el cual se destacan aspectos clave a desarrollar como la identificación y clasificación de nanomateriales, el estudio de la exposición y la transformación de los nanomateriales, sus efectos en la salud y el medio ambiente y el desarrollo de herramientas específicas de predicción y evaluación de riesgos [22].

2.1 Riesgos potenciales de los nanomateriales

El Comité científico de riesgos sanitarios emergentes y recientemente identificados (CCRSERI) determinó que existen riesgos comprobados para la salud vinculados a varios nanomateriales manufacturados. No obstante, cabe aclarar que cada riesgo está relacionado con un nanomaterial específico en un determinado uso.

No todos los nanomateriales son potencialmente peligrosos para la salud y de hecho, convivimos con algunos nanomateriales desde hace miles de años. El riesgo potencial de los nanomateriales es muy variado: se han identificado desde materiales totalmente inoos hasta materiales que presentan un riesgo elevado [27]. El riesgo específico de un nanomaterial está condicionado por su composición química,

Introducción

distribución de tamaños, forma y área superficial, entre otros factores [28]. A este respecto son especialmente preocupantes los denominados materiales manufacturados ENMS (de sus siglas en inglés: "Engineered Nanomaterials"), es decir materiales totalmente nuevos, concebidos y sintetizados en el laboratorio durante los últimos años.

Los resultados obtenidos hasta la fecha, a pesar de ser bastante controvertidos, apuntan a que los metales y óxidos metálicos son los materiales que presentan los principales riesgos potenciales para el medio ambiente. Por otro lado, en lo que respecta a la salud humana, la principal amenaza es el desarrollo de enfermedades crónicas a partir de actividades donde se produce la liberación de partículas al medio de forma incontrolada [29].

En general, los efectos negativos de los nanomateriales suelen asociarse con varios factores como su capacidad para traspasar barreras biológicas (translocación), su área superficial que les proporciona una gran reactividad, su solubilidad o características propias y estructurales. Cada caso particular debe evaluarse de forma independiente ya que el abanico de materiales disponibles es amplísimo.

La toxicidad de materiales inorgánicos como SiO_2 , TiO_2 y ZnO está asociada principalmente a la formación de ROS (*Reactive Oxygen Species*). Un exceso de ROS puede dar lugar a estrés oxidativo haciendo que se produzcan fallos en el funcionamiento de las células que, a su vez, pueden afectar al ADN dando lugar a fallos en la señalización celular, citotoxicidad, apoptosis y finalmente, cáncer [30]. Para el óxido de titanio en particular se han observado efectos antibacterianos e inflamación pulmonar en roedores [31]. En algunos casos las propiedades superficiales ejercen un gran efecto en la toxicidad de un material. La porosidad, el área superficial y la fase cristalina de las partículas son determinantes de sus efectos nocivos [32]. Por ejemplo en el óxido de titanio, la fase cristalina anatasa produce generalmente mayor respuesta pulmonar que el rutilo en los estudios de toxicidad.

Algunos de los nanomateriales más comunes, como las nanopartículas metálicas o de base carbonosa, pueden modificar el sistema endocrino dando lugar a problemas reproductivos, síndrome metabólico e incluso algunos tipos de cáncer [33]. Los

Introducción

nanotubos de carbono han causado una gran preocupación hasta el momento, sus características propias como su longitud, contenido metálico o tendencia a agregarse o aglomerarse, además de sus propiedades superficiales son críticas a la hora de evaluar su toxicidad. A pesar de la disparidad de resultados presentes en la literatura, la toxicidad de los nanotubos parece debida a una respuesta oxidativa que da lugar a respuestas inflamatorias, genotóxicas y citotóxicas [34]. En el caso del grafeno, sus características completamente distintas a las de nanopartículas esféricas o a las de los nanotubos de carbono hacen que su toxicidad esté estrechamente relacionada con sus características superficiales, tamaño, número de capas entre otros [35].

A pesar del esfuerzo realizado hasta el momento sigue existiendo una notable incertidumbre respecto al efecto de los nanomateriales en la salud humana, a su interacción con los sistemas biológicos, o a su migración en el interior del organismo [36]. Es necesaria una evaluación específica de cada uno de los materiales para poder priorizar la investigación sobre los que mayor impacto puedan tener en la salud y seguridad ocupacional.

2.2 Exposición a nanomateriales

La exposición a nanomateriales puede producirse en diversos entornos en los que estos se manipulan, se procesan o se utilizan, por tanto, trabajadores, consumidores y público están potencialmente expuestos [37]. El personal del sector nanotecnológico es un colectivo de riesgo que puede estar expuesto durante distintas etapas del ciclo de vida de los nanomateriales como su producción, procesado, uso, y eliminación [38-41]. Debido a ello, es imprescindible evaluar cada una de las etapas que componen el ciclo de vida de estos materiales [23].

En el año 2012, el empleo relacionado directamente con el sector nanotecnológico en Europa generó, según las estimaciones, entre 300 000 y 400 000 puestos de trabajo [9]. Los trabajadores y los investigadores del sector son especialmente vulnerables debido a que la concentración de nanomateriales suele ser más alta en los lugares de trabajo [36]. Sin embargo, la evaluación de riesgo de cada entorno laboral no es un proceso sencillo y requiere una aproximación caso por caso, ya

Introducción

que el impacto provocado por los nanomateriales depende siempre de su uso particular [40]. En todo caso, es imprescindible que los trabajadores del sector reciban más información sobre los riesgos de los nanomateriales y las posibles rutas de exposición existentes, ya que, se han detectado serias deficiencias en cuanto a las medidas de seguridad adoptadas, incluso en colectivos altamente cualificados como el caso de los investigadores [41].

Desde un punto de vista biológico, existen tres rutas principales de entrada de los nanomateriales en el organismo humano que son la inhalación, la absorción a través de la piel y la ingestión (Figura 2 (a)). La inhalación es una de las vías de exposición más preocupantes desde un punto de vista de salud ocupacional. La deposición de partículas en las vías respiratorias depende de varios factores como las propiedades intrínsecas de las partículas, los patrones de respiración de la persona y las dimensiones de las vías respiratorias [42]. Un 90% o más de las partículas inhaladas con diámetros de 100 nm o menores se depositan en el tracto respiratorio, (Figura 2 (b)) [43] Además, los efectos más nocivos producidos por los nanomateriales afectan a los pulmones e incluyen, entre otros, inflamación, daños de tejidos, fibrosis, y generación de tumores. Los nanomateriales pueden alcanzar otros órganos y tejidos entre los que se cuentan el hígado, los riñones, el corazón, el cerebro, el esqueleto y diversos tejidos blandos [27, 44, 45].

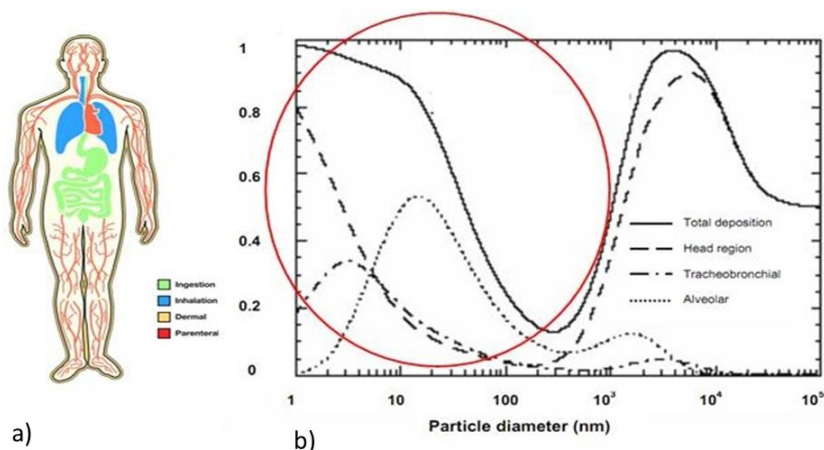


Figura 2 a) Rutas potenciales de exposición a nanopartículas: inhalación, ingestión, dérmica y parenteral [46] b) Deposición regional y total de partículas inhaladas en el tracto respiratorio según el modelo ICRP [43].

Introducción

Asimismo, la ingestión y la absorción de nanopartículas a través de la piel también presenta serios riesgos para la salud humana [47, 48]. En general, la investigación relacionada con los efectos toxicológicos de la exposición cutánea a nanomateriales, ha estado principalmente centrada en los riesgos que presentan tanto el óxido de titanio como el óxido de zinc ya que estos materiales están presentes en numerosos productos cosméticos [49]. Sin embargo, la información y los resultados obtenidos todavía resultan contradictorios [50-52]. Fuera de este dominio, existen muy pocos estudios tanto acerca de la absorción dérmica de nanomateriales así como sobre la exposición cutánea de los trabajadores y del público en general.

2.3 Evaluación de riesgo y control de exposición

En general, los estudios que existen hasta la fecha sobre exposición ocupacional a nanomateriales presentan una gran variabilidad en los resultados, siendo difíciles de comparar ya que se han realizado utilizando metodologías distintas. Por lo tanto, en el campo de la Nanoseguridad es claramente necesario una armonización de datos, metodología y materiales [23].

A pesar de que la estrategia europea de salud y seguridad laboral del periodo 2007-2012 señaló a la Nanotecnología como una posible fuente de riesgo, no existe en la actualidad una reglamentación específica para nanomateriales en la Unión Europea. La regulación de la Nanotecnología se ha visto obstaculizada por la complejidad propia de esta área, su aplicación en distintos sectores, y la falta de métodos de medida e información estandarizados. Hasta el momento en la Unión Europea se aplica la legislación general, sin mencionar de forma específica a los nanomateriales [23]. La regulación relacionada con la protección de la salud laboral más directamente aplicable engloba a la Directiva 67/548 y a la Directiva 98/24/EC.

Tampoco existe una legislación que establezca oficialmente límites de exposición (OEL según sus siglas en inglés) a distintos nanomateriales [53]. Solo existen límites recomendados por varias organizaciones para determinados materiales que actúan como valores orientativos. Algunos ejemplos son los valores propuestos para el óxido de titanio nanométrico (< 100 nm) o para los nanotubos de carbono (CNTs). En una revisión sobre el estado del arte de los límites de exposición a nanomateriales llevada a cabo por Schulte y cols. [53], se resumen los OEL recomendados para distintos materiales.

Con el fin de evaluar el riesgo para la salud de los nanomateriales se han propuesto distintos enfoques como por ejemplo la herramienta de franjas de control (*control banding*) [54]. En el caso de la evaluación de riesgo de exposición a nanopartículas, el Instituto Nacional de Higiene en el Trabajo de nuestro país, propone en su NTP nº 877 una aproximación cualitativa que utiliza una metodología simplificada, similar a la usada en la evaluación de riesgos debidos a agentes químicos.

Introducción

El riesgo R se evalúa mediante la estimación cualitativa de los dos parámetros que lo determinan, la severidad S , que está basada en parámetros toxicológicos y la probabilidad P de exposición. A la hora de calcular la severidad, se tienen en cuenta tanto propiedades toxicológicas y fisicoquímicas del material como las propiedades del llamado material padre o material similar no nanométrico. El resultado de dicha evaluación puede dar lugar a cuatro niveles de riesgo y, en cada caso, se propone una actuación (Tabla 1). Este método presenta una posible alternativa a una aproximación clásica de higiene industrial. Sin embargo conforme aumenten los conocimientos sobre toxicología y se obtengan un mayor número de datos sobre exposición esta herramienta deberá refinarse.

Aunque bastantes organizaciones han publicado guías sobre el manejo de nanomateriales [24, 55-58], todavía no existe una normativa de uso general que sea equiparable a, por ejemplo los valores TLV (*Tresold Limite Value*) de la ACGIH (*American Conference of Industrial Hygienists*). Esto puede ser explicado debido a la novedad y a alta la velocidad de desarrollo del sector.

PROBABILIDAD					
SEVERIDAD		Improbable (0-25)	Poco Probable (26-50)	Probable (51-75)	Muy probable (76-100)
	Muy Alta (76-100)	RL3	RL3	RL4	RL4
	Alta (51-75)	RL2	RL2	RL3	RL4
	Media (26-50)	RL1	RL1	RL2	RL3
	Baja(0-25)	RL1	RL1	RL1	RL2

RL1: ventilación general

RL2: ventilación con extracción localizada o campanas de humos

RL3: confinamiento

RL4: buscar asesoramiento externo

Tabla 1. Matriz de decisiones adaptada del NTP N°877 propuesta por el Instituto nacional de higiene en el trabajo.

Introducción

Evaluar la exposición a nanomateriales consiste en determinar cómo es el lugar de exposición (laboral, medioambiental, de consumo), la vía (inhalación, ingestión, dérmica), su alcance (grado, duración y frecuencia) y, dependiendo del lugar de exposición, la población que puede estar expuesta [54]. El primer paso a tomar es identificar la fuente de exposición [59]. Una detección temprana de las nanopartículas, ya sea en forma de aerosoles o presentes como contaminación en distintas superficies, se convierte por tanto en un asunto de gran interés, especialmente teniendo en cuenta que, aunque se ha demostrado toxicidad para algunos nanomateriales, en la mayor parte de los casos aún se ignoran sus efectos específicos para la salud.

2.3.1 Partículas aerosolizadas

La inhalación es una de las vías de exposición que afecta a más personas y que además, genera mayor preocupación entre la comunidad científica. Las nanopartículas que se encuentran formando un aerosol tienen una gran probabilidad de entrar al organismo a través del sistema respiratorio [60]. Además, las nanopartículas son propensas a aglomerarse dando lugar a estructuras mayores, modificando su estabilidad y por tanto, su tendencia a ser inhaladas [60, 61].

Conforme el tamaño de un nanomaterial disminuye, su área superficial aumenta y también lo hace su reactividad. De hecho, los estudios realizados hasta el momento parecen indicar que uno de los factores clave en la toxicidad de los nanomateriales es su área superficial. Debido a ello, el enfoque clásico generalmente utilizado a la hora de monitorizar aerosoles, está siendo cuestionado. La norma de muestreo de aerosoles UNE-EN 481 considera que se deben medir concentraciones en masa por unidad de volumen (mg/m^3). Sin embargo, las medidas basadas en masa no son las más adecuadas en el caso de nanomateriales ya que, debido a su relación de tamaño, un gran número de nanopartículas da lugar un valores pequeños de masa. Por el momento no existe un consenso claro sobre qué parámetros (volumen, número o masa por volumen) están más relacionados con la respuesta biológica a este tipo de materiales y por tanto sería más aconsejable medir

Introducción

Lo que parece claro es que es imprescindible una correcta y pronta identificación de las fuentes que pueden liberar material de tamaño submicrométrico potencialmente inhalable. Además es necesaria una cuantificación y una completa caracterización del material liberado sin importar donde se encuentre la fuente, bien sea en entornos laborales (laboratorios e industria) como fuera de ellos. Finalmente, se necesita un mayor conocimiento de las condiciones y situaciones en las que se liberan partículas al medio así como una profunda evaluación de las características de las emisiones que favorecen la absorción, distribución y retención de dichos materiales en el organismo así como las dosis que se consideran peligrosas para la salud [62].

2.3.2 Superficies contaminadas por nanomateriales

Como ya se ha mencionado anteriormente, una de las posibles vías de acceso de los nanomateriales al organismo es el "contacto" a través de la piel. Siendo esta vía además, la ruta de entrada menos estudiada. El proyecto europeo *NANOderm* fue uno de los primeros en abordar esta cuestión, estudiando, *in vivo* e *in vitro* el paso de las nanopartículas de óxido de titanio a través de la piel utilizando cultivos representativos de piel humana y porcina. Una de las conclusiones más importantes mostró que las nanopartículas de óxido de titanio recubiertas, utilizadas principalmente en cremas solares, no se absorben a través de la piel sana. Sin embargo existe todavía una gran falta de información sobre la absorción en el caso de pieles atópicas o con microlesiones [63] y también en el caso de otros tipos de partículas con distintas características superficiales, composición, etc.

En general, los resultados relacionados con la toxicología y la absorción de las nanopartículas siguen siendo controvertidos [50]. En 2012, Bennett y cols. encontraron que las nanopartículas de óxido de titanio podían penetrar a través de la piel al romperse sus agregados debido a mecanismos foto-inducidos [64].

Por otro lado, a pesar de que los estudios de toxicidad se han centrado principalmente en las partículas utilizadas en productos cosméticos, hay que destacar que, los trabajadores e investigadores de la industria nanotecnológica son un sector altamente expuesto a una contaminación cutánea. Al generar y manipular material en

Introducción

nanoparticulado, es muy probable que las superficies de trabajo se contaminen. Esto puede dar lugar a su vez a una redispersión del material o a una contaminación directa de la piel de los trabajadores. A pesar de que algunos artículos han advertido sobre esta posibilidad [65, 66] en muy pocos casos se ha estudiado la contaminación de las superficies de trabajo. Este tipo de contaminación resulta relevante ya que a menudo los trabajadores pueden entrar en contacto con las superficies contaminadas sin protección (guantes), pudiendo producirse la exposición por vía dérmica, o indirectamente mediante ingestión. Además la contaminación puede ser redispersada transportándose a otras zonas.

2.4 Marcaje y detección específica de nanomateriales

A pesar del desarrollo que la nanoseguridad ha sufrido durante los últimos 5 años, todavía quedan grandes retos por superar. Un informe de la Comisión Europea del 2011 destaca la necesidad de determinar el impacto de los nanomateriales manufacturados (ENM) en la salud humana [23]. A pesar de que este término se refiere a materiales sintéticos, hay que reseñar que los nanomateriales pueden estar presentes en el ambiente procedentes de diversas fuentes, por ejemplo como consecuencia de procesos de combustión [23]. Por tanto resulta crítica la necesidad de desarrollar la capacidad de identificar y diferenciar los nanomateriales manufacturados (ENM) de las partículas previamente existentes en el ambiente.

Las partículas presentes en el ambiente, pueden provenir tanto de fuentes naturales como antropogénicas y, debido a su preponderancia, pueden presentar serios problemas en las medidas de exposición a nanomateriales. Numerosos autores han señalado la necesidad de desarrollar métodos para una correcta discriminación de los nanomateriales frente a las nanopartículas de fondo [29, 67-70]. Recientemente, la Comisión Europea destacó este asunto como un aspecto clave en la evaluación de la exposición a nanomateriales[23].

A pesar de la insistencia en la necesidad de identificar de forma inequívoca a los nanomateriales, sólo existen unos pocos estudios experimentales realizados hasta la fecha que aborden el problema. Los métodos propuestos se basan en la detección de las partículas utilizando el uso de marcadores fluorescentes [71-73], métodos de marcado radioactivo [74-76], isótopos estables como trazadores [77, 78] o las propiedades catalíticas de las partículas Neubauer y cols. [79, 80]. Sin embargo la mayor parte de los métodos propuestos se basan en técnicas de detección demasiado complejas o caras y por tanto, costosas y difíciles de aplicar. Por tanto, parece necesario el desarrollo de nuevos métodos más asequibles y sencillos que permitan superar este problema

3 COMPENDIO DE TRABAJOS Y UNIDAD TEMÁTICA

La Nanotecnología es un conocimiento clave para el desarrollo de futuras innovaciones y nuevos productos. A pesar de los innegables beneficios que pueden resultar de su desarrollo, existe una creciente preocupación entre la comunidad científica y algunos gobiernos por el riesgo para la salud que supone la presencia de materiales totalmente nuevos. Sin ir más lejos, la Agencia europea de seguridad y salud laboral (EU-OSHA) ha identificado a los nanomateriales como un riesgo emergente [81]. En respuesta al creciente interés social en Nanoseguridad, la presente tesis ha pretendido avanzar en el conocimiento relacionado con las emisiones producidas durante la manipulación de distintos materiales nanoparticulados de interés industrial.

Recientemente, el Comité científico de riesgos sanitarios emergentes y recientemente identificados (SCENIHR)[82] ha recalcado la necesidad de materiales de referencia y métodos de detección de nanomateriales. En la presente tesis se han sintetizado y caracterizado nanopartículas de óxido de titanio como material de referencia. En relación con los métodos de referencia, se han desarrollado nuevas formas tanto de generación como de captura de aerosoles nanoparticulados en dos publicaciones. En el **Artículo 1** del compendio de publicaciones se han generado aerosoles de óxido de titanio a partir de dispersiones coloidales. Ha sido escrito por Gómez V., Irusta S., Balas F. y Santamaria J., y se titula "*Generation of TiO₂ aerosols from liquid suspensions: Influence of colloid characteristics*". En él se ha realizado un estudio exhaustivo sobre la influencia del coloide y de las condiciones de operación (concentración de nanopartículas, caudal utilizado y pH) en el aerosol generado. El segundo trabajo (**Artículo 2**) desarrolla un nuevo medio de filtración y captura de nanopartículas basado en una batería de difusión mixta. Este artículo se ha realizado por Gómez V., Alguacil F. J., y Alonso M., durante una estancia predoctoral en el Centro Nacional de Investigación Metalúrgica (CENIM) perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) bajo la supervisión del Dr. Manuel Alonso y se titula "*Deposition of Aerosol Particles below 10 nm on a Mixed Screen-Type Diffusion Battery*".

Introducción

Uno de los puntos clave en Nanoseguridad es identificar y evaluar fuentes de emisión de nanomateriales para minimizar el riesgo a la exposición. Se pueden producir emisiones al manipular directamente nanomateriales o materiales compuestos que incluyen algún nanomaterial en su formulación. Siendo especialmente preocupantes las operaciones con material en forma pulverulenta. Por otra parte se pueden producir emisiones accidentales o no intencionadas de material nanoparticulado, siendo estas difícilmente previsibles e identificables.

En la presente tesis doctoral se han identificado y caracterizado distintas fuentes de emisión a lo largo de cuatro publicaciones denominados **Artículos 4, 5, 7 y 8** en el compendio de publicaciones.

Los **Artículos 4 y 5** tratan sobre la detección y caracterización de fuentes emisión de material nanoparticulado en un laboratorio de investigación. Se han sintetizado y utilizado además nanopartículas trazables que pueden ser discriminadas respecto a las partículas del ambiente permitiendo desarrollar protocolos de detección específicos. En el **Artículo 4**, además, se ha abordado una de las rutas de contaminación menos estudiadas hasta el momento: la contaminación de superficies. Este trabajo ha sido desarrollado por los autores Gomez V., Clemente A., Irusta S., Balas F. y Santamaria J. y está titulado "*Identification of TiO₂ nanoparticles using La and Ce as labels. Application to the evaluation of surface contamination during the handling of nano-sized matter*". El segundo trabajo (**Artículo 5**) tiene como autores a Gómez, V., Irusta, S., Navascués, N. Balas, F. y Santamaria, J. y lleva como título "*Unintended emission of nanoparticle aerosols during common laboratory handling operations*" y consiste en el estudio de las emisiones generadas en operaciones comunes de laboratorio.

En los **Artículos 7 y 8** se estudian procesos de soldadura electrónica y mecanizado respectivamente. El **Artículo 7** tienen como autores a Gomez, V., Irusta, S., Balas, F. y J. Santamaria en "*Intense generation of respirable metal nanoparticles from a low-power soldering unit*". Por otra parte, el **Artículo 8** se realizó durante una estancia predoctoral en el *National Research Centre for the Working Environment* bajo la supervisión del profesor Keld Aldstrup Jensen. Los autores de este artículo son

Introducción

Gomez V., Levin M., Saber A., Irusta S., Dal Maso M., Hanoi R., Santamaria J., Jensen K.A., Wallin H., y Koponen I.K. y esta titulado "*Comparison of Dust Release from Epoxy and Paint Nanocomposites and Conventional Products during Sanding and Sawing*".

Los nanomateriales sintetizados en esta tesis doctoral han sido utilizados también en áreas distintas a la línea principal de Nanoseguridad colaborando para ello con distintos grupos de investigación en Nanotecnología. De esta forma se han publicado los **Artículos 3 y 6** del compendio de publicaciones. El **Artículo 3** se ha realizado en colaboración con el grupo del Prof. Reverchon en la Universidad de Salerno (Italia) y tiene como autores a Campardelli R., Della Porta G., Gomez V., Irusta S., Reverchon E. y Santamaria J y se titula "*Titanium Dioxide nanoparticles encapsulation in PLA by Supercritical Emulsion Extraction to produce photoactivable microspheres*". Se han sintetizado micropartículas de ácido poliláctico encapsulando nanopartículas de óxido de titanio para dar lugar a un material compuesto con efecto bactericida. El **Artículo 6** se trata de una colaboración con el grupo del Profesor Rafael Luque del Dpto. de Química Orgánica de la Universidad de Córdoba y tiene como autores a Gomez V., Balu A. M., Serrano-Ruiz J. C., Irusta S., Dionysiou D. D., Luque R., y Santamaría J. y se titula "*Microwave-assisted mild-temperature preparation of neodymium-doped titania for the improved photodegradation of water contaminants*". En él se estudian las propiedades fotocatalíticas de nanopartículas de óxido de titanio dopadas con neodimio al aplicarlas a la degradación de contaminantes en agua.

La estructura de la tesis doctoral se puede dividir en tres grandes bloques:

- **Bloque 1 Generación y captura de aerosoles nanoparticulados.**

Este bloque se desarrolla a lo largo de los Apartados 1 de resultados y conclusiones. Engloba la síntesis de materiales de referencia y la generación y el filtrado de aerosoles nanoparticulados. Este bloque incluye los resultados relacionados con los **Artículos 1 y 2** del compendio. Además se incluye un pequeño resumen del **Artículo 3** en el que las nanopartículas de referencia se han utilizado para sintetizar materiales compuestos con efectos bactericidas.

- **Bloque 2 Marcado, detección e identificación de partículas.**

Este bloque habla sobre la síntesis y caracterización de nanomateriales trazables y su detección e identificación tanto en superficies como formando aerosoles. Se desarrolla en el apartado 2 de resultados y de conclusiones y está relacionado con los **Artículos 4 y 5** del compendio. Incluye además un resumen del **Artículo 6** en el cual se han caracterizado las propiedades fotocatalíticas de nanopartículas de óxido de titanio dopadas con lantánidos.

- **Bloque 3 Estudio de diversas fuentes de aerosoles nanoparticulados.**

Este bloque se centra en la evaluación de distintas fuentes de emisión de nanopartículas (apartado 3 del bloque resultados y conclusiones) y está relacionado con los **Artículos 7 y 8** del compendio. Incluye el estudio del material particulado emitido en procesos de soldadura electrónica y en el mecanizado de materiales compuestos.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Los objetivos globales de esta tesis doctoral se enumeran a continuación:

- 1. Síntesis de materiales de referencia.** Sintetizar nanopartículas de óxido de titanio y estudiar sus propiedades fisicoquímicas. Los nanomateriales sintetizados se utilizarán como referencia en estudios relacionados con la Nanoseguridad.
- 2. Generación de aerosoles.** Generar aerosoles con características conocidas. En el caso de la nebulización de dispersiones coloidales, estudiar la influencia de distintos parámetros en la concentración y distribución de tamaños de partícula en el aerosol.
- 3. Desarrollo de nuevos métodos de filtrado.** Desarrollar y caracterizar una batería de difusión mixta.
- 4. Síntesis y caracterización de nanomateriales trazables.** Sintetizar nanomateriales trazables mediante dopado con cantidades conocidas de lantánidos y estudiar su influencia en las características fisicoquímicas originales de las partículas.
- 5. Métodos de detección e identificación de nanomateriales.** Desarrollar distintos métodos de detección de nanomateriales, incluyéndose las operaciones de toma de muestra, detección y análisis químico tanto en forma de aerosol como contaminando superficies.
- 6. Detección y estudio de emisiones.** Analizar distintos escenarios de emisión o liberación de nanomateriales al medio como operaciones básicas de manejo de material pulverulento, procesos de soldadura y mecanizado de materiales compuestos.
- 7. Desarrollar distintas aplicaciones nanotecnológicas para los materiales sintetizados.**

METODOLOGÍA

METODOLOGÍA E INSTRUMENTACIÓN

En este apartado se describe tanto la metodología utilizada para sintetizar nanopartículas de referencia, generar y filtrar aerosoles, como la instrumentación relacionada con la caracterización de aerosoles. Además, se han descrito las cámaras de exposición utilizadas y las distintas operaciones realizadas dentro de ellas para estudiar procesos de emisión. En el último apartado de la metodología se detallan las estimaciones de las intensidades de emisión asociadas a la liberación de material nanoparticulado. La descripción de las técnicas y equipos utilizados en la síntesis y caracterización de nanomateriales se ha incluido en el Anexo I de la tesis.

1 MÉTODOS DE SÍNTESIS Y DOPADO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE TITANIO

Se han sintetizado nanopartículas de óxido de titanio mediante un método sol-gel seguido de un tratamiento térmico por microondas. Además, estas partículas han sido dopadas con lantánidos. A continuación se describen los métodos de síntesis y dopado utilizados.

Un proceso sol-gel de síntesis de nanopartículas de TiO_2 , transcurre generalmente mediante reacciones de hidrólisis y condensación de un precursor de titanio, normalmente un alcóxido o una sal metálica. Comienza con una mezcla en solución de precursores iónicos (sales) y/o moleculares que evoluciona por medio de una serie de reacciones químicas de hidrólisis y polimerización y, tras una etapa de densificación mediante una serie de tratamientos térmicos, se forma un sólido inorgánico.

Las nanopartículas de titanio sintetizadas mediante el proceso sol-gel se forman mediante la unión de partículas primarias. El número de partículas primarias que dan lugar a una secundaria aumenta con el tiempo y, por tanto, el radio medio de las nanopartículas aumenta con el tiempo de acuerdo con el modelo de coalescencia de Lifshitz-Slyozow-Wagner[83].

Metodología

En muchas síntesis de óxido de titanio el precursor es TiCl_4 u otra sal metálica de Ti^{4+} que reacciona rápidamente con el agua siendo por tanto bastante difíciles de manejar. En nuestro caso se ha preferido sustituir esta clase de precursores por otros menos reactivos como los alcóxidos metálicos utilizándose tetraisopropóxido de titanio. Los productos obtenidos tras la síntesis sol-gel, necesitan un tratamiento térmico posterior para ser cristalinos. En nuestro caso se ha utilizado un tratamiento por microondas (MW) para sintetizar óxido de titanio con estructura cristalina [84, 85].

Brevemente, el método de síntesis consiste en la hidrólisis catalizada por ácido acético bajo agitación magnética, de una cantidad adecuada de tetraisopropóxido de titanio (TIPO) en etanol absoluto. Después de agitar durante un tiempo, se añade agua a la mezcla y se procede a calentar durante 15 minutos a 120°C en un horno microondas bajo agitación. Cuando la reacción ha terminado, el producto precipitado es separado mediante centrifugación y lavado con etanol absoluto. Mediante este método, se producen rápidamente nanopartículas altamente cristalinas, monodispersas, con formas homogéneas, tamaños inferiores a los 20 nanómetros y cuya fase cristalina es anatasa [86-88].

El método de síntesis descrito ha sido ligeramente modificado para conseguir dopar las nanopartículas. El objetivo principal del dopado es utilizar estas partículas como trazadores de contaminación ya que, la presencia de metales poco comunes en las partículas, permite identificar el material y por tanto seguir sus emisiones al medio. Se han seleccionado a los lantánidos como agentes dopantes ya que no se encuentran en concentraciones significativas en el medio ambiente. Además, generan señales con buena sensibilidad en distintas técnicas de análisis como EDX, XPS e ICP, e incluso, en el caso del neodimio, es posible observar absorciones específicas en el espectro visible.

Normalmente, para introducir el metal dopante en la reacción de síntesis se utiliza un nitrato u otra sal [89-96]. En el caso de las nanopartículas de óxido de titanio [87], se ha modificado la síntesis simplemente añadiendo la cantidad deseada del nitrato de lantano correspondiente a la mezcla de reacción. Al añadir el nitrato durante el proceso, se consigue que el ion metálico correspondiente se distribuya de

forma homogénea en los productos sintetizados. Este método resulta muy versátil ya que permite introducir distintos tipos de metales en las partículas y además controlar la cantidad incorporada. A lo largo de esta tesis doctoral se sintetizaron nanopartículas de óxido de titanio dopadas con lantano, cerio y neodimio. Hay que aclarar que la proporción de lantánidos en las partículas se ha expresado como una relación atómica porcentual N/Ti, siendo N el lantánido correspondiente. Los materiales se han denominado X N-TiO₂, siendo N el lantánido correspondiente y X la relación atómica expresada en tanto por uno.

Las nanopartículas sintetizadas no sólo se han utilizado para aplicaciones relacionadas con la nanoseguridad (**Artículos 1, 4 y 5** del compendio), sino que también en otras aplicaciones como la síntesis de materiales compuestos con efecto bactericida (**Artículo 3**) [86] y fotocatalizadores (**Artículo 6**) [87].

2 FOTOCATÁLISIS

La fotocatalisis heterogénea es un campo de investigación muy amplio que además tiene aplicación en numerosos procesos químicos incluyendo reacciones reductoras, isomerizaciones, sustituciones, condensaciones, polimerizaciones e incluso descomposición de agua para la generación de hidrógeno[97].

En general, la fotocatalisis heterogénea persigue la aceleración de una reacción en presencia de un semiconductor fotocatalítico. La metodología clásica consiste en iluminar, utilizando el espectro ultravioleta (UV) cercano, partículas catalíticas suspendidas en fase líquida o films. Este proceso forma especies que dan lugar a degradación de agentes contaminantes o a la aceleración de otro tipo de reacciones [98, 99].

A lo largo del presente trabajo se estudiaron las propiedades fotocatalíticas de nanopartículas de óxido de titanio dopadas con neodimio. Para ello se utilizaron dos tipos de reacciones: la degradación de la Rodamina B y la oxidación del fenol bajo luz ultravioleta. En el caso de la rodamina, las partículas se dispersaron en una disolución acuosa con 125 ppm de rodamina B para dar lugar a concentraciones de 1mg/ml. Se observó la evolución del colorante bajo una lámpara de luz ultravioleta con una

Metodología

longitud de onda máxima de 365 nm. Para ello, se tomaron muestras cada 20 minutos y se midieron en un espectrofotómetro ultravioleta/visible. De forma paralela se estudió la evolución de blancos tanto en la oscuridad como con iluminación y sin catalizador.

El estudio de la degradación del fenol fue llevado a cabo en la Universidad de Córdoba. Se mezcló bajo agitación una disolución de 50 ppm de fenol con el catalizador hasta producir una suspensión uniforme a temperatura ambiente. Se observó la evolución del fenol mediante un equipo HPLC equipado con un detector PDA y una columna Eclipse XDB-C18 bajo una lámpara de luz ultravioleta con una longitud de onda máxima de 365 nm.

3 MÉTODOS DE GENERACIÓN DE AEROSOLES

A continuación se describirán los procesos de nebulización y evaporación-condensación utilizados como métodos de generación de aerosoles a lo largo de la presente tesis doctoral.

3.1 Nebulización

La nebulización permite generar aerosoles a partir de suspensiones. En los experimentos realizados se ha utilizado un nebulizador comercial tipo “jet” Philips SideStream[®] cuyo esquema de operación aparece en la Figura 3. Se han nebulizado suspensiones acuosas de dos tipos de nanopartículas de óxido de titanio: partículas comerciales (denominadas TiO_2) y partículas sintetizadas por el método descrito en el apartado 1.1 (denominadas como MWTiO_2).

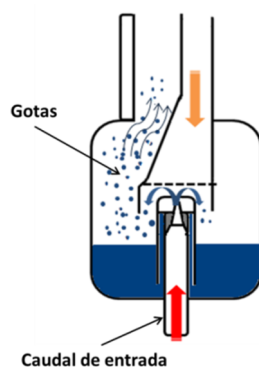


Figura 3 Esquema de operación del nebulizador Philips SideStream adaptado de [88]

El funcionamiento de un nebulizador “jet” se basa en hacer pasar una corriente de aire que, al focalizarse cerca de la superficie del líquido mediante un deflector, es capaz de generar un esfuerzo rasante en la película de líquido suficiente para producir un “spray” de gotas del tamaño deseado. El resto del diseño del nebulizador tiene el propósito de eliminar las gotas que superan un diámetro dado y de esta forma, limitar el tamaño de gota de salida [100].

El sistema experimental utilizado en los experimentos de nebulización se describe en la Figura 4. Las gotas generadas por el nebulizador jet pueden medirse

mediante un contador óptico o pueden atravesar un desecador comercial por difusión ((TSI Model 3062). Tras la etapa de secado y evaporación de las gotas, se obtiene un aerosol que es caracterizado en un clasificador electrostático (SMPS). El sistema experimental también permite acoplar un precipitador electrostático u otros medios de recogida de muestras del aerosol para su posterior análisis.

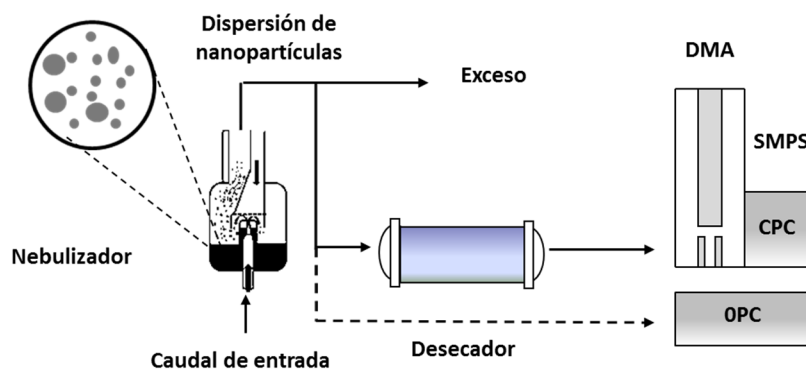


Figura 4 Sistema experimental utilizado en los experimentos de nebulización de dispersiones coloidales.

3.2 Evaporación-condensación

Durante la estancia realizada en el Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas (CENIM-CSIC) se generó un aerosol de nanopartículas de cloruro de sodio mediante evaporación-condensación. Este método consiste en sublimar una cierta cantidad de cloruro de sodio (NaCl) en polvo en un horno eléctrico generando un vapor que, tras atravesar un refrigerante, condensa dando lugar a un aerosol. La distribución de tamaños y la concentración del aerosol generado pueden ser modificadas con la temperatura del horno o los caudales de arrastre de aire utilizados.

Las partículas de NaCl generadas con una distribución de tamaños polidispersa, se dirigen a un neutralizador. Allí, adquieren una distribución de cargas eléctricas que les permite ser clasificadas en un clasificador electrostático (DMA según sus siglas en inglés). Seleccionando distintos voltajes se pueden obtener aerosoles monodispersos y suficientemente concentrados con distintos tamaños de partícula promedio.

Mediante el método de evaporación condensación, se generaron aerosoles monodispersos con diámetros inferiores a los 10 nm. Las partículas generadas se neutralizaron al atravesar un neutralizador bipolar y fueron utilizadas en distintos experimentos de filtrado. Tanto los equipos utilizados como los sistemas de filtrado se describirán con mayor detalle posteriormente.

4 DETECCIÓN, MEDIDA Y CARACTERIZACIÓN DE AEROSOLES

A continuación se describirán las técnicas e instrumentos utilizados en la caracterización de aerosoles. Se incluyen tanto técnicas de lectura directa basadas en la detección óptica de partículas como técnicas de detección eléctrica. También se han descrito distintos métodos de recogida de muestras para su posterior análisis.

4.1 Técnicas de lectura directa basadas en detección óptica

Las técnicas de detección óptica de aerosoles se basan en la detección de la luz dispersada por las partículas al interactuar con un haz electromagnético. El primer instrumento que utilizó este fenómeno para observar partículas pequeñas fue el ultramicroscopio y fue desarrollado en 1914 por el premio nobel Richard Zsigmondy.

Los sistemas de detección ópticos se basan en la teoría de dispersión de la luz de Mie [101]. La dispersión de la luz que produce una partícula de diámetro comprendido entre las 0.3 y las 0.6 micras es proporcional al cuadrado de su diámetro [102]. Los dispositivos de detección óptica pueden calcular la distribución de tamaño de un aerosol comparando la luz difractada que produce con una curva de calibración. Mäkynen y cols. [103] y Cheng y cols. [104] realizaron a principios de los años 80 una serie de experimentos independientes comparando las respuestas de dos detectores ópticos de la época. Más tarde, toda una serie de detectores ópticos han sido desarrollados a partir de esta idea con aplicaciones en múltiples y diversos campos.

4.1.1 Contadores ópticos de partículas (OPC)

Los contadores ópticos o *Optical Particle Counters* (OPC) pueden detectar una partícula al atravesar una celda iluminada por una lámpara o por un láser. En la Figura

Metodología

5 se puede observar un esquema de su funcionamiento. El rango de tamaños que puede medir van desde las 0.3 a las 22 micras.

La información obtenida depende de las características de las partículas medidas por lo que, generalmente, se suelen calibrar con esferas de látex (PSL) cuyo diámetro y densidad es estable y conocido [105]. En la presente tesis se ha utilizado un *Optical Particle Counter* (OPC) (Grimm-Aerosol GmbH) a un caudal fijo de 1.2 l/min utilizando 15 canales de medida. Este equipo se ha utilizado principalmente en los **Artículos 1 y 7** para caracterizar las gotas nebulizadas y los aerosoles generados en distintos procesos de soldadura electrónica respectivamente.

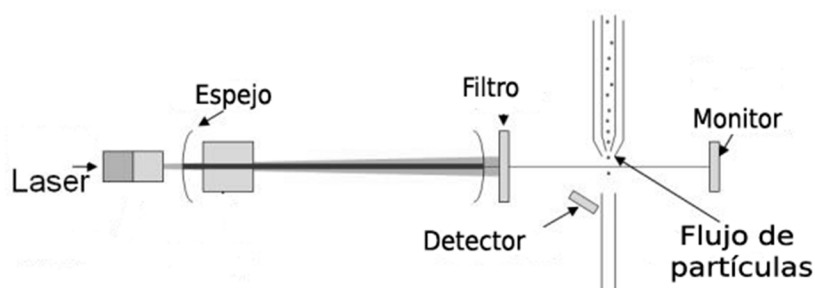


Figura 5 Esquema de operación del OPC adaptado de [106]

4.1.2 Detector de tiempo de vuelo

El primer detector de tiempo de vuelo, *Aerodinamic Particle Counter* (APS en inglés) fue propuesto por Wilson y Liu en 1980 [107] y, con el paso de los años, el diseño inicial ha sufrido una serie de mejoras. En este tipo de dispositivos, se mide el diámetro aerodinámico de una partícula al calcular la velocidad de esta en un flujo de aire acelerado.

En general, los dispositivos basados en este método pueden medir diámetros de partículas entre 0.5 y 10 micras. Una de las ventajas de este tipo de instrumentos es que, a diferencia de en los contadores ópticos, es que el proceso de medida es independiente de las propiedades ópticas de las partículas. Su funcionamiento se basa en la detección de dos pulsos de luz generados cuando una partícula acelerada recorre

Metodología

una distancia determinada entre dos haces de luz. El tiempo de vuelo de la partícula se convierte en un diámetro aerodinámico usando una curva de calibración.

El equipo utilizado en la presente tesis doctoral fue un *Aerodynamic Particle Sizer* (TSI, APS Model 3321) que puede clasificar partículas en un rango de tamaños de 0.56-20 μm . Este equipo se usó en los experimentos realizados en el centro NRCWE, descritos en el **Artículo 8**. Las medidas consistieron en estudiar el aerosol generado al reprocesar distintos nanocomposites, para ello se diluyó el aerosol de entrada en la proporción 1:20 utilizando el equipo dilutor (Aerosol Diluter TSI 3302A).

4.1.3 Contador de núcleos de condensación (CPC)

Un contador de núcleos de condensación o *Condensation Particle Counter* (CPC) es un dispositivo que se utiliza para medir la concentración de partículas en un gas. Este equipo ha sido diseñado para detectar partículas pequeñas, en especial, diámetros inferiores a 300 nm, ya que no es posible observar directamente la dispersión de la luz que producen estas partículas [108, 109]. Su funcionamiento se basa en la condensación de un líquido alrededor de las partículas a detectar aumentando su diámetro hasta un valor que pueda observarse en un detector óptico.

Existen distintos tipos de contadores según el tipo de líquido que utilizan. Un esquema de operación de un CPC con butanol aparece en la Figura 6. El aerosol entra en una cámara saturada de vapor y después pasa a otra cámara con una temperatura inferior. El vapor condensa sobre las partículas incrementando su tamaño y haciendo posible su detección.

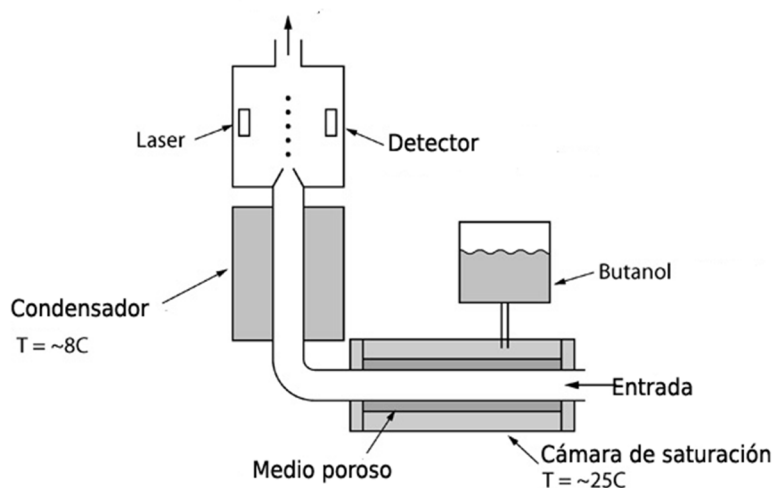


Figura 6 Esquema de operación del CPC adaptado de [106]

Se han utilizado dos tipos de contadores de núcleos de condensación, un equipo de la marca TSI modelo 3025^a y un equipo de la marca Grimm modelo 5401. Ambos utilizan butanol como líquido de saturación. En el modelo de TSI el tamaño mínimo de partícula detectado es de 3 nm (al 50%) y 5 nm (al 90%). El rango de concentración de partículas se extiende desde 0.01 hasta 10^5 partículas/cm³, con una exactitud de ± 10 %. Este dispositivo se utilizó en los experimentos del **Artículo 2** con un caudal de 1.5 l/min, desviando el exceso de aerosol a través de un filtro HEPA.

Por otra parte en el modelo de Grimm el tamaño mínimo de partícula detectado es de 5 nm y el límite de concentración máximo detectable es de 10^7 partículas/cm³. El equipo puede operar a dos caudales distintos (0.3 y 1.5 l/min) aunque en la mayor parte de los experimentos se ha utilizado el caudal más pequeño. Este dispositivo se ha utilizado en los **Artículos 1, 5, 7 y 8**.

4.2 Técnicas basadas en la detección eléctrica.

Las partículas con diámetros inferiores a 100 nm presentan dificultades para ser medidas mediante técnicas ópticas. Por tanto, las técnicas comúnmente utilizadas para la medida y clasificación de este tipo de partículas se basan en la aplicación de fuerzas electrostáticas [110].

La movilidad eléctrica (Z_p) se puede utilizar como parámetro para obtener distribuciones de tamaños de un aerosol con una resolución relativamente alta. Una partícula con una sola carga que se encuentre dentro de un campo eléctrico determinado, migrará con una velocidad que dependerá únicamente de su tamaño y estructura. Para una partícula determinada, su movilidad eléctrica viene dada por la expresión:

$$Z_p = \frac{neC_c}{3\pi\mu d_p} \quad (1)$$

siendo n el número de cargas, e la carga de un electrón, C_c el número de Cunningham, μ la viscosidad del aire y d_p el diámetro de partícula.

Para poder aplicar técnicas basadas en movilidad eléctrica a un aerosol, este debe estar previamente cargado. Existen diferentes mecanismos de cargado de partículas, aunque los más convencionales son el cargado por difusión y el cargado en presencia de un campo eléctrico. Las partículas se ponen en contacto con iones de ambos signos (bipolares) o de un solo signo (unipolares) "captando" iones en su superficie y adquiriendo carga eléctrica.

4.2.1 Tipos de cargadores

Las partículas de un aerosol pueden adquirir carga con distintos tipos de cargadores. Según la fuente de ionización que utilicen estos dispositivos pueden ser cargadores corona o cargadores radiactivos. Los cargadores corona están formados por dos electrodos, en uno de ellos se genera una descarga corona que ioniza el gas a su alrededor generando iones que se dirigirán hacia el electrodo opuesto. Los

Metodología

cargadores radiactivos consisten en una fuente ionizante radiactiva. Ambos tipos de dispositivos, pueden ser a su vez cargadores unipolares o bipolares según los iones generados sean de ambos signos o de un solo signo.

Los cargadores bipolares, especialmente los radiactivos, son los más comunes. La interacción de las partículas con los iones generados por la fuente ionizante da lugar a un estado de carga de equilibrio, con partículas neutras y cargadas positiva y negativamente. Así pues, se alcanza una distribución de carga estacionaria que sigue la Ley de Boltzmann [111-115]. Esta distribución tiene una carga media cero por lo que los cargadores bipolares son llamados frecuentemente neutralizadores.

Los cargadores bipolares radiactivos más comunes son los que utilizan como fuentes ionizantes ^{85}Kr , ^{210}Po y ^{241}Am . En la presente tesis se han utilizado cargadores de ^{241}Am . El isótopo 241 de americio es un emisor α ($\alpha=^4_2\text{He}$) y da lugar a una ionización específica muy elevada. En el caso de los cargadores corona bipolares, cuando a uno de los electrodos se le aplica corriente alterna (AC) se generan iones de ambos signos.

4.2.2 Impactador eléctrico de baja presión (ELPI)

Un impactador eléctrico de baja presión o *Electrical Low Pressure Impactor* (ELPI) permite clasificar partículas en un aerosol mediante tres pasos: el cargado eléctrico en un cargador corona bipolar, su clasificación en un impactador cascada y, finalmente, la detección de la carga eléctrica transportada mediante electrómetros.

Las partículas transportadas por una corriente gaseosa se clasifican según su diámetro aerodinámico en un impactador en cascada integrado en el equipo. Un impactador cascada está formado por distintas zonas, cada una de ellas consta de un disco en el que hay practicados distintos orificios seguido de una superficie de colección de partículas. La velocidad de las partículas se modifica al atravesar los distintos orificios. Cuando el diámetro de partícula es mayor a un diámetro de corte determinado y característico, las partículas no pueden seguir las líneas de flujo e impactan en el disco colector mientras el resto continúa hacia la siguiente etapa.

Metodología

El diámetro de corte de una etapa es definido como el diámetro de partícula que se deposita con un 50% de eficiencia. Idealmente, todas las partículas mayores son recolectadas mientras que el resto continúa hacia la siguiente etapa. Sin embargo, efectos como la difusión de partículas pequeñas o el rebote de las grandes pueden modificar de forma sustancial la colección real [116]. La eficiencia de colección de partículas grandes se suele mejorar al engrasar la superficie de colección con distintos productos. Los diámetros de corte de un impactador decrecen a lo largo de las distintas etapas. En la presente tesis doctoral se ha utilizado un *Electrical Low Pressure Impactor* (Dekati, ELPI+ Model 10016) que divide a las partículas en 14 fracciones dentro de un rango de tamaños de 6 nm a 10 micras. Este dispositivo se ha utilizado principalmente en el **Artículo 8**.

Según el principio de operación del ELPI la carga transportada por las partículas que se depositan en las distintas etapas del impactador da lugar a una corriente eléctrica que es proporcional a la concentración de las partículas en cada etapa. En la Figura 7 se muestra un esquema del dispositivo.

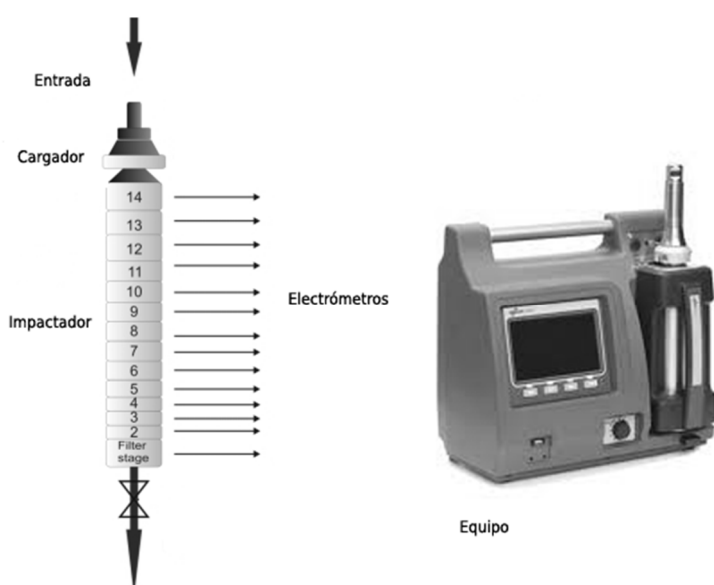


Figura 7 Esquema de operación e imagen el equipo ELPI. Adaptado de DEKATI

4.2.3 Clasificador electrostático (SMPS)

Un clasificador electrostático o *Scanning Mobility Particle Sizer* (SMPS) está formado por un analizador de movilidad eléctrica (DMA) y un contador de partículas por condensación (CPC). Estos equipos son una herramienta indispensable en el estudio de aerosoles y su importancia ha quedado patente durante más de dos décadas.

El aerosol de entrada es cargado mediante un neutralizador bipolar o un cargador corona. Las partículas se clasifican en el analizador de movilidad eléctrica y el aerosol de salida se detecta en un contador de partículas por condensación. En la presente tesis se ha utilizado un equipo SMPS de la empresa Grimm-Aerosol GmbH en la caracterización de aerosoles de óxido de titanio (**Artículo 1**) y en el estudio de un proceso de soldadura electrónica (**Artículo 7**). A continuación se describirán las partes principales que componen este equipo: un analizador de movilidad eléctrica (DMA) y un contador de núcleos de condensación (CPC).

4.2.3.1 Analizador de movilidad eléctrica (DMA)

El analizador de movilidad eléctrica o *Differential Mobility Analyzer* (DMA) fue inicialmente diseñado por Hewitt (1957)[117] y después mejorado por Knutson y Whitby (1975) [118] que entendieron el potencial de este equipo para medir distribuciones de tamaños de partículas.

Fundamentalmente este equipo puede considerarse un condensador coaxial de flujo que clasifica partículas cargadas basándose en la capacidad de estas para migrar en presencia de un campo eléctrico, es decir, basándose en su movilidad eléctrica, Z_p .

Está formado por dos cilindros metálicos concéntricos que actúan como electrodos (Figura 8). Sobre ellos se aplica una diferencia de potencial que genera un campo eléctrico radial. Por la parte superior se introduce un caudal de arrastre Q_c , aire limpio que fluye axialmente entre los electrodos. El aerosol que se desea clasificar, previamente cargado, entrará en el equipo también por la parte superior Q_a y se moverá en dirección axial a la misma velocidad que el gas de arrastre. A lo largo de su

Metodología

recorrido, el campo eléctrico establecido entre los electrodos defleca las partículas cargadas en dirección radial hacia el electrodo interior, con una fuerza proporcional a su movilidad eléctrica. En el electrodo interior hay una rendija por la cual saldrá el aerosol clasificado Q_s .

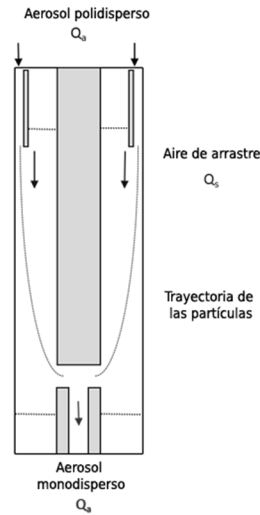


Figura 8 Esquema de operación simplificado de un DMA.

La movilidad eléctrica Z_{pc} de las partículas que se extraen por la rendija de clasificación viene dada por [119]

$$Z_{pc} = \frac{Q_t + 0.5(Q_a - Q_s)}{2\pi L V} \ln\left(\frac{r_2}{r_1}\right) \quad (2)$$

$$\Delta Z = \frac{(Q_s + Q_a) \ln\left(\frac{r_2}{r_1}\right)}{2\pi V L} \quad (3)$$

siendo V el voltaje y Q_t el caudal total, Q_a y Q_s los caudales de aerosol de entrada y salida, r_1 y r_2 son los radios de los cilindros interno y externo que forman del DMA y L es la longitud entre la entrada del aerosol y la rendija de salida. Cuando los caudales de entrada y de salida están "compensados" ($Q_a = Q_s$) la movilidad de una partícula se reduce a:

$$Z_{pc} = \frac{Q_c \ln\left(\frac{r_2}{r_1}\right)}{2\pi dLV} \quad (4)$$

De esta forma, las partículas describirán diferentes trayectorias parabólicas bajo la acción de la fuerza del gas de arrastre y la fuerza eléctrica. La curvatura de las trayectorias depende de la movilidad eléctrica de la partícula, del campo eléctrico aplicado y de los caudales de aire limpio y aerosol. Solo las partículas cuya movilidad eléctrica se encuentra en un estrecho intervalo en torno a un valor determinado por el potencial aplicado, son clasificadas y salen del analizador de movilidad eléctrica.

En la ecuación (1) se puede observar la relación entre la movilidad eléctrica Z_p de una partícula y su diámetro d_p . Considerando que las partículas han alcanzado un estado de carga estacionario y conocido antes de entrar al analizador de movilidad eléctrica, al aplicar un voltaje determinado, se fija el intervalo de movilidad eléctrica a la salida del equipo y por tanto el rango de diámetros de partícula. Es decir, este equipo permite obtener un aerosol cargado y monodisperso, con un rango de diámetros de partícula conocido. La resolución del equipo condiciona la polidispersidad del aerosol de salida y es dependiente de los caudales de entrada y de salida y de parámetros que corresponden al diseño del equipo, ecuación (4). Será máxima cuando disminuyen los caudales de entrada y salida del aerosol respecto al caudal total en el dispositivo.

4.2.3.2 Contador de núcleos de condensación o *Condensation Particle Counter (CPC)*

Un contador de núcleos de condensación (CPC) es un dispositivo para medir la concentración numérica de partículas en un gas y comúnmente se utiliza como detector en un SMPS. La descripción de este equipo se ha realizado en el apartado 4.1.3. de la Metodología.

Metodología

4.2.4 Nanoparticle Spectrometer (NPS)

Un *Nanoparticle Spectrometer* (NPS) es un equipo cuyo funcionamiento se basa en el de un clasificador electrostático y está compuesto por un analizador de movilidad eléctrica y un contador de núcleos de condensación (Figura 9). La principal ventaja de este equipo, además de su tamaño compacto, es que el proceso de cargado del aerosol se realiza mediante un cargador corona en lugar de utilizar fuentes radiactivas. El equipo utilizado en la presente tesis es un Nano-ID NPS500 de la empresa Naneum y se ha utilizado principalmente en los experimentos realizados en el **Artículo 5**.



Figura 9 Imagen del Nanoparticle Spectrometer utilizado en la presente tesis.

4.2.5 Fast Mobility Particle sizer (FMPS)

El *Fast Mobility Particle Sizer* (FMPS) es un dispositivo que permite obtener la distribución de tamaños de partículas en un rango de tamaños desde 5.6 hasta 560 nm. El primer prototipo de este instrumento fue desarrollado en 1980 en Estonia por Mirme A. y cols.[120]. Su funcionamiento se puede equiparar al del SMPS ya que en él las partículas son clasificadas según su movilidad eléctrica.

El aerosol de entrada se carga en dos cargadores unipolares de signos opuestos. Seguidamente, accede a una zona entre dos cilindros concéntricos empujados por una corriente de aire limpio y filtrado vertical. El cilindro externo tiene una serie de electrodos en forma de anillos mientras que el cilindro interno está conectado a alto voltaje. Las partículas cargadas serán repelidas por el

Metodología

cilindro interno y describirán trayectorias parabólicas llegando a los electrodos, transfiriendo su carga y permitiendo así su detección en tiempo "real". En la

Figura 10 se puede observar un esquema de operación de este equipo. La principal ventaja frente al SMPS es las medidas de distribución de tamaños son mucho más rápidas. Se ha utilizado un equipo *Fast Mobility Particle Sizer* (TSI, FMPS model 3091) en los experimentos realizados al mecanizar materiales compuestos descritos en el **Artículo 8** del compendio.

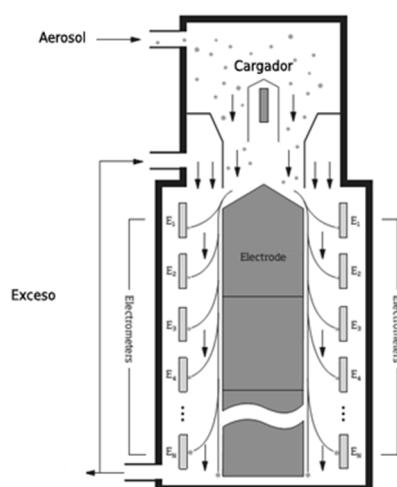


Figura 10 Esquema de operación simplificado de un FMPS adaptado de TSI.

4.3 Métodos de muestreo

Los instrumentos utilizados para la toma de muestra de partículas en la presente tesis se describirán a continuación, incluyen un precipitador electrostático, un recolector de muestras para TEM y un ciclón.

4.3.1 Precipitador electrostático (PPT)

Un precipitador electrostático o *Electrostatic Precipitator* (PPT) es un dispositivo desarrollado para capturar partículas cargadas mediante el uso de un campo eléctrico. Consta básicamente de un tubo conectado a tierra y un alambre a lo largo de su eje al que se aplica un voltaje (positivo o negativo) para precipitar las partículas con una movilidad igual o mayor a una cierta movilidad crítica Z . El precipitador electrostático

Metodología

utilizado ha sido el modelo 5561 de la marca Grimm-Aerosol GmbH (Germany) que permite recoger partículas en un rango de tamaños desde 0.8 hasta 1100 nm.

4.3.2 Recolector de muestras para TEM

Para recoger partículas de una aerosol para su posterior observación por microscopía, se ha utilizado un dispositivo que consiste en un porta-filtros de acero inoxidable en el que se coloca un filtro de policarbonato (Figura 11) y una rejilla de cobre para su posterior observación por SEM o TEM respectivamente [121].

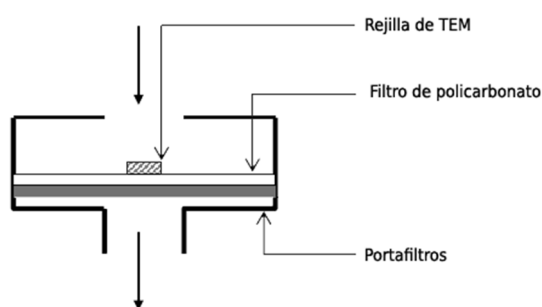


Figura 11 Esquema de colector de muestras adaptado de [121].

4.3.3 Ciclón

Los ciclones son comúnmente utilizados como método de rutina para tomar muestras al estudiar la exposición a determinados aerosoles. Se basan en la deposición selectiva de las partículas más gruesas de un aerosol con respecto a las más finas. Dentro de un ciclón el aire fluye siguiendo un patrón helicoidal haciendo que las partículas más grandes (y más densas) posean demasiada inercia como para seguir el flujo y caigan a la parte inferior.

La geometría de este dispositivo junto con su flujo volumétrico, definen el punto de corte del ciclón, es decir, el tamaño de las partículas que serán retiradas con un 50% de eficiencia. Las partículas mayores que el punto de corte se depositarán con una mayor eficacia y las menores continuarán. En el caso de los ciclones compatibles con portafiltros, como el que se ha utilizado en la presente tesis doctoral, las partículas más finas quedan retenidas en un filtro mientras que las de mayor tamaño caen a un

Metodología

depósito situado en la parte inferior del ciclón (Figura 12). En experimentos realizados en el **Artículo 8** del compendio, se ha utilizado un ciclón (BGI, GK 2.69).



Figura 12 Imagen de un ciclón compatible con un portafiltros adaptada de BGI.

A continuación se resumirán los equipos utilizados en una tabla (Tabla 2).

Equipo	Proceso de medida	Rango de trabajo	Marca y modelo
Contador óptico de partículas (OPC)	Detectan la luz dispersada por una partícula.	300 - 22000 nm	<i>Optical Particle Counter (OPC)</i> ; Grimm-Aerosol GmbH
Detector de tiempo de vuelo (APS)	El diámetro aerodinámico de una partícula se mide al calcular su velocidad en un flujo de aire acelerado.	500 - 20000 nm	<i>Aerodynamic Particle Sizer (TSI, APS Model 3321)</i>
Contador de núcleos de condensación (CPC)	Las partículas actúan como núcleos de condensación de un líquido, aumentando su diámetro hasta un valor observable en un detector óptico.	5-1000 nm	<i>Condensation Particle Counter (CPC)</i> TSI modelo 3025 ^a Grimm modelo 5401
Impactador eléctrico de baja presión (ELPI)	Tres pasos: las partículas se cargan en un cargador corona bipolar, se clasifican en un impactador cascada y, finalmente, se detecta la carga eléctrica transportada mediante electrómetros	6 - 10000 nm	<i>Electrical Low Pressure Impactor (Dekati, ELPI+ Model 10016)</i>
Clasificador electrostático (SMPS)	El aerosol de entrada al dispositivo sufre un proceso de carga, las partículas clasificadas en el analizador de movilidad eléctrica y detectadas en un contador de partículas por condensación.	5-1000 nm	SMPS de Grimm-Aerosol GmbH (Germany)
Fast Mobility Particle sizer (FMPS)	Similar al del SMPS pero con varios electrodos para detectar las partículas. Permiten medidas más rápidas que el SMPS.	5 – 560 nm	<i>Fast Mobility Particle Sizer (TSI, FMPS model 3091)</i>
Precipitador electrostático (PPT)	Se aplica un voltaje para precipitar partículas con una movilidad igual o mayor a una cierta movilidad crítica Z.	0.8 - 1100 nm	<i>Electrostatic Precipitator (PPT) modelo 5561 de la marca Grimm-Aerosol GmbH (Germany)</i>
Recolector de muestras para TEM	Portafiltros de acero inoxidable con un filtro de policarbonato que puede tener distintos tamaños de poro, y una rejilla de cobre.	Depende del filtro y las condiciones de filtrado.	Basado en el artículo [121]
Ciclón	Se basa en la deposición selectiva de las partículas más gruesas de un aerosol con respecto a las más finas debido a un flujo helicoidal del aire en el interior del ciclón.	Depende del diseño del ciclón y del flujo de aire.	BGI, Modelo GK 2.69

Tabla 2 Tabla resumen de los equipos de detección, medida y caracterización de aerosoles.

5 MÉTODOS DE FILTRADO DE AEROSOLES

Los métodos de filtrado son la forma más común de eliminar partículas sólidas de una corriente gaseosa y tienen infinidad de aplicaciones [122]. Sin embargo, la filtración es un proceso complejo en el que, aunque los principios generales son bien conocidos, todavía existen numerosas cuestiones por resolver.

Existen distintos mecanismos de deposición de partículas en un filtro. Para partículas en el rango nanométrico el mecanismo predominante es la deposición por difusión. Las baterías de difusión son los sistemas filtrantes basados en este mecanismo están formados por una serie de filtros colocados en serie a través de los cuales circula el aerosol a filtrar. Su eficiencia de recolección de partículas se basa en el modelo de Chen and Yeh [123]. Este tipo de sistemas tienen numerosas aplicaciones e incluso hay equipos de medida de partículas basados en sus propiedades [124].

En la presente tesis doctoral se trabajó con baterías de difusión durante la estancia realizada en el CENIM (CSIC) (**Artículo 2** del compendio). El sistema de filtrado utilizado consta de dos unidades de filtrado geoméricamente idénticas y colocadas en paralelo, una vacía y la otra con un determinado número de mallas de alambre metálicas que forman la batería de difusión (Figura 13).

Cada una de las unidades de filtración (Figura 13) está formada por tres cilindros de latón, uno de entrada, otro de salida y el cilindro intermedio que es donde se colocan las rejillas filtrantes. La longitud total de cada unidad es de 186 mm y su diámetro interno de 8 mm. Entre el cilindro de entrada y el de salida se colocaron 5 anillos también de latón que tienen una anchura de 4 mm y un diámetro externo e interno de 14 y 8 mm respectivamente. Dichos cilindros permiten colocar hasta 6 rejillas metálicas. El hecho de que las rejillas colocadas estén en contacto con el cilindro metálico principal hace que las cargas que se generan en ellas durante el proceso de filtrado, sean disipadas rápidamente y no interfieran en las medidas.

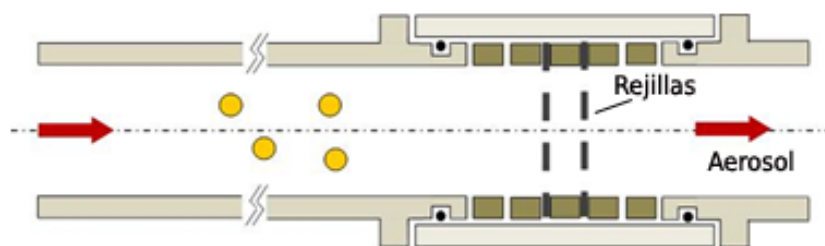


Figura 13 Unidad de filtrado en la que se colocan las rejillas filtrantes formando una batería de difusión.

6 CÁMARAS DE EXPOSICIÓN

Una cámara de exposición permite manipular de manera segura y controlada nanomateriales. Además ofrece un ambiente controlado en el que se puede trabajar en un medio libre de partículas ambientales. De esta manera, se pueden estudiar las características de las emisiones producidas en el proceso a considerar o bien, si se trabaja en presencia de partículas ambientales, observar su interacción con las partículas del ambiente.

Cada cámara de exposición tiene un diseño determinado con el fin de interferir mínimamente en las medidas tomadas en su interior. Cuando se trabaja en un ambiente libre de partículas ambientales, las cámaras de exposición sufren un exhaustivo proceso de limpieza. Normalmente se utiliza una corriente de aire libre de partículas que ha atravesado previamente un filtro de alta eficiencia (*High Efficiency Particulate Air* (HEPA)). Según el *National Institute of Occupational Safety and Health* (NIOHS) aislar la fuente de generación mediante el uso de un sistema de ventilación exhaustivo y un sistema de filtrado de alta eficiencia, es un método efectivo para capturar y eliminar partículas [60]. Durante la realización de la tesis se trabajó utilizando dos tipos de cámaras de exposición que se describirán a continuación.

Metodología

6.1.1 Cámara de exposición I

Se trata de una cámara de guantes sidENTRY™ comprada en Sigma Aldrich. Es una cámara acrílica de dimensiones 0.61 x 0.61 x 0.71 m. El aire de la cámara es limpiado fácilmente a través de filtros HEPA y su tamaño hace que sus paredes sean fácilmente accesibles (Figura 14). De esta manera la cámara de guantes puede ser limpiada fácilmente utilizando bayetas específicamente diseñadas para la limpieza y mantenimiento de salas blancas. En algunos casos, se ha introducido en el interior de la cámara un pequeño ventilador para asegurar un mezclado homogéneo del aerosol a estudio. Esta cámara ha sido utilizada en los **artículos 4, 5 y 7** del compendio.

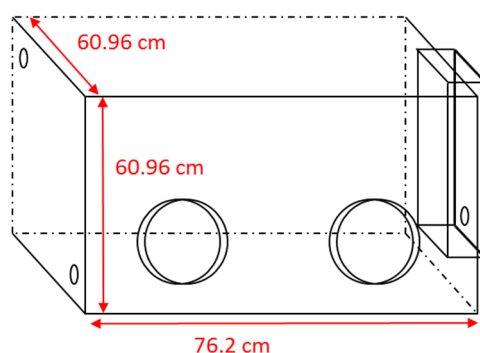


Figura 14 Esquema de la cámara de guantes sidENTRY™ utilizada como cámara de exposición.

6.1.2 Cámara de exposición II

La cámara de guantes utilizada en el *National Research Center for the Working Environment* (NRCWE) es de acero inoxidable y tiene un volumen de 0.66 m³. Consta de un sistema de ventilación que la limpia con aire filtrado para asegurar una baja concentración de partículas. Además, está equipada con un pequeño ventilador interior que asegura un mezclado homogéneo y completo del aire interior. Consta de distintas salidas de toma de muestra y además posee una escotilla que permite ver lo que sucede en su interior (Figura 15). En esta cámara se han realizado los experimentos que han dado lugar al **Artículo 8**.

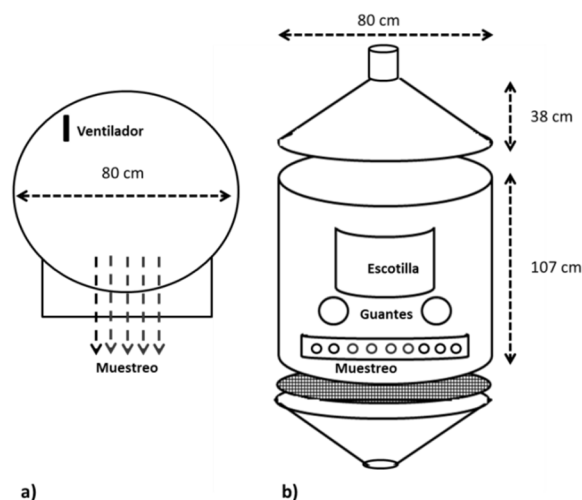


Figura 15 Esquema de la cámara de guantes utilizada como cámara de exposición II.

7 OPERACIONES DE RIESGO

Se llevaron a cabo distintas operaciones con riesgo de emisión de nanomateriales dentro de las cámaras de exposición. Operaciones como la manipulación materiales pulverulentos, el mecanizado de materiales compuestos o procesos de soldadura electrónica sirven como referencia para identificar sus principales riesgos y para estudiar y evaluar las emisiones potenciales de material nanoparticulado asociadas.

A continuación se describirán los experimentos realizados en el estudio de distintos procesos con riesgo de emisión de nanomateriales.

7.1.1 Contaminación de superficies durante la manipulación de nanomateriales

El desarrollo de métodos de detección de contaminación de superficies por nanomateriales es uno de los puntos clave de esta tesis doctoral y ha sido desarrollado en el **Artículo 4** del compendio.

Para estudiar la contaminación de superficies se realizaron una serie de experimentos dentro de una superficie delimitada en el interior de la cámara de exposición I. Básicamente, los experimentos consisten en manipular pequeñas

Metodología

cantidades de nanopartículas marcadas en polvo y estudiar la deposición de partículas en el área a estudio. Para ello, se colocaron trocitos de cinta de carbono (1cm x 1cm) como "testigos" a distintas distancias del punto de manipulación y se estudiaron por microscopía electrónica de barrido.

Se desarrolló también un método cuantitativo de evaluación de contaminación por nanomateriales. La toma de muestra en uno de los pasos más delicados del método y consiste en recoger las partículas en una superficie delimitada, con una toallita especial llamada *Ghost Wipe*. Las muestras recogidas se digieren y analizan mediante espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado (ICP-OES). Un esquema de las etapas del proceso se recoge en la Figura 16 Esquema del método de recogida y cuantificación de nanomateriales en superficies; (1) toma de muestra (2) disolución de la toallita en agua caliente (3) centrifugado (4) digestión (5) análisis químico.

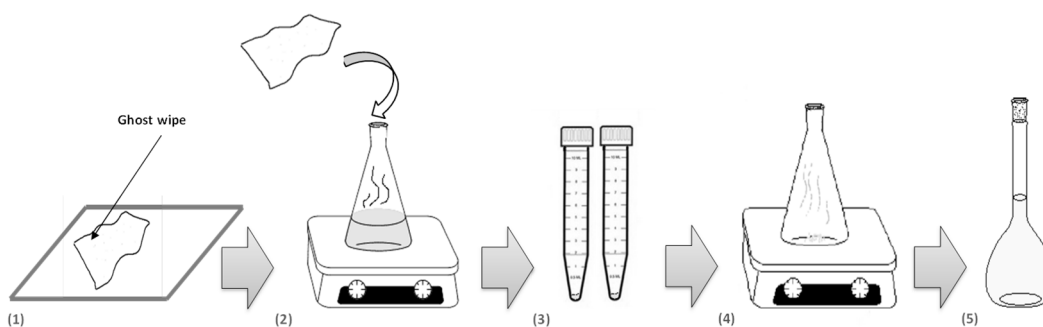


Figura 16 Esquema del método de recogida y cuantificación de nanomateriales en superficies; (1) toma de muestra (2) disolución de la toallita en agua caliente (3) centrifugado (4) digestión (5) análisis químico.

Este método de análisis se evaluó mediante un control positivo para conocer la eficiencia de recolección de nanopartículas. Para ello, se distribuyó una cantidad conocida de nanopartículas marcadas en una superficie, se tomó una muestra que se digirió y analizó, repitiéndose este proceso varias veces. Finalmente, se comparó el valor obtenido con la cantidad inicialmente depositada encontrando más de un 75 % de recuperación. A pesar de su aparente simplicidad, este método de análisis resulta altamente eficaz para cuantificar partículas.

7.1.2 Manipulación de nanopartículas

Con el fin de estudiar las emisiones generadas en distintas operaciones básicas de laboratorio, se caracterizaron las emisiones generadas al manipular pequeñas cantidades de nanomateriales dentro de la cámara de exposición I. Además, se experimentó tanto en presencia como en ausencia de partículas ambientales.

Las actividades seleccionadas para representar la manipulación habitual de nanomateriales en un laboratorio (**Artículo 5** del compendio) fueron: el trasvasado, el molido, y la manipulación con espátula de nanomateriales pulverulentos. También se simuló un derrame accidental. En todo caso la cantidad de material utilizado fue inferior a dos gramos de material.

Para caracterizar las emisiones producidas durante la manipulación se utilizaron distintos equipos de monitorización como un contador de núcleos de condensación (CPC) y un clasificador electrostático (SMPS). Además se tomaron muestras de las partículas emitidas para observar su morfología en microscopía electrónica de transmisión (TEM), utilizando para ello el colector de muestras para TEM previamente descrito en el punto 4.3.2.

7.1.3 Procesos de soldadura

Para estudiar las emisiones generadas en procesos de soldadura electrónica se realizaron distintos experimentos en la cámara de exposición I. Para ello, tal y como se describe en el **Artículo 7** del compendio, se seleccionaron dos tipos de hilos de soldadura formados por aleaciones con plomo en su formulación (denominado SnPbCu) y sin plomo (llamado SnAgCu). Los hilos contienen además alrededor de un 2% en peso de resina colofonia en su composición que permite una fusión más fácil del hilo y evita su oxidación.

En los experimentos realizados se simula un proceso de soldadura al fundir un trozo de hilo utilizando un soldador cerámico (Model LF369D, XYtronic Inc, Shingle

Metodología

Springs, CA). Cada experimento se puede dividir en tres etapas: la medición del número de partículas presentes inicialmente en la cámara, el calentamiento del soldador hasta que alcanza la temperatura deseada y el proceso de soldadura en sí mismo.

El material particulado generado en los humos fue monitorizado mediante contadores de núcleos de condensación (CPC), contadores ópticos (OPC) y un clasificador electrostático (SMPS). Por otra parte las muestras recogidas se caracterizaron por SEM, TEM y EDX.

7.1.4 Reprocesado de materiales compuestos

Se mecanizaron dos tipos de materiales compuestos resinas epoxy con nanotubos de carbono y pintura blanca con nanopartículas de óxido de titanio (**Artículo 8**). En ambos casos se incluyó una muestra libre de nanomateriales. Los procesos estudiados fueron el lijado y serrado eléctrico, se utilizaron herramientas eléctricas y se trabajó en un ambiente libre de partículas dentro de la cámara de exposición II. Cada proceso de mecanizado consiste en tres etapas, en la primera se mide el número de partículas presente en la cámara de exposición, se mecaniza el material durante unos 30 segundos y se continua midiendo la evolución de las emisiones durante unos minutos tras finalizar el mecanizado.

Los aerosoles generados se estudiaron utilizando varios equipos de medida (APS, ELPI, FMPS y CPC) que trabajaron en un rango de tamaños desde 5 nm hasta 20 micras. Se recogieron muestras en filtros de policarbonato utilizando para ello un ciclón (BGI, GK 2.69). Las partículas recogidas en los filtros fueron estudiadas mediante microscopía electrónica de barrido y análisis de rayos X. Finalmente, algunos de los filtros fueron ultrasonificados con el fin de recuperar las partículas y depositarlas en una rejilla de cobre para su posterior análisis por microscopía de transmisión electrónica.

8 INTENSIDAD DE EMISIÓN

La intensidad de emisión (o *Source Strength* en inglés) es un parámetro clave que permite comparar distintas fuentes de emisión de material particulado. A continuación se describirán las distintas estimaciones utilizadas en el compendio.

En el caso de emisiones continuas, la intensidad de la emisión se puede calcular directamente como la pendiente (S_i , $s^{-1} \text{ cm}^3$) de los datos de concentración de partículas respecto al tiempo. Esta aproximación se ha utilizado en el caso de procesos continuos de mecanizado (lijado) de materiales compuestos en el **Artículo 8** del compendio. Los datos experimentales han sido medidos con un ELPI y se han calculado valores de S_i para cada uno de los rangos de tamaño de los canales de medida del equipo.

Por otra parte, se puede estimar la intensidad de emisión de una fuente, utilizando los llamados factores de emisión en número (NEF (s^{-1}) según sus siglas en inglés) y en masa (MEF (s^{-1})). La diferencia entre ellos está basada principalmente en que los datos experimentales utilizados para su cálculo estén expresados en número de partículas por volumen o en masa por volumen. Estos factores se han utilizado en las emisiones producidas al soldar (**Artículo 7**) o manipular material nanoparticulado (**Artículo 5**) a partir de los resultados experimentales obtenidos mediante contadores de partículas.

El cálculo de estos factores se basa en un balance de materia utilizado comúnmente para predecir concentraciones de partículas en ambientes interiores. Esta ecuación fue propuesta por He y cols. [125]:

$$\frac{dC_{in}(t)}{dt} = \frac{NEF}{V} - kC_{in}(t) \quad (5)$$

Siendo V (cm^3) el volumen, $C_{in}(t)$ concentración total de partículas en la cámara (cm^{-3}), t el tiempo (s), k (s^{-1}) es la velocidad decaimiento del número de partículas e incluye los procesos de dilución y de deposición. Asumiendo que la

Metodología

disminución de la concentración de partículas es constate durante los experimentos, se puede proponer una solución a la ecuación (5) integrando el tiempo desde $t = 0$ a un valor arbitrario denominado t_F .

$$\overline{NEF} = V \left[\frac{C_{in}(t_F) - C_{in}(0)}{t_F} + k\overline{C_{in}(t_F)} \right] \quad (6)$$

Los valores de NEF calculados tras cada experimento, se estimaron considerando que la cámara de exposición donde se trabaja se encuentra libre de partículas antes de cada experimento. Si consideramos t_S como el tiempo en el que se termina la emisión se puede obtener la expresión [126]:

$$NEF = \frac{t_F}{t_S} V \left[\frac{C_{in}(t_F) - C_{in}(0)}{t_F} + k\overline{C_{in}(t_F)} \right] \quad (7)$$

Esta expresión se ha utilizado en los artículos 5 y 7. En ambos casos los valores de concentración se obtuvieron a partir de datos experimentales experimental. Las emisiones estudiadas en el **Artículo 5** son emisiones puntuales y de corta duración por lo que se tomó un tiempo arbitrario t_F (300 s tras la emisión) para reducir la influencia del tiempo de duración de las emisiones en el cálculo del NEF. Por el contrario, las emisiones en procesos de soldadura son emisiones continuas por lo que t_F es igual a t_S en este caso.

El coeficiente K incluye todos los procesos por los que se eliminan partículas del aerosol. Se estimó resolviendo el balance (1) considerando que la emisión es cero quedando:

$$\ln C_{in} = -kt + \ln C_{MAX} \quad (8)$$

El valor de k se puede estimar calculando el decaimiento promedio de la concentración a partir de los datos experimentales obtenidos tras la emisión.

RESULTADOS

RESULTADOS

El apartado de resultados de la presente tesis doctoral resume los resultados presentados en los ocho artículos que forman el compendio. Este apartado se ha dividido en tres grandes bloques:

Generación y captura de aerosoles nanoparticulados. En este apartado se describe la síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de titanio, sus coloides y la generación de un aerosol nanoparticulado mediante nebulización (**Artículo 1**). También se ha desarrollado y caracterizado un nuevo tipo de batería de difusión denominada batería de difusión mixta (**Artículo 2**). Finalmente, como un resultado colateral, se han generado microesferas de ácido poliláctico (PLA) con nanopartículas de óxido de titanio que les confieren propiedades bactericidas (**Artículo 3**).

Marcado, detección e identificación de nanopartículas. Este apartado incluye la síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de titanio marcadas y el desarrollo de métodos de detección de material nanoparticulado (**Artículo 4**). También se han estudiado las emisiones producidas al manipular nanomateriales pulverulentos en operaciones básicas de laboratorio (**Artículo 5**). Finalmente, se han utilizado nanopartículas de óxido de titanio dopadas con neodimio como fotocatalizadores (**Artículo 6**).

Estudio de diversas fuentes de emisión de aerosoles. Se han identificado y evaluado distintas operaciones con riesgo de emisión de nanomateriales: procesos de soldadura electrónica (**Artículo 7**) y operaciones de mecanizado de materiales (**Artículo 8**).

A lo largo del apartado de resultados se hace referencia a figuras o tablas incluidas en las publicaciones que forman parte del compendio. Se ha utilizado la siguiente terminología: **AX Fig. N** o **AX Tabla Z**. Siendo X el número de la publicación del compendio, N el número de figura y Z el número de tabla en el artículo correspondiente. La Figura 17 relaciona la estructura del apartado de resultados con sus artículos correspondientes en el compendio de publicaciones.

Resultados

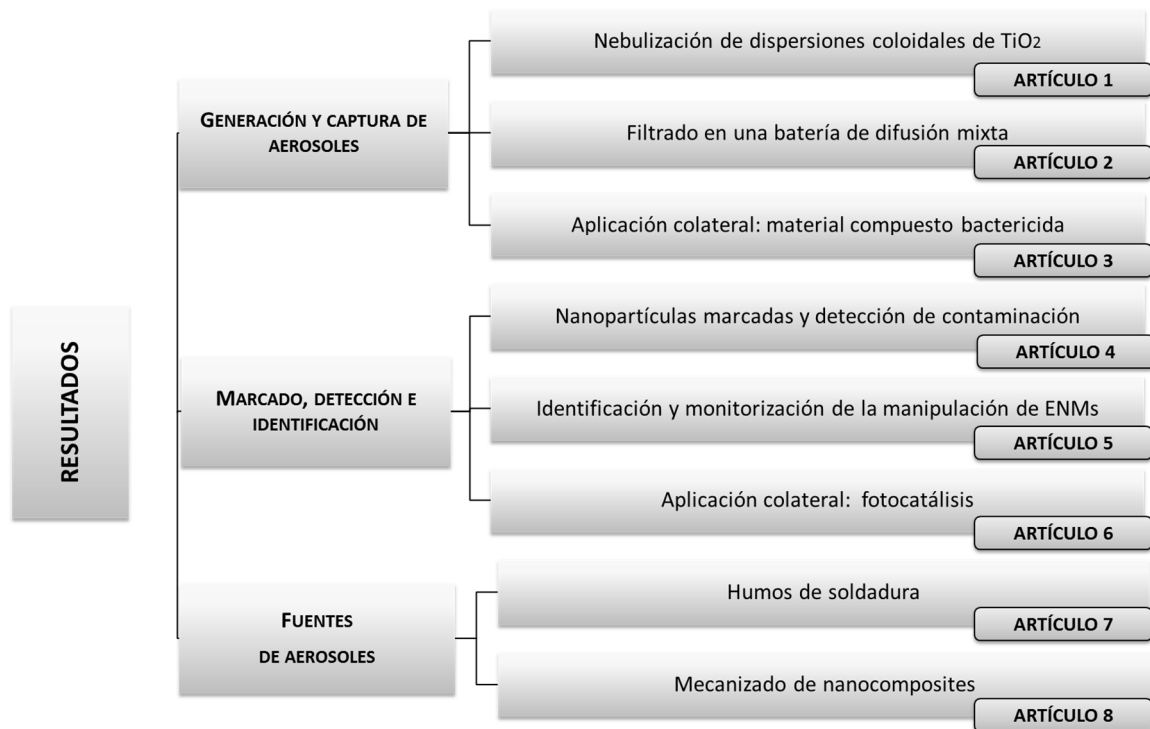


Figura 17 Esquema de los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral

1 GENERACIÓN Y CAPTURA DE AEROSOLES NANOPARTÍCULADOS

El Comité Científico de Riesgos Sanitarios Emergentes y Recientemente Identificados (SCENIHR) ha destacado que el desarrollo de materiales y métodos de referencia es una de las necesidades clave en el campo de la nanoseguridad. Siguiendo esta recomendación, se han sintetizado nanopartículas de óxido de titanio como material de referencia ya que el óxido de titanio es uno de los nanomateriales manufacturados más comunes. Con el fin de generar aerosoles con características controlables (naturaleza, concentración, distribución de tamaños, etc.) que puedan ser utilizados en el futuro en estudios toxicológicos u otras aplicaciones, se ha estudiado la nebulización de dispersiones coloidales de nanopartículas de titanio. Por otro lado, se ha desarrollado y caracterizado un nuevo método de filtrado por difusión de nanopartículas mediante una batería de difusión mixta.

1.1 Nebulización de dispersiones coloidales de nanopartículas de óxido de titanio

La nebulización neumática es una de las técnicas de generación de aerosoles más versátiles. Los nebulizadores son utilizados en aplicaciones como biomedicina (Henning et al. 2010), administración de fármacos [127, 128] o incluso en procesos de síntesis química (Kodas 1999). En el campo de la nanoseguridad, la nebulización es uno de los métodos utilizados para simular y estudiar la exposición a nanopartículas ya que la inhalación es la ruta de exposición que mayor preocupación causa entre la comunidad científica [129, 130].

La nebulización presenta retos y cuestiones por resolver, especialmente cuando se aplica a dispersiones coloidales en el rango nanométrico. El principal desafío es conocer la relación entre el grado de dispersión de las partículas que forman el coloide y el aerosol generado. Además, sales u otros compuestos solubles pueden precipitar durante el proceso de nebulización dando lugar a contaminación en los aerosoles. Por tanto, es necesario minimizar la presencia de residuos en el líquido nebulizado, especialmente cuando se utiliza agua [131]. La presente tesis incluye un estudio sobre la influencia del coloide y de las condiciones de operación (concentración de

Resultados

nanopartículas, caudal utilizado y pH) en la generación de un aerosol nanoparticulado de óxido de titanio (**Artículo 1**). Se utilizaron nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂) para generar los aerosoles por ser este uno de los nanomateriales más utilizados en aplicaciones tecnológicas e industriales [132-136]. A continuación se describirá tanto la síntesis de nanopartículas, su caracterización y el estudio de sus coloides como la generación y caracterización del aerosol generado mediante nebulización.

1.1.1 Síntesis de nanopartículas de óxido de titanio

Tras realizar una revisión bibliográfica de los distintos tipos de síntesis de nanopartículas de TiO₂ se observó que muchos de los métodos existentes hasta la fecha presentan problemas. Los métodos basados en procesos sol-gel y en microemulsiones generan materiales amorfos por lo que se necesita un tratamiento térmico para inducir la cristalización de las partículas. Sin embargo, estos tratamientos pueden dar lugar a transformaciones de fases, sinterización, crecimiento de grano y pérdida del área superficial de las partículas. Otros métodos como la síntesis hidrotermal en la que se trabaja directamente a altas temperaturas generan cristales aglomerados cuyas propiedades son muy dependientes de las condiciones de reacción [137]. Con el fin de minimizar los problemas mencionados se decidió emplear un procedimiento de síntesis sol-gel seguido de un tratamiento por radiación de microondas [87, 88].

El proceso sol-gel presenta numerosas ventajas respecto a otros métodos de síntesis como la alta pureza y homogeneidad de los productos, las bajas temperaturas de proceso, la posibilidad de obtención de materiales porosos y la opción de poder realizar un dopaje controlado y homogéneo de los materiales, entre otras. Sin embargo, es difícil conseguir una buena cristalinidad de los productos obtenidos y minimizar la agregación de las partículas a lo largo del proceso. Para superar estos inconvenientes la síntesis de óxido de titanio se realiza en dos etapas. Una etapa inicial sol-gel en la que se produce una hidrólisis catalizada por ácido acético de tetraisopropóxido de titanio (TIPO) y una segunda etapa que consiste en un tratamiento térmico mediante radiación microondas. El calentamiento por microondas

Resultados

produce una rápida transferencia de calor y un calentamiento selectivo del medio reduciéndose por tanto el tiempo y la energía utilizada en la síntesis. La síntesis de nanopartículas se ha descrito en detalle en el **Artículo 1** del compendio de publicaciones.

Mediante esta síntesis se obtuvieron partículas con formas homogéneas, tamaños inferiores a los 20 nanómetros y fase cristalina anatasa (A1 Fig.2). De esta manera se ha logrado una síntesis sencilla, rápida y eficiente con la que se producen nanopartículas de óxido de titanio altamente cristalinas y que no necesitan tratamientos posteriores.

1.1.2 Caracterización de óxido de titanio nanométrico

Las características de las nanopartículas de óxido de titanio sintetizadas, en adelante denominadas $MW\text{TiO}_2$, se compararon con las de nanopartículas comerciales denominadas simplemente como TiO_2 . Las principales diferencias entre los dos tipos de nanopartículas se deben a sus distintos grados de dispersión y a su área superficial siendo en ambos casos superiores en el caso de las partículas sintetizadas. Los valores de área superficial y de volumen de poro se determinaron mediante adsorción de nitrógeno obteniéndose valores de área BET para TiO_2 y $MW\text{TiO}_2$ de $83 \text{ m}^2/\text{g}$ y $239 \text{ m}^2/\text{g}$ respectivamente.

Mediante microscopía SEM y TEM se observó la morfología y el grado de aglomeración de los materiales. La Figura 18 muestra formas y tamaños heterogéneos para las nanopartículas comerciales mientras que la muestra $MW\text{TiO}_2$ está formada por partículas regulares y homogéneas. Estas últimas tienen un tamaño promedio en torno a los $15 \pm 4 \text{ nm}$ (medido a partir de una muestra de $N > 100$ partículas), y se encuentran menos agregadas.

Resultados

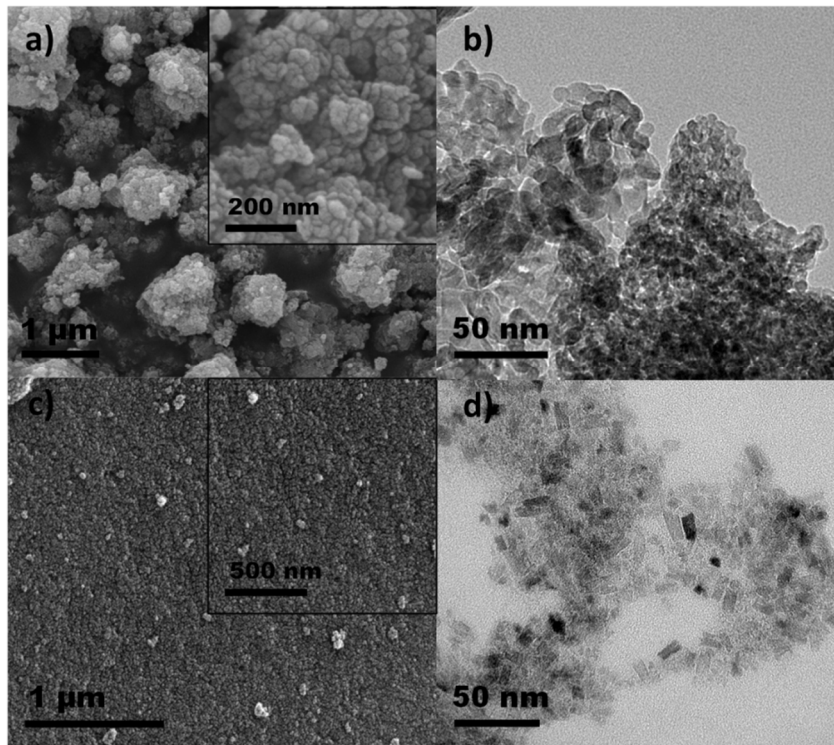


Figura 18 Micrografías de microscopía de barrido (SEM) y transmisión (TEM) de nanopartículas comerciales TiO_2 (a, b) y sintetizadas MWTiO_2 (c, d).

1.1.3 Caracterización de los coloides

Para entender el proceso de nebulización de un material [138], es imprescindible conocer las características de la dispersión de partida. Al estudiar las partículas de óxido de titanio en agua mediante potencial zeta, se observó un comportamiento anfótero [139] que se debe a la presencia de grupos hidroxilo en la superficie de las partículas que, a valores de pH inferiores o superiores al del punto isoeléctrico, dan lugar a especies cargadas positiva o negativamente.

A pesar de estar compuestas por el mismo material, las nanopartículas comerciales y las sintetizadas muestran un comportamiento diferente en dispersión acuosa. Como puede observarse en la Figura 19, las partículas de TiO_2 presentan valores absolutos de potencial Z menores que MWTiO_2 en el rango de pH estudiado. Resultados de FTIR y XPS confirman diferencias en su composición superficial que pueden justificar este comportamiento: MWTiO_2 posee bandas correspondientes a grupos orgánicos en el espectro de FTIR y su análisis XPS muestra un porcentaje de

Resultados

O/Ti mayor que TiO_2 . Este último resultado puede explicarse gracias al mayor área superficial de MWTiO_2 y por tanto a la presencia de más grupos hidroxilo superficiales, lo que aumenta la concentración atómica de oxígeno y contribuye por tanto a mayores valores de carga en su superficie.

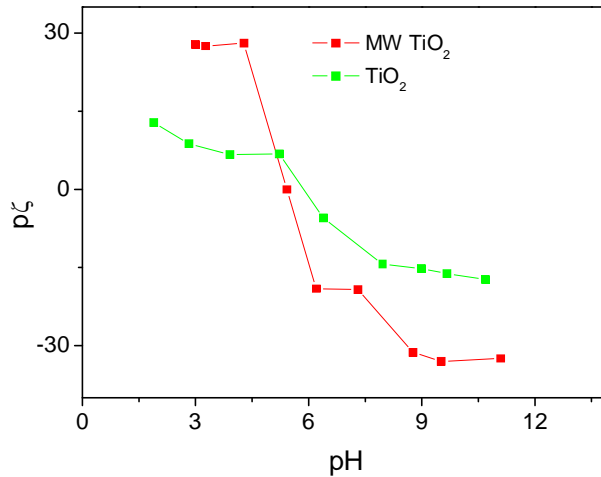


Figura 19 Valores de potencial Z medidos a distintos pH en dispersiones coloidales de nanopartículas de MWTiO_2 y TiO_2

Al analizar las partículas mediante DLS se observó que los coloides preparados a partir de TiO_2 muestran diámetros hidrodinámicos en torno a los 800 nm y mayores índices de polidispersidad mientras que las muestras de MWTiO_2 presentan diámetros en torno a los 200 nm para el mismo pH. En ambos casos, pH ácidos o básicos dan lugar a una disminución de los diámetros hidrodinámicos promedio y por tanto a una mejor dispersión de las muestras (A1 Tabla 1).

1.1.4 Caracterización del aerosol

Para generar aerosoles de óxido de titanio, es necesario comprender los factores que influyen en la nebulización de dispersiones coloidales de nanopartículas. Por tanto, se ha estudiado la influencia de la contaminación residual, el caudal utilizado y las propiedades de los coloides (concentración y grado de dispersión) la nebulización.

Resultados

- **Efecto de la contaminación residual en el aerosol**

Uno de los grandes problemas de la nebulización es la presencia de impurezas en el líquido da lugar a sólidos cuando las gotas se secan[140]. Estas impurezas pueden generar partículas individuales o adherirse a la superficie de las partículas que forman el coloide de partida [141].

Para minimizar su influencia sobre los aerosoles nanoparticulados, se nebulizó agua con tres orígenes distintos: i) agua comercial con uso en biología molecular previamente filtrada a través de un filtro de 0.10 micras, ii) agua Milli-Q (filtrada a través de un filtro de 0.22 micras) y iii) agua corriente de la ciudad de Zaragoza.

Al nebulizar las distintas aguas y medir la concentración de partículas residuales con un CPC se observó que el agua corriente es la que da lugar a un mayor número de partículas residuales, por encima de 10^5 partículas/cm³ (A1 Fig. 5). Una combinación de filtrado y agua de alta pureza minimiza los residuos por lo que se utilizó agua Milli-Q para el resto de las dispersiones de nanopartículas usadas en la generación de aerosoles.

- **Efecto de los caudales de aire**

Tanto el tamaño como la concentración de las gotas generadas depende de varios factores como el caudal de gas utilizado, las propiedades del líquido de partida o el diseño del nebulizador, entre otros [142]. Se estudió la influencia de distintos caudales de aire en las gotas generadas en la primera etapa de la nebulización. Al medir la distribución de tamaños de las gotas con un OPC, se observó que su número aumenta al aumentar el caudal de aire mientras que su distribución de tamaños permanece inalterada y, gracias al diseño del nebulizador, se mantiene por debajo de las 10 micras. No se encontraron diferencias significativas al comparar las distribuciones de tamaño de las gotas generadas a partir de agua o a partir de una dispersión de nanopartículas (A1 Fig. 1).

También se estudió el efecto de los caudales de aire en el aerosol. Para ello se utilizaron dispersiones coloidales de nanopartículas de óxido de titanio sintetizadas

Resultados

MWTiO₂ y comerciales TiO₂. Al aumentar el caudal, aumenta el número de gotas y se genera un aerosol más concentrado. De esta manera, es posible variar el número de partículas del aerosol modificando los caudales. Se generaron aerosoles de óxido de titanio en un rango de concentraciones desde las $2 \cdot 10^3$ a las $4 \cdot 10^4$ partículas por centímetro cúbico (A1 Fig. 6) obteniéndose aerosoles más concentrados al partir de partículas MWTiO₂.

Las distribuciones de tamaños de los aerosoles generados están por debajo de los 200 nm para los dos tipos de partículas estudiadas. La distribución al nebulizar partículas TiO₂ es monomodal con un diámetro medio geométrico (GMD según sus siglas en inglés) de 58 nm (A1 Fig. 7 a). No obstante, al nebulizar MWTiO₂ se obtiene una distribución de tamaños bimodal con GMDs 14 y 80 nm (A1 Fig. 7 b).

La forma de la distribución y la concentración de los aerosoles MWTiO₂ indican que el grado de dispersión del coloide no solo influye en la forma de la distribución sino también en el número de partículas aerosolizadas. Así el coloide que está mejor disperso da lugar a más partículas en el aerosol.

Se estudió la morfología y el tamaño del aerosol por microscopía de barrido y de transmisión. Las partículas que lo forman son agregados de forma pseudo-esférica con diámetros inferiores a los 200 nm (Figura 20). La forma de las partículas puede ser explicada debido al mecanismo de secado de las gotas: la tensión superficial hace que la forma esférica se mantenga durante el proceso de evaporación mientras las partículas se van agregando al aumentar su concentración. Además, el pequeño tamaño de las nanopartículas respecto a las gotas da lugar a agregados altamente empaquetados debido a procesos de auto ensamblaje [143]. Al observar más detalladamente las partículas recogidas se ve que el empaquetamiento que forman las partículas MWTiO₂ es mucho más compacto que el de las de TiO₂ gracias a su mayor homogeneidad en tamaños y formas, Figura 20 b).

Resultados

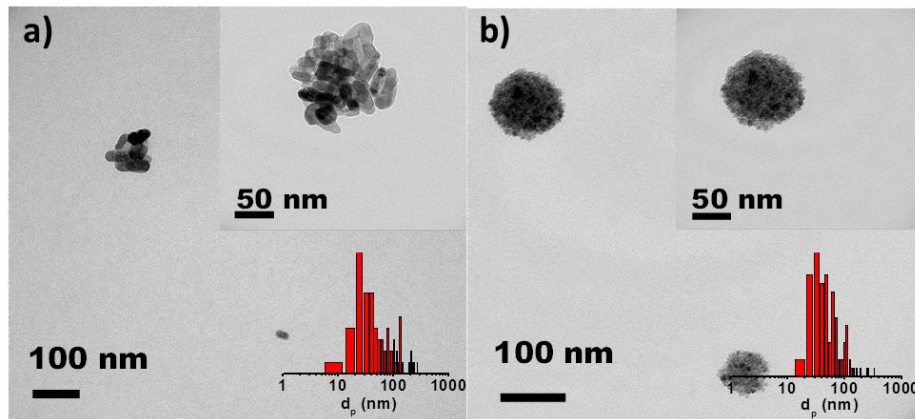


Figura 20 Imágenes de microscopía de transmisión electrónica de los agregados esféricos generados mediante la nebulización de dispersiones coloidales de nanopartículas de óxido de titanio a) TiO_2 y b) MWTiO_2

- **Efecto de la concentración de los coloides en el aerosol**

Para estudiar el efecto de la concentración en la nebulización se trabajó con dispersiones de TiO_2 de dos concentraciones distintas (0.1 mg/mL y 1 mg/ml). En ambos casos la distribución de tamaño de las partículas generadas es similar mostrando valores de GMD alrededor de los 60 nm. Sin embargo, se observa que para una mayor concentración, la distribución se ensancha especialmente hacia diámetros superiores. Este suceso se puede relacionar con la formación de agregados de diámetro mayor en el aerosol cuando la concentración en el coloide es mayor [144].

Además se observó que el tipo de empaquetado que forman las partículas durante el secado, también está influido por la concentración de la dispersión. La fracción de volumen de partículas en el grano final, disminuye al aumentar la concentración por lo que se forman agregados más grandes aunque menos densamente empaquetados [143].

- **Efecto de la dispersión de los coloides en el aerosol**

Como ya se ha comentado, el óxido de titanio presenta un carácter anfótero en medios acuosos. Al estudiar el efecto del pH en los aerosoles generados, se observó que a pH 5 se obtenían las concentraciones más bajas. Este pH está próximo al del

Resultados

punto isoeléctrico del material por lo que el grado de aglomeración en la fase acuosa será mucho mayor que a pH ácidos o básicos (A1 Fig. 9).

Si suponemos en la nebulización se generan gotas llenas y vacías y que cada gota llena al secarse da lugar a una partícula. Más gotas vacías dan lugar a un aerosol menos concentrado. Cuando se forman aglomerados grandes estos no son capaces de acceder a las gotas más pequeñas, habiendo más gotas vacías y dando lugar a una disminución del número de partículas en el aerosol ya que la población total de nanopartículas primarias se distribuye en un número menor de agregados de mayor tamaño.

Cuando el pH es distinto al del punto isoeléctrico, los valores absolutos de se forman dispersiones más estables [145], se generan menos gotas vacías en la nebulización y el aerosol generado es más concentrado.

1.2 Filtrado de nanopartículas en una batería de difusión mixta

Dentro de los distintos mecanismos de captura de partículas, los métodos de filtrado son la forma más común para eliminar partículas sólidas de una corriente gaseosa y tienen infinidad de aplicaciones desde el desarrollo de equipos de protección respiratoria hasta la mejora de la calidad del aire, el procesado de material radiactivo o peligroso y las aplicaciones en salas blancas [122].

Las partículas suspensión presentes en el aire son consideradas partículas finas si su diámetro aerodinámico se encuentra por debajo de 2.5 micras (PM_{2.5}) y cuando son menores de 0.1 μm se denominan partículas ultrafinas (PM_{0.1}). En el caso de partículas ultrafinas los mecanismos filtrantes predominantes son la difusión y la atracción electrostática. Cabe aclarar que la norma ISO/TR 27628:2007 [8] considera que los términos nanopartícula y partículas ultrafina se refieren a partículas con diámetros nominales inferiores a los 100 nm aunque el término ultrafino suele aplicarse a partículas en suspensión generadas de forma secundaria. En este apartado se utilizarán ambos términos indistintamente.

Con el desarrollo de la Nanotecnología, ha aumentado la preocupación sobre la eficiencia de algunos de los filtros más utilizados a la hora de capturar nanopartículas [146]. Por tanto, se necesitan nuevos medios de protección y captura de una eficacia aún mayor [147]. Las baterías de difusión son dispositivos de filtrado formados por una serie de mallas o filtros colocados en batería que permiten capturar partículas de una corriente gaseosa. Este tipo de sistemas de filtrado generan gran interés ya que se utilizan con nanopartículas en el rango nanométrico y tienen numerosas aplicaciones especialmente en el desarrollo de equipos de medida de aerosoles (Fierz, Weimer et al. 2009[148, 149]).

El presente trabajo consiste en el desarrollo y caracterización de un nuevo tipo de batería de difusión mixta formada por dos tipos de mallas metálicas. Este tipo de baterías permite combinar las características de distintos tipos de filtros aumentando así la eficiencia de filtrado y reduciendo además costes en su diseño. Se realizó en el Centro Nacional de Investigación Metalúrgica (CENIM) perteneciente al Consejo

Resultados

Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) bajo la supervisión del Dr. Manuel Alonso.

1.2.1 Filtrado de nanopartículas en baterías de difusión

Los principales mecanismos de deposición de partículas en un filtro son: difusión, impacto, intercepción y deposición gravitacional [150]. En el caso de partículas con diámetros inferiores a 100 nm el mecanismo el predominante es la difusión [146]. La energía térmica de un gas se distribuye entre las moléculas que lo forman, si hay partículas suspendidas en el gas, estas también sufrirán procesos de intercambio de energía térmica, dando lugar a un movimiento microscópico conocido como movimiento Browniano [151]. Este movimiento es el causante de que las partículas no sigan escrupulosamente las líneas de flujo en un gas sino que difundan. Cuando se topan con una superficie, existe una probabilidad de que se adhieran a ella por fuerzas de Van der Waals. Si se produce un número de choques suficiente la mayoría de las partículas se depositarán en ella.

Para caracterizar la capacidad de filtrado de un medio filtrante se utiliza un parámetro denominado eficacia unitaria de fibra (η) definido como el cociente entre el número de partículas retenidas en una fibra entre el número de partículas que serían retenidas si las líneas de flujo no divergieran alrededor de la fibra rodeándola [152]. Como este parámetro es independiente del grosor del filtro, permite comparar la capacidad filtrante de filtros distintos. Otros parámetros que caracterizan a un filtro son, su fracción de volumen sólida (α), diámetro de fibra equivalente (d_f) y su parámetro de red o malla (S).

En el presente trabajo se ha desarrollado una batería de difusión mixta en la que se han colocado una serie de rejillas "sándwich", estando cada una de ellas formada por una malla de oro colocada entre dos mallas de aluminio. Existe un tipo especial de batería de difusión que utiliza un concepto similar y se denomina "*graded screen array*" (GSA). Desarrollada por Holub and Knutson [153], se trata de una batería de difusión mixta formada por rejillas o mallas que poseen distintas características geométricas. En las baterías "*graded screen array*" (GSA) cada una de las rejillas está

Resultados

separada respecto a las otras por una cierta distancia, mientras que en el caso a estudio, las tres mallas que forman cada rejilla compuesta "sándwich" están en contacto.

Este nuevo diseño de batería mixta hace que, mientras que la penetración de un aerosol que atravesase una batería GSA se pueda calcular mediante el producto de las penetraciones individuales para cada una de las rejillas que lo forman, en el caso de las rejillas "sándwich" este modelo ya no es válido. Una rejilla mixta está formada por tres rejillas en contacto por lo que el flujo del aerosol que atraviesa la segunda y tercera rejilla está afectado por las anteriores. Todo ello hace que este nuevo tipo de rejillas compuestas deba ser caracterizado de forma experimental, utilizando para ello un aerosol de nanopartículas de NaCl generado mediante evaporación-condensación.

1.2.2 Caracterización de una batería de difusión mixta

En un aerosol que esté formado por partículas neutras con diámetros en el rango nanométrico, el único mecanismo de filtrado es la difusión. En este caso la eficacia de filtrado de una sola fibra (η) de un filtro se define según Lee y Liu [154] como:

$$\eta_d = 2.58 \left(\frac{1-\alpha}{K} \right)^{1/3} Pe^{-2/3} \quad (9)$$

donde K es el factor hidrodinámico

$$K = -\frac{1}{2} \ln \alpha - \frac{3}{4} + \alpha - \frac{\alpha^2}{4} \quad (10)$$

α se define como la solidez o fracción volumétrica sólida del filtro, y Pe es un número adimensional que relaciona las velocidades medias de convección y difusión de las partículas, denominado número Peclet, que se define como:

Resultados

$$Pe = \frac{Ud_f}{D} \quad (11)$$

U (m/s) es la velocidad interfacial del flujo, d_f (m) el diámetro de fibra equivalente y D es el coeficiente de difusión (m^2/s).

A su vez, el coeficiente de difusión D (m^2/s) se define como

$$D = \frac{kTC_c}{3\pi\mu d_p} \quad (12)$$

siendo k la constante de Boltzmann, 1.38×10^{-16} (dinas.m/K), T (K) es la temperatura absoluta, μ (dinas.s/m) es la viscosidad del gas, d_p (m) es el diámetro de partícula y C_c es el factor de corrección de Cunningham

$$C_c = 1 + 2.492 \frac{\lambda}{d_p} + 0.84 \frac{\lambda}{d_p} e^{\left(-0.435 \frac{d_p}{\lambda}\right)} \quad (13)$$

donde λ (m) es el recorrido libre medio de las moléculas de gas.

Tradicionalmente, las baterías de difusión se han utilizado para probar de forma experimental la definición de la eficacia de filtrado de una sola fibra propuesta por Lee y Liu (10) [123, 155, 156]. Chen y Yeh propusieron un modelo que describe la eficacia de filtrado de una batería de difusión [123] según la expresión

$$\eta_{do} = 2.7Pe^{-2/3} \quad (14)$$

Este modelo es estrictamente válido en el caso de valores de Reynolds de fibra inferiores a 1. El número de Reynolds (Re) es un número adimensional utilizado en mecánica de fluidos, diseño de reactores y fenómenos de transporte para caracterizar el movimiento de un fluido, valores del número de Reynolds bajos describen un flujo en estado laminar mientras que, por el contrario, valores altos definen un flujo turbulento.

Resultados

En este trabajo el modelo de Chen y Yeh se va a aplicar para obtener los parámetros catacterísticos de la nueva batería de difusión mixta desarrollada. Sin embargo, primero se debe comprobar la validez del modelo de Chen and Yeh para las condiciones experimentales utilizadas. Para ello se realizaron una serie de experimentos utilizando una batería de difusión clásica formada por seis rejillas de aluminio colocadas en serie. Las rejillas utilizadas poseen unas características perfectamente conocidas y se encuentran separadas unas de otras dentro del sistema de filtrado.

Es dispositivo experimental se describe en la Figura 21 a). En ella el dispositivo de filtrado está formado por dos unidades idénticas, una vacía (es la unidad de referencia) y la otra conteniendo varias rejillas o mallas [157]. Una descripción más detallada de las partes que componen cada batería de difusión se ha realizado en la Metodología.

Para obtener datos experimentales se ha utilizado un aerosol formado por nanopartículas de NaCl y generado mediante evaporación condensación. Inicialmente se trata de un aerosol polidisperso por lo que, utilizando un clasificador electrostático (DMA según sus siglas en ingles) y seleccionando distintos voltajes aplicados al clasificador, se pueden obtener distintos aerosoles monodispersos que serán posteriormente neutralizados al atravesar un neutralizador bipolar. Como puede observarse en la Figura 21 a) tras atravesar el neutralizador bipolar, las partículas que siguen teniendo carga son eliminadas en un precipitador electrostático. Finalmente, los aerosoles monodispersos, con diámetros promedios inferiores a los 10 nm y neutros, atraviesan las unidades de filtrado y llegan a un contador de núcleos de condensación (CPC).

El aerosol monodisperso y neutro atraviesa alternativamente los dos dispositivos de filtrado permitiendo obtener datos de su penetración a través del filtro. La penetración de un aerosol se expresa como el cociente entre el número de partículas que atraviesan la unidad de filtrado (Figura 21 b)) entre las que atraviesan la unidad vacía. Los valores de penetración se han medido a distintos caudales manteniéndose siempre el régimen laminar.

Resultados

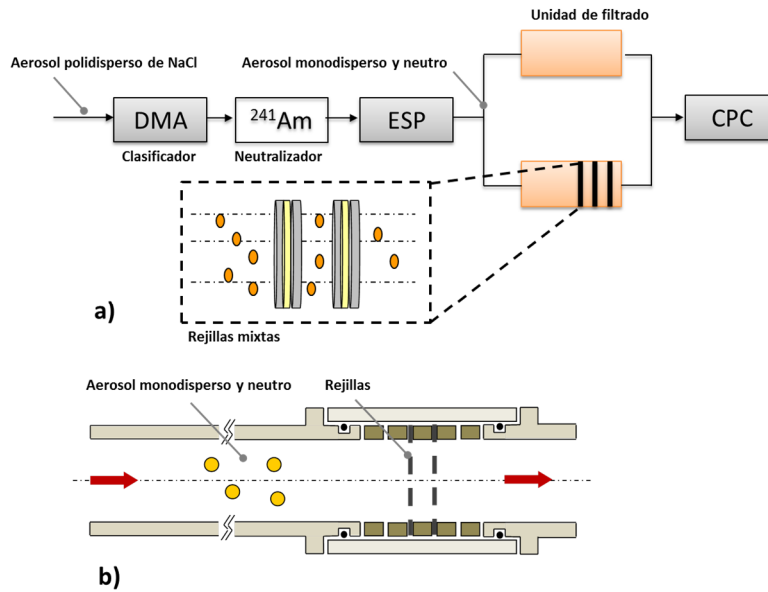


Figura 21 Esquema del a) sistema experimental en el que un aerosol monodisperso y neutro atraviesa el sistema de filtrado y es medido en un contador de núcleos de condensación (CPC). b) Esquema de la unidad de filtrado en la que se colocan las rejillas o mallas que forman la batería de difusión.

Se calcularon las eficacias de filtrado de una sola fibra correspondientes mediante la expresión basada en el modelo de Cheng and Yeh [123] utilizando los datos de penetración obtenidos:

$$\eta_{do} = \frac{-\ln P}{nS} \quad (15)$$

siendo P los valores experimentales de penetración de las partículas neutras al atravesar la rejilla de difusión, n el número de rejillas utilizadas y S el parámetro de red de cada una de ellas.

Como muestra la Figura 22, las penetraciones medidas de forma experimental para distintos aerosoles monodispersos neutros y las calculadas mediante el modelo de Cheng y Yeh muestran resultados similares. Lo cual indica que, para los valores de número Reynolds de fibra experimentales (entre 1 y 17), no existe un efecto significativo del flujo en la penetración de las partículas a través del filtro. Por tanto este resultado valida el modelo teórico de Cheng y Yeh para el sistema y las condiciones experimentales propuestas.

Resultados

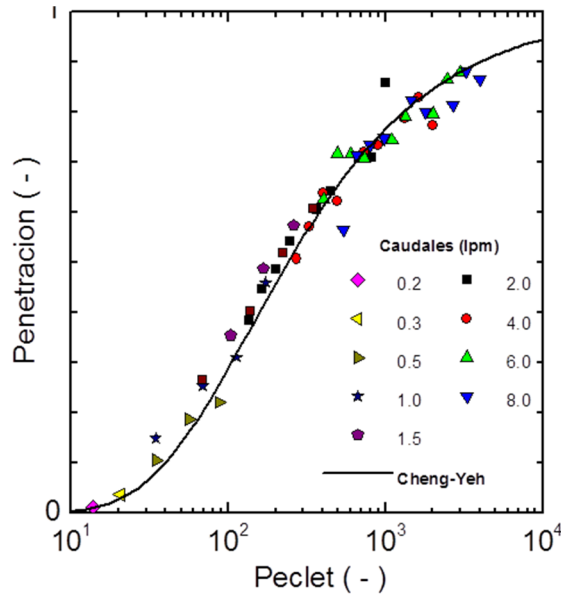


Figura 22 Comparación entre las medidas de penetración y las calculadas con el modelo de Chen-Yeh para una bacteria de difusión formada por seis rejilla de Al en serie

En la batería de difusión desarrollada, cada rejilla mixta está formada por una malla de oro colocada en contacto entre dos mallas de aluminio (A2 Fig. 3), por tanto, no se conoce su valor de diámetro de fibra equivalente, clave en la caracterización de un filtro. Este parámetro se ha calculado de forma experimental midiéndose distintos valores de penetración de partículas neutras con diámetros promedios inferiores a 10 nm a través de la batería de difusión.

Utilizando las expresiones del modelo de Chen y Yeh para la eficiencia de filtrado de una batería de difusión (14) y expresión que relaciona la penetración con la eficacia de filtrado (15), la penetración de las partículas debida a fenómenos de difusión se puede expresar como

$$P = \exp\left(-\frac{10.8nh\alpha}{\pi(1-\alpha)}\left(\frac{u}{D}\right)^{\frac{2}{3}}d_f^{\frac{5}{3}}\right) \quad (16)$$

donde α es la fracción de volumen sólido de la rejilla, h es su grosor, n es el número de rejillas, u es la velocidad de flujo y D es el coeficiente de difusión de las partículas. Tanto la fracción de volumen sólido de la rejilla mixta como su grosor se ha

Resultados

medido experimentalmente mientras que el coeficiente de difusión se determinó a partir de la movilidad eléctrica de las partículas medida con el DMA utilizando la relación de Einstein

$$D = \frac{kTZ}{e} \quad (17)$$

Donde k , $1,38 \times 10^{-16}$ (dinas.cm/K), es la constante de Boltzmann, T (K) es la temperature absoluta y e es la carga un electrón.

Por tanto, como puede observarse en la Figura 23, al representar el logaritmo neperiano dela penetración frente al factor que multiplica a $d_f^{-5/3}$ en la expresión (16) da lugar a una serie de datos que se pueden ajustar linealmente. El diámetro de fibra equivalente para las rejillas mixtas fue calculado a partir de dichos datos obteniéndose un valor de 52 micras. Curiosamente, este dato se trata de un valor intermedio entre los valores experimentales de las rejillas individuales que forman la rejilla compuesta que son $100 \mu\text{m}$ para la malla de aluminio, and $5 \mu\text{m}$ para la de oro. Al introducir este valor en la expresión del parámetro de malla:

$$S = \frac{4\alpha h}{\pi d_f (1 - \alpha)} \quad (18)$$

se obtiene un parámetro de red de 6. Finalmente, una vez que se conoce el diámetro de fibra equivalente el modelo de Chen y Yeh es capaz de predecir de forma eficaz la penetración de partículas a través de la baterias de difusión mixta formada por este tipo de filtros.

Resultados

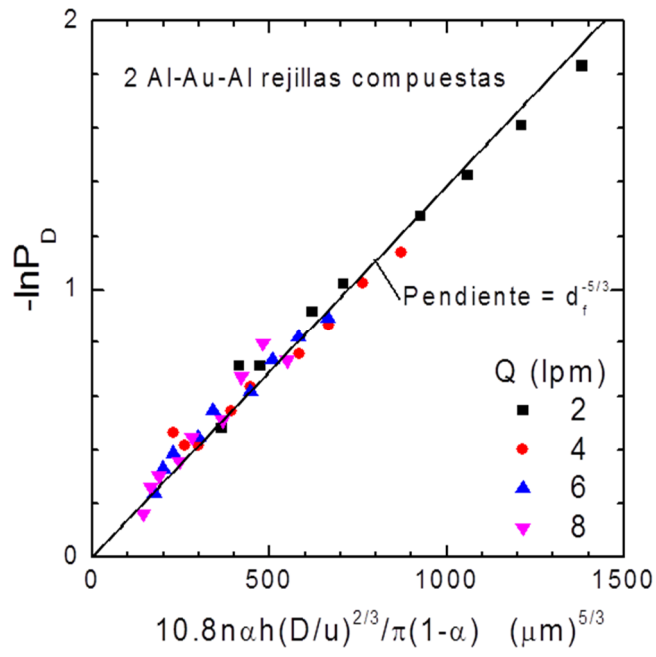


Figura 23 Determinación del diámetro de fibra equivalente para las rejillas mixtas obtenido a partir de los datos experimentales de penetración de nanopartículas neutras.

1.3 Resultado colateral: Nanopartículas de óxido de titanio encapsuladas en microesferas de ácido poliláctico (PLA) con efecto bactericida

En el presente trabajo, se ha aprovechado una de las propiedades más utilizadas del óxido de titanio, su capacidad de degradar microorganismos a través de sus propiedades fotocatalíticas bajo luz ultravioleta (UV) [158] para generar un material compuesto con efectos bactericidas. Se han sintetizado microesferas de ácido poliláctico (PLA) con nanopartículas de óxido de titanio encapsuladas en su interior [86].

Las nanopartículas de óxido de titanio se sintetizaron siguiendo el proceso descrito en el apartado 1.1 de la Metodología y tienen fase cristalina anatasa (SA3 Fig. 1), formas homogéneas y tamaños inferiores a los 20 nanómetros (SA3 Fig. 2).

Se ha utilizado un proceso continuo de extracción supercrítica de una emulsión (SEE-C según sus siglas en inglés), desarrollado por el grupo del Prof. Revercheron en la Universidad de Salerno (Italia) para sintetizar micropartículas de PLA compuestas. Esta técnica combina las técnicas de extracción convencional con las propiedades únicas de los fluidos supercríticos. Mediante esta técnica se han generado partículas de rango micro y submicrométrico con distintos porcentajes en masa de óxido de titanio en su composición (1.2, 2.4 y 3.6 % en masa).

Se ha partido de dos tipos de emulsiones dobles: *water in oil in water* (W/O/W) y *solid in oil in water* (S/O/W). Como puede observarse en la Figura 24 en la emulsión W/O/W las partículas de óxido de titanio se dispersan en etanol antes de añadirlas al PLA mientras que en la emulsión S/O/W se encuentran como sólidos. Las partículas compuestas generadas se han caracterizado utilizando distintas técnicas como microscopía de barrido (SEM), DLS y XPS.

Resultados

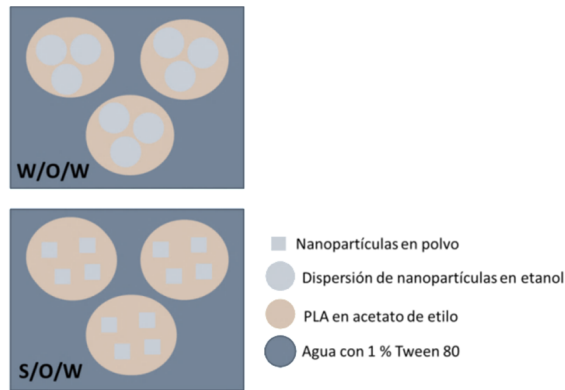


Figura 24 Esquema de los dos tipos de emulsiones preparadas: W/O/W y S/O/W.

Al comparar los diámetros promedio de las gotas en la emulsión con los de las partículas generadas se observó que las dimensiones de las partículas generadas mediante la técnica SEE-C dependen del tamaño de las gotas en las emulsiones (SA3, Table 1). Las micrografías obtenidas por CRIO-TEM (SA3 Fig. 7) muestran que la doble emulsión W/O/W ofrece mejores resultados que S/O/W ya que en el material producido las nanopartículas de óxido de titanio se encuentran mejor distribuidas en la matriz polimérica. En la Figura 25 se muestran micrografías SEM de partículas submicrométricas obtenidas al incorporar un 1.2% de nanopartículas de óxido de titanio a su composición.

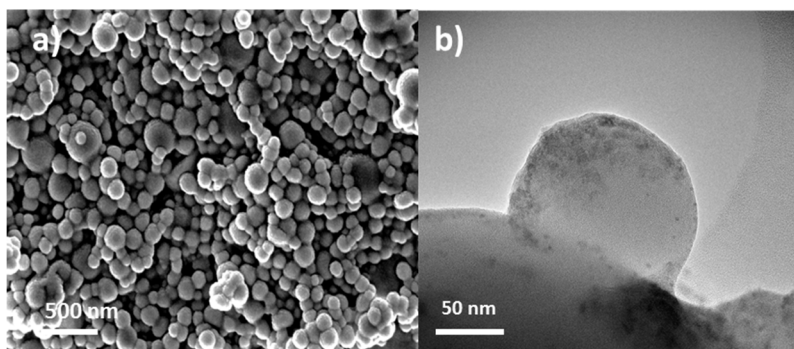


Figura 25 a) Micrografía SEM de partículas submicrométricas producidas con un 1.2% en masa de nanopartículas de óxido de titanio y b) micrografía TEM de una partícula de PLA con óxido de titanio.

Finalmente se estudió la actividad bactericida del material compuesto desarrollado utilizándose cultivos de *Staphylococcus Aureus* en ensayos específicos bajo luz UV. Se demostró que tanto las nanopartículas de óxido de titanio libres como

Resultados

las que forman los compuestos PLA/TiO₂ muestran una actividad bactericida similar (S3 Fig.9) por lo que la encapsulación de las nanopartículas no afecta a su actividad bactericida. Tanto las nanopartículas de óxido de titanio como el material compuesto eliminan aproximadamente 99.99.% de las bacterias tras ser expuestas a luz ultravioleta en las condiciones ensayadas. En ausencia de luz ultravioleta, no se produce disminución de viabilidad bacteriana, demostrando que el material no tiene efectos antibacterianos *per se*.

2 **MARCADO, DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.**

El NanoSafety Cluster, organización formada por expertos en Nanoseguridad de la Unión Europea, ha establecido varios puntos clave para el avance de la Nanoseguridad durante los próximos 10 años. Uno de ellos es el desarrollo de métodos de marcado de nanopartículas como herramientas de cuantificación de nanomateriales [22]. Por otra parte, en la bibliografía reciente relacionada con la Nanoseguridad, varios autores han destacado la necesidad de identificar los nanomateriales manufacturados (ENMs según sus siglas en inglés) respecto de las partículas presentes en el medio ambiente [29, 67-70]. Este proceso de discriminación reviste de gran importancia ya que las partículas ambientales pueden interferir en los estudios de exposición.

A pesar de que la identificación de nanomateriales es una prioridad en Nanoseguridad, no existe mucha bibliografía relacionada con métodos de marcado de nanomateriales. Algunos autores han utilizado tintes fluorescentes [71, 72, 159], trazadores radioactivos [74-76] o isótopos estables [77, 78] como agentes identificadores en partículas marcadas. Sin embargo, muchos de estos métodos presentan desventajas como modificaciones significativas del nanomaterial de partida o problemas relacionados con la manipulación de material radioactivo, lo que hace necesario el desarrollo de sistemas de identificación alternativos.

En la presente tesis se ha desarrollado un método sencillo y versátil que utiliza técnicas de análisis químico para trazar y detectar las nanopartículas marcadas. Se basa en la síntesis de nanopartículas de óxido de titanio dopadas con pequeñas cantidades de lantánidos [87]. Estos metales son poco frecuentes en el medio natural, de forma que las partículas que los contienen pueden ser diferenciadas e identificadas de forma inequívoca frente a otras presentes en el ambiente.

Las partículas marcadas se han utilizado en la detección de contaminación originada al manipular nanomaterial pulverulento. El uso del marcaje ha permitido tanto identificar partículas marcadas en emisiones producidas en operaciones básicas

Resultados

de laboratorio como cuantificar su presencia en superficies adyacentes al punto de manipulación

2.1 Nanopartículas marcadas

El marcado con elementos poco comunes como cerio o lantano, diferencia a las partículas marcadas de otras presentes en el ambiente. Siguiendo el método de síntesis descrito en el apartado 1.2 de la metodología, se prepararon nanopartículas dopadas con distintas cantidades de lantánidos.

Uno de los principales retos del marcado de nanopartículas es asegurar que las propiedades de las partículas originales se preservan tras el marcaje. Para comprobar que las características iniciales que poseen las partículas de óxido de titanio no han variado significativamente con el marcado, se utilizó una amplia batería de técnicas de caracterización.

La morfología de las muestras fue estudiada mediante microscopía electrónica. Tanto la forma como el tamaño de las partículas se mantienen prácticamente inalterados por la presencia de lantánidos en las muestras (A4 Figuras 7 y 8). La Figura 26 muestra dos micrografías STEM de alta resolución en las que se puede observar una nanopartícula de óxido de titanio (a) y partículas marcadas (b). Las partículas muestran formas similares y en ambos casos se pueden observar conjuntos de planos que forman su estructura cristalina. La presencia de clústeres de lantánidos en las partículas marcadas (Figura 26 b) genera puntos “brillantes” en la micrografía debido a que su elevado número atómico da lugar a diferencias de contraste en STEM.

Resultados

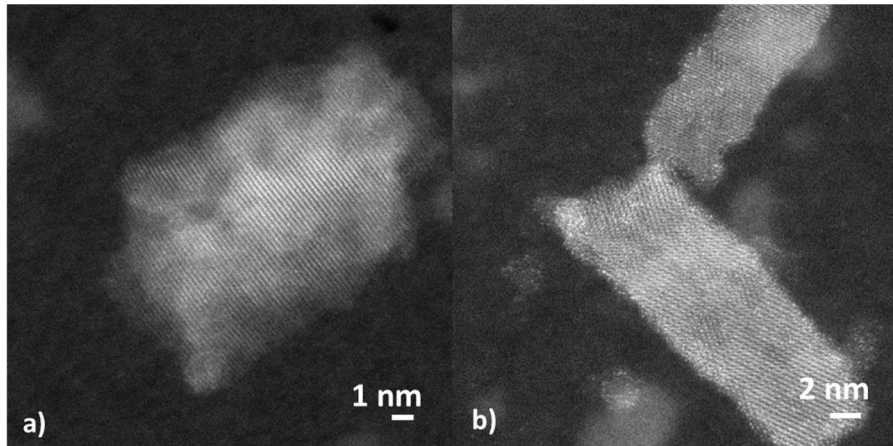


Figura 26 Micrografía de alta resolución STEM que muestra a) una nanopartícula de óxido de titanio sin marcar y b) nanopartículas de óxido de titanio marcadas.

Tanto las partículas originales como las dopadas tienen estructuras cristalinas correspondientes a anatasa como se puede ver en los difractogramas de la Figura 27. No se observó ninguna señal correspondiente a óxidos de cerio o lantano independientemente del contenido de lantánido estudiado (hasta un 0.03 atómico). Al analizar las muestras con XPS se obtienen señales correspondientes a los elementos Ti, O y los lantánidos correspondientes además, la intensidad de la señal aumenta conforme aumenta su proporción en las muestras (A4 Fig.5).

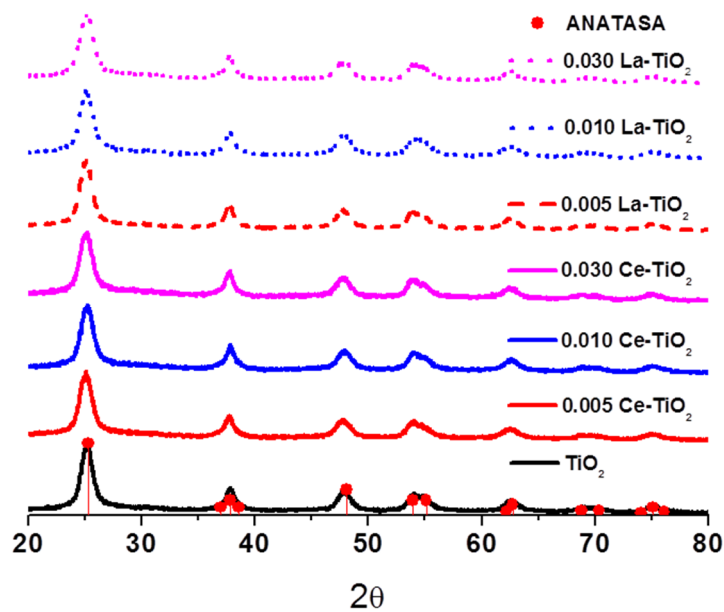


Figura 27 Difractogramas de nanopartículas de óxido de titanio, nanopartículas marcadas con lantano y nanopartículas marcadas con cerio.

Resultados

Las características superficiales de las nanopartículas varían según del tipo de síntesis y los tratamiento que se realicen sobre ellas, pudiendo causar variaciones importantes en su comportamiento y en su toxicidad [49]. Por ello, se ha comprobado que las superficies de las partículas marcadas conservan características similares al óxido de titanio inicial. El área superficial de las partículas originales y las marcadas se encuentra entre los 210 y los 250 m²/g (A4 Tabla2) y las medidas de potencial zeta indican un comportamiento anfótero característico del óxido de titanio en todas las muestras, así como valores de punto isoeléctrico similares (A4 Fig. 6 a) y b)). También las medidas de radio hidrodinámico de las partículas (expresadas en % núm.) tras el marcaje resultan similares a las de las muestras originales (A4 Fig. 6 b) y c)).

2.2 Métodos de detección de contaminación en superficies

Utilizando las nanopartículas marcadas se ha estudiado la contaminación de las superficies de trabajo adyacentes a la manipulación de nanomateriales pulverulentos.

Se han realizado distintos experimentos para demostrar que, incluso una actividad tan sencilla como manipular pequeñas cantidades de material nanoparticulado, puede contaminar la zona de trabajo. Básicamente los experimentos consisten en manipular nanomateriales marcados con cerio dentro de la cámara de exposición I (descrita en el punto 6.1.1 de la Metodología) y estudiar la contaminación producida en una superficie de trabajo delimitada.

Para saber si, efectivamente, se produce contaminación, se colocaron cintas de carbono en distintas posiciones del área de referencia. Su estudio mediante microscopía de barrido muestra la presencia de agregados y aglomerados de tamaño micrométrico (Figura 28). Además, su análisis por EDX da lugar a señales correspondientes a cerio lo que permite relacionarlos directamente con el material marcado de partida.

Cabe destacar que aunque, no se observaron partículas individuales en las cintas de carbono, se ha demostrado que se produce contaminación por nanomateriales agregados y aglomerados. Este hecho resulta preocupante ya que los agregados

Resultados

poseen áreas superficiales elevadas y por tanto su reactividad y toxicidad asociada es mayor que la de partículas del mismo tamaño que no están formadas por nanopartículas [160, 161].

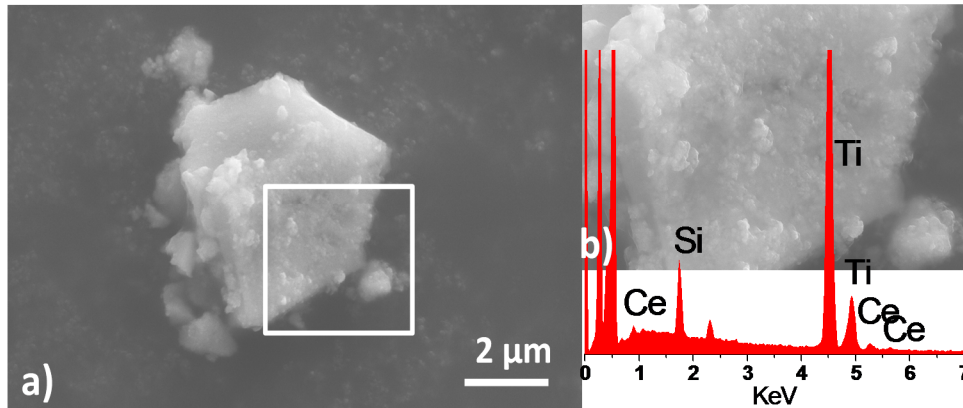


Figura 28 Micrografía de microscopía de barrido que muestra a) un agregado de tamaño micrométrico recogido tras la manipulación de nanopartículas de óxido de titanio, b) una micrografía ampliada del área marcada y un espectro EDX en el cual se pueden observar señales correspondientes a la presencia de Ti y Ce en la muestra.

Se ha demostrado que la contaminación de superficies al manipular nanomateriales es un problema real, por tanto, el siguiente paso es desarrollar un sistema para cuantificar la cantidad de partículas depositadas. Se ha puesto a punto uno de los primeros métodos capaces de cuantificar la contaminación de superficies por nanomateriales. Dicho método está basado en un procedimiento estandarizado de la *Occupational Safety and Health Administration (OSHA)* para la detección de metales pesados en superficies[162, 163].

Una ventaja de este método es que, al estar basado en un procedimiento previo, existen protocolos específicamente desarrollados para la toma de muestra. Se utilizan gamuzas analíticas (llamadas “gosth wipes”) para recoger el material particulado depositado en la superficie a analizar. Estas gamuzas permiten recoger las muestras en el lugar de interés y analizarlas posteriormente en un laboratorio especializado. Las muestras son digeridas y analizadas mediante una técnica de análisis común en

Resultados

cualquier laboratorio químico: la espectrometría de emisión óptica por plasma acoplado por inducción (ICP-OES según sus siglas en inglés).

El marcado con lantánidos supone una ventaja añadida al utilizar ICP-OES ya que estos elementos poseen bajos límites de detección y, debido a sus elevados números atómicos, dan lugar a espectros con numerosas líneas de emisión que minimizan las interferencias que puedan causar otros elementos. Un sencillo balance de materia permite relacionar la cantidad de cerio detectada en las muestras con la masa de partículas dopadas depositada. Para ello resulta esencial conocer la proporción de cerio presente en las partículas utilizadas como “trazadores” de contaminación. Para conocer esta relación, se digirieron y analizaron por ICP-OES tres muestras independientes de nanopartículas (0.03 Ce-TiO₂ teórico) dando lugar a unos valores de la relación Ce/Ti= 0.0269 ± 0.0002.

Se realizó un test para comprobar la eficiencia de recuperación de partículas en el método desarrollado. Brevemente, se depositó una cantidad de partículas conocida en una superficie delimitada (A4 Fig. 9) que se recogieron y analizaron siguiendo el método de detección desarrollado. Los resultados mostraron que el porcentaje de partículas recuperado se encuentra por encima del 75% de las partículas depositadas en la superficie a estudio. Las etapas que conforman el test de eficiencia se describen con más detalle en el apartado 7.1.4 de la Metodología.

Finalmente se obtuvieron datos “reales” de contaminación superficial con el fin de comprender mejor y controlar el riesgo asociado a dicha exposición. Para ello, se realizaron una serie de experimentos simulando una manipulación real de pequeñas cantidades de polvo nanoparticulado al trasvasarse 500 mg de nanopartículas de Ce-TiO₂. El experimento completo se repitió tres veces dentro de la cámara de exposición I. Tras analizar las muestras se obtuvo un promedio de 0.14 ± 0.06 mg de nanopartículas en la superficie de trabajo delimitada que corresponden a una contaminación de 155.6 µg/cm² en el área a estudio.

Este método abre la puerta a la cuantificación de nanomateriales en distintos ambientes. Permite además múltiples mejoras ya que, cada una de las etapas que lo

Resultados

componen, se puede refinar para mejorar el porcentaje de recuperación e incluso adaptarse para testear la presencia de otro tipo de nanomateriales.

2.3 Identificación y monitorización de emisiones

En la bibliografía relacionada con Nanoseguridad se ha identificado a varias actividades como fuentes de emisión de nanomateriales. Algunos métodos de síntesis [164, 165], derrames accidentales [166] o incluso actividades tan comunes como pesar o trasvasar material [167, 168] pueden generar aerosoles y liberar nanomateriales al medio.

Desde un punto de vista de salud ocupacional la inhalación es una de las vías de exposición más preocupantes ya que un 90% o más de las partículas inhaladas con diámetros iguales o inferiores a 100 nm se depositan en el tracto respiratorio [43]. La manipulación de grandes cantidades de material pulverulento en la industria presenta un riesgo significativo de liberación de partículas al ambiente. Sin embargo en pocos estudios se aborda el problema de manipular cantidades mucho más pequeñas de material. Ese es, por tanto, el objetivo principal del presente trabajo (**Artículo 5** del compendio) donde se investigan las emisiones producidas en operaciones básicas de un laboratorio de investigación.

El estudio se ha dividido en tres partes; en la primera se han estudiado distintas operaciones de manipulación utilizando nanopartículas marcadas, en la segunda se compararon las emisiones de distintos materiales representativos y en la tercera parte se estudió la interacción de las emisiones con las partículas ambientales.

Resultados

2.3.1 Emisiones durante distintas operaciones de manipulación de nanomateriales

Se estudiaron las emisiones generadas en actividades comunes en el trabajo habitual de un laboratorio como trasvases de material, molido y la manipulación con una espátula. Igualmente se simuló un derrame accidental de material nanoparticulado. En todos los casos se utilizaron nanopartículas de óxido de titanio marcadas. Monitorizar e identificar las partículas generadas en un aerosol formado por concentraciones bajas de partículas (valores inferiores a 1000 partículas/cm³) no es tarea fácil ya que, como puede observarse en la Figura 29, los datos experimentales obtenidos revelan que, en todo caso, se alcanzan concentraciones con valores inferiores al millar de partículas por centímetro cúbico. Las distribuciones de tamaños se encuentran en el rango nanométrico (<100 nm) lo cual concuerda con estudios previos realizados con óxido de titanio [167]. Además, los factores de emisión estimados presentan valores similares para todas las actividades ensayadas.

Al analizar las partículas mediante microscopía electrónica SEM (A5 Fig. 4) la presencia de cerio da lugar a diferencias de contraste en las micrografías en forma de puntos brillantes. Al analizar las partículas mediante EDX se puede observar la presencia de señales correspondientes al Ce y al Ti.

Resultados

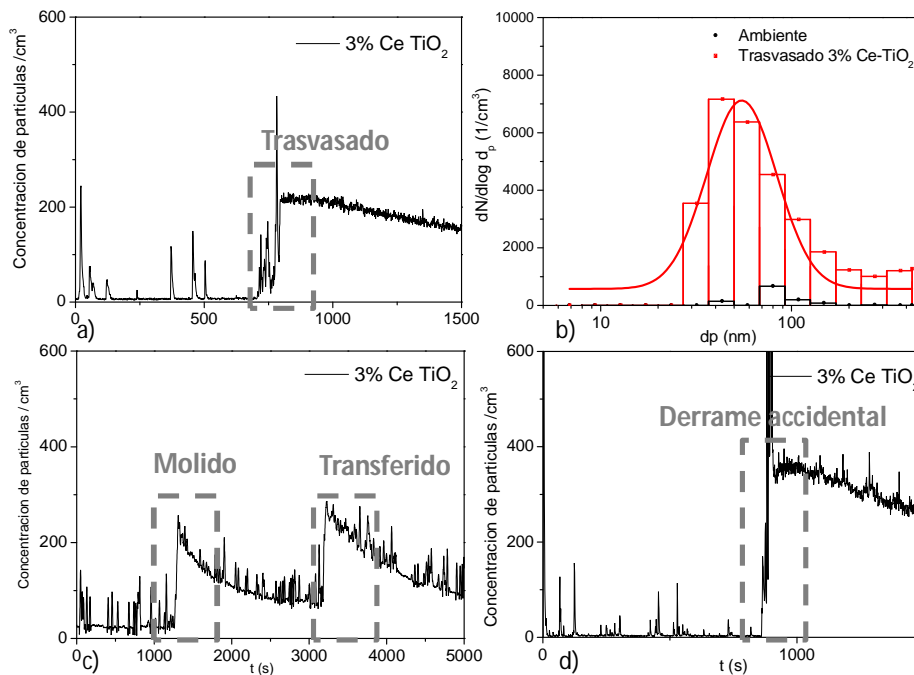


Figura 29 a) Concentración de partículas frente al tiempo y b) distribución de tamaños de las partículas generadas en una operación de trasvasado, concentración de partículas durante c) operaciones de molido y transferencia y d) derrame accidental de 1500 mg de nanopartículas de Ce-TiO₂ en polvo.

2.3.2 Manipulación de distintos nanomateriales

Se han seleccionado nanomateriales representativos como nanopartículas de óxido de titanio (TiO₂), nanopartículas de óxido de silicio (SiO₂) y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT). Se han incluido en el estudio nanopartículas de óxido de titanio marcadas con cerio (Ce-TiO₂). Los experimentos realizados consisten en el trasvase de una cantidad muy pequeña de polvo (500 mg) de los cuatro nanomateriales escogidos: nanopartículas de TiO₂, SiO₂, y Ce-TiO₂ y nanotubos de carbono (MWCNT).

Aunque las emisiones no son muy concentradas, al trabajar dentro de un ambiente libre de partículas ambientales, se pueden observar pequeñas diferencias entre los materiales estudiados. En todo caso, las concentraciones de partículas emitidas están por debajo de las 200 partículas por centímetro cúbico (A5 Fig. 5). En la Figura 30 se pueden observar micrografías TEM de las partículas emitidas. Son aglomerados y agregados de nanopartículas o nanotubos de carbono aglomerados. En

Resultados

ningún caso se encontraron partículas individuales en las muestras recogidas. De acuerdo con la literatura existente [167, 169], las fuerzas generadas durante la manipulación de las partículas no son suficientes como para romper los agregados. Los resultados muestran diferencias estructurales entre los materiales, mientras que los agregados formados por nanopartículas de óxido de titanio y de óxido de titanio marcado parecen estar altamente empaquetados, los formados por partículas de sílice se muestra más sueltos, lo que concuerda con observaciones previas realizadas por O'Shaughnessy [170].

Cabe destacar que al manipular nanotubos de carbono (MWCNT) se encontraron dos tipos de partículas, "manojos" de nanotubos (*bundles* en inglés) y agregados en los que los nanotubos han perdido en parte su forma. Estos dos tipos de partículas también se han encontrado en trabajos anteriores [65, 171]. Por otra parte, En ninguna de las muestras se encontraron nanotubos individuales, este comportamiento puede ser explicado debido a la gran tendencia que poseen a agregarse formando "manojos" de nanotubos de baja densidad.

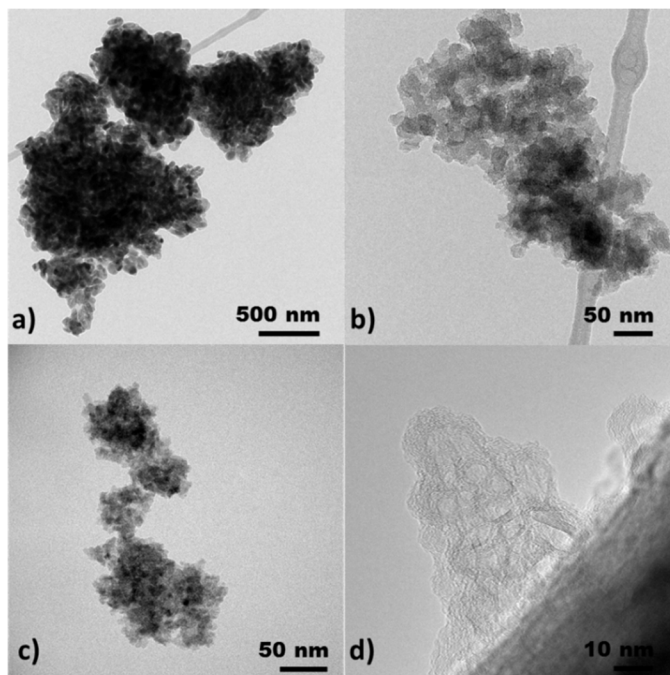


Figura 30 Micrografías TEM de partículas recogidas a partir de las emisiones producidas durante la manipulación de a) nanopartículas de óxido de titanio, b) nanopartículas de óxido de sílice, c) nanopartículas de óxido de titanio marcadas y d) nanotubos de carbono.

Resultados

2.3.3 Influencia de las partículas ambientales en las emisiones

Se estudió la interacción de las partículas emitidas en un aerosol con las partículas ambientales. Algunos autores como Methner y cols. [172] han incidido en la necesidad de tener en cuenta la influencia de las partículas ambientales en el comportamiento de las posibles nanopartículas liberadas al medio. En nuestro caso, para identificar las partículas emitidas frente a las ambientales, se han utilizado nanopartículas de óxido de titanio marcadas con cerio. Utilizando la cámara de exposición I, se estudiaron las diferencias entre las emisiones generadas al trasvasar 1.5 g de nanopartículas en polvo tanto en presencia como en ausencia de partículas ambientales.

Los resultados obtenidos al caracterizar el aerosol generado en ambos casos sugieren que las partículas emitidas interaccionan con las presentes en el medio. Las partículas emitidas durante la manipulación de material pulverulento interactúan con las partículas ambientales dando lugar a agregados "mixtos" evidenciando la existencia de procesos de interacción entre las partículas (A5 Fig. 8).

Mediante microscopía electrónica STEM se pueden identificar fácilmente las partículas marcadas ya que presentan más brillo debido a la presencia de átomos de cerio de elevado número atómico (Figura 31). El análisis STEM-EDX muestra además señales correspondientes a los elementos Ti y Ce en el caso de las partículas marcadas. Por otra parte los espectros obtenidos al analizar partículas ambientales muestran señales atribuidas a Mg, S y Cl. Este resultado está de acuerdo con el de Kumar y col. [70] en donde se sostiene que las nanopartículas atmosféricas más comunes están formadas por compuestos formados por carbono y azufre.

Resultados

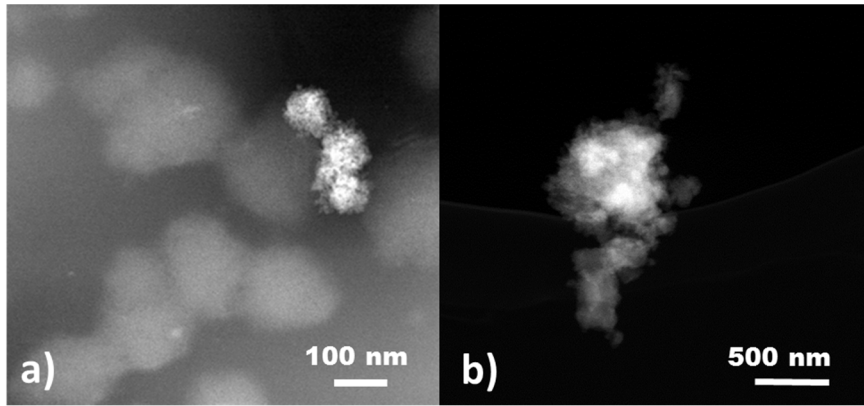


Figura 31 Micrografías STEM de partículas de óxido de titanio recogidas en a) presencia de partículas ambientales o en b) ausencia de estas. En las micrografías se puede observar la diferencia de contraste en las partículas marcadas con cerio debido a su elevado número atómico.

2.4 Resultado colateral: Fotocatalizadores basados en nanopartículas de óxido de titanio dopadas con neodimio

Los procesos fotocatalíticos tienen un gran interés ya que, permiten el desarrollo de tecnologías más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente [173]. El óxido de titanio nanocristalino tiene propiedades muy atractivas en fotocátalisis como una buena estabilidad térmica y química, y es relativamente económico [99]. Una de las principales desventajas de este material es que absorbe en el rango del ultravioleta y no posee actividad fotocatalítica apreciable en el espectro visible [174]. Existen distintas formas de mejorar la absorción del óxido de titanio bajo luz visible que incluyen dopar el material con distintos elementos, recubrirlo o aumentar su área superficial [99]. En particular, la incorporación de lantánidos como neodimio (Nd^{3+}) permite mejorar significativamente la actividad fotocatalítica ya que modifican el *gap* de banda y la absorción en el espectro visible del óxido de titanio. Esta mejora ha sido observada en diversas reacciones de interés ambiental como el tratamiento de nitritos [95], compuestos de cromo (VI) [175] o 2-clorofenol [176].

En este trabajo se han sintetizado nanopartículas de óxido de titanio dopadas con distintas cantidades de neodimio se ha estudiado su actividad fotocatalítica bajo luz ultravioleta en la degradación de fenol y rodamina-B en medio acuoso. Este trabajo se ha realizado en colaboración con el grupo del Profesor Rafael Luque del Dpto. de Química Orgánica de la Universidad de Córdoba.

2.4.1 Caracterización de los catalizadores

La morfología y el tamaño (A5 Figuras 4 y 5), la fase cristalina (A5 Fig. 1) y el área superficial (A5 Tabla 1) de las nanopartículas de óxido de titanio dopadas con neodimio son similares a los de las partículas descritas en el punto 2.1 de Resultados por lo que se incidirá principalmente en sus rasgos más significativos en relación con su aplicación fotocatalítica.

Como puede observarse en la Figura 32, las nanopartículas dopadas con neodimio presentan varias bandas de absorción en la región visible del espectro.

Resultados

Además, estos materiales muestran una reducción del "gap" de banda en comparación con el óxido de titanio original asociado a un desplazamiento de su absorción a la región del ultravioleta cercano.

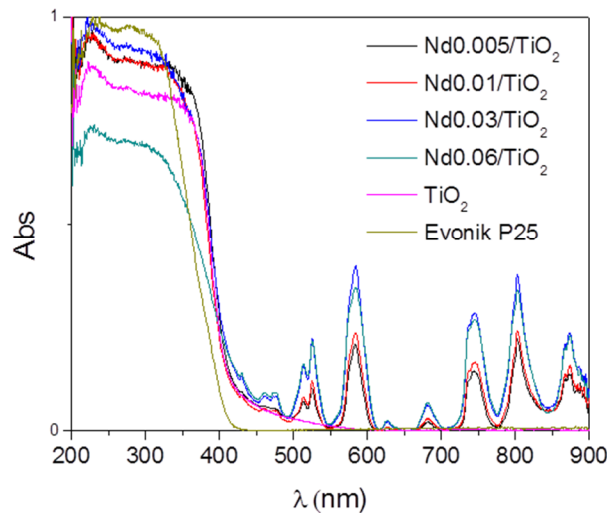


Figura 32 Espectro UV- VIS de varias de nanopartículas de óxido de titanio y de nanopartículas dopadas con neodimio.

El estudio de las muestras mediante microscopía electrónica de barrido y su posterior análisis EDX confirmó que el dopado está distribuido homogéneamente en la muestra (A5 Fig.2). Se estudiaron las nanopartículas dopadas y sin dopar utilizando STEM de alta resolución (A5 Fig. 5) que muestra poros de tamaños entre 2 y 4 nm para ambos tipos de partículas lo que concuerda con los resultados obtenidos en adsorción de nitrógeno (A5 Fig.3). En el caso de las partículas marcadas, las micrografías STEM muestran la presencia de puntos brillantes que corresponden a "clusters" de átomos de neodimio. Asimismo, se realizaron análisis por XPS que revelaron la presencia de Ti, O y Nd en la superficie de las partículas (Table 1).

2.4.2 Actividad fotocatalítica

La actividad fotocatalítica de los materiales preparados se evaluó mediante dos reacciones llevadas a cabo en fase acuosa: la degradación fotocatalítica del fenol y de la rodamina B.

Resultados

Las características que más influyen en los resultados fotocatalíticos de las partículas son su área superficial, gap de banda y cantidad de neodimio. Al estudiar la degradación del fenol, se observó que las partículas dopadas tienen una actividad fotocatalítica significativamente mayor que un catalizador de óxido de titanio comercial como Evonik P25 (A5 Fig. 7). Por otro lado, en la degradación de la Rodamina-B (A5 Fig.8) el material que ha dado los mejores resultados tiene proporciones de Nd/Ti atómicas de 0.005 y es el que presenta una mayor área superficial.

3 ESTUDIO DE DIVERSAS FUENTES DE EMISIÓN

Uno de los pasos clave para prevenir riesgos asociados a la exposición a nanomateriales es identificar a los procesos que pueden generar emisiones. Procesos de combustión o de alta temperatura y operaciones en las que se manipula material pulverulento o se mecanizan materiales [177] poseen un elevado riesgo de emisión de material nanoparticulado. En este contexto, la presente tesis ha tratado de identificar y estudiar las características de las emisiones generadas en procesos de soldadura electrónica y de mecanizado.

3.1 Nanopartículas metálicas en humos de soldadura

El proceso más común para unir metales en la industria es la soldadura. Este proceso puede dar lugar a emisiones nocivas para la salud. Aunque existen algunos estudios sobre los efectos nocivos de los humos y gases generados por soldadura de arco [178, 179] y de soldadura electrónica [180-186], no hay apenas bibliografía disponible sobre las partículas emitidas en estos procesos. Por tanto, en el presente trabajo, se han estudiado las emisiones de material particulado originadas durante procesos de soldadura electrónica mediante distintas técnicas de caracterización [187].

3.1.1 Monitorización y caracterización del aerosol generado

Para estudiar los humos producidos en los procesos de soldadura se ha trabajado, dentro de la cámara de exposición I, utilizando un soldador convencional de hilo de estaño y dos tipos de hilos distintos. A pesar de que en Europa existe una legislación que restringe el uso del plomo en soldaduras electrónicas, este tipo de soldadura se sigue realizando en numerosas aplicaciones [188]. Por tanto se utilizó tanto un hilo libre de plomo (SnAgCu) como un hilo con plomo en su formulación (SnPbCu).

La soldadura conlleva una importante liberación de partículas en el rango nanométrico, se observó un rápido aumento de la concentración de partículas llegándose a alcanzar picos de hasta 10^6 partículas por centímetro cúbico (A7 Fig. 1).

Resultados

Por otra parte, la distribución de tamaños del aerosol generado muestra una elevada proporción de partículas primarias con un diámetro inferior a 100 nm para los dos tipos de hilos comerciales utilizados (A7 Fig.2).

Se estudió el tamaño y la morfología de las partículas mediante SEM observándose una amplia distribución de tamaños en las partículas recogidas (A7 Fig. 5 a). La mayoría de las partículas tienen forma cuasi esférica y diámetros del orden de centenares de nanómetros, Figura 33. Los diámetros de las partículas observadas pueden explicarse debido a que la alta concentración de partículas liberadas propicia procesos de coalescencia en fase gas, generando partículas mayores que las inicialmente emitidas. Para analizar más profundamente la composición química y la estructura interna de las partículas, se utilizó un haz de iones focalizado (FIB) para seccionar algunas partículas (Figura 34 b)). Al analizarlas mediante EDX, los espectros obtenidos muestran señales correspondientes a Sn, y Pb, metales presentes inicialmente en los hilos de soldadura utilizados (A7 Fig. 5 c y d).

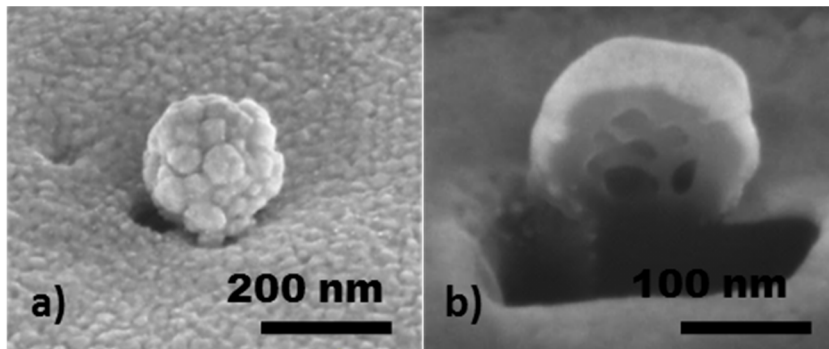


Figura 33 Micrografías SEM de una partícula recogida en procesos de soldadura antes a) y después b) de ser seccionada con un haz de iones focalizado.

De la observación de las partículas por TEM, se concluye que están formados por una esfera densa de resina en la que hay embebidas partículas metálicas o formadas por óxidos metálicos con tamaños inferiores a los 100 nm (Figura 34). La morfología de estos agregados puede explicarse mediante procesos de coagulación y segregación que se producen a partir de aerosoles formados por dos fases inmiscibles [189].

Resultados

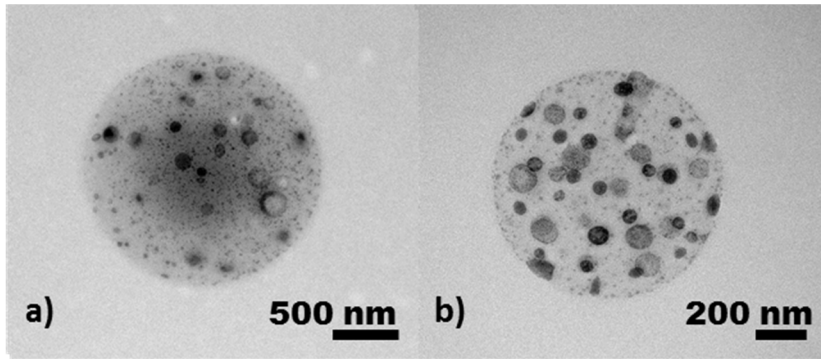


Figura 34 Micrografías TEM de partículas recogidas en procesos de soldadura.

Se estimaron factores de emisión en número y en masa número (NEF y MEF según sus siglas en inglés respectivamente) a partir de los datos experimentales para comparar este proceso con otras emisiones. A pesar del gran número de partículas emitidas durante la soldadura electrónica, los MEF obtenidos se encuentran por debajo de los 0.5 mg/min, valores significativamente menores que los obtenidos por Buonnano y *cols.* [179] para procesos de soldadura de arco.

El uso de una cámara de exposición permite controlar o limitar la presencia de partículas ambientales en su interior. Por tanto, algunos experimentos de soldadura se hicieron tanto en presencia como en ausencia de partículas del ambiente. Los resultados obtenidos en presencia de partículas ambientales muestran procesos de coagulación heterogénea (S7 Fig. 4).

3.2 Mecanizado de materiales compuestos

Los nanocompuestos poliméricos (*nanocomposites* en inglés) son materiales que combinan un polímero como fase continua y un nanomaterial como relleno (*filler* en inglés) teniendo el relleno al menos una dimensión por debajo de los 100 nanómetros. Este tipo de materiales ha tenido un éxito arrollador en el mercado formando parte de numerosos productos en industrias tan variadas como la automoción o los recubrimientos superficiales con pintura.

Como ya se ha comentado con anterioridad, en la bibliografía, hay documentado efectos perjudiciales para el organismo causados por materiales nanoparticulados [190-192]. En este contexto, no sólo se deben estudiar los riesgos asociados a la exposición a nanomateriales puros sino también a nanocompuestos. Siendo, en este caso, especialmente preocupantes los procesos que liberan nanomateriales de la matriz que los contiene [31, 193].

En la actualidad se están llevando a cabo numerosos estudios para evaluar las emisiones producidas durante procesos de mecanizado de materiales compuestos. Dentro de este campo, existe una línea de estudio que utiliza el método de abrasión Taber como un método estandarizado [194-198], mientras que otras investigaciones usan el mecanizado manual de materiales compuestos [194, 198-202]. El trabajo realizado en el **Artículo 8** del compendio se puede englobar dentro de la segunda aproximación y ha sido realizado durante una estancia de investigación en el National Research Centre for the Working Environment bajo la supervisión del profesor Keld Aldstrup Jensen. Consiste en la evaluación de las emisiones producidas al mecanizar de forma continua dos tipos materiales nanocompuestos: resinas epoxy y pinturas.

Se mecanizaron dos tipos de nanocompuestos: resinas epoxy con nanotubos de carbono como aditivos y pinturas conteniendo nanopartículas de óxido de titanio (A8 Tabla1). El mecanizado consistió en lijar y serrar distintas planchas de resinas y superficies recubiertas con distintas pinturas.

En primer lugar, se analizaron las emisiones propias de la lijadora y la sierra eléctrica utilizadas. Se midió el material particulado liberado por estas herramientas

Resultados

cuando trabajan sin procesar ningún material (A8 Fig. 2 a). Los resultados mostraron que emiten grandes concentraciones de partículas en el rango de tamaños sub-micrométrico. Según la bibliografía [203, 204], estas partículas se producen debido al desgaste mecánico y a la generación de chispas en los motores eléctricos y están formadas principalmente por cobre. Este tipo de emisiones han sido descritas previamente en la literatura.

3.2.1 Mecanizado de resinas epoxy con nanotubos de carbono

Al estudiar las emisiones generadas durante los procesos de lijado y serrado de resinas epoxy puras (material deonominado Epoxy 1) y resinas epoxy que contienen nanotubos de carbono como aditivos (Epoxy 2 y Epoxy 3), se observó que, en ambos casos la población de partículas con diámetros inferiores a una micra está dominada por las emisiones procedentes del motor eléctrico de la máquina utilizada. El lijado de las resinas generó partículas entre 100 nm y 4 micras lo que concuerda con el tipo de emisiones observadas por otros autores [196, 198, 201, 205-207]. Cabe destacar que las distribuciones de tamaño observadas no difieren significativamente entre las distintas resinas testeadas (tengan nanotubos de carbono o no) en su composición (Figura 35).

Resultados

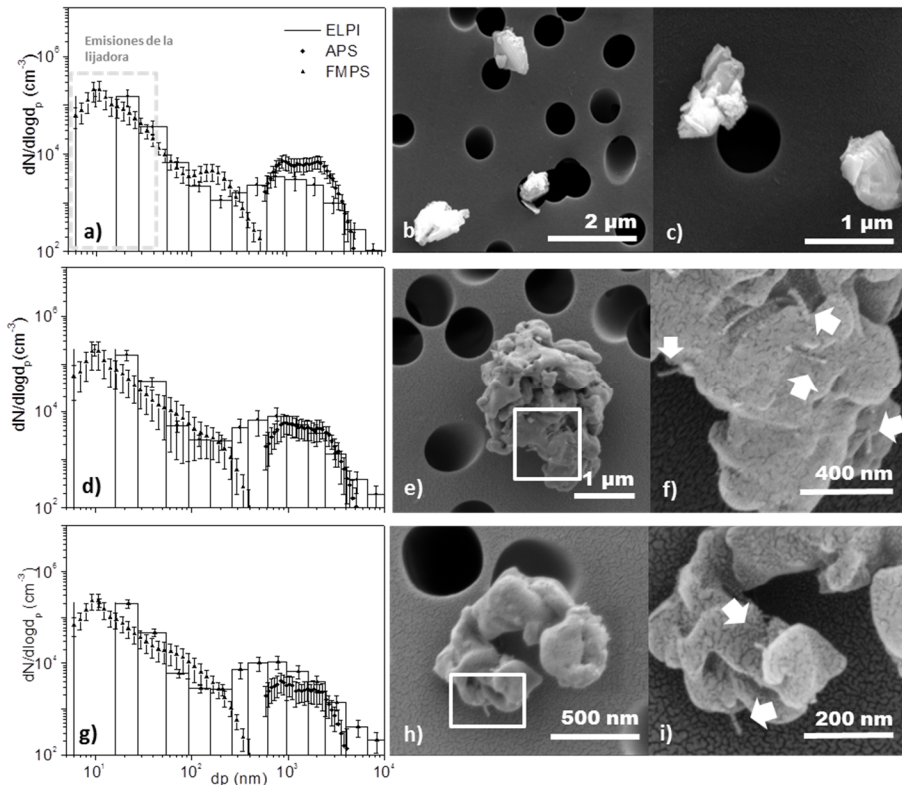


Figura 35 Distribución de tamaños (a, d y g) y morfología de las partículas generadas mediante un proceso continuo de lijado de materiales basados en resinas epoxy. Los resultados mostrados en a), b) y c) corresponden a un material que no posee nanotubos de carbono en su composición mientras que d) e) y f) corresponden a la resina denominada Epoxy 2 y g), h) e i) corresponden a la resina Epoxy 3.

Con el fin de estudiar su morfología, las partículas emitidas fueron recogidas y estudiadas por microscopía de barrido electrónico (SEM). Aunque de forma general todas las partículas presentaban morfología irregular, las partículas generadas a partir de resinas conteniendo nanotubos en su composición presentan un aspecto mucho más irregular y tienen protuberancias que pueden relacionarse con la presencia de nanotubos de carbono embebidos en la matriz polimérica (A8 Fig.4). Cabe destacar que no se han encontrado nanotubos libres.

En los procesos de serrado en seco de las resinas, la contribución más importante al aerosol generado fue la de las partículas provenientes del motor eléctrico de la sierra ya que la mayoría de los fragmentos se encontraban en el rango milimétrico y se depositaron muy rápidamente.

Resultados

3.2.2 Mecanizado de pintura con nanopartículas de óxido de titanio

Se han estudiado las partículas generadas durante el lijado de tres tipos de pinturas denominadas: Paint 1 que no contiene nanomateriales en su formulación, Paint 2 que contiene un 36 % en masa de dos tipos de nanopartículas de óxido de titanio y Paint 3 con un 36% en masa de un solo tipo de nanopartículas (A8 Table 1). Las partículas emitidas al mecanizar las superficies pintadas se encuentran en su mayoría en el rango micrométrico. Sin embargo cabe destacar un aumento en la emisión de partículas con tamaños entre los 100 y los 400 nanómetros al lijar las pinturas que contienen nanopartículas en su composición (Figura 36).

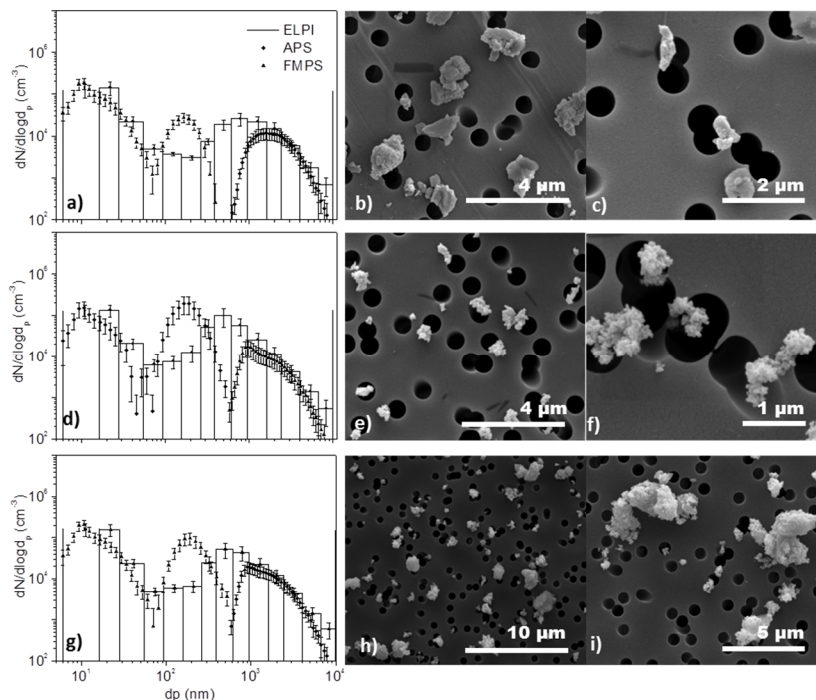


Figura 36 Distribución de tamaños (a, d, g) y micrografías SEM (b, c, e, f, h, i) de las partículas emitidas durante un proceso continuo de lijado de materiales basados en pinturas. Los resultados mostrados en a), b) y c) corresponden a Paint 1 mientras que d) e) y f) corresponden a Paint 2 y g), h) e i) corresponden a Paint 3.

Un análisis microscópico resalta diferencias morfológicas significativas entre las partículas recogidas. Se observó que, mientras las partículas provenientes de las pinturas sin nanomateriales en su formulación, son compactas y con formas regulares, la mayoría de las partículas a partir de las pinturas que contienen nanopartículas en su formulación son altamente irregulares (A8 Fig. 7 y 8). Este fenómeno puede explicarse

Resultados

como resultado de la presencia de agregados nanoparticulados unidos a la matriz polimérica de las pinturas como se observa en la Figura 37. Un análisis EDX realizado a más de 25 partículas de cada una de las pinturas testeadas muestra que, mientras un 80 % de las partículas provenientes de las pinturas con nanopartículas presentan señales correspondientes al Ti, sólo un 30% de estas lo presentan para la pintura que no contiene nanopartículas en su formulación. Finalmente y concordando con estudios anteriores, no se han encontrado nanopartículas individuales en las muestras [199, 202, 208, 209].

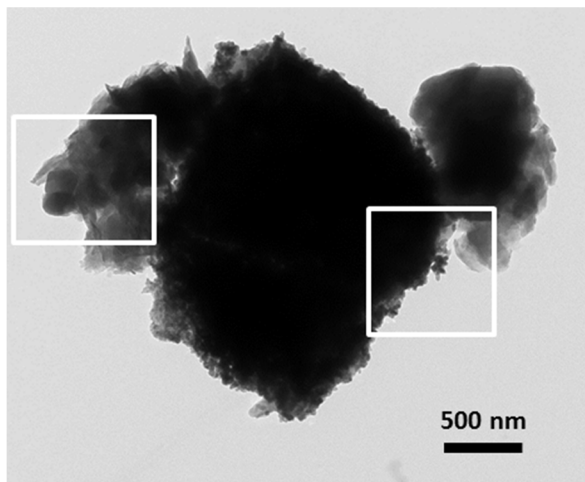


Figura 37 Micrografía TEM de partículas emitidas durante el mecanizado de una pintura que contiene nanopartículas de óxido de titanio en su composición

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

A continuación se resumen las conclusiones obtenidas en cada una de las líneas principales que conforman la presente tesis doctoral: generación y captura de aerosoles, marcado detección e identificación de nanopartículas y estudio de diversas fuentes de emisión.

1 GENERACIÓN Y CAPTURA DE AEROSOLES

1.1 Nebulización de dispersiones coloidales

Se sintetizaron nanopartículas de óxido de titanio (anatasa) altamente cristalinas, monodispersas ($15 \pm 4\text{nm}$) y con superficies específicas de $239\text{ m}^2/\text{g}$ mediante la hidrólisis de un alcóxido de titanio en etanol seguida de un tratamiento térmico en un horno microondas. El uso de microondas hace que la síntesis sea más rápida, durando menos de una hora, y consume menos energía que al utilizar un tratamiento térmico convencional.

Al nebulizar dispersiones coloidales de nanopartículas se han generado aerosoles estables de óxido de titanio formados por agregados esféricos con diámetros inferiores a 200 nm .

Se demostró que existe una clara relación entre las propiedades coloidales de la dispersión de partida y las del aerosol generado. La concentración en el aerosol es altamente sensible al grado de dispersión de los coloides de partida. Un alto grado de aglomeración da lugar a un aerosol menos concentrado. Además, el pH influye significativamente en el grado de aglomeración de las nanopartículas de óxido de titanio y por tanto también en la concentración del aerosol. Por ejemplo, a pH cercanos al punto isoeléctrico se obtienen concentraciones inferiores a las de los obtenidos para otros pH.

La elección del disolvente del coloide de partida tiene una influencia determinante en los residuos presentes en el aerosol generado. Para minimizar la presencia de partículas residuales se necesita una elevada pureza.

Conclusiones

Se observó que la morfología de las nanopartículas que forman el coloide influye en las partículas del aerosol. Cuando se parte de nanopartículas de titanio sintetizadas, se obtienen aerosoles formados por agregados esféricos altamente empaquetados. Sin embargo, nanopartículas comerciales con formas irregulares y distribuciones de tamaño polidispersas generan aerosoles menos densamente empaquetados.

1.2 Filtrado de nanopartículas en una rejilla de difusión mixta

Se desarrolló un nuevo tipo de batería de difusión mixta constituida por un conjunto de rejillas "sándwich" formadas por una malla de oro situada entre dos mallas de aluminio estando las tres mallas en contacto.

Se comprobó la validez del modelo de filtración de Chen and Yeh para las condiciones y el sistema experimental utilizado utilizando una batería de difusión clásica. Para ello se generaron una serie de aerosoles nanoparticulados de NaCl monodispersos, con diámetros inferiores a 10 nm y neutros.

Se obtuvieron de forma experimental los parámetros de filtrado de las rejillas "sándwich" que forman la batería de difusión. Se demostró experimentalmente que es posible aplicar el modelo de filtrado de Cheng y Yeh [123] para estimar la penetración debida a mecanismos de difusión a través de una malla mixta.

1.3 Resultado colateral: Nanopartículas de óxido de titanio encapsuladas en microesferas de PLA con efecto bactericida

Se sintetizaron partículas submicrométricas formadas por una matriz de ácido poliláctico (PLA) con nanopartículas de óxido de titanio embebidas mediante la técnica de extracción supercrítica de una emulsión (SEE-C).

De los dos tipos de emulsiones dobles de partida *water in oil in water* (W/O/W) y *solid in oil in water* (S/O/W); la doble emulsión *water in oil in water* (W/O/W) permite producir partículas con una mejor dispersión del aditivo, obteniéndose mayor eficiencia de encapsulación que la reportada previamente en la literatura.

Conclusiones

Al utilizar nanopartículas de óxido de titanio para generar un material compuesto, se han conferido propiedades bactericidas a un polímero biodegradable, como el PLA. Tanto las nanopartículas de óxido de titanio como el material compuesto eliminan aproximadamente el 99.99.% de las bacterias en las condiciones ensayadas. La actividad bacteriana de las nanopartículas de óxido de titanio no se ve influida por el encapsulado.

Finalmente, no se produce disminución de viabilidad bacteriana en ausencia de luz ultravioleta, demostrando que el material no tiene efectos antibacterianos *per se*.

2 MARCADO, DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

2.1 Nanopartículas marcadas y métodos de detección

Se han desarrollado nanomateriales trazables utilizando el dopado con distintitos lantánidos, elementos poco frecuentes en el medio ambiente. Se sintetizaron, de forma reproducible y controlada, nanopartículas de óxido de titanio con distintas proporciones de Ce/Ti y La/Ti (0.005, 0.010 y 0.030 porcentajes atómicos) con tamaños, morfología y fase cristalina similares a las del óxido de titanio original. Este método tiene ventajas respecto a métodos previos de trazado de nanomateriales como el marcado isotópico (precio), radiactivo (problemas de manejo y gestión de residuos) y fluorescente (modificación de las propiedades superficiales). El marcado con lantánidos permite identificar a las partículas debido a sus señales en distintas técnicas de análisis como ICP-OES y EDX.

Utilizando nanopartículas marcadas se demostró que se produce contaminación en las superficies de trabajo próximas a operaciones de manipulación de nanomateriales. Las partículas contaminantes observadas son agregados y aglomerados con diámetros inferiores a 10 micras y muestran señales características en EDX.

Se desarrolló un método cuantitativo de detección de nanomateriales en superficies a partir de un método estandarizado de la OSHA (ID-125G). Los lantánidos poseen bajos límites de detección en técnicas de espectroscopía de emisión. Al realizar un control positivo del método de detección, se demostró que tiene unos porcentajes de recuperación de nanopartículas de alrededor del 75% y detecta cantidades del orden de microgramos en las condiciones utilizadas.

2.2 Identificación y monitorización de emisiones de nanomateriales

Las emisiones generadas en distintas actividades habituales de laboratorio como trasvasado, molido, la manipulación con una espátula y un derrame accidental producen concentraciones de partículas por debajo de 200 partículas por centímetro cúbico.

Conclusiones

Al realizar trasvases de la misma cantidad (500 mg) de distintos materiales representativos como TiO_2 , SiO_2 y MWCNTs se observa que las partículas recogidas están formadas por agregados y aglomerados no encontrarse en ningún caso partículas individuales. Los factores de emisión calculados a partir de las medidas experimentales dieron lugar a valores en torno a los $10^5 - 10^6 \text{ s}^{-1}$ en todo caso.

La comparación de los experimentos realizados en presencia y en ausencia de partículas pone de manifiesto la interacción de las nanopartículas liberadas con las presentes en el medio generándose agregados mixtos ambientales/nanomateriales. El uso de material marcado permite identificar las partículas provenientes del nanomaterial mediante señales correspondientes al Ce utilizando EDX y STEM.

2.3 Resultado colateral: Fotocatalizadores

Se sintetizaron nanopartículas de óxido de titanio dopadas con neodimio para su uso como fotocatalizadores.

En las muestras dopadas con neodimio, se observó una reducción del "gap" de banda asociado con un desplazamiento del máximo de absorción hacia la región visible del espectro (desde 420 nm en el material original hasta 451 para el material dopado con 0.06 Nd/Ti) además de numerosas bandas de absorción en la región visible respecto al material original.

Los materiales dopados mostraron alta actividad en la degradación fotocatalítica en medio acuoso de contaminantes orgánicos como el fenol y la rodamina-B llevando a cabo la completa degradación de estos compuestos en menos de 4 horas.

El área superficial parece ser el principal factor que domina la actividad alcanzada en la degradación de la rodamina B mientras que la cantidad de agente dopante y el desplazamiento del gap de banda tienen una mayor influencia en la degradación del fenol.

3 ESTUDIO DE DIVERSAS FUENTES DE EMISIÓN

3.1 Nanopartículas metálicas en humos de soldadura

Se demostró que los procesos de soldadura electrónica generan una emisión intensa de partículas (llegando a concentraciones de 10^6 partículas/cm³) con un diámetro inicial inferior a 100 nm.

Las altas concentraciones de partículas alcanzadas propician procesos de coalescencia y coagulación generando aglomerados esféricos y submicrométricos, formados por una matriz continua de resina en la que se encuentran embebidas nanopartículas que contienen metales en su composición.

Las emisiones generadas se pueden considerar como potencialmente peligrosas ya que exponen al personal a altas concentraciones de material particulado con contienen metales tóxicos en su composición (estaño y plomo de acuerdo con el análisis mediante EDX) con factores de emisión en número del orden de las 10^{10} partículas/min.

3.2 Mecanizado de nanocompuestos

Durante el mecanizado de materiales compuestos (lijado y serrado) la emisión de los motores eléctricos de las herramientas utilizadas domina el rango de tamaños por debajo de los 100 nm.

Al lijar en seco resinas epoxy se generan partículas con diámetros superiores a una micra. No se observaron diferencias significativas entre las distribuciones de tamaños de partículas al lijar resinas con y sin nanotubos de carbono. Sin embargo, su morfología sí que cambia. Las partículas emitidas al mecanizar resinas que contienen nanotubos presentan protuberancias relacionadas con los nanotubos de carbono. Cabe destacar que no se encontraron nanotubos de carbono libres en las muestras lo que indica que, en las condiciones empleadas, permanecen embebidos en la matriz polimérica. Las emisiones producidas al serrar en seco resinas epoxy dan lugar concentraciones de partículas menores que en los procesos de lijado.

Conclusiones

Al lijar superficies con distintos tipos de pintura se generan partículas en dos rangos de tamaños, entre 100 y 400 nm y sobre una micra. Se observaron diferencias en la distribución de tamaños, las pinturas que contienen nanopartículas en su formulación emiten más partículas en el rango de 100 a 400 nm.

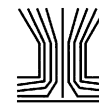
De nuevo, no se encontraron nanopartículas individuales en las muestras pero sí se encontraron aglomerados de rango submicrométrico formados por nanopartículas en las emisiones de materiales compuestos. Al analizarlos mediante EDX dieron lugar a señales correspondientes a titanio.

COMPENDIO

COMPENDIO DE PUBLICACIONES

1. Gómez V., Irusta S., Balas F. y Santamaria J., "**Generation of TiO₂ aerosols from liquid suspensions: Influence of colloid characteristics**". Aerosol Science and Technology, 2013: p. 1383-1392.
2. Gómez V., Alguacil F. J, y Alonso M., "**Deposition of Aerosol Particles below 10 nm on a Mixed Screen-Type Diffusion Battery**". Aerosol and air quality research, Volume 12, 2012, p. 457-462.
3. Campardelli R., Della Porta G., Gomez V., Irusta S., Reverchon E. y Santamaria J. "**Titanium Dioxide nanoparticles encapsulation in PLA by Supercritical Emulsion Extraction to produce photoactivable microspheres**". Journal of Nanoparticle Research, 2013. 15(10): p. 1-11. H
4. Gomez V., Clemente A., Irusta S., Balas F. y Santamaria J. "**Identification of TiO₂ nanoparticles using La and Ce as labels. Application to the evaluation of surface contamination during the handling of nano-sized matter**". Manuscrito aceptado en el Environmental Science: Nano, 2014
5. Gomez V., Irusta, S., Balas F., Navascués N. y Santamaria J. "**Unintended emission of nanoparticle aerosols during common laboratory handling operations**". Journal of Hazardous Materials, 2014. 279(0): p. 75-84
6. Gomez V., Balu A. M., Serrano-Ruiz J. C., Irusta S., Dionysiou D. D., Luque R., y Santamaría J., "**Microwave-assisted mild-temperature preparation of neodymium-doped titania for the improved photodegradation of water contaminants**". Applied Catalysis A: General, 2012, 441–442(0): p. 47-53.
7. Gómez V., Irusta S., Balas F. y Santamaria J., "**Intense generation of respirable metal nanoparticles from a low-power soldering unit**". Journal of Hazardous Materials, Volume 257, 2013, p. 84-9.
8. Gómez V., Levin M., Saber AT., Irusta S., Dal Maso M., Hanoi R., Santamaría J., Jensen K. A., Wallin H. y Koponen I. K., "**Nanomaterial release from nanocomposites during reworking process**". Aceptado en la revista Annals of Occupational Hygiene, 2014

ARTÍCULO 1



Generation of TiO₂ Aerosols from Liquid Suspensions: Influence of Colloid Characteristics

Virginia Gomez,¹ Silvia Irusta,^{1,2} Francisco Balas,^{1,2,3}
and Jesus Santamaria^{1,2}

¹Aragon Institute of Nanoscience, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain

²Networking Biomedical Research Centre of Biomaterials, Bioengineering and Nanomedicine, Zaragoza, Spain

³Instituto de Carboquímica, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Zaragoza, Spain

The influence of the colloidal characteristics of aqueous TiO₂ nanoparticle suspensions and of the operating conditions on the total particle concentration and the particle size distribution of aerosols generated by nebulization has been studied. A commercial nebulization unit coupled to a diffusion dryer was used to generate aerosols using two different sources of titanium dioxide nanoparticles. Stable, concentration-tunable aerosols could be obtained for both types of nanoparticle suspensions. The effect of operating conditions during nebulization (air flow rate, purity of water source, nanoparticle concentration, and pH of the precursor suspension) was studied. The results obtained indicate that the degree of agglomeration in the liquid phase previous to aerosol formation has a direct influence both on the total nanoparticle count and on the particle size distribution of the generated aerosols.

[Supplementary materials are available for this article. Go to the publisher's online edition of *Aerosol Science and Technology* to view the free supplementary files.]

1. INTRODUCTION

Among the current technologies for producing aerosols, pneumatic nebulization of colloidal suspensions is one of the simplest and most convenient. These wet-phase generators provide a stable stream of aerosolized particles that can be used in

a wide variety of applications from biomedicine (Henning et al. 2010) to synthetic chemistry (Kodas 1999). In a concise manner, a nebulizer is a device that uses a gas stream with a sufficiently high speed to break up a liquid into a cloud of small droplets. The mist obtained is formed by liquid drops containing the desired particles and is then subjected to drying. After evaporation of the liquid in each droplet, an aerosol stream is produced (Hinds 1999). Both droplet size distribution and concentration of liquid droplets in the aerosol depend on several parameters such as the gas pressure through the nebulizer, the properties of the liquid, and, ultimately, the design of the nebulizing nozzle (Swift 1993). On the other hand, the particle size distribution and the concentration of particles in the liquid suspension determine the characteristics of the aerosol obtained after the drying process.

In view of its relatively easy implementation, nebulization of colloidal suspensions of nanosized particles is one of the preferred methods to produce stable nanoparticle aerosol streams. In this way, nanoparticle suspensions with carefully tailored characteristics can be prepared and used as the precursor of the aerosol in a variety of applications. Thus for instance, this concept has been intensely studied in view of its implications on drug delivery using the upper respiratory ways (Yeo et al. 2010; Beck-Broichsitter et al. 2013; Verma et al. 2013). Also, given the possible health and environmental impacts of nanoparticles (Wiesner et al. 2006), nebulizer-generated nanoparticle aerosols with a wide range of aerodynamic sizes and mass concentrations are frequently used to test the efficiency of filters against nanoparticles (Eninger et al. 2009; Shimada et al. 2009) as well as for the development of deposition samplers (Cena et al. 2011). Inhaled nanoparticles not only may cause direct damage to lung tissue, but also are able to translocate from the respiratory ways to the bloodstream (Borm et al. 2002; Oberdörster et al. 2002, 2004). Harmful effects of the inhalation of nanoparticles have been reported, for example, for carbon nanotubes (Zhang et al. 2010), silicon dioxide (Napierska et al. 2010), or titanium dioxide nanoparticles (Rossi et al. 2010). Again in this

Received 20 June 2013; accepted 10 August 2013.

The authors would like to thank financial support through research projects Nanotrap (MAT2008-01319/NAN) and Nanosost (PSE-420000-2008-3) of the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and NanoValid (Contract No. 263147) of the European Union FP7 Framework Programme. Francisco Balas would like to thank the “Ramon y Cajal” tenure grant (RYC-2011-07641) and Virginia Gomez would like to thank the FPU scholarship AP2008-02067.

Address correspondence to Francisco Balas or Jesus Santamaria, Aragon Institute of Nanoscience (INA), University of Zaragoza, c/Mariano Esquillor s/n, Zaragoza 50018, Spain. E-mail: fbalas@unizar.es; Jesus.Santamaria@unizar.es

case, nebulizer-generated aerosols are ideally suited for testing the health impact of nanoparticles. Thus for instance, McJilton et al. (2009) used pneumatic nebulization of carbon nanotubes in studies of respiratory toxicology.

The colloidal state of the suspensions prior to and during nebulization is of paramount importance to determine the aerosol characteristics. The influence of the agglomeration of colloidal particles in the size and concentration of nanosized TiO₂ particles upon nebulization (Noël et al. 2012) has been recently analyzed. The authors showed the importance of a qualitative and quantitative characterization of the nanoparticles and their agglomerates on the characteristics of the resulting aerosols. It has also been reported that the presence of residual content from the solvent either forms individual particles or become adhered to the particles in the colloid, effectively increasing the resulting particle sizes, and possibly changing the surface chemistry of airborne nanoparticles (Park et al. 2012). The surface charge of particles in the suspension may also influence aerosol generation, modifying the aggregation state of particles during the nebulization.

Therefore, there is a need to deeply examine the influence of the colloidal properties of nanoparticle suspensions on the final characteristics of aerosols generated through pneumatic nebulization. In this work, we study the colloidal suspensions produced with TiO₂ (anatase) nanoparticles obtained from different sources. First, commercial anatase nanoparticles were tested, together with synthetic TiO₂ nanoparticles obtained in our laboratory through a microwave-assisted method described elsewhere (Gomez et al. 2012). In this work, we have attempted a comprehensive study of the main variables influencing nanoparticle aerosol generation through nebulization of colloidal nanoparticle suspensions. We have also analyzed the influence of suspended matter in the solvent water to produce pure TiO₂ and stable water-based colloids at different particle concentrations and pH values. Pneumatic nebulization of TiO₂ colloids was achieved at several flow rates, and the results are discussed in terms of particle concentrations and size distributions detected in both colloidal and aerosol phases.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Synthesis and Characterization of TiO₂ Nanoparticles

The TiO₂ nanoparticles were prepared by the microwave-assisted procedure previously reported (Gomez et al. 2012). Briefly, 30 ml of absolute ethanol (EtOH, Aldrich, St. Louis, MO, USA) were mixed with 2.0 ml of titanium tetraisopropoxide (TIPO, Aldrich, 97%) under magnetic stirring at 300 rpm. To this mixture, 3.0 ml of acetic acid (Aldrich) were added as catalyst for hydrolysis of TIPO. After stirring for 5 min, 5 ml of Milli-Q water (Millipore, Billerica, MA, USA) were added and the resulting mixture was stirred for 5 minutes. The resulting solution was transferred to a 20-ml vial and subsequently

heated in a microwave oven (Milestone ETHOS 1600) at a maximum power of 400W and under rotational stirring. The oven was heated at 120°C under a heating rate of 30°C/min and kept at this temperature for 15 min. When the reaction was finished, the precipitates were separated by centrifugation and washed several times with anhydrous ethanol. The surface composition was determined by Fourier-transformed infrared spectroscopy (FTIR) in a Bruker VERTEX70. Details of the FTIR technique and results are shown in the online supplemental information (SI). The microwave synthesized TiO₂ nanoparticles (MWTiO₂) are compared with commercially available anatase nanoparticles purchased from Aldrich, Inc. (titanium (IV) oxide, anatase nanopowder, <25-nm particles size), herein after termed TiO₂. The crystalline state of nanomaterials was determined using X-ray diffraction (XRD) from 10° to 60° 2θ with a step size of 0.02° 2θ at 1°/s using a Rigaku D/MAX diffractometer equipped with a rotor anode and a CuKα monochromatic source. The surface area and pore volume were both determined using N₂ adsorption in a Micromeritics TriStar3000 analyzer. Details on these measurements are given in the SI. Scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray (EDX) analysis were performed in an FEI Co. (Hillsboro, OR, USA) Inspect-F50 microscope together with an Oxford Instruments (Abingdon, UK) INCA PentaFETX3 EDX probe. Samples for SEM and EDX analysis were prepared depositing dry nanoparticles on conductive carbon tape and subsequently sputtered with Au. Transmission electron microscopy (TEM) images were recorded in a FEI F20 microscope at 200 kV accelerating voltage. The average nanoparticle size was estimated using the IMAQ Vision Builder image processing software.

2.2. Aerosol Generation and Characterization

All the aerosol generation experiments were performed at room temperature. Gas and aerosol conductions were made of graphite-lined conductive polycarbonate piping (i.d. 8 mm). Synthetic air streams for aerosol generation were dried by passing through a 150-mm column packed with silica gel and then filtered with a high-efficiency particulate air (HEPA)-cap-150 filter unit (Whatman Plc., Maidstone, UK). The jet nebulization airflow was controlled with a Bronkhorst (Ruurlo, The Netherlands) EL-FLOW mass flow controller. A scheme of the experimental is shown in Figure 1a. Nebulization of the colloidal suspensions of TiO₂ nanoparticles in Milli-Q water are performed using a polypropylene Philips SideStream[®] jet nebulizer. Details on the operation of nebulizer are given in the SI. The effect of nanoparticles in the formation of water droplets upon nebulization was analyzed by optical particle counter (OPC) (see below). Figure 1b shows the size distribution of filtered milli-Q water droplets obtained at different flow rates, pointing to the formation of droplets mostly under 10 μm. Moreover, Figure 1c shows that particle size distributions are similar for pure water and TiO₂ nanoparticle suspensions.

After removing the excess aerosol through an HEPA filter, the remaining stream is directed to an annular-cylindrical

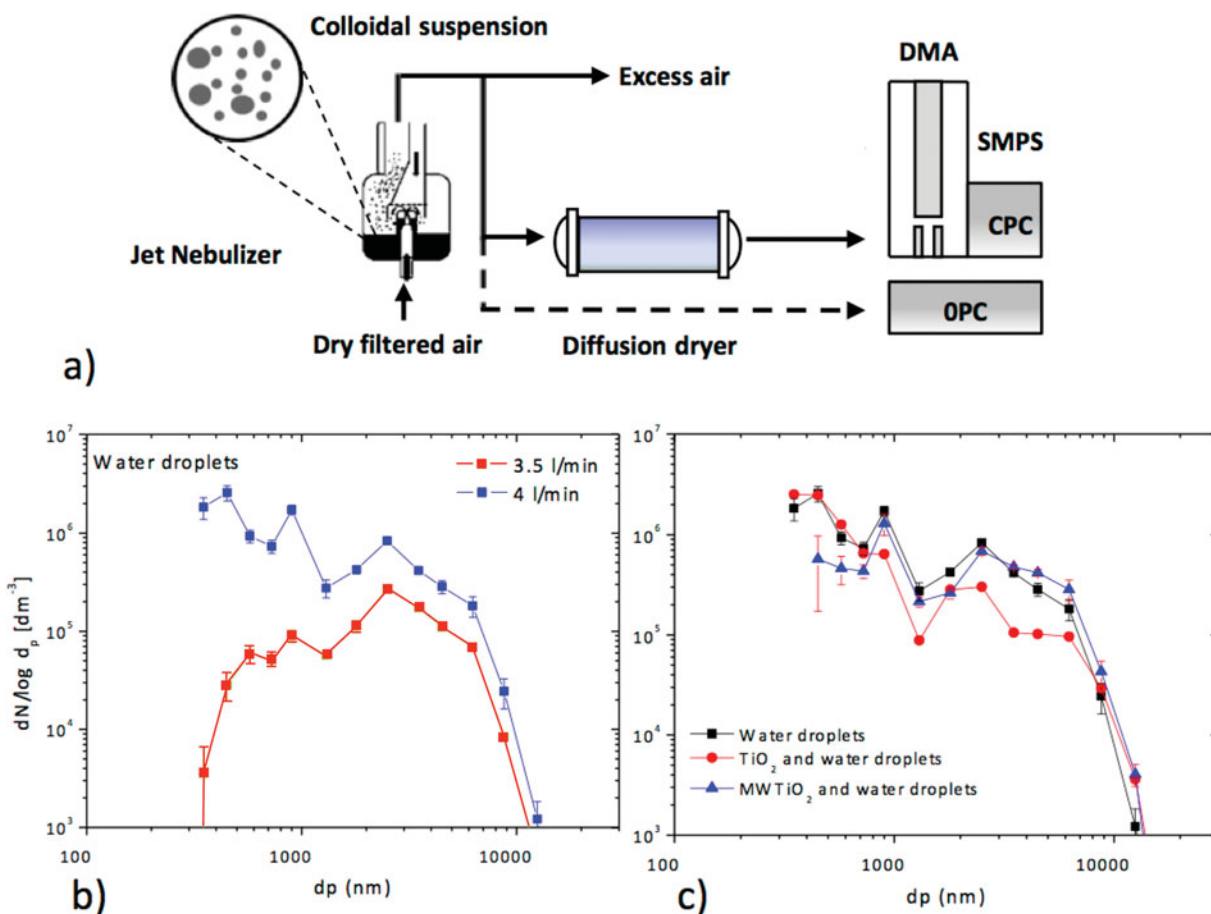


FIG. 1. Scheme of the experimental setup (a) used for nanoparticle nebulization. The system generates liquid droplets with similar sizes for both pure water (b) and nanoparticle suspensions (c). Droplet size distributions were measured using an OPC without diffusion dryer in the range from 0.3 to 20 μm . (Color figure available online.)

diffusion dryer packed with silica gel (TSI Model 3062), which is described in the SI. The adsorption of moisture drives the droplet evaporation, with a rapid formation of solid particles. Aerosol nanoparticles were neutralized by directing the gas flow to an encapsulated ²⁴¹Am source (3.7 MBq) and then were classified and quantified using a Grimm-Aerosol Technik, GmbH (Ainring, Germany) model #5.414 stepping mobility particle sizer (SMPS+C) formed by a Vienna-type differential mobility analyzer (DMA, Model #33-900) and a condensation particle counter (CPC). The reported number size distributions are the average of two consecutive SMPS+C scans. Results have been fitted to multimodal lognormal distribution using OriginPro 8.6 software to obtain the geometric mean diameter (GMD) and geometric standard deviation (GSD) for the different modes. To determine the fraction of aerosol particles with sizes between 300 nm and 20 μm an eight-channel OPC (OPC, Model #1.108; Grimm Aerosol Technik) was used. Finally, all exit streams were HEPA-filtered and the experimental setup was placed inside a laboratory hood equipped with HEPA filters to avoid release of aerosol nanoparticles during the experiments. Gloves and respiratory masks were worn, and the analysis area was thoroughly

cleaned before and after experiments with clean room wipes and filter-equipped vacuum cleaners.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Characterization of TiO₂ Nanopowders

The anatase structure of the TiO₂ nanoparticles was confirmed by XRD analysis, as shown in Figure 2. The diffraction peaks were positively attributed to the anatase phase of titanium oxide (JCPDS card 21-1272) and no extra peaks were detected, although rutile or brookite impurities were specifically searched for. The broadening of diffraction peaks in the XRD patterns in MWTiO₂ was attributed to the small particle size obtained by the microwave process. The average crystallite sizes for both materials were calculated using the Debye-Scherrer formula for the diffraction peak (101) of the anatase phase identified in the XRD patterns for both materials, giving an estimated size of 13 nm for commercial TiO₂ and about 7 nm for the MWTiO₂. The Brunauer-Emmet-Teller (BET) surface area of the TiO₂ was 83 m²/g while for the MWTiO₂ increased

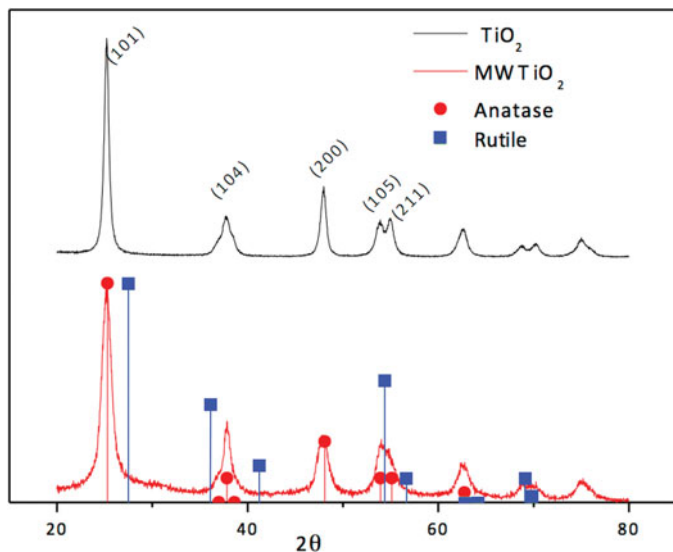


FIG. 2. XRD diffraction patterns of the TiO_2 and MWTiO_2 nanoparticles. Anatase and rutile peak positions are shown for identification purposes. (Color figure available online.)

up $239 \text{ m}^2/\text{g}$. Furthermore, the adsorption isotherms (Figure S1) indicate that the microwave synthesis gives solids with a higher pore volume and smaller pore sizes than those of the TiO_2 . Also, the SEM images of commercial particles (Figure 3a) show the presence of large agglomerates, whereas in the MWTiO_2 images (Figure 3b) large agglomerates were not detected. The smaller crystallite sizes obtained from the XRD data indicated that the particles consisted of several smaller crystallites. These results are also in general agreement with TEM observations. For the commercial TiO_2 material (Figures

4a and b), the primary nanoparticles showed a heterogeneous distribution of shapes and sizes, forming irregular aggregates with sizes in the tens of nm range. For MWTiO_2 , TEM images (Figures 4c and d) indicated considerable less aggregation and primary nanoparticles with prismatic shape and average size of $15 \pm 4 \text{ nm}$ ($N > 100$ particles).

3.2. Colloidal Characterization

The surface charge of TiO_2 nanoparticles changed significantly with pH due to the amphoteric character of this material (Suttiponparnit et al. 2011). In the ζ -potential versus pH plot (Figure S2), the surface charge of TiO_2 varied between 15 and -15 mV , whereas for MWTiO_2 the variation occurs between 27 and -33 mV , with a slightly higher isoelectric point (IEP) for TiO_2 (pH 5.8) than for MWTiO_2 (pH 5.4). It is interesting to note that the presence of organic residue chains grafted on the surface of MWTiO_2 nanoparticles, as the FTIR results show (SI), may account for the higher surface charge for these nanoparticles. The O/Ti atomic ratio determined by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) was 2.3 for TiO_2 and 2.5 for MWTiO_2 , which suggests a higher surface content of oxygen for MWTiO_2 , as could be expected, given its higher surface area, yielding a larger exposition of OH groups, which also contributed to the surface charge. The dynamic light scattering (DLS) analysis (Table 1 and Figure S3) showed that colloids of TiO_2 at any pH have larger hydrodynamic particle sizes than those prepared with MWTiO_2 . This is in good agreement with the aggregates observed in the high-resolution TEM images of the starting material (Figure 4). In both cases, as expected, particle sizes were larger at intermediate pH values, close to the IEP (Figure S2), whereas at higher or lower pH values electrostatic repulsion decreased agglomeration.

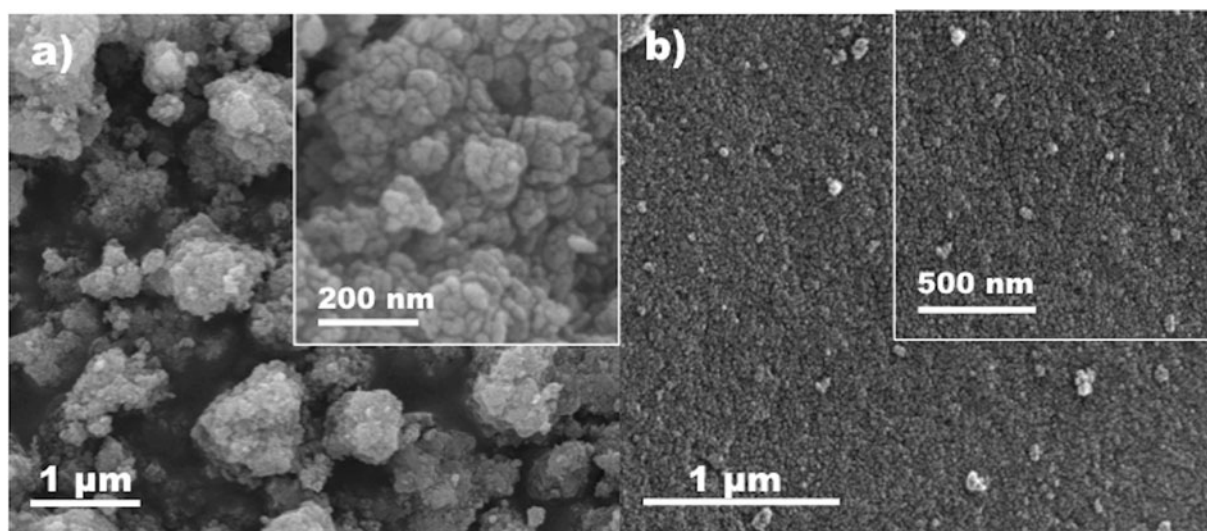


FIG. 3. SEM images of TiO_2 (a) and MWTiO_2 (b) nanoparticles.

TABLE 1
Particle sizes in the colloidal (measured by DLS) and in aerosol state (measured by SMPS) of TiO₂ and MWTiO₂ at different pH values

pH	MWTiO ₂			TiO ₂		
	D _h ^a (nm)	GMD ^b (nm)	GSD ^c	D _h ^a (nm)	GMD ^b (nm)	GSD ^c
11	166	34.5	1.73	446	59.1	1.67
5	203	14.4	1.34	803	54.6	2.08
2	195	10.1	1.25	632	37.9	1.65

^aHydrodynamic diameter of particles in the suspension. The polydispersity index was always under 0.2 nm; ^bgeometric mean diameter of aerosol particles, determined from SMPS measurements; ^cgeometric standard deviation.

3.3. Influence of Residual Particles from Water Droplets in the Nebulized Aerosols

The drying of nanoparticle-free water droplets produced in the nebulization system also generated a certain amount of residual particles (Kramnes et al. 1991). This is a common feature in droplet-based aerosol generation procedures, where the presence of impurities in the liquid leads to the formation of solids upon evaporation. Although the concentration of such

water-borne impurities was usually much lower than that of the nanoparticle suspension itself, their presence could introduce significant deviations in the aerosol particle concentration and particle size distribution. These deviations became more important in relative terms as the nanoparticle concentration in the precursor suspension was reduced.

To assess and minimize the residual particle generation from the solvent, water from three different sources were used for

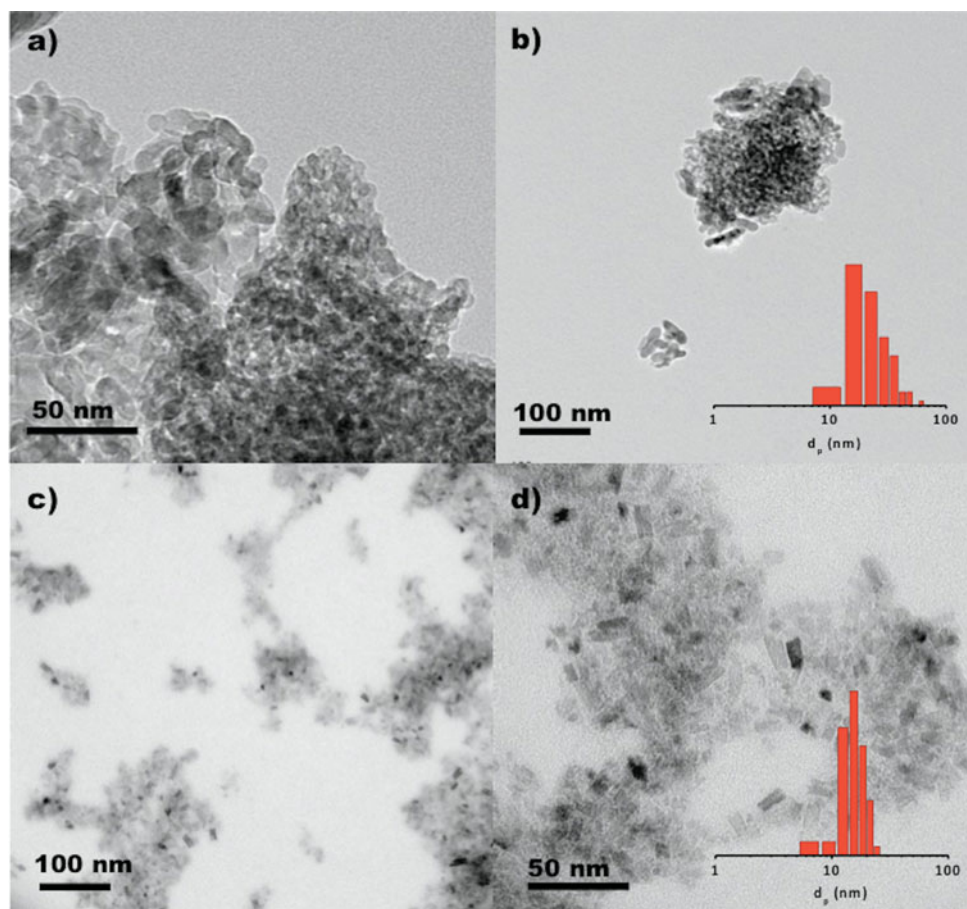


FIG. 4. TEM images of TiO₂ (a, b) and MWTiO₂ (c, d) nanoparticles. Insets show size histograms for both nanoparticles ($N > 100$). (Color figure available online.)

nebulization under the same conditions as for TiO_2 suspensions: (i) commercial water filtered through a $0.10\text{-}\mu\text{m}$ filter (Sigma Aldrich termed “molecular biology water,” which is marketed as free of nucleases and proteases), (ii) Milli-Q water generated from Advantage A10 Water Purification Systems, that subjects the source water to filtration using a $0.22\text{-}\mu\text{m}$ filter unit and deionization to reach a resistivity value of $18.2\text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$, and (iii) tap water from Zaragoza municipal water grid (conductivity value of $882\ \mu\text{S}/\text{cm}$ measured at 20°C). Figure 5 shows total residual particle concentration generated by water nebulization and measured using CPC, which was notably higher for tap water (over $10^5\ \#/\text{cm}^3$) than for the filtered “molecular biology” and “Milli-Q” varieties. The aerosol particle concentration generated from both Milli-Q and molecular biology water was similar regardless of the flow rate used for nebulization and between 10^3 and $10^4\ \#/\text{cm}^3$, with a slightly higher aerosol particle concentration when molecular biology water was nebulized. The concentration of water-borne nanoparticle aerosol was high enough to be detected by SMPS+C; however, their size distributions show GMD values smaller than those found in aerosols obtained after the nebulization of TiO_2 and MWTiO_2 suspensions (Figure S6). Although residual nanoparticles were ubiquitous when generating aerosols by nebulization, their presence had little effect in the particle size distribution of aerosols obtained for nanoparticle suspensions using the same water. Taking into account these results, the nanoparticle suspensions used as aerosol precursors in the remainder of this work have been prepared using Milli-Q water.

3.4. Effect of the Air Flow Rate in the Nebulization of TiO_2 Colloidal Dispersions

Different nebulization airflows were used to generate aerosol from colloidal dispersions ($1\ \text{mg}/\text{ml}$, $\text{pH}\ 5$) of TiO_2 and MWTiO_2 . Figure 6 shows the number particle concentration

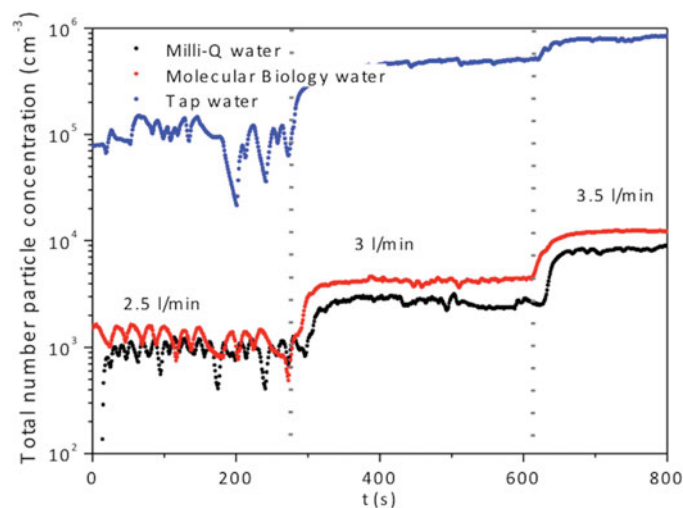


FIG. 5. Particle number total concentration (in $\#/\text{cm}^3$) of residual particles generated upon nebulization of water of different origins as function of the flow rate. (Color figure available online.)

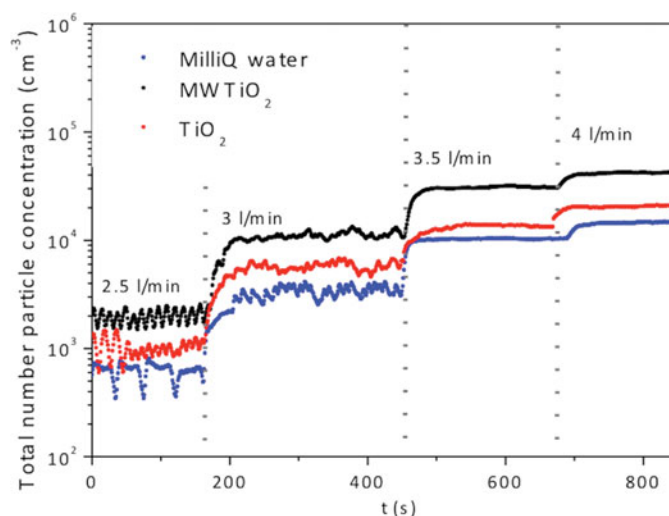


FIG. 6. Particle number total concentration (in $\#/\text{cm}^3$) generated at different flow rates from the nebulization of colloidal dispersions ($1\ \text{mg}/\text{ml}$, $\text{pH}\ 5$) of TiO_2 and MWTiO_2 nanoparticles. Particle number concentration from the nebulization of milli-Q water are shown for the sake of comparison. (Color figure available online.)

obtained with the CPC. At $2.5\ \text{l}/\text{min}$ flow rate the number of particles generated from both colloid suspensions and from Milli-Q water is very low (under $2 \times 10^3\ \#/\text{cm}^3$ for TiO_2 , which was the suspension giving the maximum concentrations). As the flow rate of the nebulizing air was increased, the number of droplets entrained also were risen, producing a more concentrated aerosol. This allows adjusting the concentration of the resulting aerosols, by simply changing the entraining airflow rate. Stable aerosols were obtained, with tunable concentration levels between 2×10^3 and over $4 \times 10^4\ \#/\text{cm}^3$. The highest concentrations were obtained with the more dispersed colloid (MWTiO_2) yielding up to $4.2 \times 10^4\ \#/\text{cm}^3$ under the conditions used in this work, while the colloid with TiO_2 reached around $2.0 \times 10^4\ \#/\text{cm}^3$.

Number size distributions from the generated aerosols were generally well below $200\ \text{nm}$ for both materials at all tested airflows (Figure 7), although the TiO_2 material presented a larger fraction above $100\ \text{nm}$, compared with the MWTiO_2 nanoparticles. Only one peak with GMD of $58\ \text{nm}$ is observed for TiO_2 . On the other hand, a bimodal distribution with GMDs at 14 and $80\ \text{nm}$ were found for the MWTiO_2 material. This suggested that the higher dispersion achieved in the MWTiO_2 suspension allowed the presence of primary particles in the aerosol. No significant changes in the GMDs of aerosol particles were found for flows ranging from 3 to $4\ \text{L}/\text{min}$ (with a pressure drop of $210\text{--}360\ \text{mbar}$ across the nebulizer). The number of particles generated from the more dispersed colloidal suspension of the synthesized nanoparticles reached a value around $10^4\ \#/\text{cm}^3$, more than one order of magnitude higher than the agglomerated TiO_2 , indicating the importance of achieving a high degree of colloidal dispersion in the precursor suspensions.

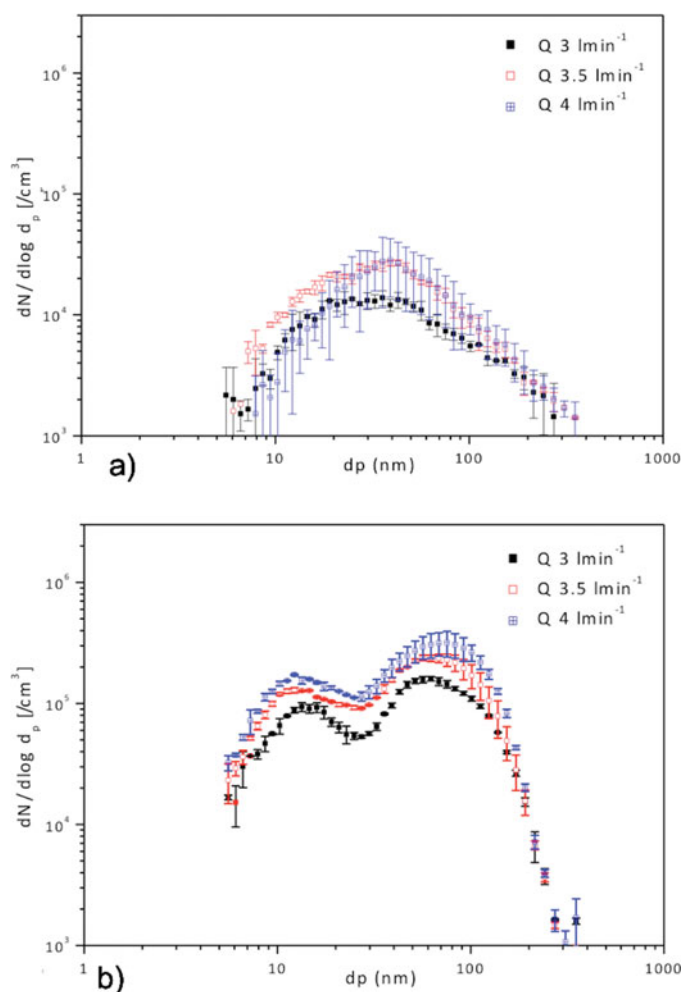


FIG. 7. Particle number size distributions (in $\#/cm^3$) obtained at different nebulization flow rates of TiO₂ (a) and MWTiO₂ (b) from colloidal dispersions of 1 mg/ml at pH 5. (Color figure available online.)

Figure 8 shows the SEM images of the particles collected from the gas-phase aerosols (after liquid evaporation) using polycarbonate filter grids. The presence of pseudo-spherical aggregates with diameters mostly between 100 and 500 nm could be observed for both TiO₂ and MWTiO₂ aerosols, although smaller sizes were generally observed for MWTiO₂. The formation of such aggregates was attributed to the drying mechanism: the surface tension of the shrinking droplet maintains a spherical shape through the drying process while progressively concentrating the nanoparticles and inducing coalescence. Analogous descriptions have been previously reported for nanoparticle aerosols with similar chemical composition (Yi et al. 2004; Widiyastuti et al. 2009). Nevertheless, it has been noted that the spray drying of preformed nanoparticles may lead to diverse morphologies of the dry aggregates, depending on the drying conditions and the physicochemical properties of the dispersion (Iskandar et al. 2001; Bahadur et al. 2010). Sen et al. (2009) reported that for highly concentrated colloids the shape of the

aerosol particles generated during the drying process is spherical. The self-assembly of small and well-dispersed MWTiO₂ nanoparticles during drying leads to highly packed spherical aggregates (Bahadur et al. 2010). Lee et al. (2009) found that generated particles morphology was highly influenced by the positive or negative surface charge of particles. Moreover, the formation of tightly packed spheres was observed for spherical silica nanoparticles (Lee et al. 2010). Although MWTiO₂ nanoparticles were not spherical, the homogenous size distribution would lead to the formation of highly packed spherical aggregates that could be detected in TEM images of particles collected after nebulization and evaporation (Figure S7). On the other hand, irregular agglomerates collected from TiO₂ aerosols were already present in the colloidal suspension, as it could be assessed by the large hydrodynamic diameters found in DLS analysis (Table 1 and Figure S4).

3.5. Effect of Nanoparticle Concentration in the Nebulization of TiO₂ Colloidal Dispersions

Changing the colloid concentration affected not only the initial concentration of the solids within the droplet volume but also essential characteristics of the solid suspension such as density, viscosity, and surface tension that in turn will affect the size distribution of the generated droplets and their fluid-dynamic behavior. To study the effect of the colloid concentration, suspensions of TiO₂ at 0.1 and 1 mg/ml and at pH 5 were nebulized under airflow of 3 L/min (pressure drop of 210 mbar). For both colloidal concentrations a similar GMD below 60 nm was found (Figure S6), although a small increment of GMD was in fact observed, from 33.7 nm (GSD 1.68) for 0.1 mg/ml to 54.2 nm (GSD 1.82) for 1 mg/ml. However, at higher TiO₂ concentrations the particle size distribution widened, especially toward larger sizes. This increase, as well as the observed increase in GMD, could be attributed to the formation of larger aerosol aggregate particles at high concentrations (Hinds 1999). Besides, the nanoparticle packing in the assembled grains depends on the concentration of the initial dispersion and the average packing fraction of the particles in the grain reduce with increasing concentration giving rise to large agglomerates (Bahadur et al. 2010). The so-called one-drop to one-particle mechanism is commonly accepted for describing the formation of agglomerates in aerosols (Wang et al. 2008). This model assumes that empty droplets do not lead to particles and high-particulate aerosol concentrations are reached for suspensions with high concentration, which is in agreement with the particle size distributions (Figure S5), where the more concentrated solution produced aerosols with a clearly higher concentration. Also, Shimada et al. (2009), working with NiO and C₆₀ nanoparticles using a spray drying technique reported that the number concentration of droplets and, consequently aerosol nanoparticles increased with the suspension concentration, whereas the sprayed suspension volume per unit time changed little with the suspension concentration.

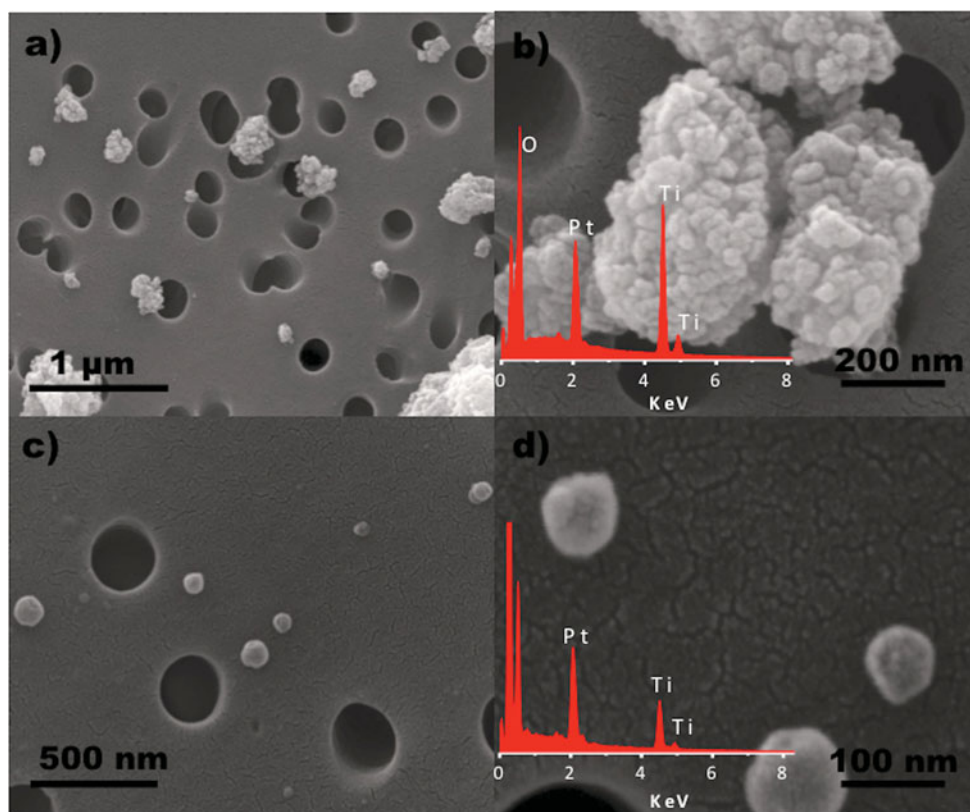


FIG. 8. SEM images of TiO₂ (a, b) and MWTiO₂ (c, d) nanoparticles collected on a polycarbonate filter grid at 1.2 L/min. Insets show EDX analysis. (Color figure available online.)

3.6. Effect of pH in the Nebulization of TiO₂ Colloidal Dispersions

The value of pH had a strong influence on the charge of nanoparticles in aqueous suspensions and therefore on the aggregation behavior of nanoparticles within the droplets, previous to any evaporative process. The effect of pH of colloid in the aerosol was studied with stable dispersions of 1 mg/ml of both TiO₂ and MWTiO₂ in water at pH 2, 5, and 11 and nebulized at 3 L/min. For both nanomaterials, aerosols with low concentrations were obtained from suspensions at pH 5, as shown in Figure 9. This pH value was close to the IEP for anatase nanoparticles, meaning that significant agglomeration was already taking place in the liquid phase prior to and during the nebulization stage (Sotto et al. 2011). Consequently, the particles were mainly present as larger-sized agglomerates leading to a lower count of aerosol nanoparticles. Some precipitation of the larger agglomerates in the nebulization vessel was observed, and the precipitated nanoparticles would not be available for aerosol formation. On the other hand, at pH 11 the ζ -potential values were around -17 and -32 mV for TiO₂ and MWTiO₂, respectively and stable sols are formed (Mohammadi et al. 2006), which favored both a higher content of nanoparticles in the droplets and a higher particle count in the aerosol. These results stress the importance of the colloidal particle sizes

on the formation of agglomerates in the resulting aerosol. Finally, it is also worth mentioning that additional measurements using the long-range L-DMA column (for sizes 10–1000 nm) in the SMPS+C corroborate that most nanoparticles in aerosols are below 100 nm (results not shown).

Despite the differences in hydrodynamic diameters of the colloidal dispersions of TiO₂ and MWTiO₂ (Table 1), the average mobility diameters in the aerosol phase were similar for the case of the TiO₂ nanoparticles, where the effect of a higher pH seemed to affect the tail of the distribution toward larger particle diameters. In contrast, for the MWTiO₂ suspension (Figure 9) there was an increase in the GMD with pH for both peaks of the bimodal particle size distribution. According to Hernandez-Trejo et al. (2005), the sizes of the nebulized droplets depend on the design of the nebulizer system and the conditions used. Therefore, any difference in the particle size distributions can be attributed to the colloidal characteristics of TiO₂ and MWTiO₂ suspensions. In particular, it is worth noticing that nebulization at low pH, the lower peak of the distribution presented a sized in the range of the primary nanoparticles of the starting material (17 ± 4 nm). This suggests that the repulsive forces at this pH value (30 mV) were strong enough to maintain the individuality of a significant proportion of the nanoparticles, not only in the suspension, but also during the nebulization evaporation. The

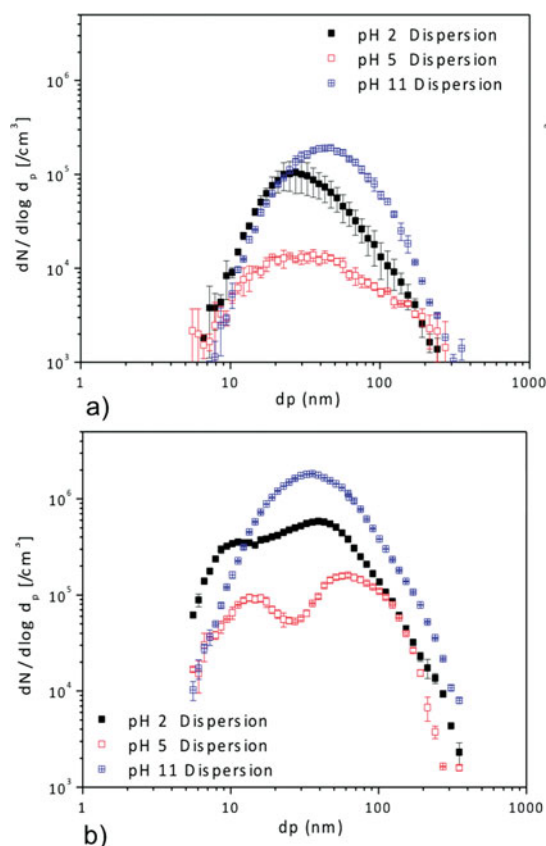


FIG. 9. Particle number size distributions (in $\#/cm^3$) of aerosols generated from the nebulization of colloidal dispersions of TiO₂ (a) and MWTiO₂ (b) at different pH values. (Color figure available online.)

collection of TiO₂ and MWTiO₂ aerosol nanoparticles in water at different pH values led to similar particle sizes and surface charges to those observed before nebulization.

4. CONCLUSIONS

Nanoparticle aerosols with mean diameters below 100 nm are obtained after nebulization of colloidal suspensions of both prismatic 15-nm MWTiO₂ nanoparticles and irregular 25-nm TiO₂ nanoparticles. Small and homogeneously shaped MWTiO₂ leads to more uniform spheres in the aerosol, whereas the irregular TiO₂ forms a wider variety of aerosol aggregates.

Colloidal properties have a direct influence on the aerosol characteristics. The number concentration of nanoparticles in the aerosol phase is dependent on colloidal dispersion properties. When particles are not well dispersed in the colloid (e.g., when a pH close to the IEP is used), the concentration of nanoparticles in the aerosol decreases due to liquid-phase precipitation, which removes particles before droplet formation, and to aggregation that reduces the total number of particles in the aerosol while increasing the contribution of the larger nanoparticles.

REFERENCES

- Bahadur, J., Sen, D., Mazumder, S., Paul, B., Khan, A., and Ghosh, G. (2010). Evaporation-Induced Self Assembly of Nanoparticles in Non-Buckling Regime: Volume Fraction Dependent Packing. *J. Coll. Int. Sci.*, 351:357–364.
- Beck-Broichsitter, M., Knuedeler, M. C., Schmehl, T., and Seeger, W. (2013). Following the Concentration of Polymeric Nanoparticles During Nebulization. *Pharm Res* 30:16–24.
- Borm, P. J. A. (2002). Particle Toxicology: From Coal Mining to Nanotechnology. *Inhal. Toxicol.*, 14:311–324.
- Eninger, R. M., Hogan, C. J., Biswas, P., Adhikari, A., Reponen, T., and Grinshpun, S. A. (2009). Electrospray versus Nebulization for Aerosolization and Filter Testing with Bacteriophage Particles. *Aerosol Sci. Technol.*, 43:298–304.
- Gomez, V., Balu, A. M., Serrano-Ruiz, J. C., Irusta, S., Dionysiou, D. D., Luque, R., et al. (2012). Microwave-Assisted Mild-Temperature Preparation of Neodymium-Doped Titania for the Improved Photodegradation of Water Contaminants. *Appl. Catal. A Gen.*, 441–442:47–53.
- Henning, A., Hein, S., Schneider, M., Bur, M., and Lehr, C.-M. (2010). *Pulmonary Drug Delivery: Medicines for Inhalation Drug Delivery*. Schäfer-Korting, M. (ed), Springer, Berlin Heidelberg, 197:171–192.
- Hernández-Trejo, N., Kayser, O., Steckel, H., and Müller, R. H. (2005). Characterization of Nebulized Buparvaquone Nanosuspensions—Effect of Nebulization Technology. *J. Drug Target.*, 13:499–507.
- Hinds, W. C. (1999). *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*. Wiley, New York.
- Iskandar, F., Mikrajuddin, and Okuyama, K. (2001). In Situ Production of Spherical Silica Particles Containing Self-Organized Mesopores. *Nano Lett.*, 1:231–234.
- Kodas, T. T., and Hampden-Smith, M. J. (1999). *Aerosol Processing of Materials*. Wiley-VCH, New York.
- Krarnes, J., Büttner, H., and Ebert, F. (1991). Submicron Particle Generation by Evaporation of Water Droplets. *J. Aerosol Sci.*, 22(Suppl. 1):S15–S18.
- Lee, S. Y., Gradoń, L., Janeczko, S., Iskandar, F., and Okuyama, K. (2010). Formation of Highly Ordered Nanostructures by Drying Micrometer Colloidal Droplets. *ACS Nano.*, 4:4717–4724.
- Lee, S. Y., Widiyastuti, W., Iskandar, F., Okuyama, K., and Gradoń, L. (2009). Morphology and Particle Size Distribution Controls of Droplet-to-Macroporous/Hollow Particle Formation in Spray Drying Process of Colloidal Mixtures Precursor. *Aerosol Sci. Technol.*, 43:1184–1191.
- McJilton, L., Horton, C., Kittrell, C., Ogrin, D., Peng, H., Liang, F., et al. (2009). Nebulization of Single-Walled Carbon Nanotubes for Respiratory Toxicity Studies. *Carbon*, 47:2528–2530.
- Mohammadi, M. R., Cordero-Cabrera, M. C., Ghorbani, M., and Fray, D. J. (2006). Synthesis of High Surface Area Nanocrystalline Anatase-TiO₂ Powders Derived from Particulate Sol-Gel Route by Tailoring Processing Parameters. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 40:15–23.
- Napierska, D., Thomassen, L., Lison, D., Martens, J., and Hoet, P. (2010). The Nanosilica Hazard: Another Variable Entity. *Particle Fibre Toxicol.*, 7:39.
- Noël, A., Cloutier, Y., Wilkinson, K. J., Dion, C., Hallé, S., Maghni, K., et al. (2012). Generating Nano-Aerosols from TiO₂ (5 nm) Nanoparticles Showing Different Agglomeration States. Application to Toxicological Studies. *J. Occup. Environ. Hyg.*, 10:86–96.
- Oberdörster, G., Sharp, Z., Atudorei, V., Elder, A., Gelein, R., Kreyling, W., and Cox, C. (2004). Translocation of Inhaled Ultrafine Particles to the Brain. *Inhal. Toxicol.* 16:437–445.
- Oberdörster, G., Sharp, Z., Atudorei, V., Elder, A., Gelein, R., Lunts, A., Kreyling, W., and Cox, C. (2002). Extrapulmonary Translocation of Ultrafine Carbon Particles Following Whole-Body Inhalation Exposure of Rats. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 65:1531–1543.
- Park, J. Y., McMurphy, P. M., and Park, K. (2012). Production of Residue-Free Nanoparticles by Atomization of Aqueous Solutions. *Aerosol Sci. Technol.*, 46:354–360.

- Rossi, E., Pylkkanen, L., Koivisto, A., Nykasenoja, H., Wolff, H., Savolainen, K., et al. (2010). Inhalation Exposure to Nanosized and Fine TiO₂ Particles Inhibits Features of Allergic Asthma in a Murine Model. *Particle Fibre Toxicol.*, 7:35.
- Sen, D., Mazumder, S., Melo, J. S., Khan, A., Bhattacharya, S., and D'Souza, S. F. (2009). Evaporation Driven Self-Assembly of a Colloidal Dispersion during Spray Drying: Volume Fraction Dependent Morphological Transition. *Langmuir*, 25:6690–6695.
- Shimada, M., Wang, W.-N., Okuyama, K., Myojo, T., Oyabu, T., Morimoto, Y., et al. (2009). Development and Evaluation of an Aerosol Generation and Supplying System for Inhalation Experiments of Manufactured Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.*, 43:5529–5534.
- Sotto, A., Boromand, A., Zhang, R., Luis, P., Arsuaga, J. M., Kim, J., et al. (2011). Effect of Nanoparticle Aggregation at Low Concentrations of TiO₂ on the Hydrophilicity, Morphology, and Fouling Resistance of PES-TiO₂ Membranes. *J. Coll. Int. Sci.*, 363:540–550.
- Suttiponparnit, K., Jiang, J., Sahu, M., Suvachittanont, S., Charinpanitkul, T., and Biswas, P. (2011). Role of Surface Area, Primary Particle Size, and Crystal Phase on Titanium Dioxide Nanoparticle Dispersion Properties. *Nanoscale Res. Lett.*, 6:27.
- Swift, D. (1993). *Aerosol Measurement in the Health Care Field, in Aerosol Measurement Principles, Techniques and Applications*. Wiley, New York.
- Verma, N. K., Crosbie-Staunton, K., Satti, A., Gallagher, S., Ryan, K. B., Doody, T., McAtamney, C., MacLoughlin, R., Galvin, P., Burke, C. S., Volkov, Y., and Gun'ko Y. K. (2013). Magnetic Core-Shell Nanoparticles for Drug Delivery by Nebulization. *J Nanotechnol.*, 11:1–13.
- Wang, W.-N., Purwanto, A., Lenggono, I. W., Okuyama, K., Chang, H., and Jang, H. D. (2008). Investigation on the Correlations between Droplet and Particle Size Distribution in Ultrasonic Spray Pyrolysis. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 47:1650–1659.
- Widiyastuti, W., Lee, S. Y., Iskandar, F., and Okuyama, K. (2009). Sintering Behavior of Spherical Aggregated Nanoparticles Prepared by Spraying Colloidal Precursor in a Heated Flow. *Adv. Powder Technol.*, 20:318–326.
- Wiesner, M. R., Lowry, G. V., Alvarez, P., Dionysiou, D., and Biswas, P. (2006). Assessing the Risks of Manufactured Nanomaterials. *Env. Sci. Technol.*, 40:4336–4345.
- Yeo, L. Y., Friend, J. R., McIntosh, M. P., Meeusen, E. N. T., and Morton, D. A. V. (2010). Ultrasonic Nebulization Platforms for Pulmonary Drug Delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7:663–679.
- Yi, G. R., Manoharan, V. N., Michel, E., Elsesser, M. T., Yang, S. M., and Pine, D. J. (2004). Colloidal Clusters of Silica or Polymer Microspheres. *Adv. Mater.*, 16:1204–1208.
- Zhang, Y., Ali, S. F., Dervishi, E., Xu, Y., Li, Z., Casciano, D., et al. (2010). Cytotoxicity Effects of Graphene and Single-Wall Carbon Nanotubes in Neural Phaeochromocytoma-Derived PC12 Cells. *ACS Nano.*, 4:3181–3186.

ARTÍCULO 2



Deposition of Aerosol Particles below 10 nm on a Mixed Screen-Type Diffusion Battery

V. Gómez^{1*}, F.J. Alguacil², M. Alonso²

¹ *Instituto de Nanociencia de Aragón (INA), Edificio I+D, c/Mariano Esquillor s/n, 50018 Zaragoza, Spain*

² *National Center for Metallurgical Research (CENIM-CSIC), Avenida Gregorio del Amo, 8. 28040 Madrid, Spain*

ABSTRACT

Experimental characterization of a mixed screen-type diffusion battery has been made by using monodisperse neutral particles with diameter below 10 nm. The diffusion battery contained two “composite” grids, each of them consisting of a gold screen sandwiched between two Aluminium screens. The equivalent fiber diameter of the composite grid was obtained by fitting the experimental penetration data for uncharged particles to the Cheng-Yeh model. Once the equivalent or effective fiber diameter is known, the fan filter model of Cheng and Yeh allows accurate prediction of particle penetration through the mixed-screen type diffusion battery.

Keywords: Nanoparticle; Diffusion; Wire screen; Single fiber efficiency; Equivalent fiber diameter.

INTRODUCTION

The most important filtration mechanism for neutral ultrafine airborne particles is diffusive deposition. Uncharged particles with diameter below 100 nm are collected due their Brownian motion. Single fiber efficiency due to diffusion is described by the following expression by Lee and Liu (1982):

$$\eta_d = 2.58 \left(\frac{1-\alpha}{K} \right)^{\frac{1}{3}} Pe^{-2/3} \quad (1)$$

where α is the packing density of the filter (solid volume fraction), K is the hydrodynamic factor and Pe is the Peclet number.

Traditionally, the experimental test of the above equation (or of others derived from it) has been done using either a single well-characterized wire screen or a series of screens separated a certain distance from each other (diffusion battery). A large number of reports on penetration of particles through wire screens are available in the literature (Kirsch and Fuchs, 1968; Cheng and Yeh, 1980; Cheng *et al.*, 1980). This theory has been experimentally verified for particle sizes, $d_p > 0.5$ –8 nm (Cheng and Yeh, 1980; Cheng *et al.*, 1980; Yeh *et al.*, 1982; Scheibel and Porstendörfer, 1984; Holub and Knutson, 1987; Yamada *et al.*, 1988; Ramamurthi,

1989; Cheng *et al.*, 2000; Heim *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2007; Heim *et al.*, 2010). Cheng and Yeh (1980) showed a theory developed for fiber filters worked for predicting aerosol penetration through 635-mesh wire screens to facilitate the use of wire screens. A special type of diffusion battery for measuring the particle size of aerosols is the so called graded screen array (GSA) and was first developed by Holub and Knutson (1987) in the 1980s, in which several screens differing in their geometric characteristics (wire diameter, screen thickness, opening and solid volume fraction) are arranged in series within a filter holder (e.g., Solomon and Ren, 1992). GSAs were used in several studies of radon decay product behavior (e.g., Strong, 1988; Ramamurthi and Hopke, 1989; Ramamurthi *et al.*, 1990; Winklmayr *et al.*, 1990; Hopke, 1991; Li and Hopke, 1991; Hopke *et al.*, 1992; Solomon and Ren, 1992; Cheng *et al.*, 2000). The Cheng-Yeh wire screen penetration theory in the molecular cluster size range was confirmed the validity by Ramamurthi *et al.* (1990) using a well-defined and radioactive $^{218}\text{PoO}_x$ cluster aerosol, highly diffusive $D_{\text{avg}} = 0.078 \pm 0.003 \text{ cm}^2/\text{s}$ ($d_p \approx 0.6 \text{ nm}$). An assessment of wire screen penetration theory for two low mesh number wire screens indicated good agreement with the diffusion theory within the domain of $Re_f < 1$ (Scheibel and Porstendörfer 1984; Cheng *et al.*, 1990). However, in all the past works employing multiple wire screens, the screens were separated from each other by a certain distance, thus ensuring that the aerosol flow just before each screen is uniform throughout the whole cross section of the filter. Under these circumstances, the overall penetration can be calculated as the product of the penetrations through each individual screen.

* Corresponding author.

E-mail address: virgomez@unizar.es

According to the current literature there are no reports concerning the validity of the diffusion battery equations when the screens are in contact (i.e., no separation distance in between). In this case, penetration through the composite grid array is no longer given by the product of the individual penetrations because the aerosol flow approaching the second and successive screens does not cover the whole cross section as it is partially "screened" by the wires of the precedent mesh. Furthermore, no experimental data has been found for the case when the contacting screens have different geometric characteristics.

The present work tries to increase the current mixed screen-type diffusion battery knowledge. Specifically, the penetration of sub 10 nm particles through two composite grids placed in series has been studied. A set of experiments has been performed at different aerosol flow rates. Each composite grid consists of a gold mesh sandwiched between two aluminium meshes. All three meshes are in contact one with each other.

While the geometric characteristics of the individual screens as fiber diameter, solid volume fraction and thickness are well-defined, it is difficult to assign *a priori* a proper value to the fiber diameter of the composite grid.

However, it is possible to define an equivalent fiber diameter for the composite grid from experimental penetration measurements using the fan filter model correlation of Cheng and Yeh (1980):

$$P = \exp(-nS\eta_d) \quad (2)$$

$$\eta_d = 2.7Pe^{-2/3} \quad (3)$$

In Eq. (2) n is the number of grids and S is the screen parameter, which involves all the relevant geometric characteristics of the screen. The thickness of the composite grid has been experimentally measured and therefore the global solid volume fraction was obtained from the packing density values of the individual screens. Yamada *et al.* (2011) pointed out that the single fiber collection efficiencies of nanoparticles through wire screens are in good agreement with those predicted by Kirsch and Fuchs (i.e., Eq. (3)), but the dependence of real filters on Pe is somewhat smaller than $-2/3$ and in agreement with $\eta_d = 0.84Pe^{-0.43}$ (Wang *et al.*, 2007). Guillaume *et al.* (2009) and Podgorski (2009) also found the exponent of smaller

dependence on Pe . Despite the fact that the Cheng and Yeh correlation is strictly valid when $Re_f < 1$ (Scheibel and Porstendörfer 1984; Cheng *et al.* 1990), it has been applied for fiber Reynolds number ranged between 2.3 and 9.1 because, as the experimental results show, no systematic effect of flow rate (i.e. Reynolds number) on penetration has been found.

EXPERIMENTAL METHOD

Fig. 1 shows the experimental setup employed for the measurement of particle penetration. A polydisperse evaporation-condensation NaCl aerosol was charged in a circular tube containing two thin foils of ^{241}Am , each with an activity of 0.9 μCi , and size-classified with a differential mobility analyzer (DMA, TSI short column, length = 11.11 cm; electrodes radii = 0.937 and 1.958 cm). The DMA was operated in open mode, i.e. no sheath recirculation, at aerosol (= sampling) flow rate of 2 L/min, and sheath (= excess) flow rate of 20 L/min. The singly-charged monodisperse particles, with mobility-equivalent diameter selected between 3.3 and 9.1 nm, leaving the DMA were passed through another ^{241}Am neutralizer, with the same characteristics as the former, and an electrostatic precipitator (ESP). The uncharged monodisperse particles were subsequently fed to the filter system. The ESP consisted of a circular grounded tube made of copper, 10 mm ID and 15 cm in length, with a coaxial metal wire to which a DC voltage, high enough to remove all the charged particles, was supplied.

The filter efficiency measuring system consisted of two geometrically identical cylinders made of brass and electrically grounded, one containing a series of wire grids ('test filter' in Fig. 1), the other empty ('reference unit'). Each cylinder, 186 mm long and 8 mm ID, was equipped with a series of rings, 4 mm wide, 14 mm OD and 8 mm ID, placed near the outlet, as sketched in Fig. 2. The grids were held in between consecutive rings, in contact with them. The wire screen exposed to the aerosol flow was thus a circle of 8 mm in diameter. The length of the cylindrical casing assured the attainment of a fully developed parabolic flow velocity profile upstream of the first grid. The test particles were alternately passed through the test filter and the reference unit. Penetration through the grids was determined from comparison of the particle concentrations measured at the outlet of the cylinders. Particle number

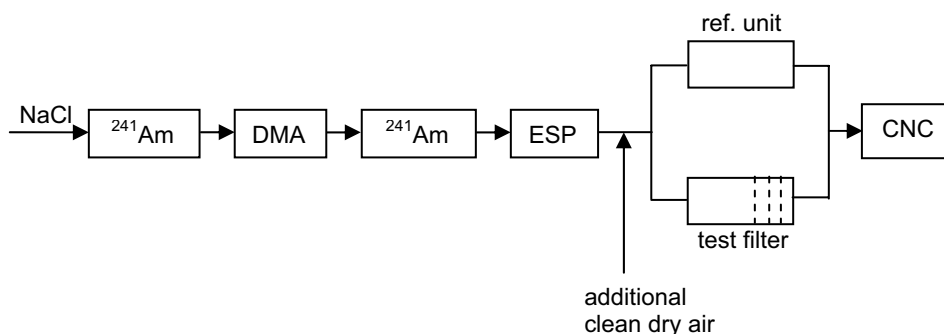


Fig. 1. Experimental setup.

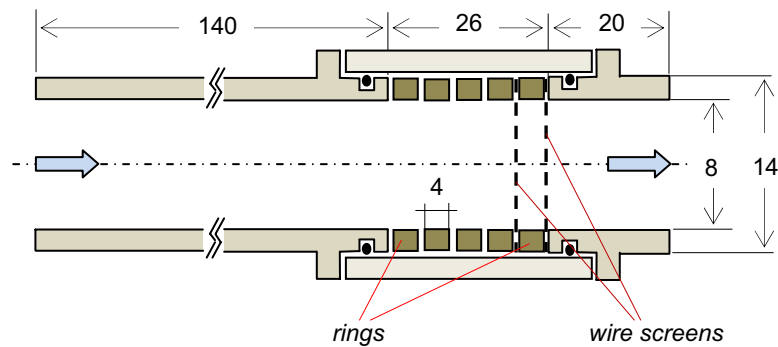


Fig. 2. Sketch of the filtration unit.

concentrations were measured with a condensation particle counter (CNC, TSI model 3025). Shifting between the two routes (filter holder with and without grids) was done by means of a 3-way valve; in order to eliminate the possible effect of any asymmetry between the two exit nozzles of the valve, the connections of the two routes to the valve were interchanged between experiments.

A set of experiments were performed with six Aluminum screens placed in series and separated 4 mm (a ring width) from each other in order to check the accuracy of the experimental setup and the measurement method. This is a ‘conventional’ diffusion battery comprising a series of single, well-characterized wire screens.

The main series of experiments were carried out with two ‘composite grids’, also separated by a 4 mm-width ring. Each composite grid consisted of one gold screen sandwiched between two Aluminum screens, as sketched in Fig. 3; optical photographs of the screens are shown in Fig. 4. This is a ‘non-conventional’ battery in which screens of different geometric characteristics are mixed and, moreover, they are in contact with each other. As far as we know, such a case has not been studied before.

In the case of the Aluminum screens, the value of the fiber diameter used in the calculations was provided by the manufacturer (Goodfellow), the solid volume fraction was determined from the weight of the screen and the known density of the material, assuming a screen thickness equal to twice the fiber diameter (Heim *et al.* 2010). For the ‘composite’ grids, the thickness was measured with a caliper, and the solid volume fraction was calculated from the known solid volume fractions of the separate screens. The fiber diameter of the composite grid is unknown in principle, though it can be expected to lie somehow between the values of the fiber diameters of each of the composing screens. Actually, and this represents the main point of this work, it can be calculated by fitting the experimental penetrations with the Cheng-Yeh correlation.

Measurements of penetration through the composite grids were carried out at aerosol flow rates of 2, 4, 6 and 8 L/min (corresponding mean flow velocities of 66, 132, 198 and 264 cm/s). Each value of penetration reported below is the average of five measurements. For the preliminary series of experiments with single Al screens, additional flow rates well below 2 L/min were also employed so as to examine

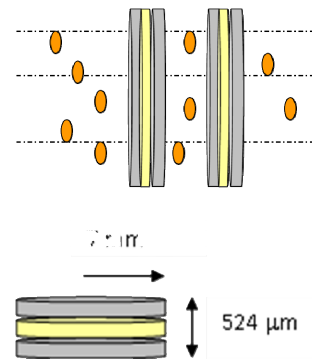


Fig. 3. Sketch of Al-Au-Al composite grid.

the possible influence of the fiber Reynolds number on penetration.

RESULTS AND DISCUSSION

Penetration through the Aluminum Screens

The experimentally measured penetrations through the diffusion battery containing six Aluminum screens and those calculated by the Cheng-Yeh model (Eqs. (2) and (3)) are shown in Fig. 5. As could be seen, the measured values are in agreement with the calculated ones, implying that the experimental setup and the measurement method were both correct. Furthermore, the results plotted in Fig. 5 indicate that there is no systematic dependency of penetration on fiber Reynolds number in the range studied (Re_f between 1.1 and 17.6 in the case of the single Al screens).

Determination of the Equivalent Fiber Diameter for the Composite Grid

The ‘equivalent’ fiber diameter of the composite grid was obtained by fitting the experimental penetration data for uncharged particles to the Cheng-Yeh model. Substituting the expression for the screen parameter

$$S = \frac{4\alpha h}{\pi d_f (1 - \alpha)} \quad (4)$$

into Eq. (2), and taking Eq. (3) and the definition of Peclet number (5) into consideration,

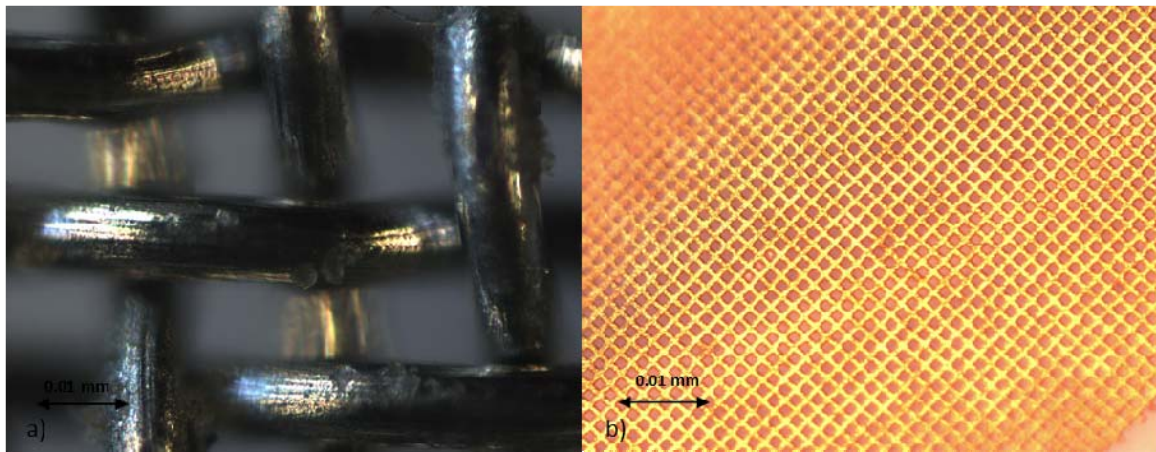


Fig. 4. Optical photographs of a) Aluminum grid and b) Gold grid.

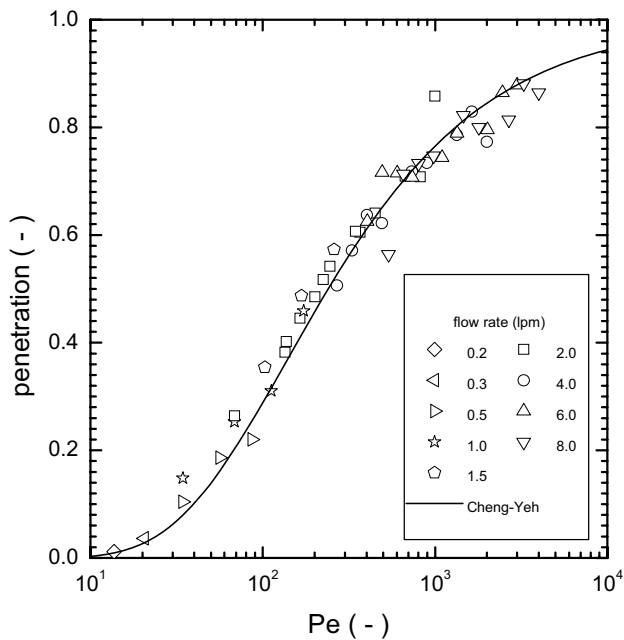


Fig. 5 Comparison between experimental penetration of neutral nanoparticles through a diffusion battery of six Al grids and the Cheng-Yeh correlation.

$$Pe = \frac{ud_f}{D} \tag{5}$$

the diffusional penetration can be expressed as

$$P = \exp\left(-\frac{10.8nh\alpha}{\pi(1-\alpha)}\left(\frac{u}{D}\right)^{\frac{2}{3}}d_f^{-\frac{5}{3}}\right) \tag{6}$$

where α is the solid volume fraction of the screen, h is thickness, n is the number of screens, u is the mean velocity of the flow approaching the screen, and D is the particle diffusion coefficient. The particle diffusion coefficient was determined from the particle electric mobility Z , as measured by the DMA, and the Einstein's relation

$$D = \frac{kTZ}{e} \tag{7}$$

where k is Boltzmann's constant, T is the absolute temperature, and e is the electron charge.

Therefore, a plot of $-\ln P$ against the factor multiplying $d_f^{-5/3}$ in Eq. (6) should yield a straight line passing through the (0, 0) point. An effective or equivalent fiber diameter value of 51.9 μm has been obtained from the slope of the line shown in Fig. 6. This value is within the fiber diameter for each of the composing screens range (100 μm for Al, and 5 μm for Au). Inserting this value into Eq. (4) yields a screen parameter of 6.05, Table 1.

Calculated penetrations with Cheng-Yeh model using composite screen effective fiber diameter were compared with experimentally measured penetrations in Fig. 7.

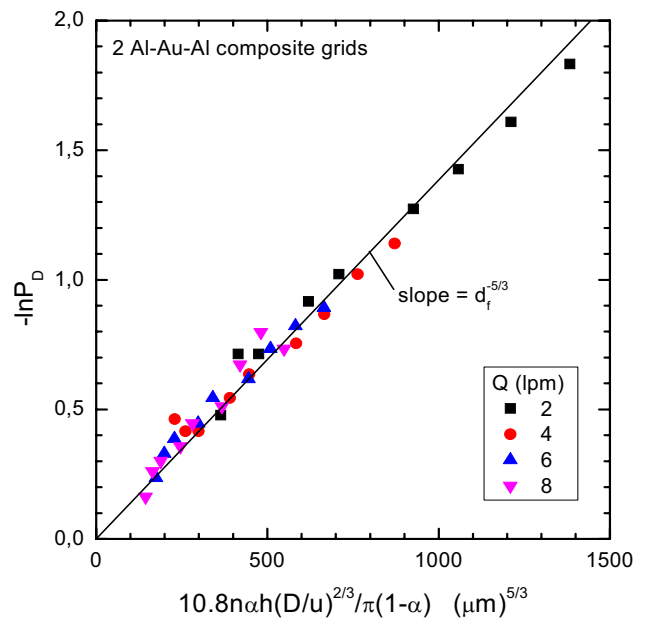


Fig. 6. Determination of the equivalent fiber diameter for the Al-Au-Al composite grid from the experimentally measured penetration for uncharged particles.

Table 1. Characteristics of the grids.

	Aluminum	Al-Au-Al composite grid
Fiber diameter, d_f (μm)	100 ¹	51.9 ²
Thickness, h (μm)	200 ³	524 ⁴
Solid volume fraction, α (-)	0.39	0.32
Screen parameter, S (-)	1.653	6.01

¹Data provided by the manufacturer; ²determined from penetration measurements (see text for explanation); ³taken as $2d_f$; ⁴measured.

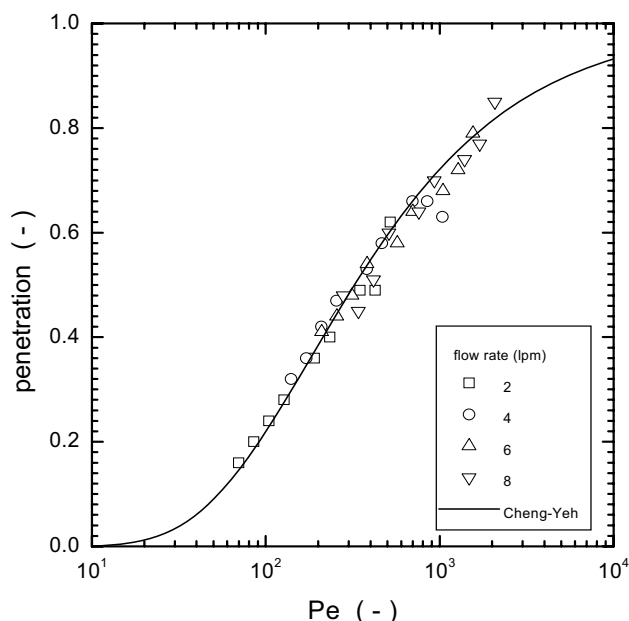


Fig. 7. Comparison between experimental penetration and that calculated with Eqs. (2) and (3) for the Al-Au-Al composite grids.

Experimental data was obtained with different flow rates (fiber Reynolds numbers between 2.3 and 9.1). The results showed that there is no systematic dependence of penetration on the Reynolds number within the range of values tested in agreement with the results shown before for the Aluminium ‘single’ screens.

CONCLUSIONS

It has been shown that it is possible to apply the fan filter model equations of Cheng and Yeh to estimate the diffusional penetration of aerosol nanoparticles through composite grids, i.e., a grid system consisting of wire screens having different geometric characteristics in intimate contact with each other. For this, it is first necessary to determine the equivalent fiber diameter of the composite screen from a fitting of Eq. (6) to the experimental penetration data.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by grants Ministerio de Ciencia e Innovación DPI2008-06199, CSIC 2009TW0017 and

NSC 99-2923-E-264-001-MY2. V.G. acknowledges the FPU scholarship AP2008-02067.

REFERENCES

- Cheng, Y.S. and Yeh, H.C. (1980). Theory of a Screen-type Diffusion Battery. *J. Aerosol Sci.* 11: 313–320.
- Cheng, Y.S., Keating, J.A. and Kanapilly, G.M. (1980). Theory and Calibration of a Screen-type Diffusion Battery. *J. Aerosol Sci.* 11: 549–556.
- Cheng, Y.S., Yamada, Y. and Yeh, H.C. (1990). Diffusion Deposition on Model Fibrous Filters with Intermediate Porosity. *Aerosol Sci. Technol.* 12: 286–299.
- Cheng, Y.S., Chen, T.R., Yeh, H.C., Bigu, J., Holub, R., Tu, K., Knutson, E.O. and Falk, R. (2000). Intercomparison of Activity Size Distribution of Thoron Progeny and a Mixture of Radon and Thoron Progeny. *J. Environ. Radioact.* 51: 59–78.
- Guillaume, M., Dominique, T., Chazelet, S., Appert-Collin, J.C. and Bemer, D. (2009). Penetration of Nanoparticles through Fibrous Filters Perforated with Defined Pinholes. *J. Aerosol Sci.* 40: 762–775.
- Heim, M., Mullins, B.J., Wild, M., Meyer, J. and Kasper, G. (2005). Filtration Efficiency of Aerosol Particles below 20 Nanometers. *Aerosol Sci. Technol.* 39: 782–789.
- Heim, M., Attoui, M. and Kasper, G. (2010). The Efficiency of Diffusional Particle Collection onto Wire Grids in the Mobility Equivalent Size Range of 1.2–8 nm. *J. Aerosol Sci.* 41: 207–222.
- Holub, R.F. and Knutson, E.O. (1987). Measuring Polonium-218 Diffusion-Coefficient Spectra Using Multiple Wire Screens, In *Radon and its Decay Products: Occurrence, Properties, and Health Effects*, Hopke, P.K. (Ed.), American Chemical Society, Washington D.C., USA, p. 341.
- Hopke, P.K., Ramamurthi, M., Knutson, E.O., Tu, K.W., Scofield, P., Holub, R.F., Cheng, Y.S., Su, Y.F., Winklmayr, W., Strong, J.C., Solomon, S. and Reineking, A. (1992). The Measurement of Activity-Weighted Size Distribution of Radon Progeny: Methods and Laboratory Intercomparison Studies. *Health Phys.* 63: 560–570.
- Kim, S.C., Harrington, M.S. and Pui, D.Y.H. (2007). Experimental Study of Nanoparticles Penetration through Commercial Filter Media. *J. Nanopart. Res.* 9: 117–125.
- Kirsch, A.A. and Fuchs, N.A. (1968). Studies on Fibrous Aerosol Filters -III Diffusional Deposition of Aerosol in Fibrous Filter. *Ann. Occup. Hyg.* 11: 299–304.
- Lee, K.W. and Liu, B.Y.H. (1982). Theoretical Study of Aerosol Filtration by Fibrous Filters. *Aerosol Sci. Technol.* 1: 147–161.
- Li, C.S. and Hopke, P.K. (1991). Characterization of Radon Decay Products in a Domestic Environment. *Indoor Air* 1: 539–561.
- Podgorski, A. (2009). Estimation of the Upper Limit of Aerosol Nanoparticles Penetration through Inhomogeneous Fibrous Filters. *J. Nanopart. Res.* 11: 197–207.
- Ramamurthi, M. (1989). Detection and Measurement of the Activity Size Distributions ($dp > 0.5$ nm) Associated with Radon Decay Products in Indoor Air, Ph.D. Thesis,

- University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, USA.
- Ramamurthi, M. and Hopke, P.K. (1989). On Improving the Validity of Wire Screen "Unattached" Fraction Rn Daughter Measurements. *Health Phys.* 56: 189–194.
- Ramamurthi, M., Strydom, R. and Hopke, P.K. (1990). Assessment of Wire and Tube Penetration Theories Using a ²¹⁸PoX Cluster Aerosol. *J. Aerosol Sci.* 21: 203–211.
- Ramamurthi, M. and Hopke, P.K. (1991). An Automated, Semi-Continuous System for Measuring Indoor Radon Progeny Activity-Weighted Size Distributions, dp: 0.5–500 nm. *Aerosol Sci. Technol.* 14: 82–92.
- Scheibel, H.G. and Porstendörfer, J. (1984). Penetration Measurements for Tube and Screen-type Diffusion Batteries in the Ultrafine Particle Size Range. *J. Aerosol Sci.* 15: 673–682.
- Solomon, S.B. and Ren, T. (1992). Counting Efficiencies for Alpha Particles Emitted from Wire Screens. *Aerosol Sci. Technol.* 17: 69–83.
- Strong, J.C. (1988). The Size of Attached and Unattached Radon Daughters in Room Air. *J. Aerosol Sci.* 19: 1327–1330.
- Wang, J., Chen, D.R. and Pui, D.Y.H. (2007). Modeling of Filtration Efficiency of Nanoparticles in Standard Filter Media. *J. Nanopart. Res.* 9: 109–115.
- Winklmayr, W., Ramamurthi, M., Strydom, R. and Hopke, P.K. (1990). Size Distribution Measurements of Ultrafine Aerosols, dp > 1.8 nm, Formed by Radiolysis in a DMA Aerosol Neutralizer. *Aerosol Sci. Technol.* 13: 394–398.
- Yamada, S., Seto, T. and Yoshio, O. (2011). Influence of Filter Inhomogeneity on Air Filtration of Nanoparticles. *Aerosol Air Qual. Res.* 11: 155–160.
- Yeh, H.C., Cheng, Y.S. and Orman, M.M. (1982). Evaluation of Various Types of Wire Screens as Diffusion Battery Cells. *J. Colloid Interface Sci.* 86: 12–16.

Received for review, January 10, 2012

Accepted, March 10, 2012

ARTÍCULO 3

Encapsulation of titanium dioxide nanoparticles in PLA microspheres using supercritical emulsion extraction to produce bactericidal nanocomposites

R. Campardelli · G. Della Porta · V. Gomez ·
S. Irusta · E. Reverchon · J. Santamaria

Received: 10 May 2013 / Accepted: 30 August 2013 / Published online: 15 September 2013
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

Abstract In this work, PLA microparticles containing TiO₂ (anatase) nanoparticles have been produced using the Continuous Supercritical Emulsion Extraction technique (SEE-C). A stabilized anatase colloidal suspension (15 ± 5 nm) in ethanol aqueous solution was obtained by precipitation from solutions of titanium alkoxides and directly used as the water internal phase of a water-in-oil in water double emulsion or suspended as a powder in the organic phase of a solid-in-oil in water emulsion. Micro- (0.9 ± 0.5 μm) and submicro-particles (203 ± 40 nm) have been produced, with TiO₂ nominal loadings of 1.2, 2.4, and 3.6 wt%. High TiO₂ encapsulation efficiencies up to about 90 %

have been obtained. PLA/TiO₂ particles have been characterized by TEM and XPS to investigate the dispersion of the metal oxide in the polymeric matrix. The photo-assisted bactericidal activity of TiO₂-containing microparticles against a biofilm-forming strain of *Staphylococcus aureus* was investigated in specific assays under UV light. Pure TiO₂ nanoparticles and PLA/TiO₂ particles showed the same bactericidal activity.

Keywords Functional composite · Photodynamic therapy · PLA · Nanostructured microparticles

R. Campardelli · G. Della Porta · E. Reverchon (✉)
Department of Industrial Engineering, University of
Salerno, Fisciano, SA, Italy
e-mail: ereverchon@unisa.it

R. Campardelli
e-mail: rcampardelli@unisa.it

G. Della Porta · E. Reverchon
Research Centre for Nanomaterials and NanoTechnology
(NANOMATES), Salerno University, Salerno, Italy

V. Gomez · S. Irusta · J. Santamaria (✉)
Aragon Institute of Nanoscience (INA), University of
Zaragoza, 50018 Zaragoza, Spain
e-mail: jesus.santamaria@unizar.es

S. Irusta · J. Santamaria
CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina
(CIBER-BBN), 50018 Zaragoza, Spain

Introduction

Polymer nanocomposites continue to attract considerable interest due to their exceptional properties and potential technological applications, obtained by combining the characteristics of organic and inorganic constituents at the nanoscale.

Titanium oxide (TiO₂), in form of nanoparticles, is one of the most important pigments and fillers with a variety of fields of application that include paints, coatings, packaging, biological, and medical applications. In terms of photocatalytic applications, anatase phase of titania presents an excellent combination of photoactivity and photostability (Gomez et al. 2012). It is well known that using UV illumination on TiO₂

nanoparticles in aqueous solution, it is possible to generate reactive oxygen species, such as hydroxyl radical and hydrogen peroxide, that allow the decomposition of some organic compounds (Chowdhury et al. 2005). Therefore, nano-TiO₂-based suspensions are highly interesting for biomedical applications (Song et al. 2006), in the so-called photodynamic therapy of cells and bacteria, a promising anticancer therapy (Cai et al. 1992; Szacilowski et al. 2005). The photoactivation property of TiO₂ nanoparticles has been widely used against bacteria (Kim and An 2012) to the point that nano-TiO₂ and silver (Lalueza et al. 2011) are probably the most widely used bactericidal nanomaterials.

Titania nanoparticles can be obtained from titanium-bearing minerals or from solutions of titanium salts or alkoxides (Mahshid et al. 2006). In addition to precipitation, the usual preparation approaches include sol–gel processing (Habibi et al. 2012), and hydrothermal and solvothermal syntheses (Truong et al. 2012), (Cui et al. 2012; Liao et al. 2009). Most of these methods require long synthesis times and/or treatments at high temperature to achieve the desired crystallinity and remove impurities. Microwave (MW) processing attracts considerable interest as a processing method that allows rapid heating to the required temperature, allowing a fast crystallization (Li et al. 2012). Hart et al. (2004) obtained crystalline anatase nanoparticles from titanium isopropoxide using silicon carbide (SiC) as a MW target to provide indirect heating to temperatures as high as 225 °C. Recently, using titanium sulfate as precursor, MW heating at 120 °C for 30 min allowed to obtain 6.2-nm anatase crystals (Cui et al. 2012). However, the high density and surface properties of TiO₂ nanoparticles present significant problems regarding their colloidal stability and often lead to agglomeration and sedimentation (Bourgeat-Lami 2004; Sarkar et al. 2012).

As a possible solution to enhance the dispersion stability of TiO₂ nanoparticles and also to facilitate handling in different applications, polymer encapsulation has been proposed. However, encapsulation should maintain the photoactivity of the produced microspheres; therefore, the selection of the preparation process and polymer is relevant for a successful application. Dispersion polymerization (Kim et al. 2004) or emulsion polymerization (Yu et al. 2004) and suspension polymerization (Park et al. 2006) are the most common encapsulation techniques for TiO₂.

Encapsulation efficiencies obtained using these techniques range around 60–80 % (Al-Ghamdi et al. 2006; Yu et al. 2004). The main disadvantage of polymerization-based methods consists in the requirement of sophisticated formulations, including an initiator, monomer, and also the use of additional polymers to get the required interactions to obtain stable dispersion of nano-TiO₂ powders. It must also be considered that the polymer matrices commonly used, such as poly(methyl methacrylate) (Park et al. 2007; de Oliveira et al. 2005) and polystyrene (Rong et al. 2005a, b), are not biodegradable or biocompatible, limiting their potential use in biomedical applications.

As an alternative, solvent evaporation of emulsions can be employed for the encapsulation of nano-TiO₂ in polymer matrices (Supsakulchai et al. 2002, 2003). However, while this method is capable of achieving stability of TiO₂ nanopowders, the slow solvent removal that characterizes this technique often leads to low encapsulation efficiencies (Truong et al. 2012). The above-discussed conventional technologies also show the main disadvantage often associated to batch processing, i.e., the difficulty to scaleup the production in a robust and reproducible manner (Al-Ghamdi et al. 2006; de Oliveira et al. 2005; Rong et al. 2005a; Yu et al. 2004).

Supercritical fluids (SCFs) have been proposed to overcome the problems of conventional encapsulation processes (Reverchon and Adami 2006; Reverchon et al. 2009; Reverchon and De Marco 2011; Adami and Reverchon 2012). Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS) has been used to encapsulate titania and silica nanoparticles in biodegradable PLGA but aggregated, non-spherical microparticles with a non-homogeneous loading of the inorganic particles were obtained (Kongsombut et al. 2009; Matsuyama et al. 2003). Supercritical Emulsion Extraction (SEE) has been used for the production of PLGA particles encapsulating magnetite (Furlan et al. 2010). Using this technique, unlike in conventional emulsion solvent evaporation, particles are obtained extracting the organic solvent of the oil phase in a very fast manner using supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) (Chattopadhyay et al. 2006; Della Porta and Reverchon 2008). In this way, particle aggregation problems can be avoided and a better encapsulation efficiency can be obtained (Della Porta et al. 2011b). The continuous SEE (SEE-C) can be implemented using a high-pressure packed tower for the emulsion/

SC-CO₂ contact in counter-current mode. This process has been applied for robust and reproducible production of polymeric micro- and nano-particles (Della Porta et al. 2011a).

In conclusion, obtaining TiO₂-loaded biodegradable polymeric microspheres still remains challenging. While traditional techniques have not been particularly successful, SCFs-based processes (RESS) have not given satisfactory results; whereas, SEE has never been applied to TiO₂ encapsulation.

This work aims to produce photoactivable and biodegradable PLA sub-micron particles containing TiO₂ nanoparticles using SEE-C process; to this end, anatase TiO₂ nanoparticles were first synthesized by the sol-gel method from solutions of titanium alkoxides and microwave heating. Two different kinds of emulsions were tested with the SEE process: water-in-oil in water emulsion (W/O/W) and solid-in-oil in water emulsion (S/O/W). In the first case, a nano-TiO₂ ethanolic stable suspension was used as the water internal phase of the emulsion; whereas, in the second case TiO₂ fine powder was directly dispersed in the oil phase. Particles produced were characterized in terms of morphologies, TiO₂ loading and dispersion in polymer matrix. Furthermore, the photocatalytic activity of pure TiO₂ and nanostructured PLA/TiO₂ particles were tested using bacterial killing assay under UV irradiation.

Materials, apparatus, and methods

Materials

CO₂ (99.9 %, SON, Naples, Italy), polysorbate (Tween 80, Aldrich Chemical Co.), ethyl acetate (EA, purity 99.9 %, Aldrich Chemical Co.), poly(lactic) acid (PLA, MW: 28.000, Resomer R 203H), titanium (IV) propoxide (purity 97 %, Aldrich Chemical Co), ethanol (analytical grade, Panreac), and acetic acid (analytical grade, Panreac) were used as received.

Production and characterization of TiO₂ nanoparticles

Titanium oxide nanoparticles were prepared using a microwave-assisted process (Gomez et al. 2012). Briefly, 2 mL of titanium (IV) propoxide and 30 mL

of absolute ethanol were mixed under magnetic stirring; then, 3 mL of acetic acid was added. After 5 min under magnetic stirring, 5 mL of deionized water was added and then the mixture was poured into a Teflon-lined autoclave that was sealed and heated up in a microwave oven (Ethos Plus) to 120 °C and kept at this temperature for 15 min. The final solid was separated by centrifugation and thoroughly washed with ethanol several times. The washed particles were resuspended in ethanol to a final concentration of 12 mg/mL, to be used as a suspension; for use as a dry powder, the washed particles were dried at 80 °C. The synthesized nanoparticles were characterized by XRD (X-ray diffractometer model D8 Discover; Bruker AXS) and TEM (microscope Tecnai T20). The particle and aggregate sizes in suspensions were determined by dynamic laser scattering (DLS) (NanoZS Malvern Instrument).

Emulsion preparation

Two different kinds of emulsions were prepared: double emulsion W/O/W and S/O/W. An ethanolic stabilized suspension of TiO₂ nanoparticles (12 mg/mL) was used as the water internal phase W₁, for the preparation of the double emulsion. The suspension was sonicated at 40 % of the nominal power of a 400-W sonifier (Digital Sonifier Branson mod. 450, 1/2" diameter micro-tip, 20 kHz, nominal power) for 1 min, immediately before its utilization, to achieve complete dispersion of TiO₂. The oil phase was prepared by dissolving 1 g of PLA in 20 g of ethyl acetate. The primary emulsion W₁/O was obtained adding a known volume of W₁ in the oil phase and sonicating at 40 % of the sonifier power for 30 s. The sonication was repeated twice. Then the primary emulsion was added to 80 g of the water external phase W₂ (1 % Tween 80 solution in water saturated with ethyl acetate). The secondary emulsion was obtained by high speed stirring at 7,000 rpm for 6 min (mod. L4RT, Silverson Machines Ltd., shear profile range from 2 to 450 s⁻¹). The W₁/O/W₂ emulsion obtained was further sonicated to reduce the droplet mean size (60 for 30 s, repeated twice). When the S/O/W emulsion was prepared a known amount of TiO₂ powder was directly dispersed into the oil phase, prepared as previously described. The dispersion (S/O) of the powder in the oil phase was obtained with sonication at 60 % for 60 s. The S/O/W emulsion was

prepared adding the S/O suspension into 80 g of water external phase, prepared as previously described and emulsified at the same condition described above.

SEE-C process

The emulsions prepared were processed using the SEE-C process. The detailed description of the experimental apparatus is reported elsewhere (Della Porta et al. 2013). Briefly, in the SEE-C process particles are obtained starting from droplets of the emulsion by extracting the solvent of the oil phase using supercritical carbon dioxide SC-CO₂. The apparatus used for the extraction is a 1.2-m-tall packed tower with continuous contact between the emulsion and the SC-CO₂ in counter-current mode. The tower is packed with stainless steel packing (1,889 m⁻¹ specific surface; 0.94 of voidage; ProPak, Scientific Development Company) to improve the contact and increase the extraction efficiency. The emulsion is fed at the top of the tower using a high-pressure pump (model 305; Gilson), while the SC-CO₂ is taken from a reservoir in the liquid state, cooled, pumped using a diaphragm pump (model Milroyal B; Milton Roy), and pre-heated before entering the tower at the bottom inlet. Thanks to the difference in density between the emulsion and the supercritical fluid, the counter-current mode is ensured and the suspension is recovered at the bottom of the tower, while the extracted solvent plus the SC-CO₂ are recovered at the top in a separator. The operative conditions in terms of pressure and temperature are selected considering the vapor–liquid equilibrium diagram of the solvent–CO₂ system. In the case of ethyl acetate–CO₂ the condition was fixed at 80 bar 38 °C to operate above the mixture critical point (MCP). Another operative condition is the ratio between the liquid and the gas (L/G ratio). This value is generally selected taking into consideration the flooding phenomena. In this work the L/G ratio was fixed at 0.1, as optimized in previous works (Della Porta et al. 2011b).

Particle characterizations

The particle size distribution (PSD) of the different suspensions obtained by the SEE-C process was obtained by dynamic laser scattering (DLS) using a Nanosizer (NanoZS Malvern Instrument) equipped with a He–Ne laser operating at 4.0 mW and 633 nm.

For characterization measurements the particles were recovered from suspensions by membrane filtration (membrane pore size 0.1 μm) and dried at air. Particle morphology and approximate composition were observed using field emission-scanning electron microscope (FESEM, mod. LEO 1525), coupled with energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX, INCA Energy 350). Transmission electron microscopy (Tecnai T20 microscope) was also used to characterize PLA/TiO₂ nanoparticle composites. To minimize destruction of the polymer under electron beam irradiation, a Gatan cryoholder working at 100 K was also used for coated nanoparticles. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS Axis Ultra DLD, Kratos Tech.) was used to obtain a surface chemical analysis of the synthesized particles. The encapsulation efficiency was obtained by thermogravimetric analysis (TGA), as the residue remaining after total combustion of the polymeric component of the particles. The sample was placed in alumina crucibles and heated up to 600 °C at a rate of 10 °C/min, under a constant air flow of 50 N cm³/min.

Photoactivity and bacterial viability assay

A colony of *Staphylococcus aureus* was suspended in 50 mL of tris-buffered saline (TBS) solution and incubated for 24 h at 37 °C. A 10⁹ CFU/mL bacterial suspension was obtained and further diluted to obtain a 10⁷ CFU/mL bacterial concentration.

In the photocatalytic experiments, the protocol reported by Tsuang et al. (2008) was used. Briefly, stock aqueous particles suspensions (10 mg/mL, both for pure TiO₂ and composite particles) in deionized water were prepared immediately before the photocatalytic process and kept in the dark. In order to eliminate the nutrients the bacterial culture (approximately 10⁷ CFU/mL) was washed and then resuspended in deionized water. Aliquots of 1 mL stock aqueous PLA/TiO₂ suspension were added to a 50-mL glass beaker containing 8 mL of sterilized deionized water and 1 mL of bacteria suspension. The PLA/TiO₂ slurry was placed on a magnetic stir plate with continuous stirring and was illuminated with a 40-W lamp with emission at 365 nm. Samples were exposed to UV radiation for 5 h.

Loss of viability was determined by counting the number of viable bacteria after exposing the PLA/TiO₂ bacterial slurry to UV light with continuous

stirring. A *S. aureus* suspension without TiO₂/PLA particles was illuminated as a control, and the contact between the PLA/TiO₂ slurry and the bacteria was also carried out. Samples were taken and the viable count was performed on agar plates after serial dilutions of the samples in sterilized PBS. All plates were incubated at 37 °C for 24 h.

Results and discussion

TiO₂ nanoparticles production

The XRD spectrum of the synthesized nanoparticles (Fig. 1) shows that microwave synthesis yields a solid with reasonable crystallinity and all the characteristic lines attributed to the anatase phase (JCPDS B° 2000) even at 110 °C. The strongest peak was observed for the (1 0 1) reflection at 25.2°. Prominent peaks were also observed for (0 0 4), (2 0 0), and (2 1 1) reflections. No extra peaks were detected, indicating the absence of rutile or brookite phases. The crystallite size of the obtained material calculated by Scherrer equation was estimated to be 7 nm. It is interesting to note that anatase nanoparticles were obtained under mild conditions at short synthesis times (15 min, 120 °C) and without the assistance of any microwave absorbent material.

The morphology and particle size distribution of the synthesized nanoparticles were studied by electronic microscopy. TEM images (Fig. 2) revealed the formation of prismatic particles with mean size of 15 ± 5 nm and controlled particle size distribution

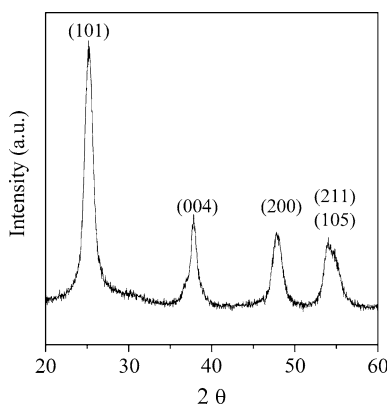


Fig. 1 XRD diffraction patterns of the TiO₂ nanoparticles obtained by microwave synthesis

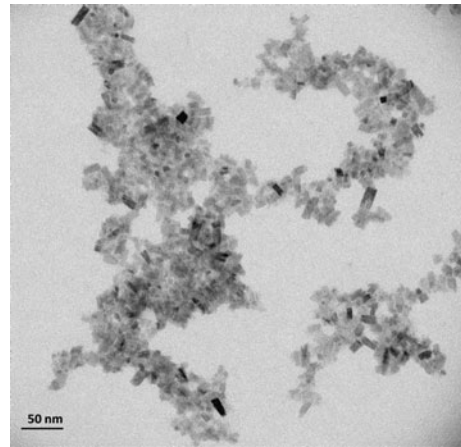


Fig. 2 Transmission electron micrographs of TiO₂ particles

(more than 100 particles measured). The hydrodynamic ratio of the TiO₂ particles after being suspended in water was 202 nm indicating the formation of aggregates.

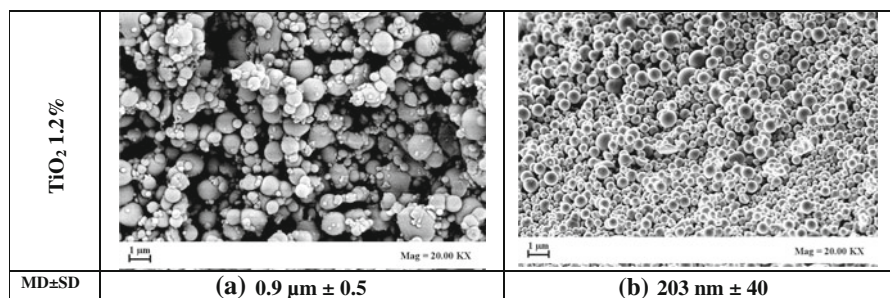
Effect of emulsion formulation and titanium loading

Composites nanoparticles PLA/TiO₂ were prepared using the SEE-C technique. W₁/O/W₂ and S/O/W emulsions were used for the preparation of biodegradable sub-micron particles encapsulating TiO₂, as described in the previous section.

In SEE-C processing the particle dimensions are directly connected with the dimensions of the droplets in the emulsion. For this reason a very good control over droplet size distribution (DSD) in the emulsion is a prerequisite. In the case of the double emulsions, emulsification parameters were changed to find the best condition for the production of droplets, and consequently of particles, in the range 100–300 nm. The emulsions were prepared as described in the Materials, apparatus, and methods section. In the case of W₁/O/W₂ emulsion the primary emulsion was obtained by ultrasound-assisted dispersion; whereas, the secondary emulsion was obtained via high-speed emulsification. In the attempt to produce smaller particles, the W₁/O/W₂ emulsion was further sonicated to reduce droplets mean size (60 % power for 30 s, repeated twice). After SEE-C processing solid microparticles were collected; see for example in Fig. 3. SEM images of particles produced with and without the final sonication step. It is possible to

Fig. 3 Microparticles of PLA/TiO₂ produced under different emulsion preparation conditions.

a W₁/O sonication 40 % 30 s; W₁/O/W₂ 7,000 rpm for 6 min. **b** W₁/O sonication 40 % 30 s; W₁/O/W₂ 7,000 rpm for 6 min plus sonication at 60 % for 30 s, twice



observe that particles are spherical and non-aggregated in both cases; this result can be attributed to the fast and efficient extraction obtained in the continuous counter-current high-pressure column. Microparticles with a mean diameter (MD) of $0.9 \pm 0.5 \mu\text{m}$ (Fig. 3a) were obtained under milder emulsification conditions, i.e., when the final sonication step was not applied. However, in this case, a wide particle size distribution can also be observed. In contrast, a strong reduction of particle size together with a good homogeneity can be obtained under application of ultrasound: sub-micron particles with MD of $203 \pm 40 \text{ nm}$ (Fig. 3b) were produced when the final emulsification was improved using the sonication probe. For this reason the final sonication was always applied for the remaining experiments reported in this work.

Once the emulsification conditions had been fixed, the W₁ volume was changed (1, 2, and 3 mL) to produce different TiO₂ theoretical loadings—1.2, 2.4, and 3.6 % w/w of TiO₂ with respect to the polymer

content, respectively. Table 1 reports all the particle size data of emulsions and particles discussed in the following.

Increasing the volume of the W₁ phase and, consequently, the TiO₂ loading led to a significant enlargement of mean diameters both in the emulsion and in the final PSD, as shown in Table 1 where PSDs expressed in terms of volume % are reported. In Fig. 4, where the size distribution of the particles in suspension for different TiO₂ contents (different values of W₁) is presented, it can be observed that there is not only an increase of the average particle size (MD), but also a widening of the particle size distribution. In conclusion, by increasing the volume of the water internal phase larger water droplets are produced in the primary W₁/O emulsion, resulting in the production of larger particles, with a wider PSD. The smallest particles were obtained for a 1.2 % TiO₂ theoretical loading, where nanoparticles with a MD of $203 \pm 40 \text{ nm}$ were obtained.

Table 1 Mean diameter (MD) and standard deviation (SD) of droplets in emulsions obtained by DLS and of composite particles produced after SEE processing, shrinkage factor (%)

	Theoretical TiO ₂ loading (wt%)	Effective TiO ₂ loading (wt%)	Encapsulation efficiency (%)	Emulsion MD ± SD (nm)	Particles MD ± SD (nm)	Shrinkage Factor (%)	Ti/C Atomic ratio (XPS)
W ₁ /O/W ₂							
T1*	1.2	1.02	85.42	1241 ± 558	909 ± 499	26	0.0040
T2	1.2	1.02	85.00	450 ± 139	203 ± 40	55	0.0045
T3	2.4	2.17	90.42	498 ± 129	265 ± 69	47	0.0068
T4	3.6	3.51	97.22	1214 ± 582	559 ± 263	54	0.0106
S/O/W							
T5	1.2	1.1	91.67	320 ± 58	205 ± 33	36	0.0026
T6	2.4	2.16	90.21	315 ± 108	179 ± 34	43	0.0029
T7	3.6	3.12	86.67	296 ± 100	193 ± 60	35	0.0025

The ratio Ti/C obtained from XPS analysis is also reported. SEE-C operative conditions were: 80 bar, 38 °C, L/G 0.1

* Produced without final sonication step

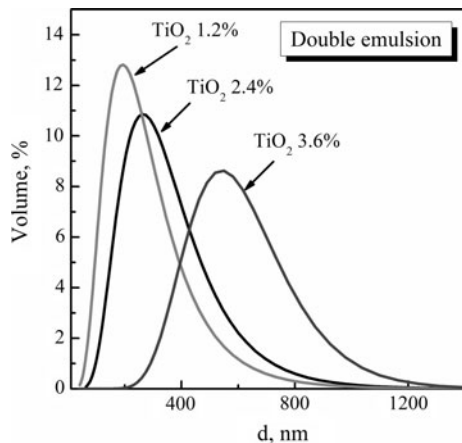


Fig. 4 PSD measured by DLS of PLA/TiO₂ particles obtained starting from W₁/O/W₂ emulsion with different W₁ volume phases

The same TiO₂ theoretical loading with respect to the polymer (1.2, 2.4, and 3.6 % w/w) was obtained by directly suspending titanium powder in the oil phase. Results are shown in Table 1 (lower part) and in Fig. 5 where SEM images of 1.2 % w/w of TiO₂ particles produced with the S/O/W and with the W₁/O/W₂ emulsions are compared. The comparison indicates that both emulsion processes led to spherical non-aggregated particles with similar morphology. Furthermore, very small particles were obtained in both cases, with MD around 200 nm, as reported in Table 1.

Figure 6 reports the PSDs of nanoparticles obtained starting from S/O/W emulsions, with different TiO₂ theoretical loadings; quantitative data are also reported in Table 1. Unlike the results presented in Fig. 4 for W/O/W emulsions, data in Fig. 6 suggest a negligible effect of TiO₂ loading on the mean diameter of the particles obtained, which is always around 200 nm. However, also in this case the increase of

TiO₂ loading leads to a wider PSD, that tails off toward larger particle sizes. The comparison of the data in Figs. 4 and 6 show that S/O/W emulsions produce particles with smaller diameters and in general also a narrower PSD. In the case of W₁/O/W₂ emulsion an increase of the nano-TiO₂ loading implies the corresponding increase of the water volume that forms the internal phase of the droplet. This has a larger effect on MD than the increase of powder content used in the S/O/W to increase the nano-TiO₂ loading.

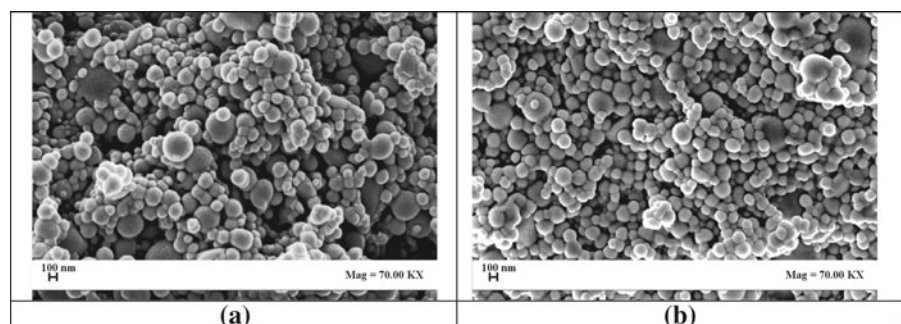
Table 1 also reports the shrinkage factor (SF), defined as the difference between the droplet and particle MDs. In the case of W₁/O/W₂ emulsions higher SF have been obtained, as could be expected: shrinkage is due to the extraction of the solvent, and in the case of W₁/O/W₂ emulsions also the solvent of the W₁ phase is extracted at the process conditions used in this work, leading to a larger shrinkage effect.

Nanocomposite characterization

Poly(lactic) acid particles were further characterized by CrioTEM and EDX to check the presence of TiO₂ in the final product. Results are reported for the samples with 3.6 wt% theoretical TiO₂ loading obtained from a W₁/O/W₂ emulsion (Fig. 7a) and from a S/O/W emulsion (Fig. 7c). CrioTEM images of the related samples are also reported. Looking at CrioTEM images (Figs. 7b–d) it is possible to see that an important part of the inorganic materials seems to be included in the polymer matrix (black arrows indicate nano-TiO₂ particles).

Furthermore, TEM images show another important result: in the case of particles produced starting from the double emulsion, most of the TiO₂ nanoparticles are encapsulated in the polymeric matrix; in contrast, in particles obtained starting from the S/O/W emulsion

Fig. 5 SEM images of particles produced starting from W₁/O/W₂ (a) and S/O/W (b) emulsion with 1.2 % titanium theoretical loading



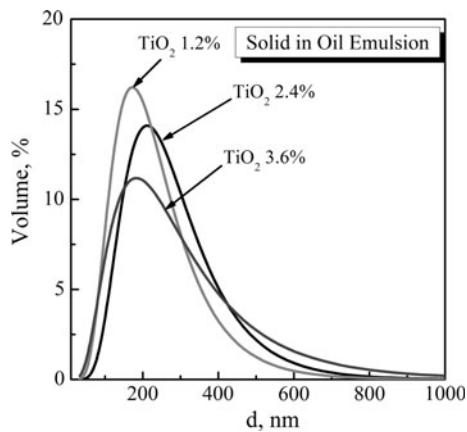


Fig. 6 PSD of PLA/TiO₂ particles obtained starting from S/O/W emulsion with different S loadings

most of the TiO₂ material is agglomerated on the surface of the polymer particles and also particles formed only by the polymer without any apparent encapsulation of TiO₂ can be observed. Therefore, the W₁/O/W₂ emulsion (with nano-TiO₂ present in an ethanol-stabilized suspension as the aqueous internal phase) gives the best results in terms of distribution of metal oxide nanoparticles in the polymeric nanospheres. Moreover, in the S/O/W emulsion TiO₂ nanoparticles tend to aggregate in the organic phase,

which may be facilitated by the hydrophilic nature of TiO₂ (Erdem et al. 2000).

The actual loading was also calculated for all the samples by TGA. Figure 8 reports the corresponding thermogravimetric curves and the effective loading, which is indicated next to each curves. The corresponding encapsulation efficiencies and effective loadings are reported in Table 1. Looking at the results reported in Fig. 8 it is possible to conclude that the encapsulation efficiency (defined as effective loading/theoretical loading ratio) is always high $\approx 90\%$; even better results were obtained using the double emulsion. This is consistent with TEM observations showing that in some cases the PLA nanoparticles contained no TiO₂ in the case of S/O/W emulsions. The explanation may again be related to the observed aggregation of TiO₂ nanoparticles: when dispersed in the oil phase hydrophilic TiO₂ nanoparticles undergo settling and aggregation. For this reason S/O/W emulsions give particles with lower encapsulation efficiency and less homogeneous TiO₂ distributions.

The increase of the TiO₂ loading improves the encapsulation efficiency for the double emulsion process; but, the effect is not so important for the S/O/W emulsion (Table 1 and Fig. 8) probably

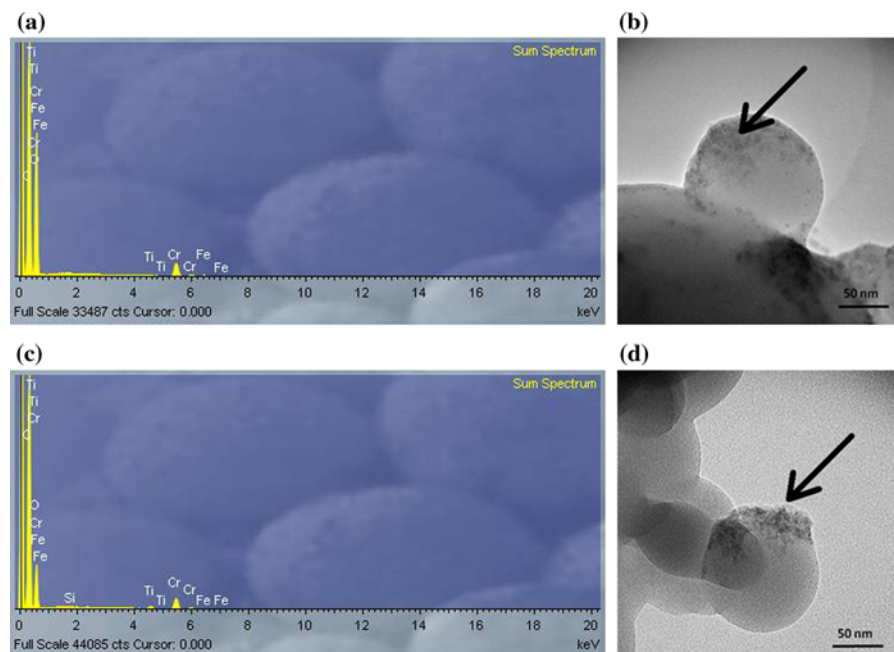
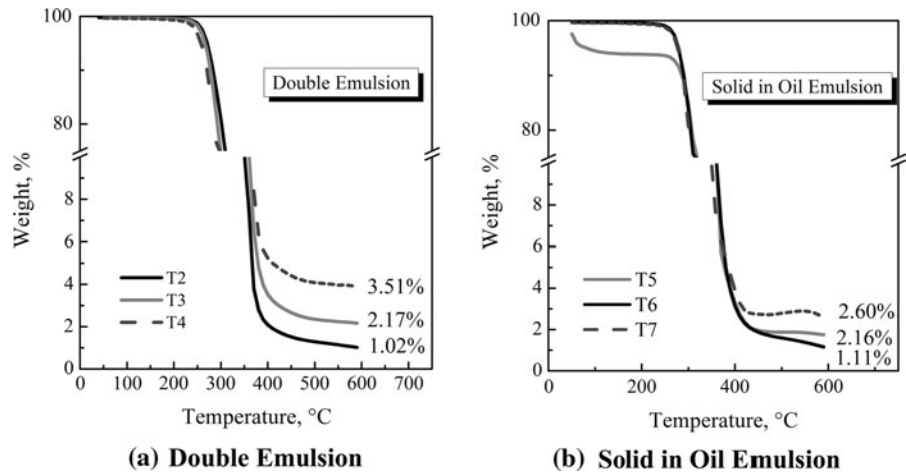


Fig. 7 EDX spectra of T4 sample (a) and T7 sample (b), and CrioTEM images of PLA/TiO₂ of T4 (c) and T7 (d) (black arrows indicate nano-TiO₂ particles)

Fig. 8 Thermogravimetric analysis (TGA) results for nanoparticles produced starting from double emulsion (a) and solid in oil emulsion (b). The effective loading is also reported



because of the just discussed suspension instability in the oil phase.

The chemical composition of the sample surfaces was analyzed by XPS (Table 1). The surface titanium concentration in particles produced starting from $W_1/O/W_2$ emulsions increases with the theoretical TiO_2 loading as can be seen from the increasing Ti/C atomic ratio (results in Table 1). On the other hand, this concentration in particles obtained by $S/O/W$ emulsions remains almost constant even when the titania loading increases from 1.1 wt% to 2.6 wt% (TGA results), which again is consistent with a high degree of aggregation due to the increased TiO_2 loading. Comparison of samples produced by different methods, but with similar TiO_2 loading (T_2 and T_5) clearly show that the surface concentration of titanium is lower in the particles obtained starting from $S/O/W$ emulsion.

Loss of viability of *Staphylococcus aureus* under TiO_2 photocatalytic reaction

Finally, the bactericidal activity of the PLA/ TiO_2 composites was tested in the presence and absence of UV light. Photoactivation of PLA/ TiO_2 particles was tested under UV light and quantified with the determination of their bactericidal power against *S. aureus*. To this end, a particularly resistant, biofilm-forming strain of *S. aureus* was used (Lalueza et al. 2011). First, TiO_2 nanoparticles alone were tested following the protocol previously described in Materials, apparatus, and methods section. When *S. aureus* was treated with TiO_2 powder under UV light, a strong loss of viability was observed, as reported in Fig. 9, where

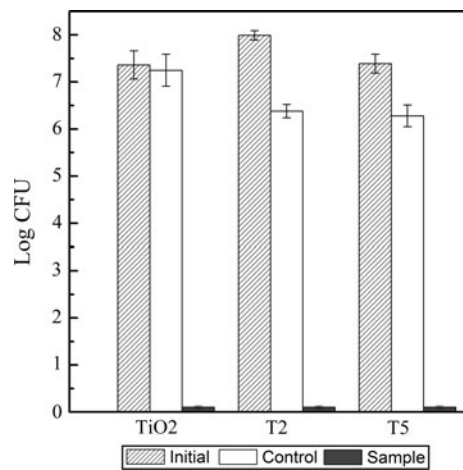


Fig. 9 The viability of bacteria under various TiO_2 photocatalytic reaction

a 7-log bacterial reduction can be observed; about 99.99 % of the cells were killed, with respect to the initial concentration, after 5 h of UV irradiation. A control was always performed (the sample without TiO_2 particles was exposed to the same UV irradiation) and no relevant change in survivor cell number was observed, with only a small reduction (ca. 1 log) in viability. Another control test was carried out in PLA microparticles without titanium dioxide, and they did not show any toxicity effect on bacteria.

When PLA/ TiO_2 particles were tested (results for sample T_2 and T_5 are reported in the same Figure), the same loss of viability was observed as in the case of pure TiO_2 , indicating that the encapsulation of the metal oxide nanoparticles in the biopolymeric matrix does not affect the photo-induced bactericidal activity

of TiO₂. At the concentration of the powder tested, no relevant differences in results were noted in the case of particles produced starting from W₁/O/W₂ or S/O/W. The same experiments were performed in the dark (without UV irradiation). In all the cases no loss of viability of bacteria was observed indicating that there is no possible effect of toxicity. In conclusion, these tests demonstrated that the bactericidal effect is due to the photoactivation of nanocomposites.

Conclusions

In this work it has been demonstrated that SEE-C can be successfully used to produce PLA/TiO₂ nanostructured particles. Higher encapsulation efficiencies were obtained with respect to the related literature, thanks to the fast and efficient extraction of the oily phase of the emulsions. The double emulsion W/O/W gave the most promising results, allowing the production of PLA particles with a more homogeneous TiO₂ dispersion in the polymeric matrix than the S/O/W emulsions. The photocatalytic activity of the nanostructured carriers was not reduced by the polymeric shell, allowing the production of in situ activable and biocompatible devices.

References

- Adami R, Reverchon E (2012) Composite polymer-Fe₃O₄ microparticles for biomedical applications, produced by supercritical assisted atomization. *Powder Technol* 218:102–108. doi:10.1016/j.powtec.2011.11.048
- Al-Ghamdi GH, Sudol ED, Dimonie VL, El-Aasser MS (2006) Encapsulation of titanium dioxide in styrene/n-butyl acrylate copolymer by miniemulsion polymerization. *J Appl Polym Sci* 101(5):3479–3486. doi:10.1002/App24478
- Bourgeat-Lami E (2004) Organic/inorganic nanocomposite colloids. *Encycl Nanosci Nanotechnol* 8(1):305–332
- Cai RX, Kubota Y, Shuin T, Sakai H, Hashimoto K, Fujishima A (1992) Induction of cytotoxicity by photoexcited TiO₂ particles. *Cancer Res* 52(8):2346–2348
- Chattopadhyay P, Huff R, Shekunov BY (2006) Drug encapsulation using supercritical fluid extraction of emulsions. *J Pharm Sci-Us* 95(3):667–679. doi:10.1002/Jps20555
- Chowdhury D, Paul A, Chattopadhyay A (2005) Photocatalytic polypyrrole-TiO₂-nanoparticles composite thin film generated at the air-water interface. *Langmuir* 21(9):4123–4128. doi:10.1021/la0475425
- Cui M, Tian S, Zhao H, Jin R, Chen Y, Liu B, Yang H (2012) Solvothermal synthesis and enhanced photocatalytic activity of flowerlike nanoarchitectures assembled from anatase TiO₂ nanoflakes. *Physica E* 44(10):2110–2117. doi:10.1016/j.physe.2012.06.025
- de Oliveira AM, da Silva MLCP, Alves GM, de Oliveira PC, dos Santos AM (2005) Encapsulation of TiO₂ by emulsion polymerization with methyl methacrylate (MMA). *Polym Bull* 55(6):477–484. doi:10.1007/s00289-005-0457-3
- Della Porta G, Reverchon E (2008) Nanostructured microspheres produced by supercritical fluid extraction of emulsions. *Biotechnol Bioeng* 100(5):1020–1033. doi:10.1002/bit.21845
- Della Porta G, Campardelli R, Falco N, Reverchon E (2011a) PLGA microdevices for retinoids sustained release produced by supercritical emulsion extraction: continuous versus batch operation layouts. *J Pharm Sci-Us* 100(10):4357–4367. doi:10.1002/Jps.22647
- Della Porta G, Falco N, Reverchon E (2011b) Continuous supercritical emulsions extraction: a new technology for biopolymer microparticles production. *Biotechnol Bioeng* 108(3):676–686. doi:10.1002/Bit.22972
- Della Porta G, Campardelli R, Reverchon E (2013) Monodisperse biopolymer nanoparticles by continuous supercritical emulsion extraction. *J Supercrit Fluids* 76:67–73. doi:10.1016/j.supflu.2013.01.009
- Erdem B, Sudol ED, Dimonie VL, El-Aasser MS (2000) Encapsulation of inorganic particles via miniemulsion polymerization. I. Dispersion of titanium dioxide particles in organic media using OLOA 370 as stabilizer. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 38 (24):4419–4430. doi:10.1002/1099-0518(20001215)38:24<4419::AID-POLA110>3.0.CO;2-X
- Furlan M, Kluge J, Mazzotti M, Lattuada M (2010) Preparation of biocompatible magnetite-PLGA composite nanoparticles using supercritical fluid extraction of emulsions. *J Supercrit Fluids* 54(3):348–356. doi:10.1016/j.supflu.2010.05.010
- Gomez V, Balu AM, Serrano-Ruiz JC, Irusta S, Dionysiou DD, Luque R, Santamaría J (2012) Microwave-assisted mild-temperature preparation of neodymium-doped titania for the improved photodegradation of water contaminants. *Appl Catal A* 441–442:47–53. doi:10.1016/j.apcata.2012.07.003
- Habibi S, Fatemi S, Izadyar S, Mousavand T (2012) TiO₂ nanoparticle layer formation on ceramic support, a statistical approach to control influential synthesis parameters. *Powder Technol* 229:51–60. doi:10.1016/j.powtec.2012.06.004
- Hart JN, Cervini R, Cheng YB, Simon GP, Spiccia L (2004) Formation of anatase TiO₂ by microwave processing. *Sol Energy Mater Sol Cells* 84(1–4):135–143. doi:10.1016/j.solmat.2004.02.041
- Kim S, An Y-J (2012) Effect of ZnO and TiO₂ nanoparticles preilluminated with UVA and UVB light on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Appl Microbiol Biotechnol* 95(1):243–253. doi:10.1007/s00253-012-4153-6
- Kim MK, Kim CA, Ahn SD, Kang S-R, Suh KS (2004) Density compatibility of encapsulation of white inorganic TiO₂ particles using dispersion polymerization technique for electrophoretic display. *Synth Met* 146(2):197–199. doi:10.1016/j.synthmet.2004.07.002

- Kongsombut B, Tsutsumi A, Suankaew N, Charinpanitkul T (2009) Encapsulation of SiO₂ and TiO₂ fine powders with poly(DL-lactic-co-glycolic acid) by rapid expansion of supercritical CO₂ incorporated with ethanol cosolvent. *Ind Eng Chem Res* 48(24):11230–11235. doi:[10.1021/ie900690v](https://doi.org/10.1021/ie900690v)
- Lalueza P, Monzon M, Arruebo M, Santamaria J (2011) Bactericidal effects of different silver-containing materials. *Mater Res Bull* 46(11):2070–2076. doi:[10.1016/j.materresbull.2011.06.041](https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2011.06.041)
- Li W, Zhao Y, Yuan S, Shi L, Wang Z, Fang J, Zhang M (2012) Synthesis and characterization of highly dispersed TiO₂ nanocrystal colloids by microwave-assisted hydrothermal method. *J Mater Sci* 47(23):7999–8006. doi:[10.1007/s10853-012-6689-3](https://doi.org/10.1007/s10853-012-6689-3)
- Liao J, Shi L, Yuan S, Zhao Y, Fang J (2009) Solvothermal synthesis of TiO₂ nanocrystal colloids from peroxotitanate complex solution and their photocatalytic activities. *J Phys Chem C* 113(43):18778–18783. doi:[10.1021/jp905720g](https://doi.org/10.1021/jp905720g)
- Mahshid S, Sasani Ghamsari M, Askari M, Afshar N, Lahuti S (2006) Synthesis of TiO₂ nanoparticles by hydrolysis and peptization of titanium isopropoxide solution. *Semiconductor Physics. Quantum Electron Optoelectron* 9(2):65–68
- Matsuyama K, Mishima K, Hayashi K-i, Matsuyama H (2003) Microencapsulation of TiO₂ nanoparticles with polymer by rapid expansion of supercritical solution. *J Nanopart Res* 5(1–2):87–95. doi:[10.1023/A:1024421514009](https://doi.org/10.1023/A:1024421514009)
- Park BJ, Sung JH, Kim KS, Chin I, Choi HJ (2006) Preparation and characterization of poly(methyl methacrylate) coated TiO₂ nanoparticles. *J Macromol Sci, Phys B* 45(1):53–60. doi:[10.1080/00222340500407855](https://doi.org/10.1080/00222340500407855)
- Park JH, Lee MA, Park BJ, Choi HJ (2007) Preparation and electrophoretic response of poly(methyl methacrylate-co-methacrylic acid) coated TiO₂ nanoparticles for electronic paper application. *Curr Appl Phys* 7(4):349–351. doi:[10.1016/j.cap.2006.09.006](https://doi.org/10.1016/j.cap.2006.09.006)
- Reverchon E, Adami R (2006) Nanomaterials and supercritical fluids. *J Supercrit Fluid* 37(1):1–22. doi:[10.1016/j.supflu.2005.08.003](https://doi.org/10.1016/j.supflu.2005.08.003)
- Reverchon E, De Marco I (2011) Mechanisms controlling supercritical antisolvent precipitate morphology. *Chem Eng J* 169(1–3):358–370. doi:[10.1016/j.cej.2011.02.064](https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.02.064)
- Reverchon E, Adami R, Cardea S, Della Porta G (2009) Supercritical fluids processing of polymers for pharmaceutical and medical applications. *J Supercrit Fluid* 47(3):484–492. doi:[10.1016/j.supflu.2008.10.001](https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.10.001)
- Rong Y, Chen HZ, Li HY, Wang M (2005a) Encapsulation of titanium dioxide particles by polystyrene via radical polymerization. *Colloid Surface A* 253(1–3):193–197. doi:[10.1016/j.colsurfa.2004.11.018](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.11.018)
- Rong Y, Chen HZ, Wu G, Wang M (2005b) Preparation and characterization of titanium dioxide nanoparticle/polystyrene composites via radical polymerization. *Mater Chem Phys* 91(2–3):370–374. doi:[10.1016/j.matchemphys.2004.11.042](https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2004.11.042)
- Sarkar S, Guibal E, Quignard F, SenGupta AK (2012) Polymer-supported metals and metal oxide nanoparticles: synthesis, characterization, and applications. *J Nanopart Res* 14(2):1–24. doi:[10.1007/s11051-011-0715-2](https://doi.org/10.1007/s11051-011-0715-2)
- Song M, Zhang R, Dai Y, Gao F, Chi H, Lv G, Chen B, Wang X (2006) The in vitro inhibition of multidrug resistance by combined nanoparticulate titanium dioxide and UV irradiation. *Biomaterials* 27(23):4230–4238. doi:[10.1016/j.biomaterials.2006.03.021](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.03.021)
- Supsakulchai A, Ma GH, Nagai M, Omi S (2002) Uniform titanium dioxide (TiO₂) microcapsules prepared by glass membrane emulsification with subsequent solvent evaporation. *J Microencapsul* 19(4):425–449. doi:[10.1080/02652040210142542](https://doi.org/10.1080/02652040210142542)
- Supsakulchai A, Ma GH, Nagai M, Omi S (2003) Performance of titanium dioxide microcapsules as a photo-oxidation catalyst for decolorization of methylene blue. *J Microencapsul* 20(1):19–33
- Szaciłowski K, Macyk W, Drzewiecka-Matuszek A, Brindell M, Stochel G (2005) Bioinorganic photochemistry: frontiers and mechanisms. *Chem Rev* 105(6):2647–2694. doi:[10.1021/Cr030707e](https://doi.org/10.1021/Cr030707e)
- Truong QD, Le TH, Liu J-Y, Chung C-C, Ling Y-C (2012) Synthesis of TiO₂ nanoparticles using novel titanium oxalate complex towards visible light-driven photocatalytic reduction of CO₂ to CH₃OH. *Appl Catal A* 437–438:28–35. doi:[10.1016/j.apcata.2012.06.009](https://doi.org/10.1016/j.apcata.2012.06.009)
- Tsuang YH, Sun JS, Huang YC, Lu CH, Chang WHS, Wang CC (2008) Studies of photokilling of bacteria using titanium dioxide nanoparticles. *Artif Organs* 32(2):167–174. doi:[10.1111/j.1525-1594.2007.00530.x](https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2007.00530.x)
- Yu DG, An JH, Bae JY, Lee YE, Ahn SD, Kang SY, Suh KS (2004) Preparation and characterization of titanium dioxide core/polymer shell hybrid composite particles prepared by emulsion polymerization. *J Appl Polym Sci* 92(5):2970–2975. doi:[10.1002/App.20310](https://doi.org/10.1002/App.20310)

ARTÍCULO 4



CrossMark
click for updates

Cite this: DOI: 10.1039/
c4en00060a

Identification of TiO₂ nanoparticles using La and Ce as labels: application to the evaluation of surface contamination during the handling of nanosized matter†

Virginia Gomez,^a Alberto Clemente,^a Silvia Irusta,^{*ab} Francisco Balas^{ab} and Jesus Santamaria^{*ab}

Distinguishing nanomaterials of interest from background nanosized matter already present in the sampling environment is a challenging task. In this study, we propose the use of rare earth elements (REEs) as high-sensitivity labels to identify and to monitor their fate following manipulation. The REE labels were added during the synthesis of TiO₂ nanoparticles with hydrodynamic sizes of 15 nm. The REE-labelled nanomaterials allow the monitoring of nanoparticle aerosols formed during handling of nanoparticulate materials in a glove box. The deposition of the labelled TiO₂ nanoparticles on working surfaces could be verified by electron microscopy and surface analysis, using the presence of lanthanide elements as an identification label. The total amount of TiO₂ nanoparticles in the deposited material could be quantified by a procedure based on wiping the deposition area followed by digestion of the collected matter and analysis by flame emission spectrometry.

Received 7th April 2014,
Accepted 30th July 2014

DOI: 10.1039/c4en00060a

rsc.li/es-nano

Nano impact

This paper describes two main results that will be of general interest; first, and more important, the labeling of TiO₂ nanoparticles using rare earth elements has been accomplished for the high-sensitivity identification and monitoring of nanomaterials upon manipulation and use. The method produces labeled materials that have similar behavior and properties in both aerosol and liquid phase to those observed for conventional TiO₂ nanoparticles. Second, the study clearly shows that the emission of nanoparticulate matter upon handling in simulated scenarios contaminates nearby areas that could, in turn, be a source of exposure for subsequent dermal and inhalation uptake. This is of special interest because it shows the fundamental importance of real-time, particle monitoring for exposure assessment in adequate testing environments.

Introduction

Airborne nanosized matter is ubiquitous in the air we breathe, not only in research¹ and industrial locations,² but also in natural environments.^{3,4} Nanoparticles may also be generated in the context of common daily life activities, such as soldering or using metal utensils.^{5,6} However, in recent years we have witnessed a growing interest regarding the possibility of adverse effects of nanomaterials in human health.^{7,8} Of especial concern are the so-called engineered nanomaterials (ENMs), new synthetic nanomaterials to which

there has been scant or no previous exposure. Indeed, many toxicity studies are under way using ENMs^{9–11} under carefully controlled laboratory conditions. For instance, Abid *et al.*¹² used europium-doped gadolinium oxide nanoparticles to study the deposition, clearance and translocation of nanoparticles in a mouse lung. However, in any real-life exposure assessment, the concentration of ENMs under consideration will have to be determined, which is a challenging task.¹³ The main difficulty is related to the fact that the proportion of ENMs in relation to background nanosized matter is likely to be extremely low (in the ppm range or lower), and therefore direct observation by usual techniques such as electron microscopy can generally be ruled out as a method to quantify exposure. Hence, alternative means of identification and discrimination of ENMs is needed. One possibility is labelling the ENMs using specific tags that are not present in the sampling environment. A variety of labelling techniques have been used, which generally involve granting additional

^a Department of Chemical Engineering, Nanoscience Institute of Aragon (INA), University of Zaragoza, 50018 Zaragoza, Spain. E-mail: sirusta@unizar.es, jesus.santamaria@unizar.es

^b Networking Research Center on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine, CIBER-BBN, 50018 Zaragoza, Spain

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c4en00060a

Table 1 Reported nanoparticle labelling and identification methods

Material	Labelling/identification	Analysis technique	References
TiO ₂ NPs	Radiolabelling: proton irradiation with a cyclotron ^a	—	30
Several ENMs	Radiolabelling: ion-beam or neutron irradiation ^a	—	31
Ag, Co/Co ₃ O ₄ , and CeO ₂	Radiolabelling: neutron activation	γ-ray spectrometry	18
ZnO	Stable isotope ^a	ICP-MS	16
ZnO	Stable isotope ^a	CARS, STEM-EDX, MC-ICP-MS	19
Pt, Ni, Pd, Fe ₂ O ₃ ENPs	Catalytic ^b	SMPS, BET, TEM, and catalytic FTIR	20
Pd and Ni	Catalytic ^b	CAAM	21 and 22
Carboxyl-modified polystyrene	Fluorescence	Confocal microscopy and flow cytometry	13
Carbon nanofibers (CNFs)	Non-labelled ^a	Thermal-optical analysis for carbon	43

^a Offline. ^b Online.

specific properties to the target nanomaterials (Table 1). Some authors have used labelled nanoparticles to avoid interferences during the assessment of toxicity to specific nanomaterials.^{14–18} In addition, fluorescent dyes,^{19–21} radioactive tracers^{22–24} or stable isotopes^{25,26} have been used to trace nanoparticles under several conditions. Other identification techniques exploit the enhanced properties of matter on the nanoscale, such as the catalytic properties of some types of nanomaterials.^{27,28} The selection of a label must take into account the application scenario, *i.e.*, the label should not interfere with the aspect to be studied. In this respect, the modification of the substrates by different markers may lead to different behaviour of the nanomaterials (see for instance ref. 25). Moreover, some labelling methods, such as radioactive labelling, raise concerns upon disposal and waste treatment and may require expensive facilities for performing the labelling and identification procedures.

In this work we have used REEs (La and Ce ions) to label TiO₂ nanoparticles. In order to include the REE in the nanoparticle structure and to minimize the impact on relevant properties (such as particle size distribution, surface charge, specific area and pore structure) we have used a modified sol–gel procedure in which REE addition is integrated into the synthesis process. TiO₂ was selected in view of its wide range of applications, which increases the potential for unintended release and exposure²⁹ and also because of the enormous variety of commercial presentations and functionalizations.¹³ The inclusion of lanthanide ions, namely, cerium and lanthanum, in REE/Ti ratios of up to 0.03 could be effectively traced using analytical and microscopic techniques under different conditions. As a proof of concept of the use of REE labelling, the contamination of work surfaces by labelled TiO₂ nanoparticles after manipulation in the laboratory was quantitatively assessed. Pouring powder between two beakers was used because it has been addressed as a potential source of nanoparticle emission in laboratory environments,³² and it is a very common laboratory operation.

Experimental

Synthesis of REE-labelled TiO₂ nanoparticles

The synthesis process has been described elsewhere.³³ Briefly, 2 mL of titanium(IV) isopropoxide (Sigma-Aldrich, 97%) and

30 mL of ethanol (EtOH, Panreac, analytical grade) were mixed under magnetic stirring. An amount of 3 mL of acetic acid (AcOH, Panreac) was added after 5 min. Samples with REE/Ti atomic ratios of 0, 0.005, 0.01 and 0.03 have been obtained by adding stoichiometric amounts of cerium(III) nitrate (Ce(NO₃)₃·6H₂O) and lanthanum(III) nitrate (La(NO₃)₃·6H₂O) to the solution under stirring. After 5 min, 5 mL of deionized water was added and the mixture was poured into an autoclave, which was sealed and heated up to 120 °C for 15 min in a microwave oven (Ethos Plus). The final solid powder was isolated by centrifugation, thoroughly washed with EtOH several times and dried at 80 °C for 24 h.

Characterization of REE-labelled TiO₂ nanoparticles

The size, morphology, composition and distribution of lanthanides in the TiO₂ nanoparticles were analysed by means of scanning electron microscopy coupled with energy-dispersive X-ray analysis (SEM-EDX, FEI-F Inspect and INCA PentaFETx3) and transmission electron microscopy (TEM, Tecnai T20). Statistical size-distribution histograms were obtained from TEM images using ImageJ ($N > 75$). The crystal structure, purity and crystal degree of the TiO₂ nanoparticles were determined by X-ray diffraction (XRD) using a Rigaku/Max System RU 300 diffractometer. UV-visible spectra of the samples were recorded on a Jasco V-670 spectrophotometer. The hydrodynamic nanoparticle size and ζ-potential in water were determined by dynamic light scattering (DLS) with Brookhaven Instruments 90Plus. For the measurement of ζ-potential, the phase analysis light scattering (ZetaPALS) configuration was chosen, and 1 mg mL⁻¹ suspensions were prepared in Milli-Q (Millipore) water. KOH or HNO₃ solutions were added to analyse pH influence. The surface areas were measured by N₂ adsorption at 77 K using a Micromeritics TriStar analyser (Micromeritics, Norcross, GA). Samples were outgassed at 26.7 Pa and 623 K for 6 h before performing adsorption experiments. Surface area was determined using the BET model applied to the range of relative pressures from 0.025 to 0.25. Mesopore size distributions were determined using the BJH data reduction scheme in the desorption branch of the isotherms. The chemical composition of REE-labelled TiO₂ nanoparticles was determined by inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP-OES, ACTIVA-S,

Horiba Jobin Yvon). X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) was performed with an Axis Ultra DLD spectrometer (Kratos Tech). The samples were mounted on a sample rod placed in the pretreatment chamber of the spectrometer and then evacuated at room temperature. The spectra were excited by a monochromatized AlK α source at 1486.6 eV and subsequently run at 12 kV and 10 mA. Survey spectrum was measured at 160 eV pass energy and for the individual peak regions, spectra were recorded with a pass energy of 20 eV. Analysis of the peaks was performed with the CasaXPS software using a weighted sum of Lorentzian and Gaussian component curves after Shirley background subtraction. The binding energies were referenced to the internal C1s standard at 284.9 eV.

Monitoring of REE-TiO₂ nanoparticles during handling procedures

The experimental setup was located inside an acrylic glove box chamber (61 × 61 × 71 cm³) that provides an isolated work environment. The relative humidity and temperature inside the chamber were measured during the experiments (30–45% RH and 22–25 °C).

Two types of experiments were performed to monitor airborne particles and nanoparticle deposition during nanopowder manipulation. The transfer of 500 mg of Ce-TiO₂ nanoparticles between two 100 mL beakers by gently pouring from one to another was used as a potential contamination source.

During the first type of experiments, particle emission was studied by sampling the air around the beaker to measure the particle number concentration in the air with an optical particle counter (OPC) from Grimm at 1.2 L min⁻¹. In addition, released airborne matter was sampled through TEM grids placed on a polycarbonate filter inside a 47 mm diameter stainless steel filter holder at a flow rate of 0.3 L min⁻¹. The morphology and shape of collected particles were observed and analysed by TEM and STEM-EDX using a Tecnai F30 microscope (FEI). In this case, the air of the chamber was purged with filtered clean air before the experiment to avoid interference of ambient particles. The rest of the experiments were performed in the presence of ambient air.

In addition, nanoparticle deposition on the working surfaces of the glove box was studied. Specific identification as well as qualitative and quantitative measurements was performed. The glove box was thoroughly cleaned before each experiment and the same pouring process was carried out without gas phase sampling to avoid disturbing the deposition process.

The deposition of airborne particles onto the working area was qualitatively analysed after handling REE-labelled TiO₂ nanoparticulate powders in a delimited working surface (30 × 30 cm²). First, four 1 cm² pieces of carbon tape were placed on the base of the handling chamber at 10 cm and 20 cm from the manipulation point. A mass of 500 mg of Ce-labelled TiO₂ powder was then poured once from a 100 mL glass

beaker to another. The shape and morphology of the contamination particles that settled on the tape surface were carefully verified by using scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray spectroscopy (FESEM, Inspect form FEI).

Quantitative analysis of the deposited nanoparticulate matter was performed according to the OSHA standardized procedure (ID-125G) for sampling lead and other surface-deposited metals.³⁹ Briefly, sealed disposable wipes (Ghost Wipes made by cross-linked polyvinyl alcohol, Reference 225–2414) were pre-moistened with deionized water and subsequently used for wiping the 30 × 30 cm² area in concentric squares of decreasing sizes while applying firm pressure. This process was repeated twice after folding the wipe in half. Wipes were then dissolved in hot water and submitted to centrifugation at 10 000 rpm for 5 min. The collected matter was further digested and analysed by ICP-OES to determine the concentration of Ce. A scheme of the method is shown in the ESI† (Fig. S2).

In order to test the efficiency of the procedure, a known amount of Ce-labelled TiO₂ nanoparticles was dispersed in water, deposited and allowed to dry on the testing surface. This process was repeated three times and the recovery percentage was estimated to be 75 ± 6%.

Finally, three samples of the deposited particulated matter were collected from the 30 × 30 cm² area after a handling process of 500 mg of cerium-doped nanoparticles and its cerium content was subsequently analyzed.

Results and discussion

Labelling and identification

The use of REEs to label TiO₂ nanoparticles induced changes in their visual appearance. The addition of cerium during synthesis produced a yellow colour on the solid, which became more intense as the nominal content of cerium increased.³⁴ This feature could be noticed as a shift to higher wavelengths in the visible absorption of samples for Ce-labelled TiO₂ (Fig. 1). Similar behaviour was detected for La-labelled materials, although the effect was less marked. Incorporation of metals in TiO₂ nanoparticles might affect the final properties of the material above a certain doping level. However, the high sensitivity of the technique developed means that the amount of added Ce and La needed for labelling is very low. Indeed, the amount of Ce and La added

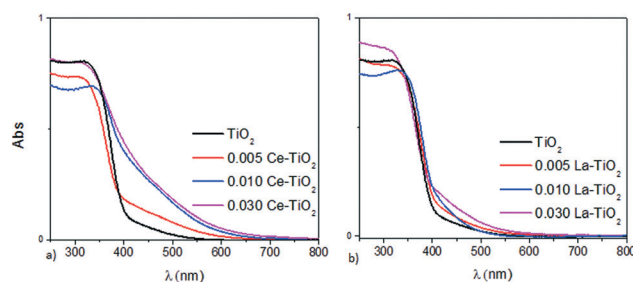


Fig. 1 UV/vis spectra of (a) Ce-TiO₂ and (b) La-TiO₂ nanoparticles.

to the TiO₂ nanoparticles in this work was low enough to avoid any modification of the structural characteristics of the solids, and only a slight coloration could be noticed at the highest loadings. For most commercial applications, this slight coloration will not have any significant effect on the final colour of a material containing labelled TiO₂ nanoparticles.

Structural analysis using XRD indicated that nanoparticles showed the tetragonal structure of anatase regardless of the inclusion of lanthanide ions (Fig. 2). Separate phases of the REE as CeO₂ or La₂O₃ could not be detected in the XRD patterns. The particle size of REE-labelled TiO₂ nanoparticles calculated using the Debye–Scherrer equation (Table 2) was very similar to that of unlabelled TiO₂; only a small decrease (11–16%) could be noticed when REE ions were incorporated at the highest concentrations. This may be caused by the influence of REE ions on the growth of nanoparticles by affecting the degree of hydration of the surface.³⁵

The labelling with La produced only a small increase in the specific surface area (from 239 to 246 m² g⁻¹ for the highest La concentration) while the Ce-labelled nanoparticles reached only 215 m² g⁻¹ (Table 2, Fig. 3).

The porosity of TiO₂ nanoparticles could also be ascertained using high-resolution TEM, which showed an ordered array

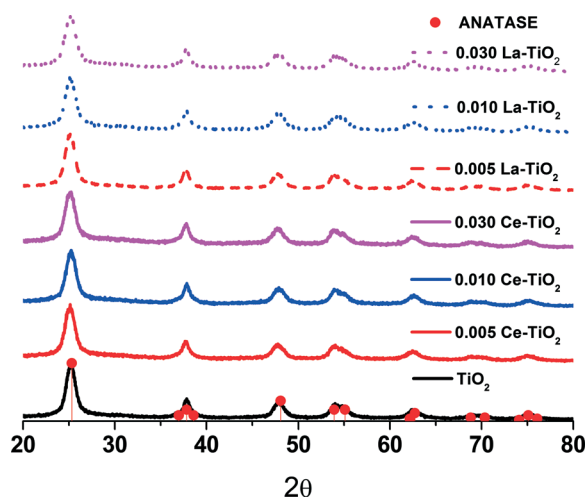


Fig. 2 Powder XRD patterns of Ce-TiO₂ and La-TiO₂ nanoparticulate solids. Red circles: position of anatase maxima.

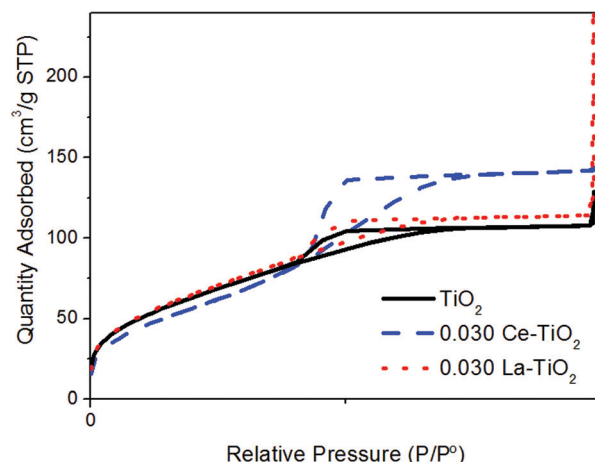


Fig. 3 Nitrogen adsorption–desorption isotherms at 77 K of Ce- and La-labelled TiO₂ nanoparticulate powders with a REE/Ti ratio of 0.03.

of mesopores on the surface of the nanoparticles obtained using this synthesis method (Fig. 4). Further surface analysis using XPS showed spectral bands attributed to Ti, O, C and Ce or La elements (data not shown). A closer examination of the Ce3d or La3d signals around 900 eV and 850 eV, respectively, showed the doublet 3d_{5/2} and 3d_{3/2} lines (Fig. 5), whose intensity increased as the content of the REE was increased during synthesis. The REE/Ti atomic ratios were estimated from the spectra of individual regions (Table 2), and their values were significantly higher than the ratios estimated from the proportions used during synthesis. This suggests a preferential concentration of lanthanide ions on the surfaces of individual particles or among the interfaces of the agglomerates, as was reported elsewhere.³³ Other authors report that REE ions could occupy the interstitial octahedral sites in the anatase structure as was reported for similarly doped TiO₂ nanomaterials with large contents of lanthanide ions (REE/Ti ratio up to 0.3).³⁶

Since the synthesis procedure combines a sol-gel process followed by fast microwave heating, mainly non-aggregated TiO₂ nanoparticles were obtained especially for the REE-doped material, as shown by DLS measurements. A narrow particle size distribution can be observed for all of the tested materials (Fig. 6), with hydrodynamic particle sizes of 10–40 nm

Table 2 Structural parameters, surface area and REE/Ti and O/Ti atomic ratios calculated from Ln3d, Ti2p and O1s XPS signals for REE-labelled TiO₂ nanoparticles

Material	Nominal Ln/Ti ratio	Crystal grain size ^a [nm]	Surface area ^b [m ² g ⁻¹]	O/Ti ^c	REE/Ti ^c
TiO ₂	—	6.92	239	2.5	—
Ce _{0.005} -TiO ₂	0.005	6.55	—	2.6	0.010
Ce _{0.01} -TiO ₂	0.01	6.98	—	2.9	0.025
Ce _{0.03} -TiO ₂	0.03	6.22	215	3.0	0.066
La _{0.005} -TiO ₂	0.005	6.84	—	2.8	0.014
La _{0.01} -TiO ₂	0.01	7.06	—	2.6	0.025
La _{0.03} -TiO ₂	0.03	5.92	246	2.7	0.038

^a Estimated using the Debye–Scherrer equation for the XRD (101) maximum of the TiO₂ anatase structure. ^b Calculated using the BET procedure in the N₂ adsorption data at 77 K in the interval of relative pressures P/P_0 from 0.025 to 0.25. ^c Calculated from XPS measurements.

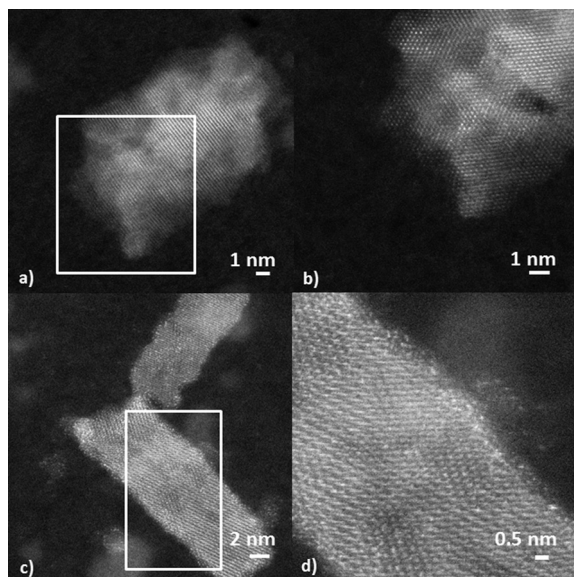


Fig. 4 High-resolution STEM micrographs of (a) TiO_2 nanoparticles showing the array of mesopores and (c) REE- TiO_2 doped nanoparticles; (b, d) magnifications of rectangular areas shown in (a) and (c) respectively.

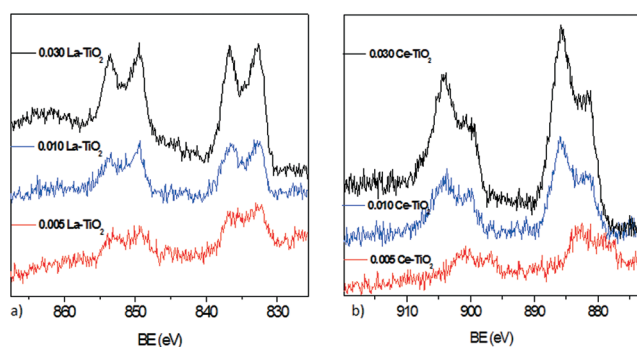


Fig. 5 XPS spectra of a) $\text{La}3d$ and b) $\text{Ce}3d$ bands on the Ln-labelled TiO_2 nanomaterials.

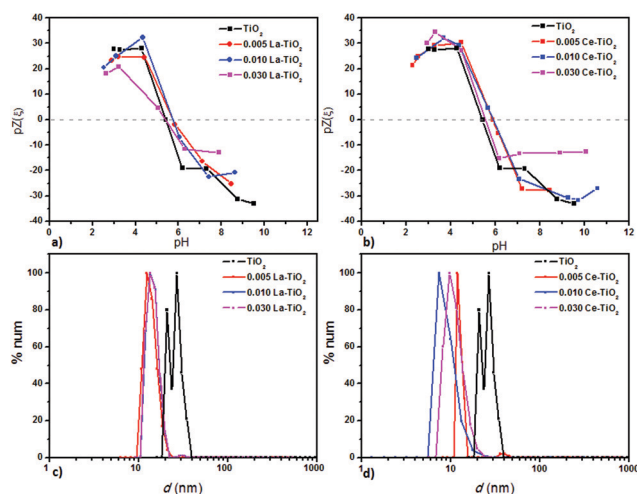


Fig. 6 Variation of the ζ -potential vs. pH (a, b) and hydrodynamic particle sizes measured from a pH 3 dispersion using DLS (c, d) of REE-labelled TiO_2 nanomaterials.

for REE- TiO_2 while it was slightly higher for TiO_2 . The slightly lower hydrodynamic radius of the doped material could be due to a small change in the concentration of OH superficial groups due to the presence of Re-O-Ti bonds.³⁷ The surface charge of the REE-labelled nanoparticles was between -35 and 35 mV, with isoelectric points around pH 5, similar to that measured for TiO_2 .

Electron microscopy analysis confirmed that REE-labelled TiO_2 nanoparticles display homogenous and regular shapes, similar to those found for unlabelled TiO_2 (Fig. 7 and 8). Their prismatic shape is common for anatase nanostructures obtained using similar hydrothermal synthesis.³⁸ The sizes obtained from the TEM images for most of the primary particles of both undoped and REE-doped TiO_2 are in the 10–20 nm range.

Quantification of surface deposition

To demonstrate the monitoring capabilities afforded by REE labelling a simple assessment of surface contamination by nanoparticles was attempted. To this end, nanoparticle deposition as a consequence of a simple powder manipulation process (transferring nanoparticles between two beakers) was studied in a controlled environment (glove chamber) to ensure test repeatability and to avoid exposure (Fig. 9).

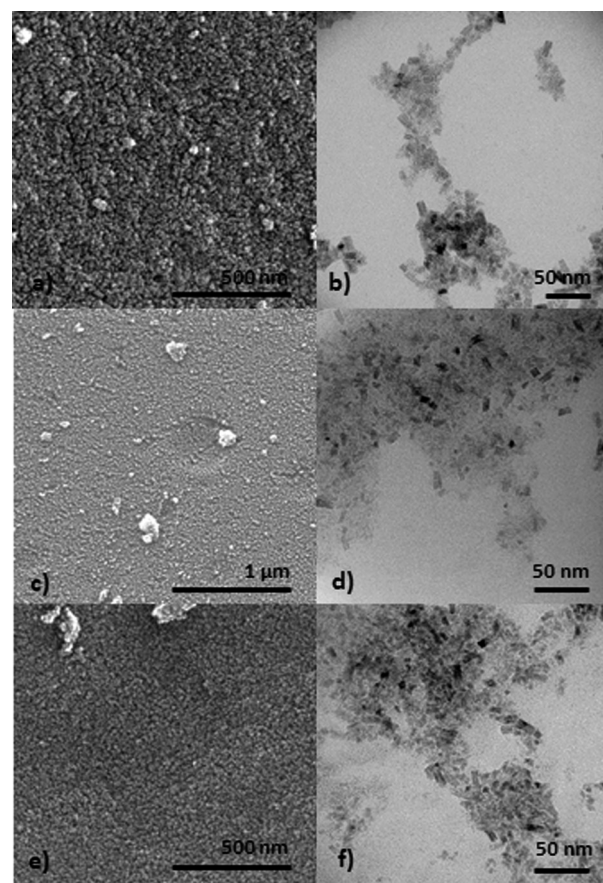


Fig. 7 SEM and TEM images of TiO_2 (a, b) and 0.030 Ce- TiO_2 (c, d) while those of 0.030 La- TiO_2 (e, f) are given as insets.

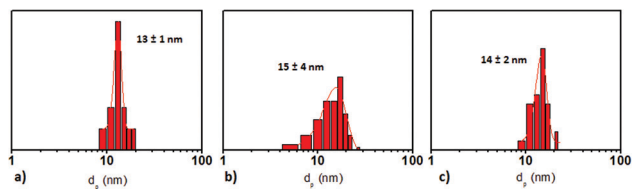


Fig. 8 Statistical size distribution ($N > 75$) of the nanoparticles observed in the TEM images of TiO_2 (a), 0.030 Ce-TiO_2 (b) and 0.030 La-TiO_2 (c).

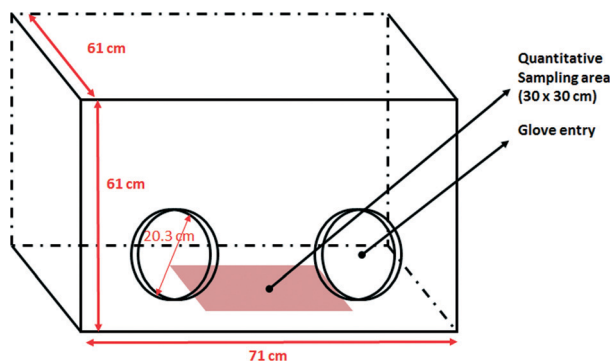


Fig. 9 Glove box and sampling area used for the quantitative analysis of surface deposition of labelled TiO_2 nanoparticles during handling.

The manipulation of Ce-labelled TiO_2 nanoparticles under such conditions led to a peak particle number concentration in the chamber after handling (Fig. S1 in the ESI†). The airborne particles collected in the air around the sampling area formed agglomerates with sizes of a few hundred nanometers (Fig. 10), and STEM-EDX analysis confirmed the presence of cerium along with titanium in the collected particles (Fig. 10b). This could confirm that the released matter could be effectively monitored using the cerium label in the TiO_2 nanoparticles. Similar results were obtained using La-labelled nanoparticles (Fig. S3 in the ESI†).

Particle agglomerates of a similar structure but with larger sizes (mean diameters below $10 \mu\text{m}$) were found within a distance of 10 cm from the release point (Fig. 11), which indicated that large aggregates settled by gravitational force on the testing area after manipulation. This strongly suggests the contamination of the working area by nanoparticle aggregates in the micron range. The fact that the contamination is in the form of aggregates rather than individual nanoparticles does not exclude toxicity, since nanoparticle aggregates still have a considerably higher surface area than bulk particles of the same size, and therefore surface reactivity and cell toxicity are expected to be higher.^{39,40} Thus, Ce and La (see the ESI†) labelling is effective in demonstrating surface contamination as a consequence of the handling of nanosized TiO_2 powders. Other elements (*e.g.* Si) could also be detected, which is attributed to cross-contamination with environmental airborne matter (Fig. 11d and e). However, Ce and La are practically absent from environmental particles, and therefore they are effective as selective tags to identify objective nanomaterials.

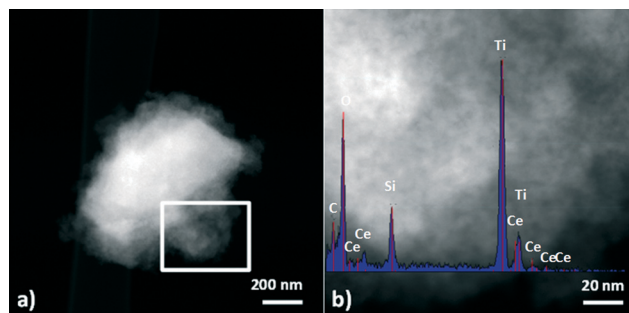


Fig. 10 (a) STEM dark-field images of airborne matter collected by filtering the air around the manipulation area at 0.3 L min^{-1} through a Cu grid during the manipulation of Ce-labelled TiO_2 nanoparticulate powders; (b) magnification of the rectangular area marked in (a), together with the EDX spectral analysis of the visualized area.

Analytical determination of the deposited mass of nanoparticles

As we have shown, REE labelling is effective in discriminating individual nanoparticles and aggregates from those in the background. However, quantification of surface contamination by electron microscopy analysis of individual nanoparticles would be impractical in terms of time and cost. Therefore, we also attempted a quantitative estimation of surface contamination by chemical analysis of the REE labels after collecting and digesting the solid material deposited on the area under study.

The deposition of toxic metals in the surroundings of working areas has been analysed by a wiping procedure of the testing area followed by complete dissolution of the wipes together with the collected solid particles. The chemical analysis of such dissolution using flame-based optical spectrometry indicated the content of each REE label on the testing area.⁴¹ This procedure is used by organizations such as the OSHA⁴² in studies of exposure levels and threshold limit values for different metals. In our case, we have monitored the concentration of the lanthanide labels. A simple mass balance can then be used to quantify the contamination by nanoparticles in terms of mass of particle per unit of surface area. Lanthanides not only are absent from the unlabelled nanoparticles (and from most of the environmental material), but also very low limits of detection (LoD) can be achieved by common analytical techniques such as ICP-OES, allowing a sensitive estimation of surface contamination. In addition, lanthanide atoms present spectra with numerous emission lines giving multiple opportunities to reduce potential interferences. In this work, the LOD obtained for Ce-labelled nanoparticles was as low as $0.0168 \text{ mg of Ce per liter}$ when measured at a wavelength of 413.4 nm . The capacity of this procedure for quantifying lanthanides was tested by evenly spreading a known amount of Ce-labelled TiO_2 nanoparticulate samples with a nominal Ce/Ti atomic ratio of 0.03 over a selected working area. The area was then subjected to the analytical wiping procedure described for metals and repeated three times (see the ESI† for details). The results of

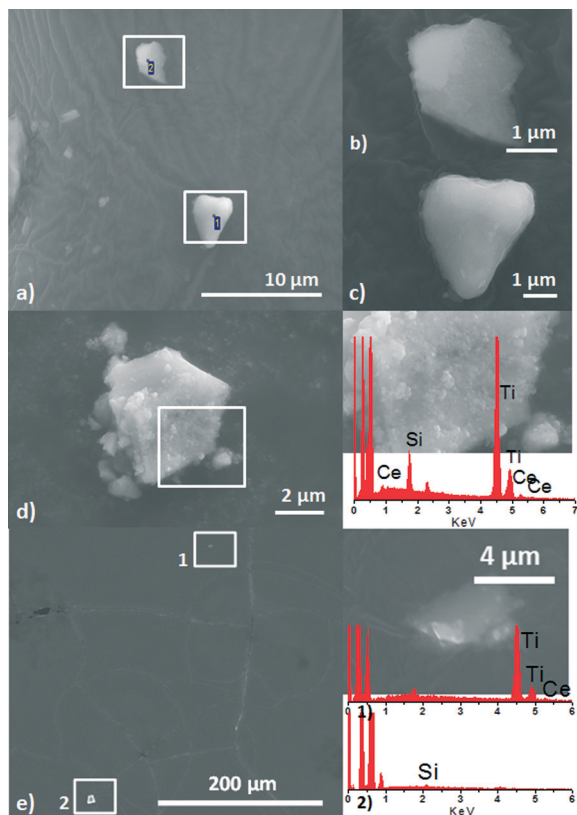


Fig. 11 (a) SEM image of particles that settled on carbon tape placed 10 cm away from the source during the manipulation of TiO₂ nanoparticulate powders; (b, c) magnification of areas marked with 2 and 1 in (a); (d) high-magnification image of a particle deposited on carbon showing at right a close-up of the aggregates collected together with the EDX spectral analysis of the visualized area; (e) survey SEM image to display the approximate distance between collected nanoparticles, showing at right a high-magnification image of the area marked with 1 in (e) (insets show the EDX spectral analysis of the areas marked as 1 and 2).

the ICP-OES analysis of the digested wipes indicated that the Ce/Ti ratio of the deposited solid was 0.0269 ± 0.0022 , slightly lower than that of the dispersed material, probably due to background contamination. The percentage of material recovered from the surface was $75 \pm 6\%$. The results obtained after pouring 500 mg of Ce-labelled TiO₂ powder between two beakers showed that the amount of nanoparticles deposited on the surface close to the operation was 0.14 ± 0.06 mg, corresponding to a surface contamination of $155.6 \mu\text{g cm}^{-2}$ in the considered area of study.

Conclusions

Trace amounts of lanthanide ions could be easily incorporated into interstitial and surface sites of the anatase structure of TiO₂ nanoparticles. This procedure led to the synthesis of labelled TiO₂ nanoparticles with structures and properties similar to those of undoped nanoparticles. The use of lanthanides (Ce and La) as labels was selected in view of the negligible concentrations of these REEs in background nanoparticles.

Doping with Ce and La also favoured a high degree of sensitivity due to the low limits of detection found under testing conditions. This allowed the identification and quantification of the amount of deposited labelled matter onto working areas after common handling operations. Consequently, this method could be effectively applied to determine the presence of labelled ENMs around working areas and therefore to reduce potential exposure risks to engineered nanomaterials. In addition, the sensitivity of the method opens up possibilities of application for monitoring the release of nanosized matter in different industrial and environmental scenarios.

Notes and references

- 1 F. Balas, M. Arruebo, J. Urrutia and J. Santamaria, *Nat. Nanotechnol.*, 2010, 5, 93–96.
- 2 P. Van Broekhuizen, W. Van Veelen, W.-H. Streekstra, P. Schulte and L. Reijnders, *Ann. Occup. Hyg.*, 2012, 56, 515–524.
- 3 S. J. Klaine, P. J. J. Alvarez, G. E. Batley, T. F. Fernandes, R. D. Handy, D. Y. Lyon, S. Mahendra, M. J. McLaughlin and J. R. Lead, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2008, 27, 1825–1851.
- 4 K. D. Grieger, I. Linkov, S. F. Hansen and A. Baun, *Nanotoxicology*, 2012, 6, 196–212.
- 5 V. Gomez, S. Irusta, F. Balas and J. Santamaria, *J. Hazard. Mater.*, 2013, 257, 84–89.
- 6 R. D. Glover, J. M. Miller and J. E. Hutchison, *ACS Nano*, 2011, 5, 8950–8957.
- 7 N. Lewinski, V. Colvin and R. Drezek, *Small*, 2008, 4, 26–49.
- 8 A. D. Maynard, R. J. Aitken, T. Butz, V. Colvin, K. Donaldson, G. Oberdorster, M. A. Philbert, J. Ryan, A. Seaton, V. Stone, S. S. Tinkle, L. Tran, N. J. Walker and D. B. Warheit, *Nature*, 2006, 444, 267–269.
- 9 W. Wohlleben, S. Brill, M. W. Meier, M. Mertler, G. Cox, S. Hirth, B. von Vacano, V. Strauss, S. Treumann, K. Wiench, L. Ma-Hock and R. Landsiedel, *Small*, 2011, 7, 2384–2395.
- 10 D. Sekar, M. L. Falcioni, G. Barucca and G. Falcioni, *Environ. Toxicol.*, 2014, 29, 117–127.
- 11 H. Wang, L.-J. Du, Z.-M. Song and X.-X. Chen, *Nanomedicine*, 2013, 8, 2007–2025.
- 12 A. D. Abid, D. S. Anderson, G. K. Das, L. S. Van Winkle and I. M. Kennedy, *Part. Fibre Toxicol.*, 2013, 10.
- 13 N. Lubick, *Environ. Sci. Technol.*, 2009, 43, 6446–6447.
- 14 M. Ono-Ogasawara, F. Serita and M. Takaya, *J. Nanopart. Res.*, 2009, 11, 1651–1659.
- 15 T. M. Peters, S. Elzey, R. Johnson, H. Park, V. H. Grassian, T. Maher and P. O'Shaughnessy, *J. Occup. Environ. Hyg.*, 2009, 6, 73–81.
- 16 P. Kumar, P. Fennell and A. Robins, *J. Nanopart. Res.*, 2010, 12, 1523–1530.
- 17 K. Aschberger, C. Micheletti, B. Sokull-Klüttgen and F. M. Christensen, *Environ. Int.*, 2011, 37, 1143–1156.
- 18 T. Kuhlbusch, C. Asbach, H. Fissan, D. Göhler and M. Stintz, *Part. Fibre Toxicol.*, 2011, 8, 22.
- 19 T. Dos Santos, J. Varela, I. Lynch, A. Salvati and K. A. Dawson, *Small*, 2011, 7, 3341–3349.

- 20 C. Kirchner, T. Liedl, S. Kudera, T. Pellegrino, A. Muñoz Javier, H. E. Gaub, S. Stölzle, N. Fertig and W. J. Parak, *Nano Lett.*, 2004, 5, 331–338.
- 21 I. L. Medintz, H. T. Uyeda, E. R. Goldman and H. Mattoussi, *Nat. Mater.*, 2005, 4, 435–446.
- 22 D. H. Oughton, T. Hertel-Aas, E. Pellicer, E. Mendoza and E. J. Joner, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2008, 27, 1883–1887.
- 23 H. Hong, Y. Zhang, J. Sun and W. Cai, *Nano Today*, 2009, 4, 399–413.
- 24 N. Gibson, U. Holzwarth, K. Abbas, F. Simonelli, J. Kozempel, I. Cydzik, G. Cotogno, A. Bulgheroni, D. Gilliland, J. Ponti, F. Franchini, P. Marmorato, H. Stamm, W. Kreyling, A. Wenk, M. Semmler-Behnke, S. Buono, L. Maciocco and N. Burgio, *Arch. Toxicol.*, 2011, 85, 751–773.
- 25 A. D. Dybowska, M.-N. Croteau, S. K. Misra, D. Berhanu, S. N. Luoma, P. Christian, P. O'Brien and E. Valsami-Jones, *Environ. Pollut.*, 2011, 159, 266–273.
- 26 F. Lerner, Y. Dogra, A. Dybowska, J. Fabrega, B. Stolpe, L. J. Bridgestock, R. Goodhead, D. J. Weiss, J. Moger, J. R. Lead, E. Valsami-Jones, C. R. Tyler, T. S. Galloway and M. Rehkämper, *Environ. Sci. Technol.*, 2012, 46, 12137–12145.
- 27 N. Neubauer, M. Seipenbusch and G. Kasper, *Ann. Occup. Hyg.*, 2013, 57, 842–852.
- 28 N. Neubauer, F. Weis, A. Binder, M. Seipenbusch and G. Kasper, *J. Phys.: Conf. Ser.*, 2011, 304, 012011.
- 29 F. Gottschalk and B. Nowack, *J. Environ. Monit.*, 2011, 13, 1145–1155.
- 30 K. Abbas, I. Cydzik, R. Torchio, M. Farina, E. Forti, N. Gibson, U. Holzwarth, F. Simonelli and W. Kreyling, *J. Nanopart. Res.*, 2010, 12, 2435–2443.
- 31 U. Holzwarth, A. Bulgheroni, N. Gibson, J. Kozempel, G. Cotogno, K. Abbas, F. Simonelli and I. Cydzik, *J. Nanopart. Res.*, 2012, 14, 1–15.
- 32 V. Gomez, S. Irusta, F. Balas, N. Navascues and J. Santamaria, *J. Hazard. Mater.*, 2013, 256, 84–89.
- 33 V. Gomez, A. M. Balu, J. C. Serrano-Ruiz, S. Irusta, D. D. Dionysiou, R. Luque and J. Santamaria, *Appl. Catal., A*, 2012, 47–53.
- 34 V. Štengl, S. Bakardjieva and N. Murafo, *Mater. Chem. Phys.*, 2009, 114, 217–226.
- 35 M. Fernández-García, X. Wang, C. Belver, J. C. Hanson and J. A. Rodriguez, *J. Phys. Chem. C*, 2006, 111, 674–682.
- 36 J. Xu, Y. Ao, D. Fu and C. Yuan, *Colloids Surf., A*, 2009, 334, 107–111.
- 37 J. Reszczyńska, T. Grzyb, J. W. Sobczak, W. Lisowski, M. Gazda, B. Ohtani and A. Zaleska, *Appl. Surf. Sci.*, 2014, 307, 333–345.
- 38 Sawanta S. Mali, Hyungjin Kim, Chang Su Shim, Pramod S. Patil, Jin Hyeok Kim and C. K. Hong, *Sci. Rep.*, 2013, 3, 3004.
- 39 R. I. M. Justin, M. Zook, Laurie E. Locascio, Melissa D. Halter and John T. Elliott, *Nanotoxicology*, 2011, 5, 517–530.
- 40 A. Albanese and W. C. W. Chan, *ACS Nano*, 2011, 5, 5478–5489.
- 41 K. Ashley, G. Braybrooke, S. D. Jahn, M. J. Brisson and K. T. White, *J. Occup. Environ. Hyg.*, 2009, 6, D97–100.
- 42 K. Ashley, T. J. Wise, D. Marlow, A. Agrawal, J. P. Cronin, L. Adams, E. Ashley and P. A. Lee, *Anal. Methods*, 2011, 3, 1906–1909.
- 43 L. F. Mazzuckelli, M. Methner, M. E. Birch, D. E. Evans, B. K. Ku, K. Crouch and M. D. Hoover, Identification and Characterization of Potential Sources of Worker Exposure to Carbon Nanofibers During Polymer Composite Laboratory Operations, *J. Occup. Environ. Hyg.*, 2007, 4(12), D125–D130.

ARTÍCULO 5



Unintended emission of nanoparticle aerosols during common laboratory handling operations



Virginia Gomez^a, Silvia Irusta^{a,b,*}, Francisco Balas^{b,c}, Nuria Navascues^a, Jesus Santamaria^{a,b,*}

^a Department of Chemical Engineering, Nanoscience Institute of Aragon (INA), 50018 Zaragoza, Spain

^b Networking Biomedical Research Center of Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), 50018 Zaragoza, Spain

^c Instituto de Carboquímica–Consejo Superior de Investigaciones Científicas (ICB-CSIC), 50018 Zaragoza, Spain

HIGHLIGHTS

- Aerosol nanoparticles generation during common laboratory operations was studied.
- Dust concentration and NEFs were similar for common laboratory operations.
- NEF for the handling processes were in the range of $10^8 \# \text{h}^{-1}$.
- Ce/TiO₂ showed rapid interaction between emitted and ambient nanoparticles.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 February 2014

Received in revised form 24 June 2014

Accepted 28 June 2014

Available online 5 July 2014

Keywords:

Nanoparticle
Handling
Aerosol emission
Laboratory operations

ABSTRACT

Common laboratory operations such as pouring, mashing in an agate mortar, transferring with a spatula, have been assessed as potential sources for emission of engineered nanoparticles in simulated occupational environments. Also, the accidental spilling from an elevated location has been considered. For workplace operations, masses of 1500 or 500 mg of three dry-state engineered nanoparticles (SiO₂, TiO₂ and Ce-TiO₂) with all dimensions under 30 nm, and one fibrous nanomaterial (MWCNT) with diameter under 10 nm and length about 1.5 μm were used. The measured number emission factors (NEF) for every operation and material in this work were in the range of $10^5 \# \text{s}^{-1}$. The traceability of emitted nanoparticles has been improved using Ce-doping on TiO₂ nanoparticles. With this traceable material it was possible to show that generated aerosol nanoparticles are rapidly associated with background particles to form large-sized aerosol agglomerates.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Although the presence of the nanotechnology in the marketplace is rapidly growing, in many cases consumers remain unaware of the nature and characteristics of nanomaterial-containing products [1]. Products and utensils containing engineered nanomaterials (ENMs) such as nanoparticles or carbon nanotubes may become sources of unintended human exposure, mainly through

dermal and respiratory routes. Nanoparticles are also found widely in nature, and natural sources include ash, desert dusts, aerosols and metal oxide particles. Although evolved to deal with natural nanomaterials and their fluctuations over millennia, it is not known how organisms will cope with high discharges of anthropogenic nanomaterials into the environment [2]. Once released, the behavior of ENMs in the environment depends on their surface area and size, among other material parameters [3]. Due to their small size (under 100 nm), the exposure to ENMs could imply hazards beyond the capabilities of conventional industrial safety and hygiene procedures. According to O'Shaughnessy, a worst-case scenario regarding exposure to ENMs concerns the manufacture of nanoparticles, especially in the dry state [4]; even though accidental spills during manufacturing would be even a worst situation. Many common tasks in occupational settings involved in

* Corresponding authors at: Department of Chemical Engineering, Nanoscience Institute of Aragon (INA), 50018 Zaragoza, Spain. Tel.: +34 876555437; fax: +34 976762776.

E-mail addresses: sirusta@unizar.es (S. Irusta), Jesus.Santamaria@unizar.es (J. Santamaria).

nanomaterials production and use require the handling of ENMs in a dusty form, and this could lead to a significant increase in the risks of exposure to nanosized aerosols [5–8].

There is no protocol of general validity to assess the exposure to ENMs during common handling operations. Several authors have developed different standardized dustiness tests to assess the materials risks [9]. One common test uses a rotating drum process, normalized under the European standard EN 15051, and involves the application of mechanical energy to a bulk sample while a steady stream of air is supplied through the drum. Emitted particles are alternatively collected on a filter or measured with direct-reading instrumentation [6,8,10,11]. Similarly, the single-drop method consists of a vertical tube that generates dust by allowing the sample to drop through the tube [12]. A third dustiness test uses a vortex shaker to agitate the powder placed in a test tube [13]. All the mentioned methods use large amounts of materials (about 500 g), which entail obvious difficulties when applied to nanotechnology laboratory operations, where sub-gram quantities are often handled. Therefore adaptations have been developed to reduce the sample amount down to several grams [11] or even to a milligram scale [9]. Evans et al. [14] dispersed 10 mg of powder utilizing an energetic Venturi aerosolization, as a more energetic alternative to conventional methods such as rotating drum testers, and determined the total and respirable dustiness of different materials. The aerosolization of the powder in their work takes place under turbulent conditions that according to the authors may be representative of energetic cleaning operations such as cleaning dry work surfaces with compressed air. However, their results cannot be extrapolated to manual handling of nanomaterials in laboratory operations (e.g. transferring with a spatula to a weighting dish), where the energy involved is orders of magnitude lower.

In this work, we have calculated the Number Emission Factors (NEF), rather than dustiness. In fact, both methods (dustiness tests vs. NEF calculation) are measuring a similar property, (the propensity of powdered materials to become airborne upon different operations), but provide complementary information, since there are differences regarding the amount of matter handled in every case and in the fundamental parameters measure, which for dustiness are based in the mass of particles whereas NEFs are calculated in a number basis.

One of the first attempts for analyzing the emission of airborne nanosized matter when handling ENMs was performed by Tsai et al. [15] showing that handling dry ENMs inside a fume hood results in a significant release of nanoparticles into the laboratory environment and the researcher's breathing zone. Moreover, several laboratory and field studies have reported that the sonication of both hydrophobic and hydrophilic carbon-based nanomaterials (CNM) in water generates airborne nanoparticle concentrations similar to those found during dry handling [16–18]. Other laboratory operations have been identified as possible exposure risk sources, namely synthesis [19,20], accidental spilling [21] or even common activities such as weighting or pouring [16,17]. Ham et al. [17] studied nanoparticle manufacturing workplaces producing titanium dioxide, silver, aluminum and copper. They found that the nanoparticle concentration varied depending on the task performed, metric adopted and working or off duty. On the other hand, Methner et al. [18] studied the release of carbon nanofibers (CNF) on dry material handling, wet cutting, grinding and sanding of plastic composites containing CNF. They point out that surface grinding of composites and manually transferring dry CNFs produce substantial increases in particle number concentration.

The complex nature of indoor environments in a research laboratory where different nanomaterials are manually handled plays a key role in the impact of ENMs. Workplace atmospheres generally contain numerous nanoparticles of a varied nature that may be of natural and/or anthropogenic origin. Airborne nanoparticles in

research laboratory environments undergo continuous changes in concentration, size distribution and particle structure and nature. Even working inside hoods nanoparticles are released to the laboratory air, concentration as high as $1.3 \times 10^5 \text{ cm}^{-3}$ can be reached in the breathing zone [15]. The use of products and utensils containing engineered nanomaterials could lead to the release of these ENMs to any indoor environments, significant sources that can generate episodic emissions include every day actions such as cooking or cleaning [22]. These environmental nanoparticles represent a strong interference in the detection of those emitted during synthesis and handling operations, which are often present in much smaller concentrations. Methner et al. [23] have stressed the influence of background particles when measuring the concentration of ENMs during workplace monitoring. In an exhaustive work, Seipenbusch et al. [24] studied the evolution of aerosols with concentrations of 7×10^4 – $5 \times 10^6 \text{ cm}^{-3}$ in the presence of background particles, showing changes in the size and number concentration of nanoparticle aerosols due to heterogeneous coagulation processes with background airborne matter. The magnitude of these processes was found to depend on the concentration of background aerosol; representative indoor aerosols have typically concentrations in the range 10^3 – 10^4 cm^{-3} . Furthermore, binary hybrid particles consisting of background particles decorated with emitted nanoparticles evolve, and therefore the chemical composition of the ENM aerosols changes. Ono-Ogasawara et al. [25] reviewed some examples where measurements of ambient nanoparticles did not correlate with workplace operation conditions, due to the presence of background particles. Thus for instance, in the monitoring of nanoparticles at a lithium titanate production facility the number concentrations did not correlate with workplace operation. Possible contaminants included welding fumes, particles from grinding and particles from outside sources. In a different example, the total number concentration in a MWCNT laboratory responded to oil pump operation more strongly than to CNT release. Sources of ENM are difficult to detect in laboratory indoor environments because the generated aerosol can be diluted or hidden under natural or man-made background particles. At large, the extent of this interaction depends on the concentration and particle size of the background nanoparticles and the concentration of the studied aerosol. However, the presence of these background nanoparticles is unavoidable in real life exposure and therefore its influence must be taken into account.

In this work, we have attempted to shed light on the generation of nanoparticle aerosols in several common laboratory operations and events. To this end, we have restricted ourselves to handling small amounts of powders (always below 2 g of material). This presents some additional complications for measurement, but is deemed more realistic in the scenarios considered. We have used commonly encountered ENMs of a different nature: TiO_2 , SiO_2 and MWCNT. A novel experimental strategy was designed to investigate the influence of background nanoparticles: First, using a clean-room approach (a clean glove chamber with HEPA-filtered air) handling operations were performed, which allowed monitoring aerosol generation without the influence of environmental particulate matter. Handling experiments were then performed after filling the chamber with ambient air, containing the background particles. The generated aerosols were studied in both cases using online methods (airborne nanoparticle counters) and offline methods (electron microscopy analysis of the collected particles). Finally, to address the problem of discriminating the released ENMs from background material, which is relatively straightforward by transmission electron microscopy for CNTs but highly challenging for TiO_2 or SiO_2 , cerium-doped TiO_2 nanoparticles were synthesized and employed in pouring operations. This facilitated the identification of ENMs by offline analysis since Ce is absent from background material.

Table 1
Properties of the nanomaterials used in this study.

Material	Reference	Characteristics	
		S_{BET} (m^2/g)	D_p (nm) ^b
TiO ₂	Commercial (Aldrich #637254)	50 ± 5^a	20 ± 5
SiO ₂	Commercial (Aldrich #637246)	640 ± 50^a	10 ± 5
Ce/TiO ₂	Synthesized in this work	381 ± 40	15 ± 5
MWCNT	Commercial (Nanocyl NC700)	275 ± 25^a	$D = 9 \pm 2$ $L = 1500\text{--}2000$

^a Provided by the supplier.

^b Calculated from TEM results.

2. Experimental

2.1. Materials and characterization techniques

Four nanomaterials were selected in order to assess potential dust release: silicon dioxide (SiO₂, Aldrich, St. Louis MO) with mean particle sizes below 15 nm, anatase (TiO₂, Aldrich) with particle sizes under 25 nm, cerium-doped TiO₂ nanoparticles (Ce-TiO₂) synthesized using the procedure reported elsewhere [26] with a Ce/Ti atomic ratio of about 0.03, and multi-walled carbon nanotubes (MWCNT, Nanocyl NC7000, Auvelais, Belgium) with nominal average length and diameter of 1.5 μm and 9.5 nm respectively. All the materials were always kept as dry powders. The Ce concentration in Ce-TiO₂ was determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) in an ACTIVA-S

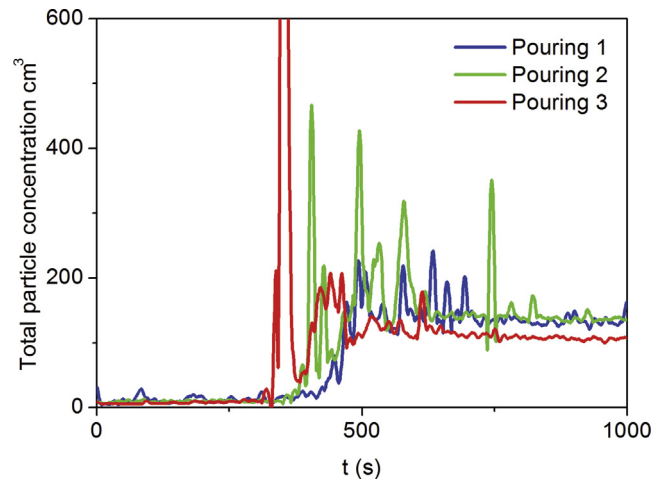


Fig. 1. Total particle concentration reached after the same pouring experiment repeated three times (1000 mg of Ce-doped TiO₂) in a particle-free background.

Horiba-Jobin Yvon (Kyoto, Japan) spectrometer. The morphology and composition of Ce-TiO₂ nanoparticles were analyzed using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive x-ray spectrometry (SEM-EDX) in a FEI-F Inspect microscope coupled to an INCA Penta FETX3 spectrometer. Size and structure of materials were also analyzed by transmission electron microscopy (TEM)

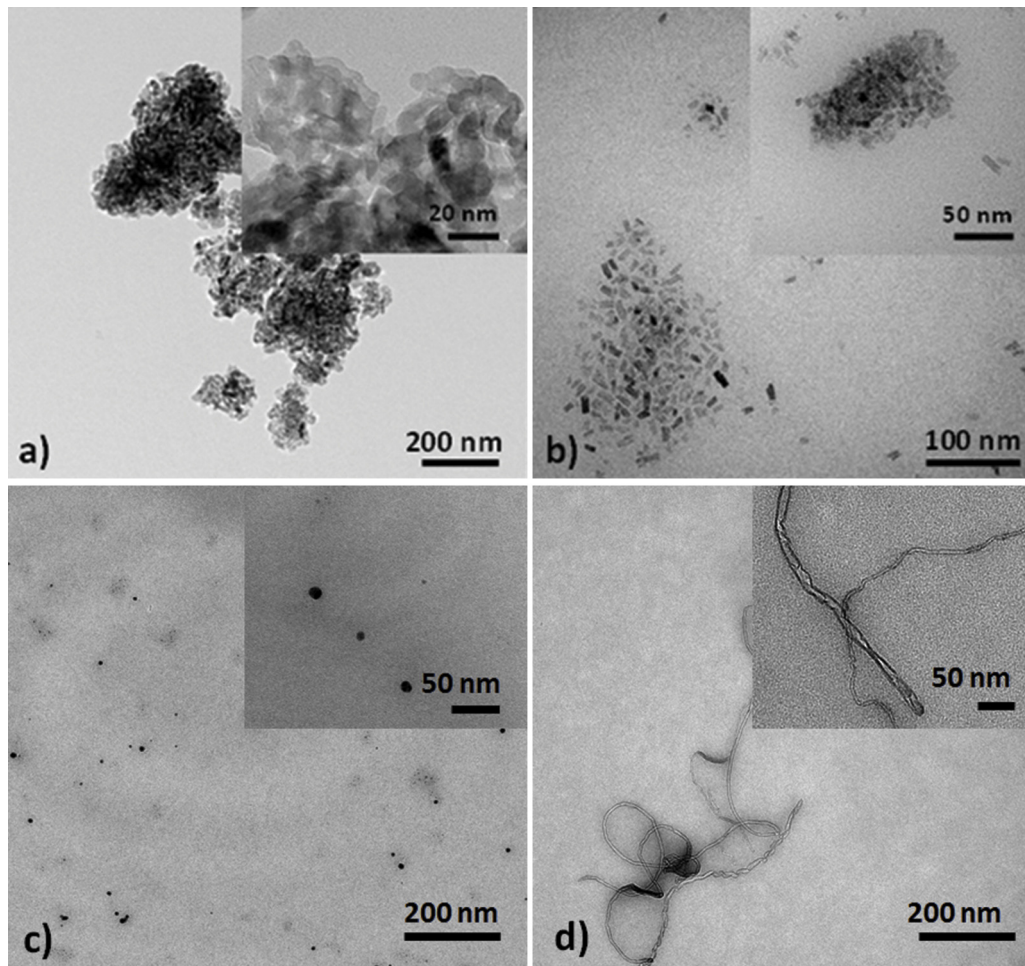


Fig. 2. Transmission electron microscopy images of (a) TiO₂, (b) Ce/TiO₂, (c) SiO₂ and (d) MWCNT nanomaterials (before TEM observation the samples were sonicated and dispersed).

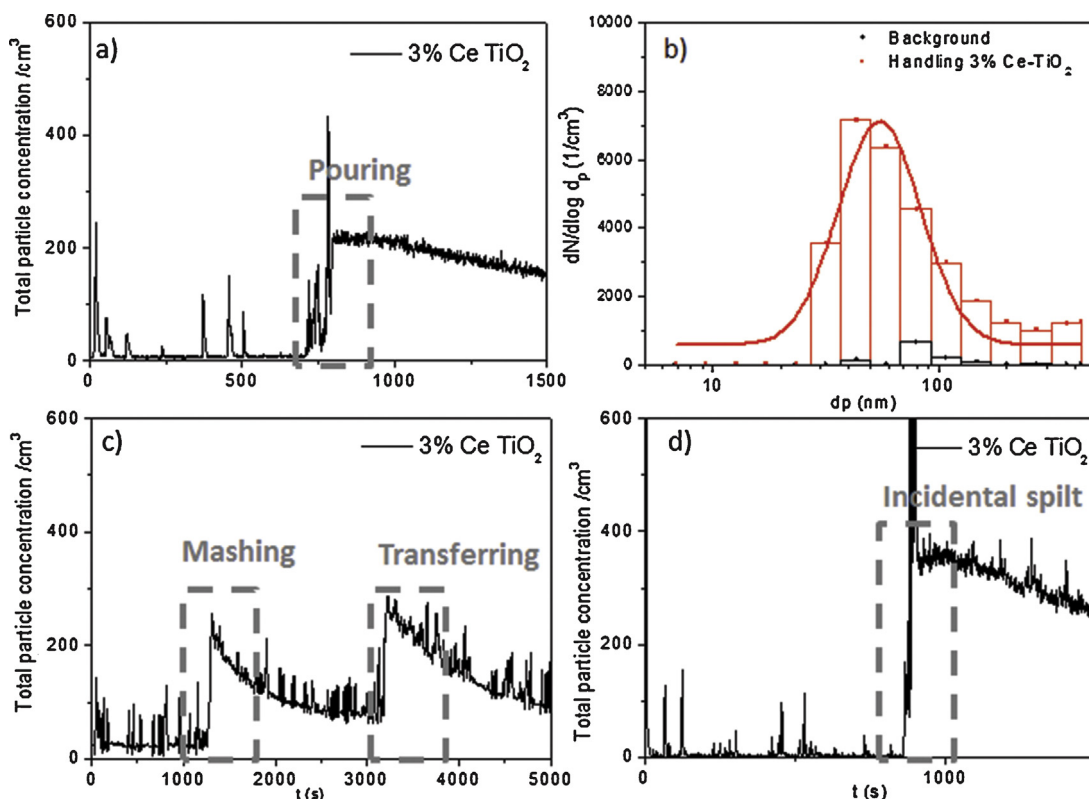


Fig. 3. (a) Aerosol total particle concentration and (b) particle size distribution obtained after pouring, (c) total particle concentration during mashing and (d) incidental spill of 1500 mg of Ce-TiO₂ powder in a particle-free background.

in a FEI Tecnai T20 microscope. Table 1 summarizes some of the material properties.

2.2. Aerosol emission tests during nanomaterial handling operations

All the operations with nanomaterials were conducted inside an acrylic glove box chamber with dimensions of $0.61 \times 0.61 \times 0.71$ m. This isolated work environment avoided the contamination with external particles and protected researchers against emitted nanoparticles, as recently reported [27]. Relative humidity and temperature inside the chamber during the experiments were respectively kept about 30–45% and 22–25 °C. Before and between experiments the samples were stored in a dry atmosphere (in the presence of silica gel) to reduce the moisture effect in dustiness since increased moisture content decreases the amount of dust generated, even when moisture content had little influence on dust size distribution [28]. Before each experiment the chamber inner walls were wiped four times with ghost wipes and flushed with HEPA filtered clean air to ensure a low background level, with particle number concentrations under 50 # cm^{-3} . To ensure a complete mixture of the air inside the chamber and homogeneous distribution of the particle aerosols, an 8-cm fan was switched

on immediately after finishing each handling operation (during manipulation the fan was set off).

Two different approaches were followed for aerosol emission tests. First, to compare the behavior of the same material manipulated in different laboratory activities, the same amount (1500 mg) of synthesized cerium doped titanium dioxide (Ce-TiO₂) nanoparticles was used in the following operations: (1) powdered samples were poured from one 100-mL beaker to another one with the same volume and features (pouring); (2) nanoparticulate samples were hand-mashed with an agate stone mortar for 30 s (mashing); (3) the mashed powders were recovered and transferred to a glass flask using a spatula (transferring); (4) an accidental spilling was simulated by letting glass flask with 1500 mg of Ce-TiO₂ fall flatly from a height of 10 cm over the chamber ground (spilling). In order to probe that the experiments can be quite similar three similar experiments were performed and the standard deviation of the obtained results was calculated. One pouring experiment repeated three times showed a relative standard deviation of less than 15% of the particle concentration (Fig. 1).

On the other hand, to assess the potential of different ENMs for aerosol generation in a specific handling operation (pouring), SiO₂, TiO₂, Ce-TiO₂ and MWCNT were used in an experiment consistent on pouring 500 mg of every nanoparticulate powders as described

Table 2
Peak emission concentration, total removal rate and number emission factors (NEF) calculated after performing several laboratory tasks with 1500 mg of Ce-TiO₂ (particle number concentrations measured using the CPC for aerosol particles between 5 and 1000 nm).

Activity/task	Material ($m = 1500$ mg)	Peak particle number concentration ^a (# cm^{-3})	Total removal rate ($\times 10^{-4} \text{ # s}^{-1}$)	Number emission factor NEF ($\times 10^5 \text{ # s}^{-1}$)
Pouring	Ce-TiO ₂	204	6.2	6.2
Mashing		216	8.8	6.4
Transferring		200	5.0	5.1
Spilling		354	7.0	30.0

^a After subtraction of the background particle number concentration.

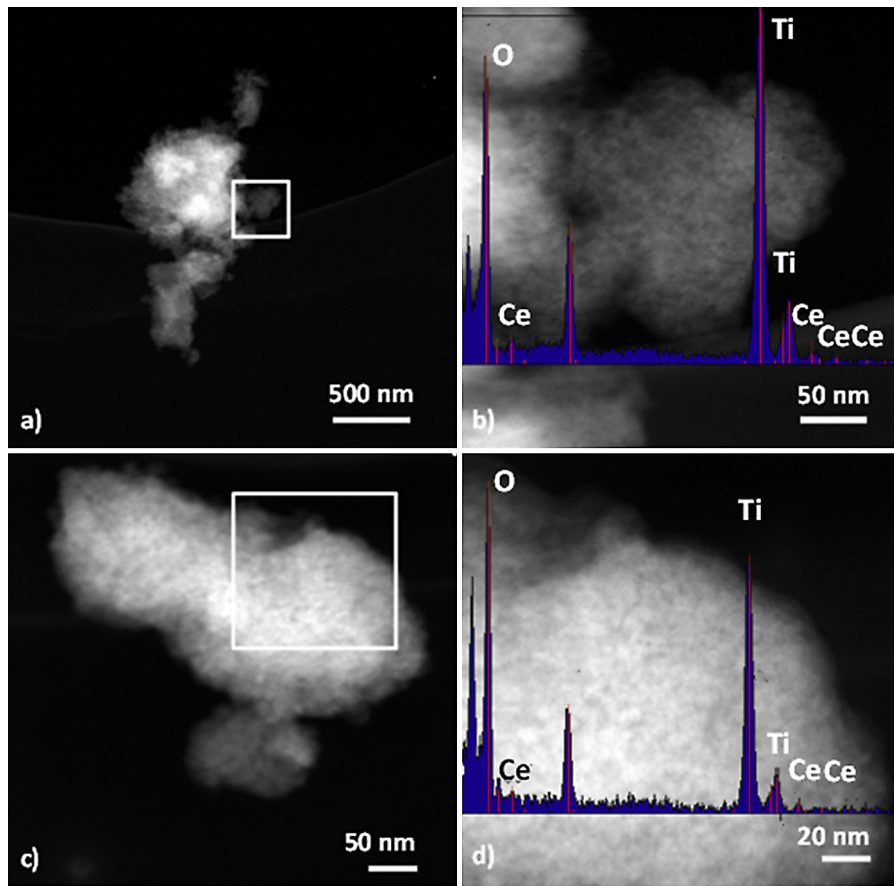


Fig. 4. STEM images (a, b, c, d) and STEM-EDX analysis of Ce-TiO₂ aerosol particles collected in a particle-free background after the pouring experiment.

above. However, to establish the use Ce doping as a labeling procedure with a higher sensitivity, 1500 mg of Ce-TiO₂ nanoparticles were used in a pouring experiment in the presence of ambient air.

The aerosol particles generated during nanomaterial handling tests were monitored online in the range from 5 to 1000 nm with a condensation particle counter (CPC, Grimm-Aerosol Technik, Airing, Germany) at a fixed air flow of 0.3 L/min. A nanoparticle spectrometer at 0.2 L/min of air flow (NPS, Nano-ID NPS500, Particle Measuring Systems–Naneum, UK) was used as well to monitor online particle size distributions of the emitted aerosol particles between 5 and 500 nm (particle size distributions data were discarded for concentrations below 150 particles/cm³). Data was carefully compared taking into account the different cut offs of CPC and NPS. Electrically conductive pipes were used in order to minimize electrostatic losses during aerosol measurements. Airborne dust was collected and analyzed offline using the filtration sampling method described elsewhere [29]. Alternatively, TEM grids were placed on a polycarbonate filter inside a 47-mm diameter stainless steel filter holder with a sampling flow of 0.3 L/min, allowing collection of ENMs during handling operations for offline study. Morphology and shape of collected particles was observed and

analyzed by TEM, scanning transmission electron microscopy (STEM) and energy dispersive X-ray spectrometry (STEM-EDX) using a Tecnai F30 microscope (FEI). The polycarbonate filter was also analyzed using SEM-EDX.

2.3. Calculation of the emission of nanoparticle aerosols during handling operations

In order to estimate the aerosol emissions produced by handling activities, the total number emission factor (NEF) was evaluated. The values of NEFs have been extensively used to evaluate atmospheric urban pollution [30–32] and also in several indoor activities [27,33,34], because they allow a direct comparison among different aerosol emission sources. In the present work, the values of NEFs for every handling operation have been estimated by adapting the mass balance equation to the variation of a time-dependent particle number concentration in an isolated, well-mixed and incompressible volume of air [35,36].

$$\frac{dC_{in}(t)}{dt} = \frac{NEF}{V} - kC_{in}(t) \quad (1)$$

Table 3

Peak emission concentration, total removal rate and number emission factors (NEF) calculated after pouring 500 mg of the nanomaterials (particle number concentrations measured using the CPC for aerosol particles between 5 and 1000 nm).

Activity/task	Material ($m = 500$ mg)	Peak particle number concentration ^a ($\# \text{ cm}^{-3}$)	Total removal rate ($\times 10^{-4} \# \text{ s}^{-1}$)	Number emission factor NEF ($\times 10^5 \# \text{ s}^{-1}$)
Pouring	TiO ₂	31	7.2	1.1
	Ce/TiO ₂	101	3.6	4.1
	MWCNT	44	9.7	1.8
	SiO ₂	20	6.7	3.6

^a After subtraction of the background particle number concentration.

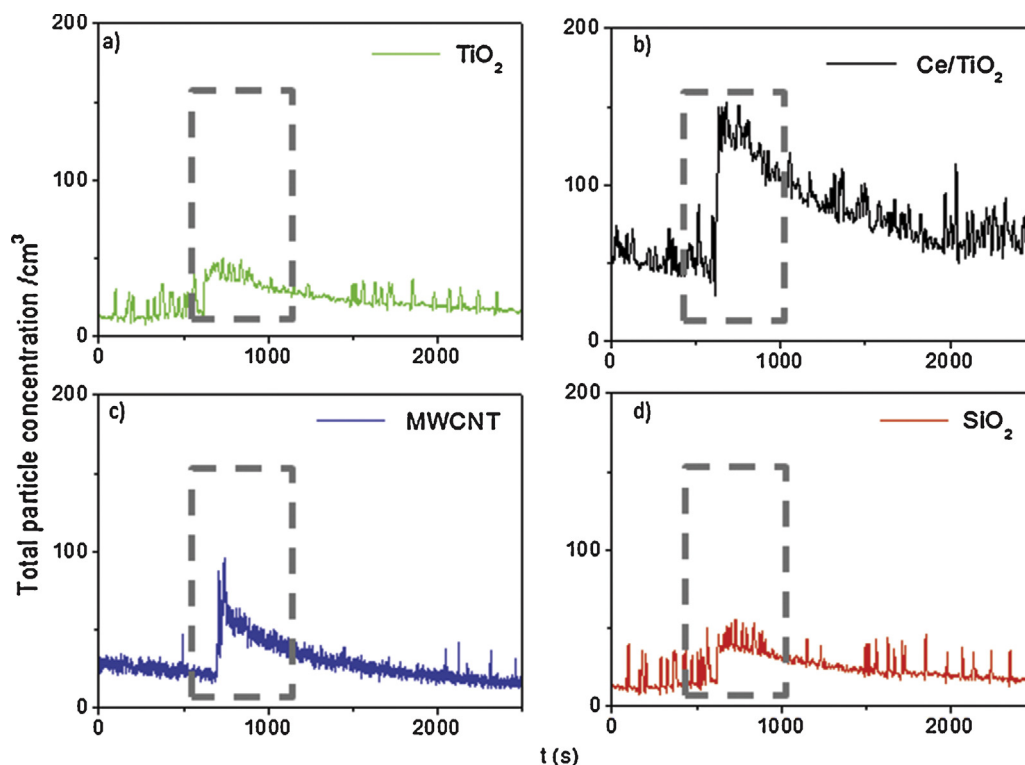


Fig. 5. Time evolution of the total particle number concentration of aerosols generated after pouring 500 mg of (a) TiO_2 , (b) Ce-TiO_2 , (c) MWCNT and (d) SiO_2 , measured using the CPC for particles between 5 and 1000 nm.

The rate of change of particle concentration in the chamber, $C_{in}(t)$, is due to the particle release after handling operations at a rate given by the NEF divided by the mixing volume V minus the decay of particles in the chamber at a total removal rate k , which included air exchange, deposition and exfiltration rates. Assuming that the decay rate was constant during experiments, a solution for the average NEF can be obtained in terms of the average particle concentration by integrating Eq. (1) from $t=0$ to an arbitrary time (t_F) greater than the time during which the particles were handled in the chamber.

$$\bar{\text{NEF}} = V \left[\frac{C_{in}(t_F) - C_{in}(0)}{t_F} + kC_{in}(t_F) \right] \quad (2)$$

The values of NEF due to every handling experiment were estimated by considering that all nanoparticle emission events were removed when every test was finished. Let t_S be the time at which the handling experiment ended, a solution for the NEF due to the nanoparticle generation event could be then obtained by multiplying the average NEF by the ratio of t_S and t_F [36].

$$\text{NEF} = \frac{t_F}{t_S} V \left[\frac{C_{in}(t_F) - C_{in}(0)}{t_F} + kC_{in}(t_F) \right] \quad (3)$$

The values of particle concentrations in the chamber at $t=0$ and $t=t_F$, as well as the average concentration $C_{in}(t_F)$ were obtained from real-time data using the CPC. It was chosen $t_F=300$ s because in all experiments at this time the particle concentration had reached an almost constant value. Finally, the decay parameter k was estimated by solving the balance Eq. (1) from the end of the handling experiment, considering that NEF was equal to zero. A solution in terms of k and the maximum released concentration of particles (C_{MAX}) due to the handling operations was then obtained:

$$\ln C_{in} = -kt + \ln C_{MAX} \quad (4)$$

The value of k was estimated from the slope of linear regression fitting of the plot of $\ln C_{in}$ vs. t for the decay

process. Additional information about the parameterization of this formula could be found in the Supplementary Information file.

3. Results and discussion

3.1. Material characterization

The morphology of the different ENMs was studied by means of TEM (Fig. 2), confirming that primary TiO_2 nanoparticles showed mean size diameters below 25 nm and formed irregular aggregates. Furthermore, the synthesized Ce-TiO_2 particles showed polyhedral shape with sizes in the range 15–20 nm, forming aggregates. The load of cerium in doped Ce-TiO_2 nanoparticles was 2.6% according to ICP-OES measurements. The spherical SiO_2 nanoparticles showed an average diameter around 20 nm and the sizes of MWCNT were smaller than 9.5 nm in diameter and about 1.5 μm in length, showing a high dispersion degree. SEM images of the used MWCNTs can be seen in Fig. 2 SI. The main characteristics of the bulk powders of the ENMs are shown in Table 1.

3.2. Nanoparticle aerosol characterization during handling operations

3.2.1. Aerosol emission during different handling operations in the absence of background nanoparticles

Pouring 1500 mg of Ce-TiO_2 nanoparticles in a background-free chamber leads to maximum particle concentration of 204 $\# \text{cm}^{-3}$ (Fig. 3a and Table 2). In spite of having such a low concentration, the particle size distribution could be measured leading to a count median diameter (CMD) of 65.7 nm with a geometric standard deviation (GSD) of 1.53 (Fig. 3b). Previous studies have also reported particle size diameters below 100 nm during regular pouring process of titanium dioxide nanoparticles in a manufacturing workplace [17]. On the other hand,

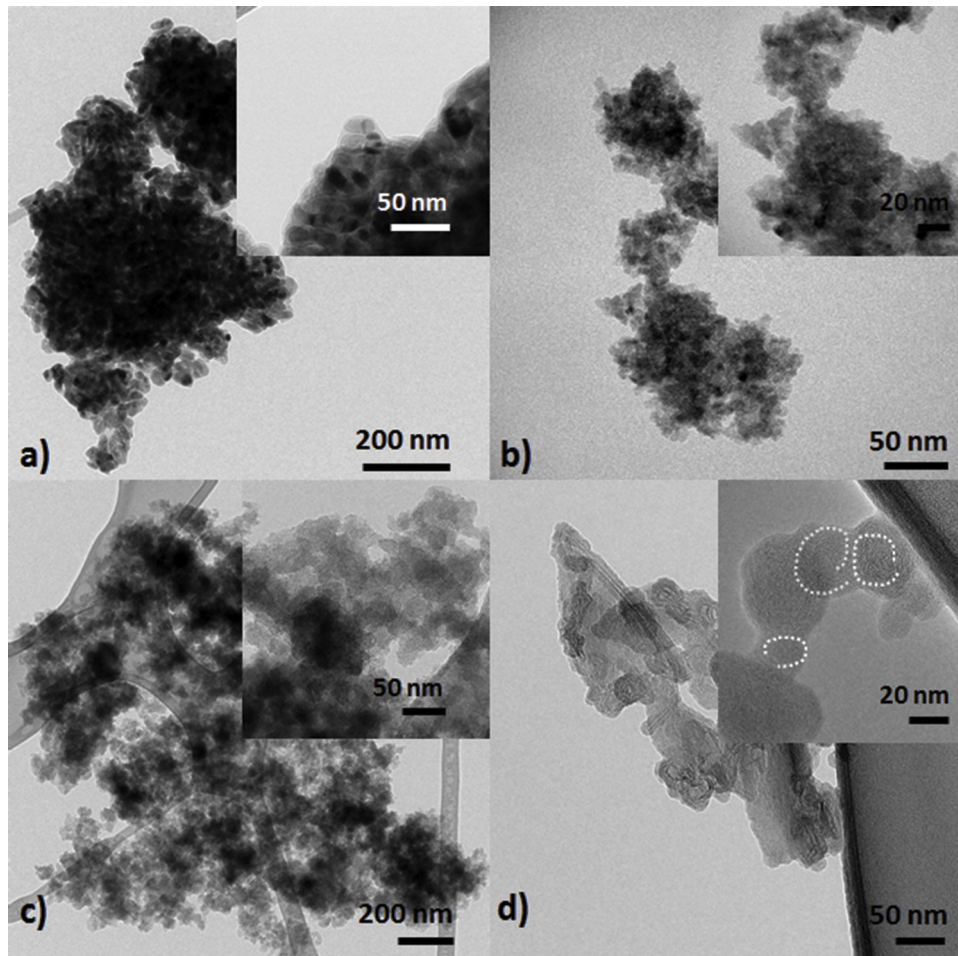


Fig. 6. Transmission electron microscopy images of the different aerosol nanoparticles collected on a TEM grid of (a) TiO_2 , (b) Ce-TiO_2 , (c) SiO_2 and (d) MWCNT, inset: close up view. It can be seen that the tubular shape of the nanotubes is no longer apparent.

dust concentration and number emission factors were similar for all the performed tasks (Table 2) with the exception of the powder spilling where NEF value was one order greater. These results suggest that the dust formation during usual laboratory handling operations was analogous. However, in the case of an accidental spilling a larger emission of particles is generated (Fig. 3d). The obtained NEFs for the different tasks carried out with Ce-TiO_2 powders were in the range of 10^5 – 10^6 $\# \text{s}^{-1}$ in all cases. It is important to notice that the energy applied in these tasks is much lower than other processing techniques, such as sonication [16]. Finally, STEM images of collected aerosol aggregates in a background-free environment (Fig. 4) showed the presence of bright spots corresponding to Ce-TiO_2 nanoparticles. Also, the

chemical composition of the particles analyzed by EDX showed Ce and Ti signals, as well as the Cu and C signals characteristic of the TEM grid.

3.2.1.1. Aerosol generation during pouring of different materials. Once the efficiency of the monitoring methods had been established with 1500 mg of Ce-TiO_2 nanoparticles, the comparison among different materials was carried out using a lower quantity (500 mg), since sub-gram amounts of nanomaterials are more commonly handled in the laboratory. In any case, the total amount of material used in pouring operations has only a limited impact on the maximum and residual concentrations measured (see Fig. 2 SI). The pouring of 500 mg of the ENMs was monitored with

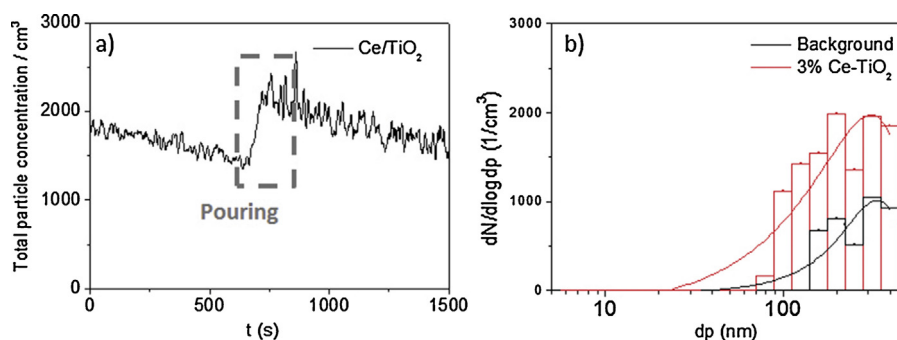


Fig. 7. (a) Aerosol total particle concentration and (b) particle size distribution obtained after the pouring of 1500 mg of Ce-TiO_2 powder in ambient air conditions.

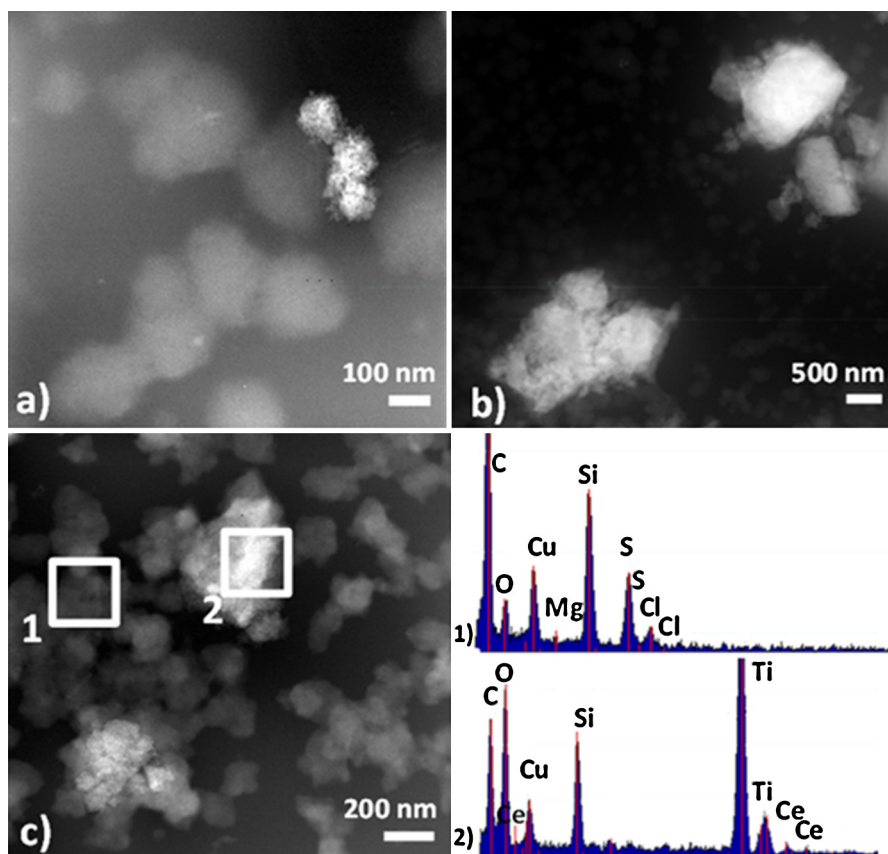


Fig. 8. STEM images (a, b, c) of Ce-TiO₂ aerosol particles collected in ambient air conditions after obtained after the pouring experiment. Square areas (1, 2) in Image 8(c) mark the location of the spot for STEM-EDX analysis.

the CPC (Table 3 and in Fig. 5), showing that the highest particle aerosol concentration was detected during handling Ce-TiO₂ nanoparticles, with a maximum value around 100 #cm⁻³. Except for this material, particle total concentrations were below 100 #cm⁻³ in for TiO₂, SiO₂ and MWCNT nanomaterials. Since the agglomeration of released MWCNTs during tests produced nearly spherical aggregates in aerosol state, these objects can be effectively determined using the aerosol spectrometers without further modifications in the measuring method. This is in agreement with Maynard et al. [37] that also found low aerosol mass concentrations while handling unrefined SWCNTs. Since the chemical composition and primary particle sizes of Ce-TiO₂ and TiO₂ were similar, the higher emission rates observed for the synthesized ENMs are probably related to their lower original degree of agglomeration (Fig. 2).

Dust morphology was studied using TEM (Fig. 6), showing the presence of agglomerates and aggregates without detecting free single nanoparticles [38,39]. The forces generated during the handling processes were not enough to break agglomerates in primary particles, in agreement with results from the literature [11,17]. Moreover, structural differences were noticed in the collected nanomaterials. While TiO₂ and Ce-TiO₂ dust particles appeared compactly packed, aerosol SiO₂ particles were loosely packed (Fig. 6c), as was also observed by O'Shaughnessy on amorphous SiO₂ nanopowder [4].

In general, MWCNTs tended to form ball-shaped bundles with a low density. A number of studies have tested the release of CNTs during handling processes [16,18,37,40–42]. Most of the particles collected during the harvesting process in pilot-scale plant were micron-sized agglomerates or aggregates of CNTs [16,41].

Johnson et al. [16] collected TEM samples from the aerosol produced by handling CNTs inside a lab hood and found no typical tubular structures of raw MWCNT. However, Methner et al. [18] reported that carbon nanofibers could be released as free fibers, bundles or agglomerates during dry handling. Commonly carbon nanotubes show a strong tendency to form bundles and, consequently, they are present as disperse entities only in special conditions or after high-energy processes such as sonication [43]. However, the effect of the collecting procedure that could allow small individual nanotube to pass through filters, should not be ruled out [16].

In this study, the collected airborne samples when handling MWCNTs shows two kinds of collected particles, the nanotube bundles or aggregates shown in Fig. 6d and particles where MWCNT had lost their tubular form (Fig. 6d inset). This is in agreement with previous reported results [16,18]; collected particles from handling raw MWCNTs do not present typical tubular structures but it could be due to the low efficiency of filter membranes. It is interesting to note that the accuracy of the aerosol spectrometers could be affected when measuring large aspect ratio nanoparticles, such as MWCNT. Nevertheless, the TEM images of the collected airborne matter showed the formation of spheroidal aggregates that might be effectively detected using the NPS500.

3.2.2. Aerosol emission during pouring of Ce-TiO₂ in the presence of background nanoparticles

Powder manipulation was studied in the presence of background airborne matter by pouring Ce-TiO₂. Under the conditions used, it should be noticed that the contribution of background particles to the total concentration is about one order of magnitude

larger than the nanoparticle aerosols generated in the previous pouring experiment (Fig. 3). However, an increase in the total particle concentration was observed when pouring 1500 mg of nanoparticles, as shown in Fig. 7a. The particle size distribution shown in Fig. 7b was measured during some minutes after the pouring using the SMPS mode in the NPS. Comparing the particle size distribution measured with that in the absence of background (Fig. 3b) it can be seen that particles with sizes under 100 nm have almost disappeared. These strongly suggest that ENPs were quickly associated to the background particles due to some interaction effects among particles in aerosol state.

To confirm the heterogeneous coagulation, particle collected samples were analyzed. The STEM images obtained for collected Ce-TiO₂ nanoparticles showed some brighter spots that could be attributed to the trace Ce atoms in the anatase structure (Fig. 8). The STEM-EDX analysis of samples collected in the presence of background particles showed Ti and Ce signals (see spectrum 2 in Fig. 8c), which allowed the discrimination of the ENMs, since Ce is absent from background material. The STEM-EDX analysis also showed the signals attributed to Mg, S and Cl in the collected matter in ambient air conditions (see spectrum 1 in Fig. 8c). These results were in agreement with those reported by Kumar et al. [44], who stated that some of the most common atmospheric nanoparticles, with sizes under 300 nm, were sulfur and carbonaceous compounds. The TEM images showed that background particles were present as agglomerates of hundreds of nanometers. Besides, some kind of interaction took place between atmospheric and engineered particles because mixed agglomerates could be observed in the TEM images of Fig. 8. This further suggests some kind of interparticle interaction when released matter becomes airborne, which is similar to the effect described by Seipenbusch et al. [24] for highly concentrated particle backgrounds. The measured particle size distributions confirmed this behavior since, as aroused from the comparison of Figs. 3b and 7b, the presence of background matter induced an increase in the values of CMD from 65 nm to 340 nm after the release of Ce-TiO₂ during handling operations.

4. Conclusions

Common laboratory operations induce the generation of nanoparticle aerosols with NEF values between 10⁵ and 10⁶ # s⁻¹. Those emission values are lower than other indoor emission sources in workplaces where higher energy processes such as soldering or welding are involved. In order to apply the NEFs calculations it was assumed that air exchange and decay rates were constant during experiments to obtain a solution in terms of the average concentration. Only aggregates and agglomerates were found in the produced aerosols. Different manipulation processes of the same material (transferring, mashing, pouring, and spilling from a low height) generated similar particle concentration levels, which is probably related to the fact that the total amount of mechanical energy transferred to the particles is low. Experiments using titanium dioxide nanoparticles labeled with cerium showed the rapid interaction between the emitted nanoparticles and ambient aerosols.

Acknowledgements

Authors thank financial support through research projects Nanosost (PSE-420000-2008-3) of the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and NanoValid (Contract No. #263147) of the European Union FP7 framework programme. F.B thanks the "Ramon y Cajal" program and V.G. acknowledges the FPU scholarship AP2008-02067.

Appendix A. Supplementary data

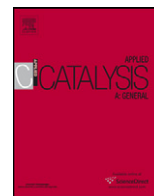
Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.06.064>.

References

- [1] L.C. Abbott, A.D. Maynard, Exposure assessment approaches for engineered nanomaterials, *Risk Anal.* 30 (2010) 1634–1644.
- [2] T.J. Baker, C.R. Tyler, T.S. Galloway, Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms, *Environ. Pollut.* 186 (2014) 257–271.
- [3] S.J. Klaine, P.J. Alvarez, G.E. Batley, T.F. Fernandes, R.D. Handy, D.Y. Lyon, S. Mahendra, M.J. McLaughlin, J.R. Lead, Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects, *Environ. Toxicol. Chem.* 27 (2008) 1825–1851.
- [4] P.T. O'Shaughnessy, Occupational health risk to nanoparticulate exposure, *Environ. Sci.: Processes & Impacts* 15 (2013) 49–62.
- [5] F. Balas, M. Arruebo, J. Urrutia, J. Santamaria, Reported nanosafety practices in research laboratories worldwide, *Nat. Nanotechnol.* 5 (2010) 93–96.
- [6] K.A. Jensen, I.K. Koponen, P.A. Clausen, T. Schneider, Dustiness behaviour of loose and compacted Bentonite and organoclay powders: what is the difference in exposure risk? *J. Nanoparticle Res.* 11 (2009) 133–146.
- [7] I.K. Koponen, K.A. Jensen, T. Schneider, Comparison of dust released from sanding conventional and nanoparticle-doped wall and wood coatings, *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 21 (2011) 408–418.
- [8] C.-J. Tsai, C.-Y. Huang, S.-C. Chen, C.-E. Ho, C.-H. Huang, C.-W. Chen, C.-P. Chang, S.-J. Tsai, M.J. Ellenbecker, Exposure assessment of nano-sized and respirable particles at different workplaces, *J. Nanoparticle Res.* 13 (2011) 4161–4172.
- [9] P.T. O'Shaughnessy, M. Kang, D. Ellickson, A novel device for measuring respirable dustiness using low-mass powder samples, *J. Occup. Environ. Hyg.* 9 (2011) 129–139.
- [10] G. Liden, Dustiness testing of materials handled at workplaces, *Ann. Occup. Hyg.* 50 (2006) 437–439.
- [11] T. Schneider, K.A. Jensen, Combined single-drop and rotating drum dustiness test of fine to nanosize powders using a small drum, *Ann. Occup. Hyg.* 52 (2008) 23–34.
- [12] F. Hamelmann, E. Schmidt, Methods for characterizing the dustiness estimation of powders, *Chem. Eng. Technol.* 27 (2004) 844–847.
- [13] C.-J. Tsai, G.-Y. Lin, C.-N. Liu, C.-E. He, C.-W. Chen, Characteristic of nanoparticles generated from different nano-powders by using different dispersion methods, *J. Nanoparticle Res.* 14 (2012) 1–12.
- [14] D.E. Evans, L.A. Turkevich, C.T. Roettgers, G.J. Deye, P.A. Baron, Dustiness of fine and nanoscale powders, *Ann. Occup. Hyg.* 57 (2013) 261–277.
- [15] S.-J. Tsai, E. Ada, J.A. Isaacs, M.J. Ellenbecker, Airborne nanoparticle exposures associated with the manual handling of nanoalumina and nanosilver in fume hoods, *J. Nanoparticle Res.* 11 (2009) 147–161.
- [16] D.R. Johnson, M.M. Methner, A.J. Kennedy, J.A. Steevens, Potential for occupational exposure to engineered carbon-based nanomaterials in environmental laboratory studies, *Environ. Health Persp.* 118 (2010) 49–54.
- [17] S. Ham, C. Yoon, E. Lee, K. Lee, D. Park, E. Chung, P. Kim, B. Lee, Task-based exposure assessment of nanoparticles in the workplace, *J. Nanoparticle Res.* 14 (2012) 1–17.
- [18] M. Methner, C. Crawford, C. Geraci, Evaluation of the Potential Airborne Release of Carbon Nanofibers During the Preparation, Grinding, and Cutting of Epoxy-Based Nanocomposite Material, *J. Occup. Environ. Hyg.* 9 (2012) 308–318.
- [19] E. Demou, W.J. Stark, S. Hellweg, Particle emission and exposure during nanoparticle synthesis in research laboratories, *Ann. Occup. Hyg.* 53 (2009) 829–838.
- [20] M. Leppänen, J. Lyyrinen, M. Järvelä, A. Auvinen, J. Jokiniemi, J. Pimenoff, T. Tuomi, Exposure to CeO₂ nanoparticles during flame spray process, *Nanotoxicology* 6 (2012) 643–651.
- [21] T. Walser, S. Hellweg, R. Juraske, N.A. Luechinger, J. Wang, M. Fierz, Exposure to engineered nanoparticles: model and measurements for accident situations in laboratories, *Sci. Total Environ.* 420 (2012) 119–126.
- [22] W.W. Nazaroff, Inhalation intake fraction of pollutants from episodic indoor emissions, *Build. Environ.* 43 (2008) 269–277.
- [23] M. Methner, L. Hodson, A. Dames, C. Geraci, Nanoparticle emission assessment technique (NEAT) for the identification and measurement of potential inhalation exposure to engineered nanomaterials—Part B: results from 12 field studies, *J. Occup. Environ. Hyg.* 7 (2009) 163–176.
- [24] M. Seipenbusch, A. Binder, G. Kasper, Temporal evolution of nanoparticle aerosols in workplace exposure, *Ann. Occup. Hyg.* 52 (2008) 707–716.
- [25] M. Ono-Ogasawara, F. Serita, M. Takaya, Distinguishing nanomaterial particles from background airborne particulate matter for quantitative exposure assessment, *J. Nanoparticle Res.* 11 (2009) 1651–1659.
- [26] V. Gomez, A.M. Balu, J.C. Serrano-Ruiz, S. Irusta, D.D. Dionysiou, R. Luque, J. Santamaria, Microwave-assisted mild-temperature preparation of neodymium-doped titania for the improved photodegradation of water contaminants, *Appl. Catal. A: Gen.* (2012) 47–53.
- [27] V. Gómez, S. Irusta, F. Balas, J. Santamaria, Intense generation of respirable metal nanoparticles from a low-power soldering unit, *J. Hazard. Mater.* (2013).

- [28] M.A.E. Plinke, R. Maus, D. Leith, Experimental examination of factors that affect dust generation by using Heubach and Mri testers, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 53 (1992) 325–330.
- [29] A. Clemente, F. Balas, M.P. Lobera, S. Irusta, J. Santamaría, Fluidized bed generation of stable silica nanoparticle aerosols, *Aerosol Sci. Technol.* 47 (2013) 874–876.
- [30] F. Wang, M. Ketzel, T. Ellermann, P. Wahlin, S.S. Jensen, D. Fang, A. Massling, Particle number, particle mass and NO_x emission factors at a highway and an urban street in Copenhagen, *Atmos. Chem. Phys.* 10 (2010) 2745–2764.
- [31] P. Kumar, M. Ketzel, S. Vardoulakis, L. Pirjola, R. Britter, Dynamics and dispersion modelling of nanoparticles from road traffic in the urban atmospheric environment—a review, *J. Aerosol Science* 42 (2011) 580–603.
- [32] G.A. Ban-Weiss, M.M. Lunden, T.W. Kirchstetter, R.A. Harley, Size-resolved particle number and volume emission factors for on-road gasoline and diesel motor vehicles, *J. Aerosol Sci.* 41 (2010) 5–12.
- [33] G. Buonanno, L. Morawska, L. Stabile, Exposure to welding particles in automotive plants, *J. Aerosol Sci.* 42 (2011) 295–304.
- [34] G. Buonanno, L. Morawska, L. Stabile, Particle emission factors during cooking activities, *Atmos. Environ.* 43 (2009) 3235–3242.
- [35] C.R. He, L.D. Morawska, J. Hitchins, D. Gilbert, Contribution from indoor sources to particle number and mass concentrations in residential houses, *Atmos. Environ.* 38 (2004) 3405–3415.
- [36] A.R. Ferro, R.J. Kopperud, L.M. Hildemann, Source strengths for indoor human activities that resuspend particulate matter, *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 1759–1764.
- [37] A.D. Maynard, P.A. Baron, M. Foley, A.A. Shvedova, E.R. Kisin, V. Castranova, Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material, *J. Toxicol. Environ. Health A* 67 (2004) 87–107.
- [38] J. Jiang, G. Oberdorster, P. Biswas, Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies, *J. Nanoparticle Res.* 11 (2009) 77–89.
- [39] T. Schneider, K. Jensen, Relevance of aerosol dynamics and dustiness for personal exposure to manufactured nanoparticles, *J. Nanoparticle Res.* 11 (2009) 1637–1650.
- [40] D. Brouwer, Exposure to manufactured nanoparticles in different workplaces, *Toxicology* 269 (2010) 120–127.
- [41] I. Ogura, M. Kotake, N. Hashimoto, K. Gotoh, A. Kishimoto, Iop, Release characteristics of single-wall carbon nanotubes during manufacturing and handling, *Nanosafe 2012: International Conferences on Safe Production and Use of Nanomaterials* 429 (2013).
- [42] I. Ogura, H. Sakurai, K. Mizuno, M. Gamo, Release potential of single-wall carbon nanotubes produced by super-growth method during manufacturing and handling, *J. Nanoparticle Res.* 13 (2011) 1265–1280.
- [43] Y.Y. Huang, E.M. Terentjev, Dispersion of carbon nanotubes: mixing, sonication, stabilization, and composite properties, *Polymers* 4 (2012) 275–295.
- [44] P. Kumar, P. Fennell, A. Robins, Comparison of the behaviour of manufactured and other airborne nanoparticles and the consequences for prioritising research and regulation activities, *J. Nanoparticle Res.* 12 (2010) 1523–1530.

ARTÍCULO 6



Microwave-assisted mild-temperature preparation of neodymium-doped titania for the improved photodegradation of water contaminants

Virginia Gomez^{a,b,1}, Alina Mariana Balu^c, Juan Carlos Serrano-Ruiz^c, Silvia Irusta^{a,b,*}, Dionysios D. Dionysiou^d, Rafael Luque^{c,**}, Jesús Santamaría^{a,b,1}

^a Instituto de Nanociencia de Aragón (INA), Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018 Zaragoza, Spain

^b Networking Research Center on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine, CIBER-BBN, Spain

^c Departamento de Química Organica, Universidad de Cordoba, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario Ceia3, Edificio Marie Curie (C-3), Ctra Nnal IV-A, Km 396, E-14014 Cordoba, Spain

^d Environmental Engineering and Science Program, 705 Engineering Research Center, University of Cincinnati, Cincinnati, OH 45221-0012, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 May 2012

Received in revised form 19 June 2012

Accepted 4 July 2012

Available online 10 July 2012

Keywords:

Neodymium

Titania

Photocatalysis

Phenols

Band gap

Water treatment

ABSTRACT

Nd-doped titania materials prepared using a mild microwave-assisted protocol have been found to possess excellent activities in the photodegradation of water contaminants including phenol and Rhodamine B. These materials were characterized by a number of techniques including N₂ adsorption, X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The prepared materials showed high surface area, with the highest value for the catalyst containing a Nd/Ti ratio of 0.03 (341 m²/g). The dopant agent was found to be as Nd³⁺ ions located on the surface and in the inter-planar space of titanium oxide crystals. Effects of the surface area together with the Nd content and the adsorption ability of the material seem to be involved in the optimum photocatalytic activity found for 0.5%Nd (Nd0.005/TiO₂) and 6%Nd (Nd0.06/TiO₂) containing materials.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Photocatalytic processes have been the subject of intensive research in recent years in efforts to switch to more sustainable and environmentally friendly technologies and methods [1,2]. Heterogeneous photocatalysis is a broad and important field with a remarkable number of applications which include removal of pollutants, reductions, isomerisations, substitutions, condensations, polymerisations, and water splitting for hydrogen generation [3]. One of these important applications of heterogeneous photocatalysis in the environmental area is the degradation of organic contaminants in water, which is a simple and low cost process and has attracted a great deal of attention in the last few decades [1,4,5]. The classical methodology involves illumination of aqueous systems containing suspended catalytic particles or immobilized films with near UV light, resulting in the formation of

photogenerated species (i.e., holes and electrons in the valence and conduction bands of a semiconductor photocatalyst, respectively). These photogenerated species subsequently take part in redox reactions with adsorbed species at the surface of the catalyst, including reactions that involve the degradation of the target environmental contaminants.

Phenols are among the most common contaminants that could be found in water and, due to their high toxicity, they have been strictly regulated [6]. Furthermore, their complete removal from water is relatively difficult due to their high stability in solution. Toxic and non-biodegradable dye pollutants from the textile industry such as Rhodamine B are also main sources of water contamination [7] and, consequently, their removal from effluent water streams is also of interest.

Rhodamine B (RhB), a suspected carcinogen, is widely used in paper, textile, leather, and paint industries. Like other synthetic dyes, RhB is also discharged into the surface waters both during its manufacture and from the dyeing industries. This imparts the presence of color and toxicity in the receiving water bodies, which is highly undesirable to the water consumers [8]. Consequently, efficient removal of Rhodamine B from water has drawn significant attention.

Nanocrystalline titanium dioxide (TiO₂) materials have been widely used as photocatalysts in many of the above mentioned

* Corresponding author at: Instituto de Nanociencia de Aragón (INA), Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018 Zaragoza, Spain. Tel.: +34 976763514; fax: +34 976761879.

** Corresponding author. Tel.: +34 957211050; fax: +34 957212066.

E-mail addresses: sirusta@unizar.es (S. Irusta), q62alsor@uco.es (R. Luque).

¹ Tel.: +34 976763514; fax: +34 976 761879.

processes due to their excellent properties, including thermal and chemical stability, low toxicity and cost and, especially, their ability to generate charged carriers for redox reactions upon illumination with UV light (<388 nm) [9–11]. In terms of photocatalytic applications, the anatase crystalline form of titania has been reported to present the best combination of photoactivity and photostability and, consequently, it has been widely used in these type of processes [12]. Despite the aforementioned good characteristics, titania presents several important limitations as a photocatalyst. The main limitation of this material lies in the lack of photocatalytic activity under visible light [13,14] which forces application under UV light conditions. For example, anatase TiO₂, the most widely used crystal phase of TiO₂ in photocatalytic applications, has a band gap energy of 3.2 eV, which requires optical absorption band at about 350 nm thereby avoiding efficient solar light photocatalytic activity (only ca. 5% of the solar light energy is in the UV range and can be absorbed by TiO₂). With these aspects in mind, there has been an intense search for novel and more efficient titania-based materials with improved photocatalytic efficiency under visible and/or sunlight irradiation [15,16].

One of the most common strategies utilized for improving absorption efficiency of visible light in titania involves modification and/or doping with elements of different nature such as sulfur [17], carbon, and nitrogen [13]. Improved photocatalytic properties of doped-TiO₂ materials have been attributed to: (i) the generation of mid gap energy sensitization levels from doping agents; (ii) the formation of oxygen vacancies that absorb the visible light irradiation [18]; and (iii) the trapping of the photon-generated charge carriers (electron/holes) that prevents their recombination, thereby extending their lifetime [19].

The addition of lanthanide metal ions, such as neodymium (Nd³⁺), has been shown to increase the photocatalytic activity of titania for the removal of nitrite [16], chromium (VI) compounds [20,21], and 2-chlorophenols [22]. The beneficial effect of lanthanide-doped materials for photocatalytic removal has been ascribed to the presence of vacant f-orbitals which facilitate generation of intermediate energy states (thereby reducing the band gap toward visible light radiation) and facilitate adsorption of organic pollutants by the formation of metal complexes [16].

Herein we report a simple and efficient preparation of neodymium-doped titania materials for the photocatalytic removal of two important water contaminants such as phenol and Rhodamine B. The catalysts were synthesized by a microwave-assisted route that allows preparation of Nd–TiO₂ materials at mild temperature conditions. These materials showed improved photocatalytic activity as compared with commercial TiO₂ (Evonik) in the removal of these important contaminants. Furthermore, the addition of Nd to TiO₂ allows a significant reduction of the band gap of TiO₂ facilitating the absorption of light in the visible range.

2. Experimental

2.1. Catalysts preparation

Nd-doped TiO₂ nanoparticles were prepared by using a microwave process in a modification of the method proposed by Hart et al. [23]. Briefly, 2 mL titanium (IV) propoxide (Sigma–Aldrich, 97%) and 30 mL of absolute ethanol (Panreac, analytical grade) were mixed under magnetic stirring after which 3 mL of acetic acid (Panreac) were added. Different amounts of neodymium (III) nitrate were added in order to obtain Nd/Ti atomic ratios 0.005, 0.01, 0.03, and 0.06 (Nd0.005, Nd0.01, Nd0.03, and Nd0.06). After 5 min under magnetic stirring, 5 mL of deionised water were added and finally the mixture was poured into an autoclave that was then sealed and heated up in a microwave oven

(Ethos Plus) up to 120 °C (measured by IR) for 15 min. The final solid was isolated by centrifugation, thoroughly washed with ethanol several times and dried at 80 °C during 24 h. No further calcinations were carried out. Un-doped TiO₂ was prepared following the same procedure for the sake of comparison.

2.2. Catalysts characterization

The crystal structure, purity, and crystallinity degree were studied by X-ray diffraction in a Rigaku/Max System RU 300. The textural properties of Nd-doped TiO₂ nanoparticles were measured by nitrogen adsorption at 77 K in a Micromeritics TriStar analyzer (Micromeritics, Norcross GA). Samples (0.5 g) were out-gassed at 26.7 Pa and 350 °C for 6 h before performing adsorption experiments. Surface area was determined using the BET equation. Pore size distribution was determined using the BJH data reduction scheme in the desorption branch of the isotherms.

The morphology, composition, and distribution of elements in the nanoparticles were analyzed using scanning electron microscopy, SEM-EDX (FEI-F Inspect and INCA Penta FETX3). Size and crystalline structure of materials were also analyzed by transmission electron microscopy, TEM (Tecnai T20) and scanning transmission electron microscopy, STEM (Titan Low-base). Statistical size-distribution histograms for the resulting nanoparticles were produced from SEM and TEM images using Image J software (sample size = 30).

X-ray photoelectron analysis (XPS) was performed with an Axis Ultra DLD (Kratos Tech.). The samples were mounted on a sample rod placed in the pretreatment chamber of the spectrometer and then evacuated at room temperature. The spectra were excited by the monochromatized AlK α source (1486.6 eV) run at 12 kV and 10 mA. For the individual peak regions, a pass energy of 20 eV was used. Survey spectrum was measured at 160 eV pass energy. Analyses of the peaks were performed with the CasaXPS software, using a weighted sum of Lorentzian and Gaussian components curves after Shirley background subtraction. The binding energies were referenced to the internal C 1s (284.9 eV) standard.

2.3. Photocatalytic tests

Photocatalytic tests (phenol oxidation) were performed in a Pyrex immersion well reactor. Briefly, 150 mL of a 50 ppm phenol solution in water were mixed with the catalyst (1 g/L of solid) upon stirring (900 rpm) to produce a uniform suspension. The reactions were carried out under ambient air (no oxygen bubbling through the phenol solution). Prior to illumination, a photocatalyst–substrate equilibration was conducted by stirring the suspension 45 min in the dark. UV illumination of the reaction solutions was provided by a medium pressure mercury lamp (400 W) supplied by Applied Photophysics of photon flux ca. 2.6×10^{-7} einstein $s^{-1} L^{-1}$ (maximum wavelength of 365 nm). The lamp was placed inside the batch reactor surrounded by a double quartz jacket where a water stream keeps the temperature of the solution at 25 °C. The concentration of the target contaminants was measured by means of an HPLC equipped with a PDA detector and an Eclipse XDB-C18 column, 5 μ m/4.6 \times 150 mm. The mobile phase was water/methanol (65:35) at a flow rate of 0.8 mL/min band. Samples of about 1.5 mL were removed periodically during the experiments and filtered (Millipore Millex25 0.45 μ m membrane filter) prior to HPLC measurements. Blank experiments were performed in the dark as well as with illumination and no catalyst, without observable change in the initial concentration of phenol in both cases.

A set of experiments has been performed in order to study Rhodamine B (RhB) degradation under UV light (same as described above) in a different experimental setup. An aqueous solution

Table 1
Nd/Ti atomic ratio, structural parameters and surface area for TiO₂, and Nd-doped TiO₂ samples obtained by EDX, XPS, XRD, and nitrogen adsorption.

Sample	XRD				Surface area (m ² /g)	Nd/Ti atomic ratio	
	Crystallite size (nm)	<i>d</i> ₁₀₁ (Å)	<i>a</i> (Å)	<i>c</i> (Å)		EDX	XPS
TiO ₂	6.92	3.52	3.80	9.64	239	–	–
Nd0.005/TiO ₂	6.39	3.55	3.80	9.42	341	0.0067	0.0132
Nd0.01/TiO ₂	6.46	3.54	3.80	9.91	291	0.0101	0.0220
Nd0.03/TiO ₂	5.79	3.53	3.80	9.61	258	0.0253	0.0474
Nd0.06/TiO ₂	6.23	3.54	3.80	9.81	229	0.0353	0.0737

containing 125 ppm Rhodamine B was prepared and UV–vis spectra were measured after 45 min of magnetic stirring in the dark (blank runs). Catalyst particles were subsequently dispersed in the RhB solution in order to prepare 1 mg mL⁻¹ dispersions. Dispersions were then stirred to investigate the photocatalytic activity of the prepared materials under the light of a UV-215L lamp (maximum wavelength of 365 nm). The evolution of Rhodamine B degradation was measured by UV–vis with a Jasco V-670 spectrophotometer. Samples of about 1.5 mL were withdrawn at 20 min intervals (during 2 h of irradiation) and filtered (Millipore Millex 0.45 μm membrane filter) prior to UV–vis measurements. Blank experiments were performed in the dark as well as with illumination and in the absence of catalyst, without observable change in the initial concentration of Rhodamine B in both cases.

3. Results and discussion

XRD diffraction patterns of the Nd-doped TiO₂ samples are shown in Fig. 1. The obtained catalyst particles showed diffraction peaks at 25.3, 37.8, 48.0, 53.9, 55.1, and 62.7° for all the tested Nd concentrations, which can be assigned to the titania anatase structure (JCPDS N° 2000), the more reactive polymorph of TiO₂ [1]. Interestingly, no diffraction lines for Nd species were detected indicating that the Nd loading and/or crystal size could be below the detection limit of the technique. The broad diffraction peaks obtained prevented us from observing any possible shift in the peak maxima with Nd content that could be ascribed to the incorporation of Nd ions in the TiO₂ lattice. This fact, along with the very slight increase in the distance between (1 0 1) planes and the similar “*a*” and “*c*” cell parameters of doped samples compared to pristine TiO₂ (Table 1), suggest that a very small percentage of the total Nd added, if any, would be substituting Ti⁴⁺ in the TiO₂ lattice. The very different ionic radii of Nd³⁺ and Ti⁴⁺ (0.99 and 0.68 Å, respectively) further supports this hypothesis. Rather than in substitutional Ti⁴⁺ positions, Nd species might be preferentially located on the surface

of TiO₂ and/or in the octahedral interstices of the titania lattice [19]. The crystallite sizes, calculated using the Debye–Scherrer equation for the anatase (1 0 1) diffraction peaks, are shown in Table 1. The crystallite size of doped solids is slightly lower compared to pure TiO₂ (6.92 nm), this effect has been previously attributed to the adsorption of Nd on the surface of TiO₂ which inhibits crystallite growth [24,25]. Similar particle size stabilizing effects have been reported for La-doped TiO₂ [26].

Fig. 2a shows the SEM micrographs obtained for the Nd0.03 sample. Inset shows the EDX elemental analysis of the sample with a strong K peak of elemental O, Ti, and Nd. The intensity of these signals was used to calculate Nd/Ti atomic ratios (Table 1) and the

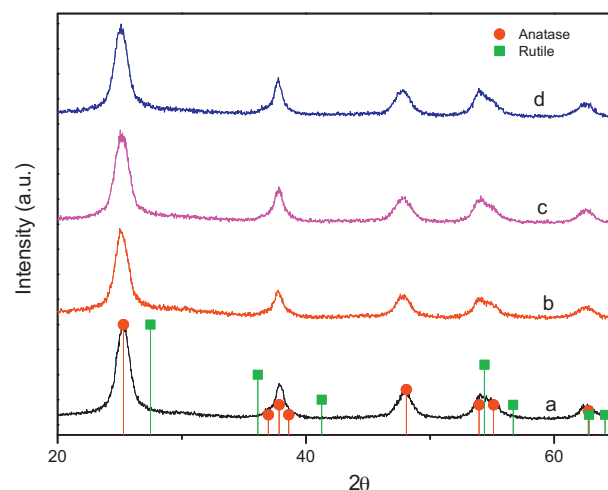


Fig. 1. XRD patterns of (a) Nd0.005; (b) Nd0.01; (c) Nd0.03; and (d) Nd0.06. Main diffraction lines for anatase (red circles) and rutile (green squares) phases are indicated. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of the article.)

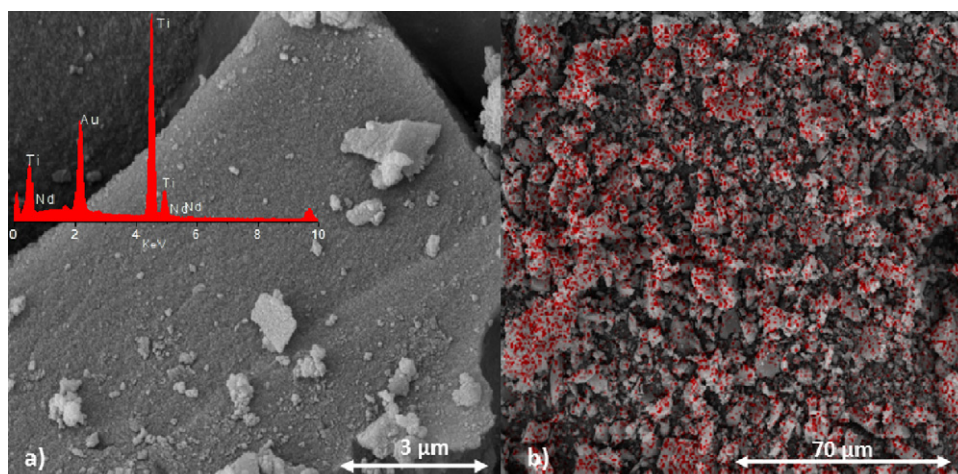


Fig. 2. (a) SEM micrographs obtained for Nd0.03 and EDX elemental analysis and (b) EDX energy map of Nd corresponding to the SEM image for the Nd0.03 sample.

values obtained, except for the sample with the highest Nd loading, were close to the nominal values implying the complete incorporation of Nd to the samples. Additionally, separate EDX energy maps for Ti and Nd (Fig. 2b) showed uniform distribution of Nd in TiO₂.

XPS spectra of Nd/Ti catalysts indicated the presence of Ti, O and Nd, beside carbon related to adventitious hydrocarbons adsorbed on the surface. Ti 2p peaks for pure and doped TiO₂ located in the range 458.3–458.5 eV and 464.0–464.4 eV demonstrated that Ti elements existed mainly as 4+ valences in TiO₂ and the presence of Nd exerts no significant influence on the XPS spectra in the Ti 2p level [27]. The XPS of Nd 4d region showed peaks at 121.8–122.1 eV which are shifted from metallic Nd peak position (118 eV). The positive binding energy shift results from the decrease of electron density, suggesting that the dopant is present as Nd³⁺ ions in the TiO₂ nanoparticles [20]. The Nd/Ti atomic ratio calculated from individual region spectra (Table 1) are significantly higher than the defined values and EDX results, suggesting that most of the Nd is distributed on the surface of TiO₂ grains or between the interfaces of agglomerates.

Interestingly, the microwave-assisted methodology employed herein avoids high-temperature calcination treatments, thereby allowing a simple and efficient preparation of TiO₂ materials with a remarkably low particle size and high specific surface areas. Even for doped TiO₂ materials synthesized by different method the highest specific surface areas reported in the literature are below 200 m²/g [28–31], while the TiO₂ nanoparticles obtained herein by the microwave method showed a surface area of 239 m²/g

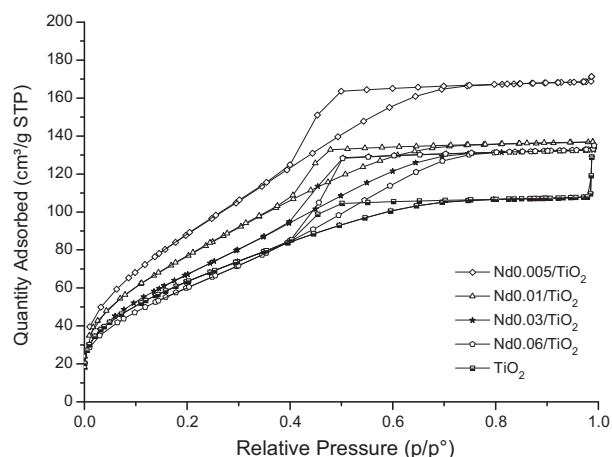


Fig. 3. Nitrogen adsorption–desorption isotherms of Nd-doped TiO₂ materials.

(Table 1). As it can be observed in Fig. 3, the N₂ adsorption isotherms of anatase and Nd-doped TiO₂ samples are characteristic of mesoporous materials, showing hysteresis loops between relative pressures of 0.4 and 0.65 which are characteristics of this type of materials. Pore size distributions (results not shown) were centered about 4 nm for all the samples.

The incorporation of Nd produced significant modification of the surface area of TiO₂ depending on loading. Low loadings of Nd

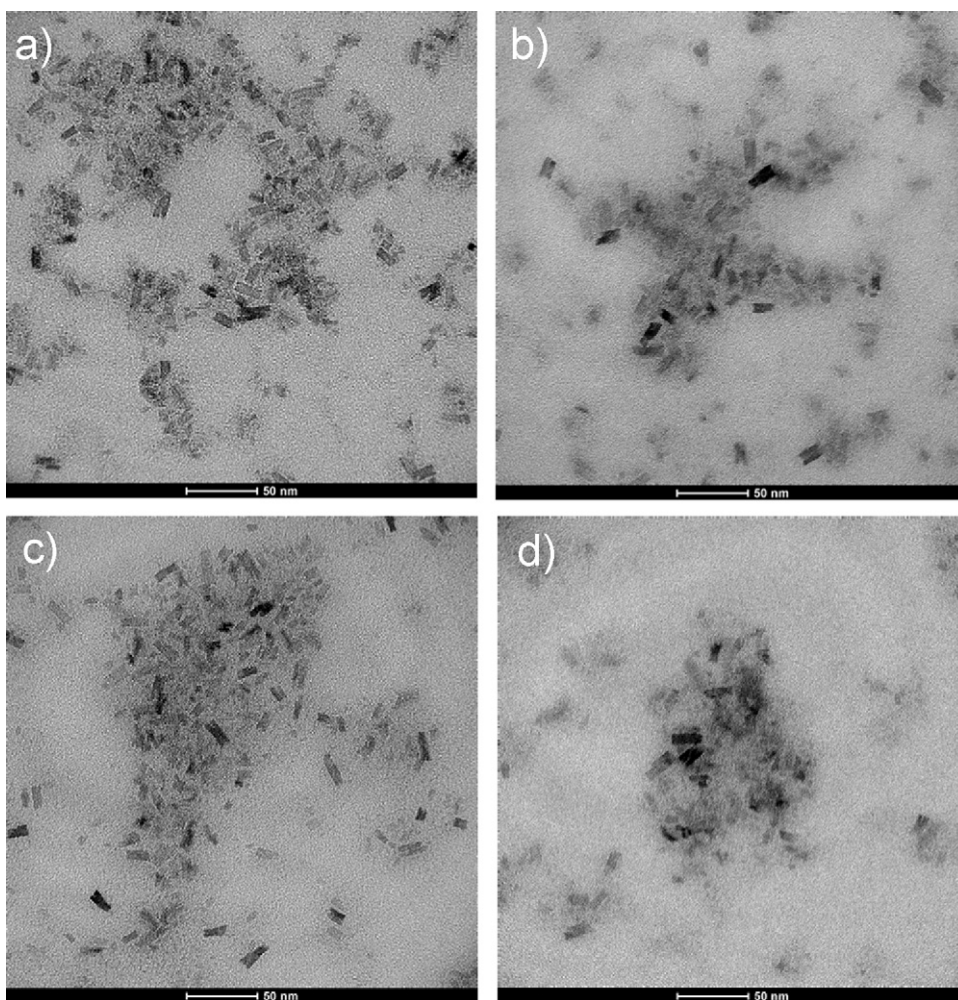


Fig. 4. TEM micrographs of (a) Nd0.005/TiO₂, (b) Nd0.01/TiO₂, (c) Nd0.03/TiO₂, and (d) Nd0.06/TiO₂.

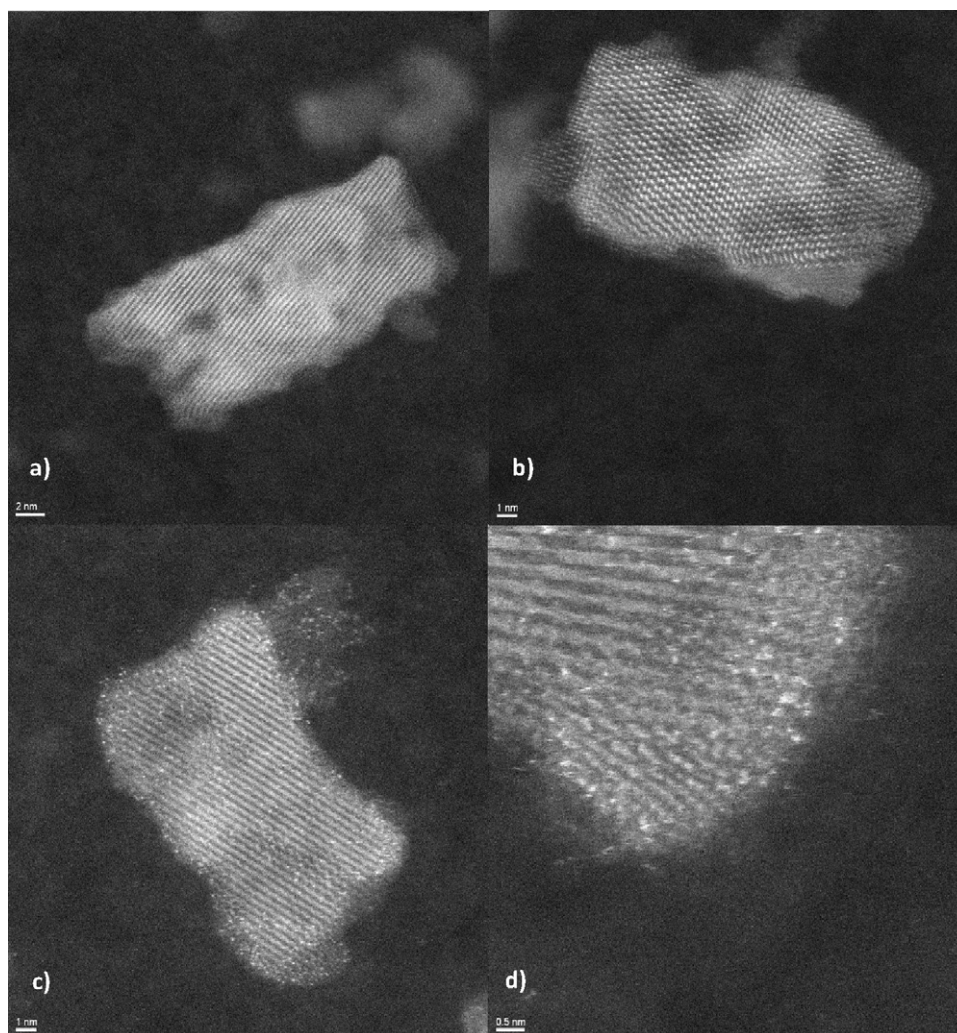


Fig. 5. STEM micrographs of (a) TiO_2 and (b–d) $\text{Nd}_{0.03}/\text{TiO}_2$.

greatly increased surface area of TiO_2 (Table 1), in agreement with the results reported in the literature [27,29,30] for samples with loadings lower than 3 wt%. As mentioned before, the ionic ratio of Nd^{3+} is larger than Ti^{4+} and as consequence the substitution of the rare ions on TiO_4^{4-} lattice of anatase structure, forming $\text{Ti}-\text{O}-\text{Nd}$ bonds, would modify the arrangement of the structure and as a result the BET surface area [26], but there is no evidence of such substitution in these case. Another explanation for the high specific surface area of doped catalysts would be a decrease in TiO_2 particle size because the neodymium inhibitory effect on growth of titanium dioxide crystallites [24,25]. Even though the crystallite size of doped solids is lower than for pure anatase (Table 1), this change is not significant enough to explain the increase in specific surface area. On the other hand, Nd species preferentially located in the octahedral interstices of the titania lattice could cause the observed increase in surface area, this possibility is study later by HRTEM.

On the other hand, the addition of larger amounts of Nd decreases the surface area in the final materials (e.g. the value for $\text{Nd}_{0.06}/\text{TiO}_2$ is $229 \text{ m}^2/\text{g}$ very close to the original value for pure TiO_2). Similar results were found for samarium (Sm) doped TiO_2 , with the increase of the amount of Sm, the surface area increase from 58 to $170 \text{ m}^2/\text{g}$, but when the amount of samarium exceeds 1.5%, the surface area begins to decrease [32]. In this study, the reduction in the BET surface area at larger Nd loadings could be probably due to the blockage of some of the TiO_2 pores by Nd

clusters. This blockage may also prevent the loading of Nd beyond Nd/Ti ratio 0.0353 as observed for the $\text{Nd}_{0.06}/\text{TiO}_2$ sample (Table 1).

The size and morphology of TiO_2 doped nanoparticles were also analyzed by TEM measurements. The size distribution of nanoparticles was obtained by particle counting from TEM micrographs using a statistical analysis method. Results are shown in Fig. 4. Nanoparticle sizes were found to be in the range of 6–10 nm with polyhedral shape for all Nd-doped titania materials, with similar results obtained for the pure TiO_2 anatase. TEM observation indicates particle sizes below 10 nm, which is a most unique feature of the reported microwave synthesized materials.

To further study the Nd ions location HRTEM analysis in STEM mode was carried out for doped and un-doped samples. Fig. 5a shows a TiO_2 nanoparticle with pores in the range of 2–4 nm in agreement with the nitrogen adsorption results and several lattice planes with perfect crystallinity could be observed. The doped material showed Z contrast where the bright spots are related to the presence of high atomic number Nd atoms in the surface and inside the titanium dioxide particles occupying interplanes spaces and creating defects that would explain the increase in the surface area of doped materials.

Data from Table 2 summarizes the calculated band gaps of the different catalysts synthesized in this work. Interestingly, the microwave-assisted methodology provided access to titania-doped nanocatalysts with a remarkably reduced band gap ($E_g = 2.95$) compared to that of commercial Evonik P25 ($E_g = 3.17$). These variations

Table 2
Band gap and absorption threshold for the Nd-doped samples as well as TiO₂ and commercial TiO₂ supplied by Evonik.

Catalyst	Band gap (eV)	Absorption threshold (nm)
Nd0.005/TiO ₂	2.91	425.60
Nd0.01/TiO ₂	2.95	421.00
Nd0.03/TiO ₂	2.89	429.22
Nd0.06/TiO ₂	2.75	451.38
TiO ₂	2.95	420.16
Evonik-P25	3.17	391.63

in band gap have been reported to be associated to the presence of intermediate states between the valence band and the conduction band by substitutional Nd species [33]. This reduction of band gap is associated with the relevant shift observed in Nd-doped samples as compared to the limit adsorption of parent TiO₂ in the visible region as shown in UV–vis experiments (Fig. 6). All materials containing Nd exhibited light absorption of several bands in the visible region as compared to the negligible visible light absorption of both P25 and the parent titania.

Following characterization, the photocatalytic activity of the microwave-synthesized Nd-titania materials was subsequently investigated in two test reactions: the photocatalytic degradation of phenol and Rhodamine B in aqueous solutions. Results of the photocatalytic degradation of phenol are included in Fig. 7. Nd-doped titania materials exhibited a remarkably higher photocatalytic activity as compared to Evonik P25 regardless of the Nd content. The activity of the parent titania was actually close to that of Nd-containing samples, although the photodegradation of phenol for these materials follows the order Nd0.06/TiO₂ > Nd0.03/TiO₂ > Nd0.005/TiO₂ > Nd0.01/TiO₂ > TiO₂. These findings correlated well with the observed order of reduction in band gap of all materials with the exception of Nd0.005/TiO₂ (Table 2). This catalyst exhibited a higher activity compared to Nd0.01/TiO₂, which could be explained on the basis of their difference in surface areas (Fig. 4). In any case, the optimum Nd0.06/TiO₂ was able to completely decompose phenol after 2 h irradiation, with a complete absence of any organic compounds in the aqueous phase (as identified by LC/MS).

Comparatively, the degradation of Rhodamine B (Fig. 8) also seemed to be significantly influenced by the surface area of the nanocatalyst (as well as the reduction of the band gap). In this particular case, materials containing Nd/Ti 0.005 (largest surface area) and Nd/Ti 0.06 provided the best results in the photocatalytic

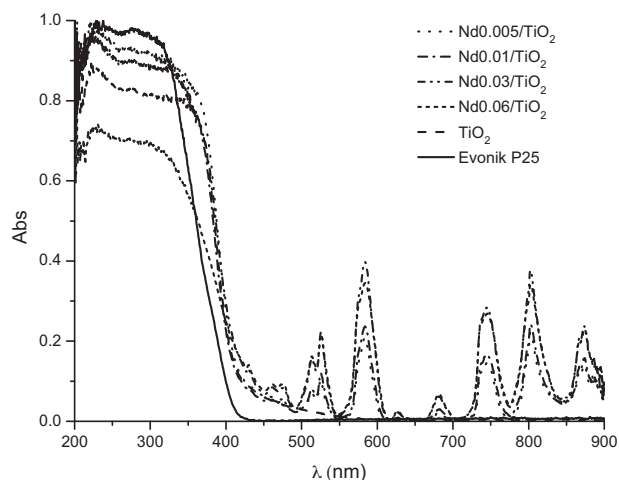


Fig. 6. UV–visible spectra for the Nd-doped samples, TiO₂ and commercial TiO₂ (P25).

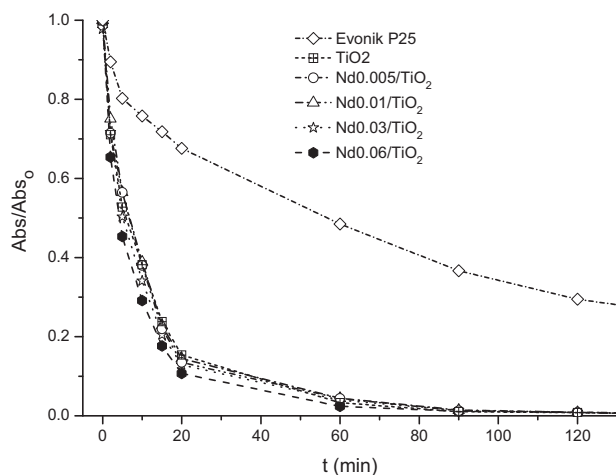


Fig. 7. Results for phenol photo-degradation for Nd-doped samples, TiO₂ and commercial TiO₂ (P25). Reaction conditions: 25 °C, 50 ppm phenol in water, 1 g/L of solid, ambient air, 365 nm (400 W).

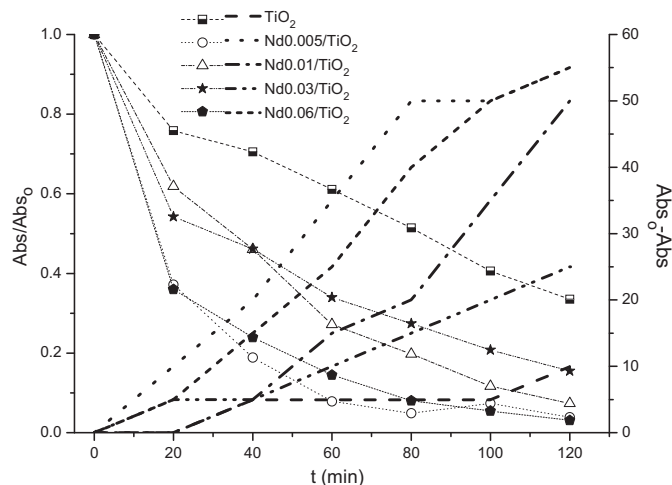


Fig. 8. Results for Rhodamine degradation (solid lines; decrease in absorbance as seen in left Y axis and shift for the maximum absorbance (% Abs₀-Abs, right Y axis, dotted lines) of Nd-doped samples as compared to pure TiO₂. Reaction conditions: 25 °C, 125 ppm Rhodamine B in water, 1 mg/L of solid, ambient air, 365 nm.

degradation. El-Bahy et al. described a close link between surface area and photoactivity under visible light for rare earth metal-doped titania materials in the photodegradation of Direct Blue-53 [34]. It appears that the identity of the doping agent, in particular for lanthanides, is crucial in determining the surface area and adsorption ability of the doped catalyst. These two parameters have been found to be the most influential factors in the photocatalytic activity of the systems, in good agreement with previous reports [34]. By performing an overall analysis of the catalytic results (Figs. 7 and 8), surface area, reduction of the band gap, and the amount of doping agent seem to be the main parameters affecting the photocatalytic activity of Nd-doped TiO₂ materials in the photodegradation of phenols and Rhodamine B. While the amount of doping agent and the band gap were found to be the main factors affecting the phenol degradation, the surface area seemed to be a crucial parameter in the case of Rhodamine B degradation.

4. Conclusions

Neodymium doped titanium oxide particles with very high surface area were synthesized. The highest area was found for a Nd/Ti

ratio of 0.03 (341 m²/g). The particles showed to have anatase structure and the dopant is present as Nd³⁺ ions located on the surface and in the inter-planar space of titanium oxide crystals. Nanoparticle sizes were found to be below 10 nm (TEM results) and crystallite size of doped solids slightly lower than pure TiO₂ (6.92 nm, XRD results). These materials were found to have excellent photocatalytic activities in the degradation of aqueous organic contaminants including phenol and Rhodamine B, with complete degradation of such compounds in 2–4 h for materials showing optimum activities (Nd0.005/TiO₂ and Nd0.06/TiO₂).

Acknowledgments

RL gratefully acknowledges Ministerio de Ciencia e Innovación (current MEC) for the concession of a Ramon y Cajal contract (ref. RYC-2009-04199) and funding under Project CTQ2011-28954-C02-02. Consejería de Ciencia e Innovación, Junta de Andalucía is also acknowledged for funding Project P10-FQM-6711.

References

- [1] J.M. Herrmann, *Catal. Today* 53 (1999) 115–129.
- [2] M. Schiavello, *Heterogeneous Photocatalysis*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1997.
- [3] (a) K. Maeda, K. Teramura, D. Lu, T. Takata, N. Saito, Y. Inoue, K. Domen, *Nature* 440 (2006) 295;
(b) Minsuh Song (Ed.), *Catalysis: Principles, Types and Applications*, Nova Science Publishers, Inc., New York, 2011, ISBN 978-1-61209-654-4, pp. 101–165.
- [4] H. Lachheb, E. Puzenat, A. Houas, M. Ksibi, E. Elaloui, C. Guillard, J.M. Herrmann, *Appl. Catal. B* 39 (2002) 75–90.
- [5] M.A. Malati, *Environ. Technol.* 16 (1995) 1093–1099.
- [6] <http://www.eco-usa.net/toxics/chemicals/phenol.shtml>.
- [7] N. Daneshvar, D. Salari, A.R. Khataee, J. Photochem. Photobiol. A 157 (2003) 111–116.
- [8] K.P. Singh, S. Gupta, A.K. Singh, S. Sinha, *Chem. Eng. J.* 265 (2010) 151–160.
- [9] H. Kim, S. Lee, Y. Han, J. Park, *J. Mater. Sci.* 40 (2005) 5295–5298.
- [10] X. Yang, C. Cao, L. Erickson, K. Hohn, R. Maghirang, K. Klabunde, *J. Catal.* 260 (2008) 128–133.
- [11] Z. Lin, A. Orlov, R.M. Lambert, M.C. Payne, *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 20948–20952.
- [12] W.A. Zeltner, D.T. Tompkin, *ASHRAE Trans.* 111 (2005) 532–534.
- [13] R. Asahi, T. Morikawa, T. Ohwaki, K. Aoki, Y. Taga, *Science* 293 (2001) 269–271.
- [14] G. Liu, H.G. Yang, X. Wang, L. Cheng, J. Pan, G.Q. Lu, H.M. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009) 12868–12869.
- [15] H. Yamashita, M. Takeuchi, M. Anpo, *Visible Light Sensitive Photocatalysts*, *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, American Scientific Publishers, California, USA, 2004.
- [16] S. Bingham, W.A. Daoud, *J. Mater. Chem.* 21 (2011) 2041–2050.
- [17] T. Umabayashi, T. Yamaki, H. Itoh, K. Asai, *Appl. Phys. Lett.* 81 (2002) 454–456.
- [18] J.C. Yu, J. Yu, W. Ho, Z. Jiang, L. Zhang, *Chem. Mater.* 14 (2002) 3808–3816.
- [19] N. Serpone, *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 24287–24293.
- [20] S. Rengaraj, S. Venkataraj, J. Jeon, W. Yeon, Y. Kim, X.Z. Li, G.K.H. Pang, *Appl. Catal. B* 77 (2007) 157–165.
- [21] W. Li, S.I. Shah, C.P. Hunag, O. Jung, C. Ni, *Mater. Sci. Eng. B* 96 (2002) 247–253.
- [22] S.I. Shah, W. Li, C.P. Huang, O. Jung, C. Ni, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99 (2002) 6482–6486.
- [23] J.N. Hart, R. Cervini, Y.B. Cheng, G.P. Simon, L. Spiccia, *Solar Energy Mater. Solar Cells* 84 (2004) 135–143.
- [24] R. Chand, E. Obuchi, K. Katoh, H. Nath Luitel, K. Nakano, *Catal. Commun.* 13 (2011) 49–53.
- [25] C. Wang, Y. Ao, P. Wang, J. Houa, J. Qian, *Appl. Surf. Sci.* 257 (2010) 227–231.
- [26] V. Stengl, S. Bakardjieva, N. Murafa, *Mater. Chem. Phys.* 114 (2009) 217–226.
- [27] M. Yuan, J. Zhang, S. Yan, G. Luo, Q. Xu, X. Wang, C. Li, *J. Alloys Compd.* 509 (2011) 6227–6235.
- [28] P. Wang, P.S. Yap, T.T. Lim, *Appl. Catal. A* 399 (2011) 252–261.
- [29] D. de la Cruz Romero, G. Torres, J.C. Arévalo, R. Gomez, A. Aguilar-Elguezabal, *J. Sol Gel Sci. Technol.* 56 (2010) 219–226.
- [30] T.L.R. Hewer, E.C.C. Souza, T.S. Martins, E.N.S. Muccillo, R.S. Freire, *J. Mol. Catal. A* 336 (2011) 58–63.
- [31] Y. Wu, X. Hu, T. Xie, G. Li, L. Zhang, *China Particuol.* 3 (2005) 233–236.
- [32] K.M. Parida, N. Sahu, *J. Mol. Catal. A* 287 (2008) 151–158.
- [33] Y. Ma, J. Zhang, B. Tian, F. Chen, L. Wang, *J. Hazard. Mater.* 182 (2010) 386–393.
- [34] Z.M. El-Bahy, A.A. Ismail, R.M. Mohamed, *J. Hazard. Mater.* 166 (2009) 138–143.

ARTÍCULO 7



Intense generation of respirable metal nanoparticles from a low-power soldering unit



Virginia Gómez^a, Silvia Irusta^{a,b}, Francisco Balas^{b,c}, Jesus Santamaria^{a,b,*}

^a Department of Chemical Engineering, Nanoscience Institute of Aragon (INA), 50018 Zaragoza, Spain

^b Networking Biomedical Research Center of Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), 50018 Zaragoza, Spain

^c Instituto de Carboquímica – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (ICB-CSIC), 50018 Zaragoza, Spain

HIGHLIGHTS

- Intense generation of nanoparticles in the breathing range from a flux-soldering unit is detected.
- Coagulation in the aerosol phase leads to 200-nm respirable nanoparticles up to 30 min after operation.
- Nanoparticle concentration in the working environment depends on the presence of ambient air.
- Metal-containing nanoparticles are collected in TEM grids and filters in the hundreds of nanometer range.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 January 2013

Received in revised form 8 March 2013

Accepted 29 March 2013

Available online 21 April 2013

Keywords:

Nanosafety

Soldering

Nanoparticle

Aerosol

ABSTRACT

Evidence of intense nanoparticle generation from a low power (45 W) flux soldering unit is presented. This is a familiar device often used in daily life, including home repairs and school electronic laboratories. We demonstrate that metal-containing nanoparticles may reach high concentrations (ca. 10^6 particles/cm³) within the breathing range of the operator, with initial size distributions centered at 35–60 nm. The morphological and chemical analysis of nanoparticle agglomerates collected on TEM grids and filters confirms their multiparticle structure and the presence of metals.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The possibility of adverse health effects from nanomaterials has raised significant concern regarding potential exposure during their production, handling and disposal [1–4]. Fortunately, in spite of considerable difficulties involved in monitoring and controlling exposure to nanosized materials, when these are produced and used in known processes, adequate safeguards for their handling and disposal can be established. However, when nanomaterials are generated unexpectedly, or inadvertently, their control becomes extremely challenging. Unintended generation of nanoparticles involves widely different scenarios such as road traffic [5], the use of metal jewelry and eating utensils [6] and the wear of nanomaterial-containing products [7]. Generation of nanoparticle aerosols is especially worrying when nanoparticles containing toxic elements are involved.

Much progress has been achieved in understanding the potential toxic effects of airborne nanomaterials since the seminal investigations were carried out over two decades ago [8,9]. Hundreds of works have subsequently explored nanotoxicological effects using a wide variety of materials and testing scenarios [10–13]. As a consequence, the complexity of the interactions between nanoparticles and living organisms has been recognized, and the problems involved in regulating sophisticated nanomaterials have been identified [14]. While nano-safety measures are not always satisfactorily followed [15] advances have undoubtedly been made, and protective measures are more likely to be implemented as the awareness of risks derived from exposure to nanomaterials increases. For this reason, it is of paramount importance to identify the presence of potentially harmful nanoparticles in the environment as well as their likely sources. A major hurdle in this respect is the difficulty of discriminating the nanoparticles of interest from the background nanoparticles [1,16] already present in the environment at concentrations of tens of millions of nanoparticles per liter.

Soldering and welding are common processes in industry, where they are used on a daily basis. Despite advances in control

* Corresponding author at: Department of Chemical Engineering, Nanoscience Institute of Aragon (INA), 50018 Zaragoza, Spain.

E-mail address: Jesus.Santamaria@unizar.es (J. Santamaria).

technology, welders continue to be exposed to welding fume and gases. [17,18]. Soldering on the other hand involves the use of a solder, typically an alloy that melts at a lower temperature than the base metal or pieces needing to be joined, adheres to the metal pieces, solidify upon cooling and holds them together.

In this work we have investigated the possibility of generation of nanoparticles from an ordinary flux soldering unit (supporting information, Fig. S1). To this end two types of commercial soldering wires were used, namely, a conventional Pb-containing wire (termed SnPbCu), that is still widely employed although it will likely be phased out in the near future [19], and a Pb-free version (termed SnAgCu). Soldering is used extensively for electrical connections, joining sections of copper pipe in plumbing, for fabricating copper flashings around chimneys, etc. Solders are widely used as low temperature joining alloys because of their convenient material properties and low cost. However, it should be noted that harmful effects due to soldering fumes have been identified for a long time [20–24], from pulmonary affections, including asthma, to dermatitis. A very recent study [25] was carried at the wave soldering facility of a printed circuit board factory where a serious attempt was made at analyzing the mass size distribution and the chemical composition of ambient particles. The study collected ambient nanoparticles from all sources and therefore could not easily discriminate those originating directly from the solders. Interestingly however, the Sn-containing particles identified were rather large (most were in the 8–16 micron range), a result that differs strongly from the results presented here. In this work the generation of nanoparticles from a common soldering operation has been isolated, carrying out the soldering experiments inside a closed glove box that had previously been purged until the nanoparticle concentration was negligible. At this point soldering started, while the concentration of the nanoparticles in the inner air was continuously monitored.

2. Materials and methods

2.1. Aerosol generation during soldering

Two different 1-mm diameter commercial soldering wires were used, whose compositions are given in Table 1, namely a SnPbCu wire and a lead-free SnAgCu (Metaux Blancs Ouvres, MBO, France). The solid melting points of wires were 221 °C and 183 °C respectively, and both contained ca. 2% by weight of incorporated colophony-based flux. The soldering wires have been characterized by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS; Axis Ultra DLD, Kratos Tech.) and scanning electron microscopy, secondary electron image and energy dispersive X-ray spectroscopy (FESEM, Inspect form FEI).

A soldering station with a ceramic heater (Model LF369D, XYtronic Inc, Shingle Springs, CA) working at an electronically controlled temperature from 150–480 °C was used (Fig. S1). Soldering was performed inside an acrylic glove box chamber with dimensions 0.61 m × 0.61 m × 0.71 m, which provides an isolated work environment and avoids contamination with external

particles. Prior to soldering the box was purged and the inner volume was filled with nanoparticle-free air using a 150-mm HEPA filtering unit (Whatman, New Jersey, NJ). After this process, the final nanoparticle concentration inside the box was negligible.

Soldering was carried out in three steps: first the chamber was purged until the background particle concentration was lowered to the desired level, then the soldering station was heated to the soldering temperature and, in a third stage, the melting of soldering wires started. With the aim of studying the influence of background particles on the particle distribution during soldering, stages two and three were also performed with the glove-box filled with ambient air. For each soldering operation, a 15 cm length of wire was melted at either 250 or 300 °C, a process that is completed in approximately 10–15 s. Relative humidity (35–45%) and temperature (20–25 °C) inside the chamber were monitored during the experiments.

2.2. Aerosol monitoring and characterization

A condensation particle counter (CPC; Grimm-Aerosol GmbH, Ainring, Germany) was used for determining the aerosol concentration with particle sizes between 5 nm and 1100 nm at a fixed sampling flow of 0.3 l/min. The particle size distributions were obtained using scanning mobility particle spectroscopy (SMPS) [26] after placing a differential mobility analyzer (DMA; Grimm-Aerosol GmbH, Ainring, Germany) for classifying airborne nanoparticles between 10 and 1000 nm before measuring. The number concentration of nanoparticles generated during soldering between 300 nm and 20 μm was also measured using a real-time aerosol spectrometer (Optical Particle Counter, OPC; Grimm-Aerosol GmbH, Ainring, Germany) at a fixed rate of 1.2 l/min. The particle concentration is determined after the amplitude of scattered light and tabulated into standardized counting bins of particles per unit volume in 15 size channels [27]. Gravimetric-equivalent data were also obtained using the Optical Particle Counter. Mass concentration was estimated using the gravimetric correction factor calculated according to Dust Monitor SERIES 1.100 manual.

In order to estimate the emissions produced by soldering activities, the total number and mass emission factors (NEF and MEF) were evaluated based on CPC and OPC results using an equation derived from the averaging of the mass balance equation used to predict indoor air particle concentration levels which includes some assumptions about experimental conditions. This equation has been proposed by He et al. [28] and then applied by Bounano et al. [18] to welding processes:

$$NEF = V \left[\frac{\bar{C}_{in} - \bar{C}_{in,0}}{\Delta t} + (\overline{AER + K})\bar{C}_{in} - \overline{AER}\bar{C}_{in,0} \right] \text{ (particles min}^{-1}\text{)}$$

where \bar{C}_{in} and $\bar{C}_{in,0}$ represent the average of the peak and initial chamber number particle concentration respectively. The average exchange rate, AER is given by the air renewal of the chamber and the average total removal rate $(\overline{AER + k})$ can be obtained by using the average decay of particle concentration after finishing the soldering processes.

Table 1

Composition measured at wire surface in wt% with respect to the total metal content measured by XPS and EDX of the two types of commercial soldering wires used in this work.

	Composition measured at wire surface (wt% with respect to the total metal content)							
	Sn		Cu		Ag		Pb	
	EDX	XPS	EDX	XPS	EDX	XPS	EDX	XPS
SnAgCu	94.0	93.6	0.6	n.d.	5.4	6.4	–	–
SnPbCu	55.4	60.3	0.3	n.d.	–	–	44.3	39.7

n.d.: not detected.

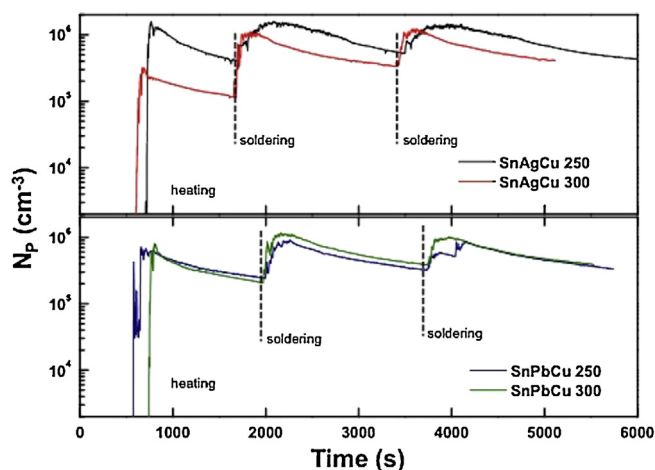


Fig. 1. Total nanoparticle concentration during the initial heating of the solder iron, then during two consecutive stages of soldering of a 15 cm wire, either at 250 or at 300 °C (initial heating to soldering temperature, then two cycles of actual soldering). Experiments were started with a clean chamber (background under 1200 particles/cm³).

The air sampled was replaced at the same rate with HEPA-filtered clean air. In addition to real time aerosol monitoring by the CPC or the OPC, nanoparticles were collected for off-line analysis by two different procedures: i) The air in the glove box was suctioned at 1.2 l/min. during soldering through a polycarbonate membrane filter (pore diameter = 50 nm) for a fixed period. The filter was then covered with a thin layer of gold and analyzed using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX). In some cases, the internal structure and chemical composition of the particle agglomerates collected on the filter were examined by sectioning the agglomerates with a focused ion beam (FIB-FEI Nova™ 200 NanoLab) that also allows SEM imaging and local elemental analysis by EDX of localized cross-sections. ii) Alternatively, the nanoparticles could also be collected on electron microscopy copper grids placed at the exit pipe. These particles were then observed and analyzed by transmission electron microscopy (Tecnai T20 – FEI microscope), scanning transmission electron microscopy (STEM) and EDX using a Tecnai F30 – FEI microscope.

3. Results and discussion

The metal content of both types of wire used is given in Table 1. In addition commercial wires contain a small amount of colophony (formed by rosin acids) to facilitate flux and to prevent solder oxidation. In both cases the main metal component is Sn, although in the SnPbCu wire the Pb content is also high (around 40%). A mapping of the metals by EDX on wire cross sections indicates that Sn and Pb or Sn and Ag are homogeneously distributed throughout the wire (supporting information, Fig. S2).

A typical example of the results obtained in terms of total nanoparticle concentration in the glove box atmosphere at different process stages is shown in Fig. 1. It can be seen that total nanoparticle number concentration reaches peak values around 10⁶ particles/cm³, both during the initial heating of the iron and then during soldering. The heating process induces the evaporation of the remnants deposited in the tip of the solder from previous operations, which form a nanoparticle aerosol that is detected both using the OPC and CPC. The deposit thickness after each experiment is always different, and as a consequence the total nanoparticle concentration during the heating period is not reproducible. The concentration of the generated nanoparticle aerosol decreases with time due to gas phase agglomeration processes (see below) and

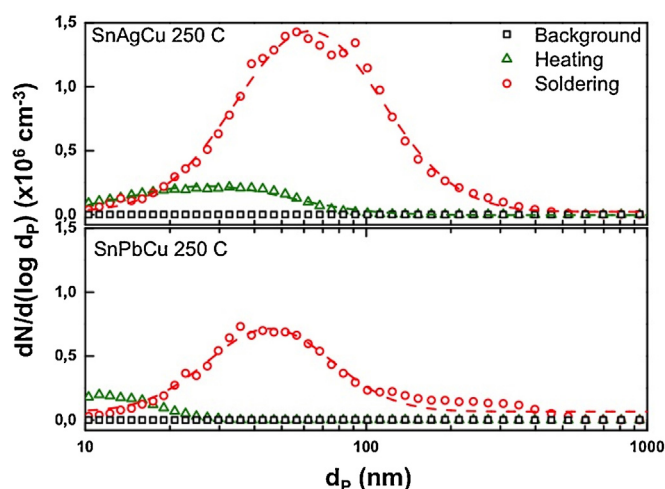


Fig. 2. Primary particle size distribution at 250 °C for both types of wire (lognormal fittings are shown as dashed lines).

to a lesser extent, to the purging induced by sampling (renewal times range from 220 to 880 min, depending on the sampling rate used). The soldering process acts as a source of nanoparticle aerosol, as evidenced by the rapid increase in the concentration of airborne nanoparticles at the start of soldering (Fig. 1). As nanoparticles agglomerate and the air is sampled out of the box by the CPC pumping unit the nanoparticle concentration decreases, but is always above 10⁵ particles/cm³. These nanoparticles are released to the test chamber inside which soldering takes place, but would be directly in the breathing range of the operator, and then diffuse into the environment in a real soldering operation. A representative particle size distribution in the glove box atmosphere a few minutes into each of the stages in the soldering process is given in Fig. 2 for a working temperature of 250 °C (similar results, not shown, were obtained at 300 °C). It can be seen that most of the nanoparticles were clearly smaller than 100 nm for both types of wire, with only a small percentage of nanoparticles exceeding 300 nm. This was confirmed independently by measuring the number concentration of particles above 300 nm in diameter with the optical particle counter (OPC), whose readings were always under 1% of the total particle count measured with the condensation particle counter (supporting information, Fig. S3). This initial particle size

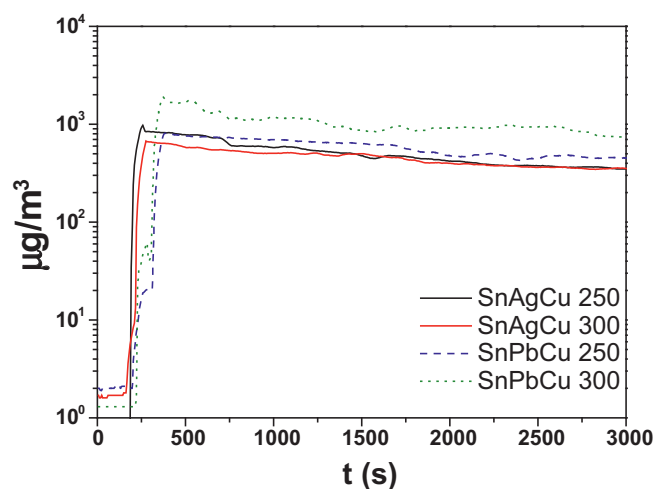


Fig. 3. PM1 concentration (µg m⁻³) estimated from OPC data during the soldering process using SnAgCu and SnPbCu wires, either at 250 or at 300 °C. Experiments were started with a clean chamber.

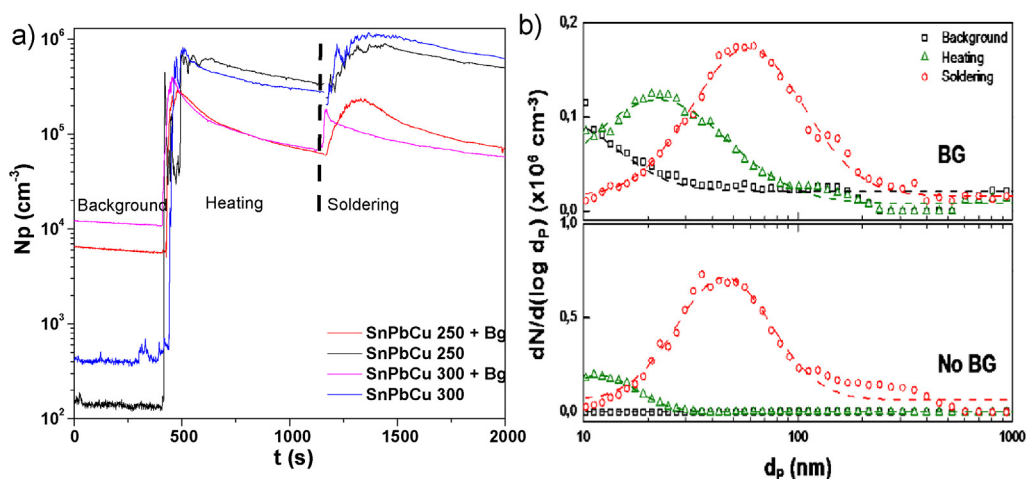


Fig. 4. (a) Total particle count during initial heating and soldering at 250 and 300 °C and (b) particle size distributions during heating and soldering of SnPbCu wire at 250 °C, both in presence (BG) and absence (No BG) of background ambient nanoparticles.

distribution evolves with time toward larger average particle sizes, due to gas phase agglomeration processes (supporting information, Fig. S4). The evolution observed during soldering of an SnPbCu wire at 250 °C shows that, initially ($t = 6$ min), a monomodal curve is obtained, with a maximum size at 50–60 nm, however, 6 min later a shoulder in the particle size distribution around 250 nm is already evident, together with a lower intensity of the maximum, that has

now shifted to a size of 70–80 nm. The evolution of the particle size distribution continues this pattern, with a decreasing intensity of the main peak and a increasing intensity of the peak at higher particle sizes, simultaneously with a shift of both peaks toward larger particle sizes: at 36 min these sizes have shifted to 100 and 300 nm for the main and secondary peaks, respectively. Similar results were obtained for the SnAgCu wire. Mass concentrations

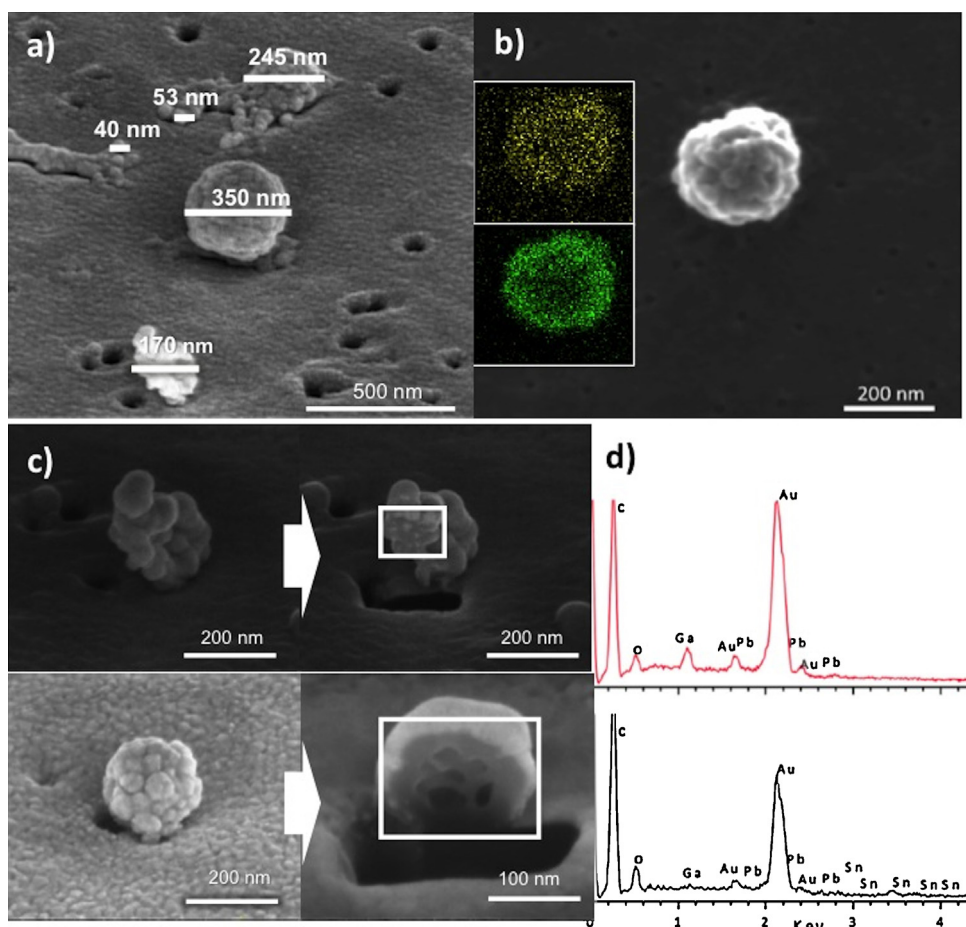


Fig. 5. SEM images of (a) nanoparticle agglomerates with different sizes, (b) nanoparticle agglomerates collected and EDX mapping results (yellow color is due to the Sn signal and green color is due to Pb) and (c) agglomerates before and after sectioning by ion milling; EDX analysis (d) of the areas inside the rectangles in Fig. 5c.

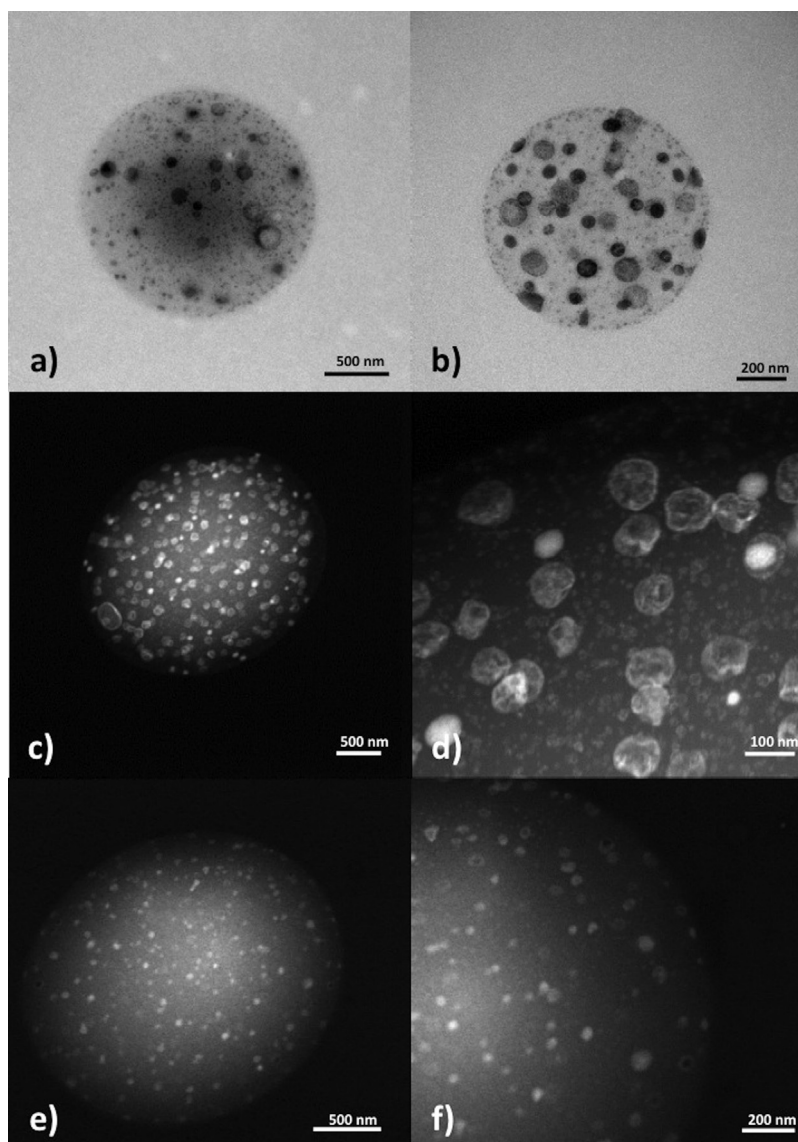


Fig. 6. Images of agglomerates collected on carbon grids. TEM images of agglomerates obtained from soldering (a) SnPbCu and (b) SnAgCu wires; (c)–(f) STEM images agglomerates; (c), (d) agglomerates from SnPbCu wire. (d): Close up view of the surface; (e), (f) agglomerates from SnAgCu wire.

obtained using the OPC results are shown in Fig. 3 and the calculated mass emissions factors were always lower than 0.5 mg min^{-1} . Typical number emission rates (NEF) for the soldering processes were of $6.6 \pm 1.8 \cdot 10^{10} \text{ particles min}^{-1}$.

As already explained, the experiments in Figs. 2 and S4 were carried out with the chamber purged to a negligible background particle concentration at the start of the soldering process. To assess the influence of background particles, the soldering experiment was repeated after filling the chamber with atmospheric (i.e. not HEPA-filtered) air. The results are presented in Fig. 4 for the soldering of an SnPbCu wire (the corresponding curves obtained with a purged chamber are also presented for comparison). Both the average and peak nanoparticle concentrations measured in the presence of background particles were significantly lower (Fig. 4a). This is probably a consequence of the role played by ambient particles as collectors of the nanoparticles generated in the soldering process. The wider range of sizes in ambient particles could be a factor favoring polydisperse coagulation processes. However, it can be seen (Fig. 4b) that a very similar particle size distribution was obtained during soldering in both cases, with a maximum in the particle size distribution close to 50 nm.

Finally, the morphology of the aerosol particles was examined by sampling using a polycarbonate filter (50 nm pores) or directly on TEM grids located at the gas outlet. Fig. 5a shows SEM images of the nanoparticles collected on the polycarbonate filter during soldering with an SnPbCu wire. It can be seen that a wide particle size distribution is obtained, although most nanoparticles are present as agglomerates a few hundreds of nanometers in size. At the surface of the agglomerates, primary nanoparticles with sizes clearly under 100 nm could be ascertained (Fig. 5a and b). The chemical analysis of the agglomerates (Fig. 5b, inset) indicated a homogeneous distribution of Sn and Pb. To analyze in depth the chemical composition of the deposited nanoparticle agglomerates, ion milling was used to section the agglomerates, allowing EDX analysis of their inner regions. It can be seen (Fig. 5c) that metal-containing nanoparticles are also present in their internal structure, as evidenced by the Pb and Sn bands (signals for Ga and Au originate from the gallium ions used for sectioning and the Au coating for SEM imaging, respectively). The observation of nanoparticles collected on TEM carbon grids (Fig. 6) lead to particle agglomerates with larger sizes, in the 500–1500 nm range and with a spherical shape (Fig. 6a,b). Metal nanoparticles are clearly visible on their surface (Fig. 6c–f). The

metal content was checked by EDX (supporting information, Fig. S5). Like the agglomerates collected in the polycarbonate filter, they are composed by primary particles with rosin among them. Both the spherical shape and the appearance of the agglomerates suggest that they are generated by the coagulation process of particles of rosin containing embedded metallic or metal oxide nanoparticles with mean diameters under 100 nm. Both components (rosin and metals) were in the molten state so they would tend to form spherical droplets following the model proposed by Efendiev et al. [29] for two-component aerosol formation. Attempts to section the agglomerates by ion milling were unsuccessful due to sample destruction under the ion beam, which again is consistent with high rosin content.

The results presented in Figs. 5 and 6 clearly indicate that the airborne nanoparticles, with main initial particle sizes in the 40–100 nm range observed using SMPS, coalesce and form larger agglomerates. At least part of this agglomeration process takes place in the gas phase, as shown in Fig. S4, and additional agglomeration may take place on the different collecting surfaces used. Indeed, aggregation and shape evolution of nanoparticles collected on surfaces is well described [30]. In this case the different characteristics of the deposits on both surfaces (polycarbonate filters and TEM carbon grids) suggest that size can be strongly influenced by the collecting surface.

4. Conclusions

We have been able to show that an intense generation of metal-containing nanoparticles occurs in the context of a conventional wire soldering operation, with a low power unit. The process exposes the operator and the persons in the vicinity to high nanoparticle concentrations (in the vicinity of 10^6 particles/cm³ for the conditions used in this work) and is likely to contaminate nearby surfaces. Under the closed chamber conditions used, a rapid gas phase agglomeration of the nanoparticles takes place. The particle agglomerates collected using filters and TEM grids contain the same metals present in the soldering wire. This constitutes a clear example of unintended generation of metal-containing nanoparticle aerosols outside a research or industrial environment.

Supporting information

Images and thermal mapping of the soldering device, SEM images of the wire surfaces and of the wire sections, with EDX mapping, particle size distribution obtained using an optical particle counter (OPC) and STEM/EDX compositional microanalysis of a nanoparticle.

Acknowledgments

The research leading to these results has received funding from the European Community's Seventh Framework Programme (FP7/2007–2013) under grant agreement #263147 (NanoValid - Development of reference methods for hazard identification, risk assessment and LCA of engineered nanomaterials). Financial support from MINECO, Spain is also gratefully acknowledged. V.G. acknowledges the FPU scholarship AP2008-02067 and F.B. acknowledges a grant from the "Ramon y Cajal" Programme.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.03.067>.

References

- [1] M. Simkó, M.O. Mattson, Risks from accidental exposure to engineered nanoparticles and neurological health effects: a critical review, Part. Fibre Toxicol. 7 (2010) 42.
- [2] D. Brouwer, Exposure to manufactured nanoparticles in different workplaces, Toxicology 269 (2010) 120–127.
- [3] T.A.J. Kuhlbusch, C. Asbach, H. Fissan, D. Göhler, M. Stintz, Nanoparticle exposure at nanotechnology workplaces: a review, Part. Fibre Toxicol. 8 (2011) 22.
- [4] W. Wohlleben, S. Brill, M.W. Meier, M. Mertler, G. Cox, S. Hirth, B. Vacano, V. Strauss, S. Treumann, K. Wiench, L. Ma-Hock, R. Landsiedel, On the lifecycle of nanocomposites: comparing released fragments and their in-vivo hazards from three release mechanisms and four nanocomposites, Small 16 (2012) 2384.
- [5] N.C. Surawski, B. Miljevic, G.A. Ayoko, S. Elbagir, S. Stevanovic, K.E. Fairfull-Smith, S.E. Bettle, Z.D. Ristovski, Physicochemical characterization of particulate emissions from a compression ignition engine: the influence of biodiesel feedstock, Environ. Sci. Technol. 45 (2011) 10337–10343.
- [6] R.F. Glover, J.M. Miller, J.E. Hutchison, Generation of metal nanoparticles from silver and copper objects: nanoparticle dynamics on surfaces and potential sources of nanoparticles in the environment, ACS Nano 5 (2011) 8950–8957.
- [7] E.J. Petersen, L. Zhang, N.T. Mattison, D.M. O'Carroll, A.J. Whalton, N. Uddin, T. Nguyen, Q. Huang, T.B. Henry, R.D. Holbrook, K.L. Chen, Potential release pathways, environmental fate and ecological risks of carbon nanotubes, Environ. Sci. Technol. 45 (2011) 9837–9856.
- [8] M.O. Amdur, J.F. McCarthy, M.W. Gill, Respiratory response of guinea pigs to zinc oxide fume, Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 43 (1982) 887–889.
- [9] J. Ferin, G. Oberdorster, D.P. Penney, S.C. Solderholm, R. Gelein, H.C. Piper, Increased pulmonary toxicity of ultrafine particles. 1. Particle clearance, translocation, morphology, J. Aerosol Sci. 21 (1990) 381–384.
- [10] A. Nel, T. Xia, L. Mädler, N. Li, Toxic potential of materials at the nano level, Science 311 (2006) 622–627.
- [11] M.A. Dobrovolskaia, S. McNeil, Immunological properties of engineered nanomaterials, Nat. Nanotechnol. 2 (2007) 469–478.
- [12] G. Oberdorster, V. Stone, K. Donaldson, Toxicology of nanoparticles: a historical perspective, Nanotoxicology 1 (2007) 2–25.
- [13] A.D. Ostrowski, T. Martin, J. Conti, I. Hurt, B. Herr Harthorn, Nanotoxicology: characterizing the scientific literature, J. Nanopart. Res. 11 (2009) 251–257.
- [14] A. Maynard, D. Bowman, H. Graeme, The problem of regulating sophisticated materials, Nat. Mater. 10 (2011) 554–557.
- [15] F. Balas, M. Arruebo, J. Urrutia, J. Santamaria, Reported nanosafety practices in research laboratories worldwide, Nat. Nanotechnol. 5 (2010) 93–96.
- [16] N. Lubick, Hunting for engineered nanomaterials in the environment, Environ. Sci. Technol. 43 (2009) 6446–6447.
- [17] A.T. Zimmer, P.A. Baron, et al., The influence of operating parameters on number-weighted aerosol size distribution generated from a gas metal arc welding process, J. Aerosol Sci. 33 (3) (2002) 519–531.
- [18] G. Buonanno, L. Morawska, H. Graeme, Exposure to welding particles in automotive plants, J. Aerosol Sci. 42 (5) (2011) 295–304.
- [19] H. Sunil, Green electronics through legislation and lead free soldering, Clean-Soil Air Water 36 (2008) 145–151.
- [20] G.R. Contreras, M. Chan-Yeung, Bronchial reactions to exposure to welding fumes, Occup. Environ. Med. 54 (1997) 836–839.
- [21] P.S. Burge, G. Edge, R. Hawkins, V. White, A.J.N. Taylor, Occupational asthma in a factory making flux-cored solder containing colophony, Thorax 36 (1981) 828–834.
- [22] B.N. Gupta, S.K. Rastogi, T. Husain, N. Mathur, B.S. Pangtey, A study of respiratory morbidity and pulmonary function among solderers in the electronics industry, Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 152 (1991) 45–51.
- [23] A.M.R. Downs, J.E. Sansom, Colophony allergy: a review, Contact Dermatitis 41 (1999) 305–310.
- [24] T. Keira, Y. Aizawa, H. Karube, M. Niituya, S. Shinohara, A. Kuwashima, H. Harada, T.T. Takata, Adverse effects of colophony, Ind. Health 35 (1997) 1–7.
- [25] Z. Szoboszlai, Zs Kertész, Z. Szikszai, A. Angyal, E. Furu, Z. Török, L. Daróczy, Á.Z. Kiss, Identification and chemical characterization of particulate matter from wave soldering processes at a printed circuit board manufacturing company, J. Hazard. Mater. 203–204 (2012) 308–316.
- [26] S.C. Wang, R.C. Flagan, Scanning electrical mobility spectrometer, Aerosol Sci. Technol. 13 (1990) 230–240.
- [27] J. Gebhart, Optical direct-reading techniques: light intensity systems, in: P.A. Baron, K. Willeke (Eds.), Aerosol Measurement: Principles, Techniques, and Applications, Wiley Interscience, New York, 2001, pp. 419–454.
- [28] C. He, L. Morawska, et al., Contribution from indoor sources to particle number and mass concentrations in residential houses, Atmos. Environ. 38 (21) (2004) 3405–3415.
- [29] Y. Efendiev, M.R. Zachariah, Hierarchical hybrid Monte-Carlo method for simulation of two-component aerosol nucleation, coagulation and phase segregation, J. Aerosol Sci. 34 (2) (2003) 169–188.
- [30] K. Wittmaack, Impact and growth phenomena observed with sub-micrometer atmospheric aerosol particles collected on polished silicon at low coverage, Atmos. Environ. 36 (2002) 3963–3971.

ARTÍCULO 8



Comparison of Dust Release from Epoxy and Paint Nanocomposites and Conventional Products during Sanding and Sawing

Virginia Gomez^{1*}, Marcus Levin^{2,3}, Anne T. Saber², Silvia Irusta^{1,4},
Miikka Dal Maso⁵, Roberto Hanoi⁶, Jesus Santamaria^{1,4}, Keld A. Jensen²,
Hakan Wallin^{3,7} and Ismo K. Koponen²

1. Department of Chemical Engineering, Nanoscience Institute of Aragon, Mariano Esquillor, I+D building, 50018 Zaragoza, Spain
 2. National Research Centre for Working Environment, Lersø Park Allé 105, Copenhagen, Denmark
 3. Department of Micro- and Nanotechnology, Technical University of Denmark, DK-2800 Lyngby, Denmark
 4. Networking Research Center on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine, CIBER-BBN, 50018 Zaragoza, Spain
 5. Department of Physics, University of Helsinki, PO Box 64, 00014 Helsinki, Finland
 6. Nanologica AB, Drottning Kristinas väg 45, 114 28 Stockholm, Sweden
 7. Institute of Public Health, University of Copenhagen, DK-1014 Copenhagen, Denmark
- *Author to whom correspondence should be addressed. Tel: +044-7475465179; e-mail: virgomez@unizar.es
Submitted 20 January 2014; revised 28 March 2014; revised version accepted 30 May 2014.

ABSTRACT

The release of dust generated during sanding or sawing of nanocomposites was compared with conventional products without nanomaterials. Epoxy-based polymers with and without carbon nanotubes, and paints with different amounts of nano-sized titanium dioxide, were machined in a closed aerosol chamber. The temporal evolution of the aerosol concentration and size distribution were measured simultaneously. The morphology of collected dust by scanning electron microscopy was different depending on the type of nanocomposites: particles from carbon nanotubes (CNTs) nanocomposites had protrusions on their surfaces and aggregates and agglomerates are attached to the paint matrix in particles emitted from alkyd paints. We observed no significant differences in the particle size distributions when comparing sanding dust from nanofiller containing products with dust from conventional products. Neither did we observe release of free nanomaterials. Instead, the nanomaterials were enclosed or partly enclosed in the matrix. A source strength term S_i ($\text{cm}^{-3} \text{s}^{-1}$) that describes particle emission rates from continuous sources was introduced. Comparison between the S_i parameters derived from sanding different materials allows identification of potential effects of addition of engineered nanoparticles to a composite.

KEYWORDS: aerosol size distributions; nanomaterial; nanotechnology; occupational health.

INTRODUCTION

Nanocomposites are widely developed multiphase products with new characteristics and mechanical properties (Perez-Lopez and Merkoci, 2011; Krivda

et al., 2012) and this field is a growing area that produces new technological applications every day. Different engineered nanomaterials (ENMs) have been used as functional fillers (Hussain et al., 2006;

Rana *et al.*, 2009). Exposure to nanostructured particles has been studied with increasing interest during the last decade (Maynard, 2006; Wiesner *et al.*, 2006) and detrimental effects have been documented for several ENMs when tested as pure compounds (George *et al.*, 2010; Elsaesser and Howard, 2012). Kuhlbusch *et al.* (2011) summarized the available information related to airborne nanomaterial exposure and highlighted the greatest needs throughout two measurement approaches: workplace and laboratory studies. In a recent article, Hunt *et al.* (2013) summarized the current knowledge gaps in the nanosafety field. For example, further characterization (particle morphology, state of aggregation and chemical composition) of the released materials is needed in Nanosafety studies. Besides, the knowledge on the hazard of nanomaterials when part of a composite matrix is very scarce (Wohlleben *et al.*, 2011; Saber *et al.*, 2012a,b,c; Mikkelsen *et al.*, 2013; Wohlleben *et al.*, 2013).

In the past few years, several studies about machining nanocomposite materials have been published (Mazzuckelli *et al.*, 2007; Bello *et al.*, 2009; Koponen *et al.*, 2009; Vorbau *et al.*, 2009; Göhler *et al.*, 2010; Cena and Peters, 2011; Golanski *et al.*, 2011; Koponen *et al.*, 2011; Wohlleben *et al.*, 2011; Golanski *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2012; Schlagenhauf *et al.*, 2012; Göhler *et al.*, 2013; Hirth *et al.*, 2013). Some of them use the Taber abrasion test, a standardized method to study abrasion resistance of materials and coatings, that coupled with appropriate aerosol measurement techniques, allows study of the particle emission (Vorbau *et al.*, 2009; Göhler *et al.*, 2010; Golanski *et al.*, 2011, 2012; Schlagenhauf *et al.*, 2012). In these studies, free aerosolized nanoparticles were not observed suggesting that ENM's remain embedded in the coating matrix. On the other hand, Schlagenhauf *et al.* (2012) proved by transmission electron microscopy (TEM) images that free CNTs were released into the environment. Bello *et al.* (2010) investigated exposures during solid core drilling of CNT-epoxy composites reporting release of CNTs clusters during drilling. In a recent study, Golanski *et al.* (2012) addressed the importance of the filler dispersion in the matrix related to their releasability.

Non-standardized sanding processes of nanocomposites used as coatings (paints, lacquers, etc.) have been studied by several research groups (Koponen *et al.*, 2009; Göhler *et al.*, 2010; Cena and Peters,

2011; Wohlleben *et al.*, 2011; Golanski *et al.*, 2012; Göhler *et al.*, 2013). Wohlleben *et al.* (2011) stated that powders from sanding of reference materials and nanocomposites are similar in size, except for the nanostructured surfaces in the latter. In Cena and Peters (2011), micrometer-sized particles formed by an epoxy core with CNT protrudes were shown. Koponen *et al.* (2011) evaluated dust generated during sanding of different coatings. In this study, the number size distribution of sanding dust is dominated by 100–300-nm size particles. The presence of ENMs fillers vaguely affected the geometric mean diameters of the particle modes in the sanding dust when compared with their reference products. However, considerable differences in the number concentrations between the different size modes were observed. Other operations as sawing (Mazzuckelli *et al.*, 2007; Bello *et al.*, 2009; Methner *et al.*, 2012) (wet and dry) have been studied. Results are still divergent and unsolved questions concerning the potential release of nanostructured particles during mechanical treatments of nanocomposite products and their impact on human health and the environment remain unsolved. Consequently, development of detailed emission assessment methods during specific life-cycle stages as production, finishing, renovation, and destruction of nanocomposites are required.

Measurement methods are important for assessing the potential health risk to workers; the use of an exposure chamber ensures a controlled environment and isolates the studied emission source. However, the exposure chamber can also influence the measurements. In order to study particle emission from nanocomposites processing inside an exposure chamber, it is necessary to have a reliable model that takes into account the total number of emitted particles as well as their removal. A number of authors modeled particle emission from continuous sources (Schripp *et al.*, 2008; Koivisto *et al.*, 2012), where agglomeration and deposition losses are the processes that severely influence the generated aerosol. The present study defines a term expressing the particle emission rate and the number of particles generated during a unit of time, called 'source strength'. This term provides a way to compare aerosols generated from reference and nanocomposite materials. It also allows detection of differences caused by ENMs addition to a matrix. As the aerosol size distribution undergoes dynamical

processing as soon as it is released into the measurement volume, we modeled the aerosol dynamics to retrieve the source rate.

The aim of this work was to compare dust released during mechanical degradation of nanocomposites compared to conventional, ENM-free products with the same polymer material. This was performed by sanding and/or sawing CNT epoxy-based nanocomposites and boards painted with paints containing different amounts of nano-sized titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles in their formulation. It must be realized, however, that obtaining reproducible data in this type of studies is difficult because of the large number of variables that influences the results. Thus for instance, in the sanding of painted boards, results are expected to be dependent on a number of factors, including the type of paint used, the nature and load of the nanocomposite filler used (which in turn affects the rheological properties of the paint), the degree of dispersion of the filler, and the nature and thickness of the support board. Because of this, we aim to identify

mainly general trends, and the specific values obtained (e.g. source strength data) are expected to be subjected to large variations, depending on the specific system investigated and the operating conditions used.

MATERIALS AND METHODS

Studied materials

Epoxy and paint materials (see Table 1 for further details) were tested.

Three types of epoxy plates were manufactured: (i) an epoxy product without CNT (referred as Epoxy1), (ii) a corresponding product with 0.2% content CNT (referred to as Epoxy3), and (iii) EPOCYL™NC R128-04 (Epoxy2) (Table 1). Epoxy1 and Epoxy3 were made of the epoxy resin Bodopox 8000 (Bodotex, Vejle, Denmark) consisting of bisphenol A and bisphenol F. The CNTs were dispersed in the epoxy resin with 0.2 wt % (Epoxy3). For Epoxy2, the used epoxy resin was an industrial product containing <20% CNT (according to the safety datasheet provided by

Table 1. Materials description

Composite name	Matrix	Nanomaterials	Procedure
Epoxy1	Bodopox 8000 epoxy resin with INF32 slow as curing agent	—	Sanding, sawing
Epoxy2	Epocyl NC R128-04 resin with INF32 slow as curing agent	Nanocyl multiwalled carbon nanotubes (NC7000): 9.5 nm mean diameters, 1.5 μm lengths, and 245 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ surface area	
Epoxy3	Bodopox 8000 epoxy resin with INF32 slow as curing agent	Nanocyl multiwalled carbon nanotubes (NC7000): 9.5 nm mean diameters, 1.5 μm lengths, and 245 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ surface area	
Paint1	Polyvinyl acetate (G1R in Koponen et al., 2011)	—	Sanding
Paint2	Paint matrix: water, propylene glycol, Uradil AZ XP 601Z44, and others	Nano Amor and NaBond TiO_2 rutile nanoparticles (36%) NaBond: 80 nm mean diameters and specific surface area of 28.2 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ Nano Amor: 50 nm mean diameters and specific surface area of 139.1 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$	
Paint3	Paint matrix: water, propylene glycol, Uradil AZ XP 601Z44, and others.	NaBond TiO_2 rutile nanoparticles (36%) NaBond: 80 nm mean diameters and specific surface area of 28.2 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$	

the manufacturer; Nanocyl S.A., Auvelais, Belgium). For all three products, the curing agent was INF32 (Bodotex). The composites were cured at ca. 23°C for ca. 24 h, followed by postcuring at 100°C for minimum 24 h. The CNT filler used in both CNT containing epoxy products was Nanocyl CNTs (NC7000). Those CNTs have mean diameters of 9.5 nm and lengths of 1.5 μm according to the manufacturer (Nanocyl S.A.). The specific surface area of the CNTs was 245 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$.

Flügger A/S provided wooden boards applied with a few millimeter thick layer of two types of alkyd paints: the reference material (Paint1) has pigment TiO_2 in its composition, the dry Paint2 has a mixture of 12 wt % Nano Amor and 24 wt % of NaBond particles; and dry Paint3 has 36 wt % of NaBond as filler (see Table 1 for additional details). NaBond and Nano Amor rutile TiO_2 nanoparticles have average grain sizes of 80 and 50 nm and specific surface areas of 28.2 and 139.1 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, respectively.

Experimental setup, instrumentation, and measurement procedure

Experiments were performed inside a closed stainless steel aerosol chamber (0.66 m^3) equipped with a small fan to ensure complete mixing and homogenous particle concentration, [supplementary Fig. SI](#) is available at *Annals of Occupational Hygiene* online. A detailed description of the chamber was given by [Nørgaard et al. \(2009\)](#).

A Metabo FSR200 hand-held sanding machine with a vibrational frequency was used at a rated load of 22 000 l min^{-1} . A sanding paper with a grit size of 120 was also used. This was the one recommended by the manufacturer for sanding hardwood, softwood, chipboard, rusted metal, fiberglass, and plastics. The dust collector cartridge was removed in order to release the produced dust into the chamber allowing the study of the whole range of emitted particles. Sawing experiments were performed using a Skil Masters (4585) jig saw, which is intended for cutting wood, plastic, metal, ceramic boards, and rubber.

Before each experiment, the chamber was vacuum cleaned and its surfaces were thoroughly wiped. In addition, the chamber was flushed with particle-free high efficiency particle arresting (HEPA) filtered air to ensure low-background particle concentrations.

The tests consisted of three parts: First, background was measured during 500 s; second, sanding or sawing

processes were carried out for 30 s, and third, measurements continued until the number of particle concentration reached initial levels.

Particles were sampled by using 4 1/4" conductive flexible tubes (20 cm length) using different instruments; an Electrical Low-Pressure Impactor (Dekati, ELPI+ Model 10016, 6 nm to 10 μm measurement range), a Fast Mobility Particle Sizer (TSI, FMPS model 3091, 5.6 to 560 nm range), an Aerodynamic Particle Sizer (TSI, APS Model 3321, 0.56–20 μm range), and a Condensation Particle Counter (CPC, Grimm, Model 5403, 4.5 nm and 3 μm range). All instruments were working at 1-Hz sampling rate. FMPS and APS flows were diluted 1:10 and 1:20 (Aerosol Diluter TSI 3302A), respectively. The total sample flow of 17.5 l min^{-1} was replaced in the chamber with HEPA filtered air.

Samples for microscopy analysis were collected on 37-mm diameter polycarbonate filters by using a respirable fraction cyclone (BGI, GK 2.69). Samples were covered with a thin layer of gold and subsequently analyzed by scanning TEM and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX; F30–FEI microscope). Mean particle diameters were measured with ImaQ vision builder software from a sample of >75 particles. Some filters were ultrasonicated and the collected particles were also analyzed by TEM (Tecnai T20).

Retrieval of the aerosol source rate requires a time-dependent solution of the aerosol general dynamic equation to account for the size-dependent coagulation, dilution, and deposition processes during sampling. We used an aerosol dynamics model developed for chamber studies ([Fry et al., 2009](#); [Mentel et al., 2009](#)) adapted to our sampling conditions to determine the losses and evolution of the particle size distribution. The model solved the coagulation equation for a discretized size distribution using the moving sectional method ([Korhonen, 2004](#)) while simultaneously accounting for dilution and deposition losses. Model output was iteratively used to constrain chamber loss parameters together with test data from the chamber. The model was run with 40 size sections ranging from 1 to 1000 nm to determine the size-dependent loss coefficients. Source strength ($S_i \text{ s}^{-1} \text{ cm}^{-3}$) was calculated by linear regression from the different size-channels ELPI experimental data.

RESULTS AND DISCUSSION

The evolution of emissions from continuous processes presented similar patterns among all materials tested. As an example, Fig. 1 shows total particle concentration during sanding of Epoxy1 plate. Background concentrations inside the chamber remained <3000 particles per cm^3 until the sanding process started. Particle concentration increased continuously during the mechanical processing, then decreased immediately after sanding was stopped.

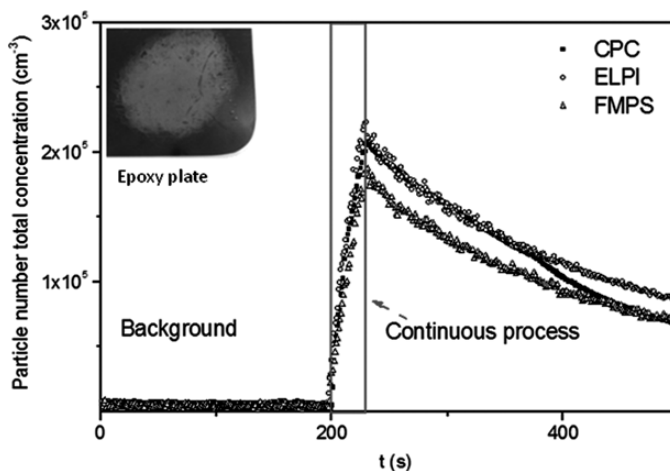
Sanding and sawing machine emissions reached total emission values of 3.0×10^5 and $9.8 \times 10^5 \text{ cm}^{-3}$ (ELPI data) or $2.2 \times 10^5 \text{ cm}^{-3}$ and $4.6 \times 10^5 \text{ cm}^{-3}$ (CPC data), respectively, after running freely during 30 s. As previously reported, electrical motors produce mechanical wear, releasing ultrafine particles consisting mainly of copper (Szymczak *et al.*, 2007; Koponen *et al.*, 2009) and therefore a fraction of the nanoparticle population is contributed by the motor itself, independently of the material processed.

Epoxy-based materials

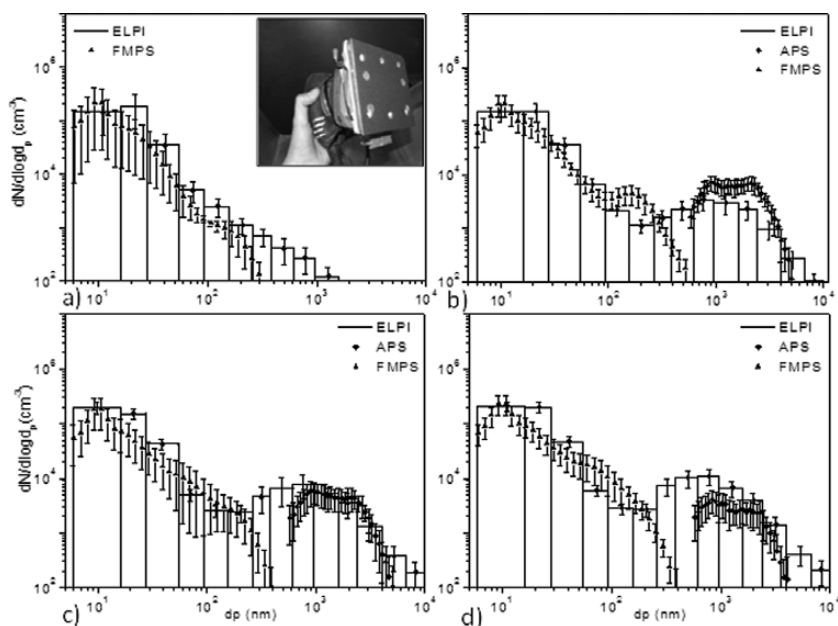
Two different processes were used on CNT/epoxy composites, namely sanding and sawing. The average number particle size distribution calculated from the measured data obtained during the sanding of epoxy boards is presented in Fig. 2. Averages were calculated over a 20-s period starting 5 s after the beginning of sanding and until 5 s before the end of sanding. Engine particles emission contributes significantly to total

emission values (Fig. 2) and differences in total particle number concentration among reference and composite emissions are difficult to observe from ELPI, CPC, and FMPS data. However, measurement by APS, which is only sensitive to particle sizes $>560 \text{ nm}$, shows significantly higher values for nanocomposite (Epoxy2 and Epoxy3) than for CNT-free epoxy composites (Fig. 2).

Emission number size distribution is a very important feature in exposure assessment. Sanding epoxy plates generated particles in two different size ranges below and above 1 micron. Particles $<1 \mu\text{m}$ are related to the sander emission (Fig. 2a) and were present in all the epoxy sanding experiments with similar number concentrations. This is in agreement with previous studies that have reported particle generation by sanding machine engines (Szymczak *et al.*, 2007; Koponen *et al.*, 2009, 2011). Figure 2a shows number size distributions dominated by particles with diameters between 10 and 50 nm, which were obtained by running the sanding machine on an empty load. Larger particles with sizes between 100 nm and $4 \mu\text{m}$ are produced by epoxy materials. For this size range, APS and ELPI show a good correlation and present a clear contribution of particles with diameters $>600 \text{ nm}$ in agreement with previous studies that found particles in the micron size range when machining epoxy-based composites (Bello *et al.*, 2009; Cena and Peters, 2011; Golanski *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2012; Schlagenhau *et al.*, 2012; Hirsh *et al.*, 2013). It is important to notice



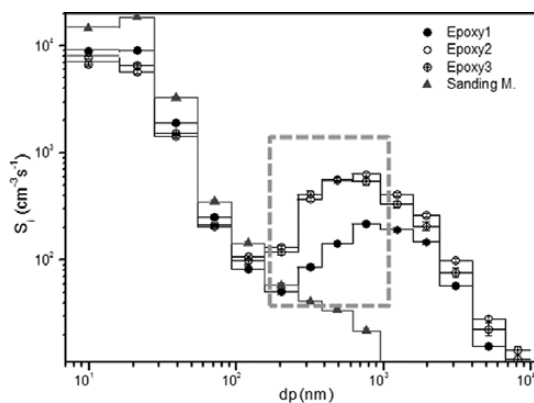
1 Particle number total concentration versus time emitted during Epoxy1 sanding process. Continues lines indicate the beginning and end of the sanding process. Inset: CNTs-containing epoxy plate after a sanding process.



2 Number particle size distribution emitted during sanding of epoxy-based composites (a) sanding machine (inset) emission, (b) Epoxy1, (c) Epoxy2, and (d) Epoxy3.

that the size distributions of the particles emitted from epoxy materials are not significantly different when CNTs are present (Epoxy2 and Epoxy3 samples).

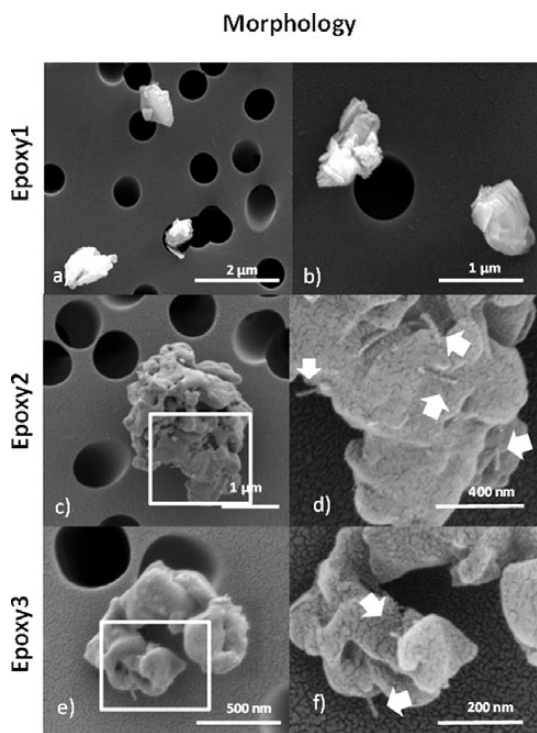
Source strength S_i ($s^{-1} \text{ cm}^{-3}$) provides an estimation of the particle emission rate from a continuous source. When the process starts with a low concentration of background particles (cleaned chamber), the contribution of coagulation, dilution, and deposition processes during particle concentration constant rise is small enough to be ignored. Then, as the rate at which particle concentration increased was approximately constant during reworking (see Fig. 1), these processes can be considered as constant emission sources. Therefore, source strength values were directly calculated by linear regression from ELPI experimental data. S_i terms were calculated for the different size channels and allow qualitative comparison among the experimental data. Some results are shown in Fig. 3, where it can be seen that S_i values are similar for particles with diameters <100 nm, which are generated from the sanding machine. However, sanding CNTs-containing epoxy materials leads to S_i values up to 4 times higher in the size range 263–384 nm. Particle emission rates in this range seem to be affected by changes in the mechanical properties of materials caused by the addition of fillers to the matrix (Gojny



3 Source strength S_i ($\text{cm}^{-3} \text{ s}^{-1}$) versus particle diameter calculated from 20-s ELPI data during sanding epoxy-based composites and during sanding machine emissions.

et al., 2005; Liu and Wagner, 2005; Ci and Bai, 2006). The interaction between filler and matrix would influence the fragments emission when the composite undergoes a high-energy process like sanding.

Scanning electron microscopy (SEM) images of dust collected on a polycarbonate filter were used to study the morphology of the emitted particles (Fig. 4). All particles have irregular morphologies, but samples from nanocomposites with CNTs as fillers



4 SEM images of dust collected on a PC filter during sanding epoxy-based composites and particle protrusions indicated by arrows.

(Epoxy2 and Epoxy3) show rougher and sharper surfaces. Similar results were reported by [Cena and Peters \(2011\)](#) who, during sanding, collected micrometric particles with protruding features from CNTs embedded in an epoxy matrix. The protrusions would be embedded CNTs that extend outward beyond the perimeter particle ([Fig. 4d,f](#)). In a recent study, [Hirth et al. \(2013\)](#) have clearly identified protrusions of CNTs from fragments of CNTs-epoxy composites after sanding. They proposed that the microscopic flow of polymers with an elongation at break above a few percent covered the pulled-out CNTs during the shear-induced separation of fragments.

In this work, no free CNTs were observed in the dust released from epoxy composite material, in agreement with [Hirth et al. \(2013\)](#) who stated that, at least 95% of CNT fillers remain embedded in the matrix. On the contrary, [Schlagenhauf et al. \(2012\)](#) have found a non-negligible amount of free-standing CNTs and agglomerates of CNTs during Taber abrasion test. Differences could be related to the influence of several factors such as concentration and dispersion

degree of the fillers. No free CNTs were observed by [Huang et al. \(2012\)](#) except for tests conducted with 4% by weight CNT. Besides, CNTs release was found only from materials showing a bad dispersion of filler within the matrix ([Golanski et al., 2012](#)).

Some particles with fiber shapes were detected (see [supplementary Fig. S2](#), available at *Annals of Occupational Hygiene* online, as an example) in dust collected from Epoxy2. Fiber-shaped particles as large as 5 microns length and 580 nm wide and sub-micron fiber with 330 nm lengths and 80 nm wide were found. Although it is tempting to assign these protrusions to CNTs, their diameters are considerably larger than those of pristine CNTs, and therefore a direct assignment is not possible without additional evidence. It is possible, however, that they are resin-coated CNTs or bundles of CNTs. In previous studies, [Mazzuckelli et al. \(2007\)](#) and [Bello et al. \(2009, 2010\)](#) also found fiber-shaped particles during machining composites. According to [Bello et al. \(2009\)](#), these fibers are not clearly associated to individual CNTs or bundles of CNTs.

Dry sawing processes results are shown in [supplementary Figs S3 and S4](#), available at *Annals of Occupational Hygiene* online. As in the case of sanding, the most important contribution to the number concentration during the sawing process is the emission of particles from the jig saw machine motor; these particles are mostly <100 nm in mobility diameter ([supplementary Fig. S3b](#), available at *Annals of Occupational Hygiene* online). Emissions during sawing of Epoxy3 are compared with the reference material in [supplementary Fig. S3b](#), available at *Annals of Occupational Hygiene* online. The total number concentration values (ELPI) were around 1 million, but values were slightly higher for Epoxy3 emissions than from reference material, $1.6 \cdot 10^6$ and $1.2 \cdot 10^6$ particles per cm^3 , respectively. The same pattern is shown by CPC data with values of $7.6 \cdot 10^5$ and $5.8 \cdot 10^5$ particles per cm^3 , respectively. The different number concentrations during sawing materials with and without nanomaterials are likely caused by different material hardness and resulting differences in the motor load of the jig saw. [Mazzuckelli et al. \(2007\)](#) found also slight increases in particle concentration relative to laboratory background for wet sawing of CNFs-containing polymer. [Bello et al. \(2009\)](#) on the other hand, reported that dry cutting of composites generated statistically significant quantities

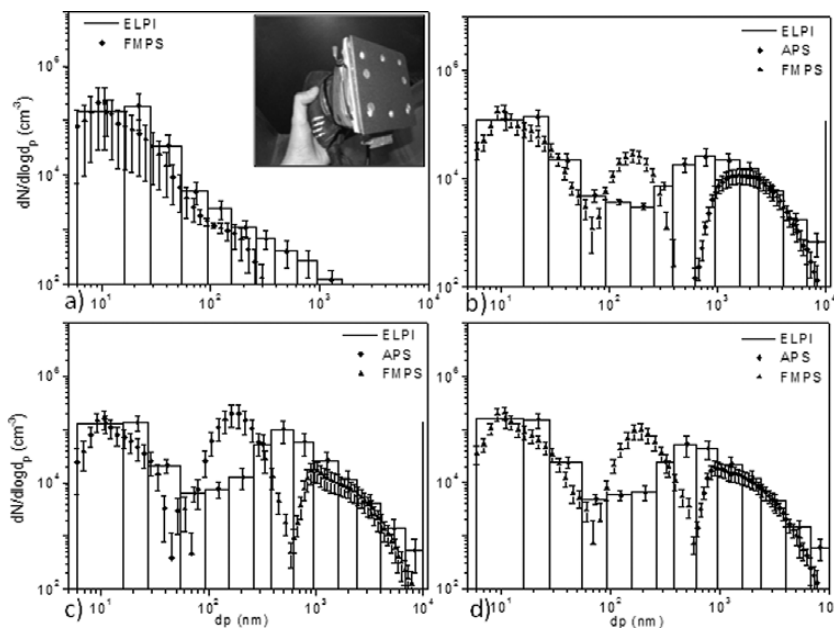
of nanoscale and fine particles compared with background. [Supplementary Figs S3d,f](#), available at *Annals of Occupational Hygiene* online, show that there is a significant contribution of particles with a size of several microns (mostly in the 1–10 micron interval) for Epoxy3. During wet sawing ([Mazzuckelli et al., 2007](#)), particles having a diameter of ~400 nm or greater were found. In our experiments, most of the fragments generated during the sawing process are in the millimeter range as can be seen in [supplementary Fig. S4](#), available at *Annals of Occupational Hygiene* online. Only [Methner et al. \(2012\)](#) found free fibers, bundles, and agglomerates, when wet sawing composites. Further investigations are clearly needed to understand particle emission during sawing nanocomposites.

Painted boards

The results obtained from sanding of painted boards are shown in [Fig. 5](#). In paint processing as in epoxy processing, the contribution of the electrical motor produces again an important emission. A painted board equal to the one used in a preceding study ([Koponen et al., 2011](#)) was included in this work (Paint1) to compare how the emission was affected by the use of different experimental set-ups. [Koponen et al. \(2011\)](#) found that the average number concentration obtained when

sanding this material was $2.60 \cdot 10^5$ particles per cm^3 and it increased to $2.94 \cdot 10^5$ particles per cm^3 when the sanding machine emissions were included. In this study, emissions from Paint1 measured with FMPS, CPC, and ELPI were $1.28 \cdot 10^5$, $1.7 \cdot 10^5$, and $2.06 \cdot 10^5$ particles per cm^3 , respectively. Hence, results are in the same order of magnitude despite of using two different set ups and different types of paints (polyvinyl acetate and alcyde-based paints, [Table 1](#)). Paint2 and Paint3 emissions measured with ELPI had concentrations of $2.50 \cdot 10^5$ and $2.57 \cdot 10^5$ particles per cm^3 , respectively. ELPI values are always higher than FMPS as for paint composites processing. On the other hand, again APS results show an increase in the concentrations of particles from $1.2 \cdot 10^4$ for Paint1 material to $2.2 \cdot 10^4$ particles per cm^3 for nanocomposites. Both results are consistent with previous research of polyvinyl acetate paints doped with TiO_2 ([Koponen et al., 2011](#)) and could be explained by the presence of micrometer size particles.

The number particle size distributions represented in [Fig. 5](#) show similar structures: engine background emissions, and then two peaks, one with a maximum at 200 nm (FMPS) and other with a maximum $>1 \mu\text{m}$ (APS). ELPI results show only one peak $>100 \text{ nm}$. Data show that the emission of

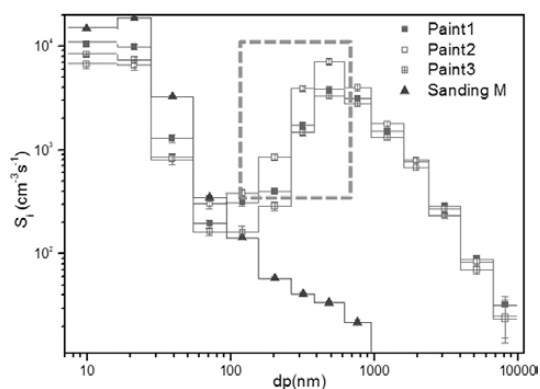


5 Number particle size distribution during sanding paint (a) sanding machine (inset) emission, (b) Paint1, (c) Paint2, and (d) Paint3.

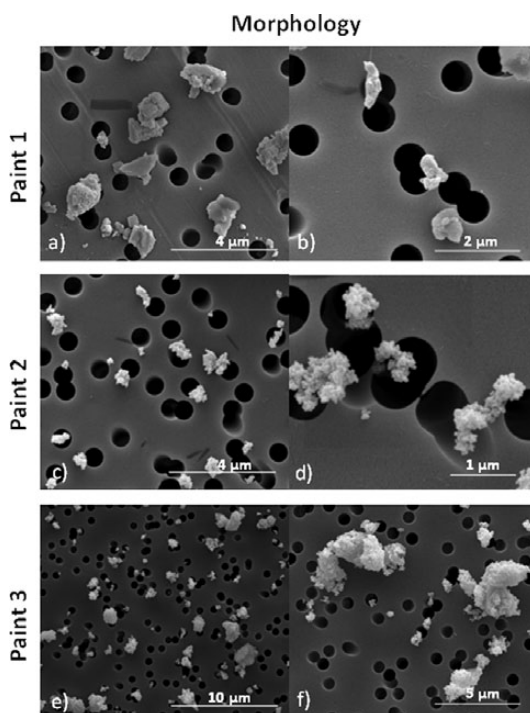
particles within the size range 100–400 nm is slightly higher for nanocomposite materials (Fig. 5c,d). The discrepancy in results obtained from ELPI, FMPS, and APS is caused due to dissimilar measurement ranges and principles of the equipment. The instruments measured different aerosol properties. ELPI and APS determine the aerodynamic particle size, and FMPS measures electrical particle sizes. A nominal value of density equal to 1 g cm^{-3} has been used in the calculations. Therefore, emitted particles whose density values are significantly different from this value could cause the mismatch among the instrument data.

Even when Paint2 and Paint3, have the same filler load (36 wt %), Paint2 presents a mixture of 50 and 80 nm rutile titanium, whereas Paint3 has only 80-nm particles with lower surface area as fillers. This characteristic affects the source strength values as shown in Fig. 6. Paint2 shows twice the S_i values of Paint3 in the size range between 263 and 384 nm. Therefore, sample composition and changes in the interaction between fillers and paint matrix may lead to significant differences in emission rates as a function of particle size, even if the total amount of particles emitted is similar.

Further SEM analysis of the samples showed that morphology and shape of collected dust are significantly different among the samples. Figure 7 shows SEM micrographs of particles collected from sanding the three types of paints. We observed that Paint1 sample mostly consisted of compact particles with flaked shape, whereas most of the dust particles collected from Paint2 and Paint3 had irregular shapes probably caused by the load of nanoparticle in these materials. Figure 8 shows dust EDX analysis. The Ti signals in EXD spectrum of Paint1 confirm that some particles are aggregated pigment particles (no nanoparticles) attached to matrix fragments. Similar results were reported by Saber *et al.* (2012c), who found nanoparticulate material well retained in the matrix. Some aggregates with size ranges <1 micron were found in the dust collected from Paint2. A more detailed observation of the structure of these aggregates indicates that they are constituted by smaller particles, whose sizes are compatible with those of the pristine TiO_2 nanoparticles in Paint 2. Also, their EDX energy map analysis showed clearly Ti signals (Fig. 9). EDX dust analysis for 25 particles collected from each samples showed that an 80% of the collected particles have

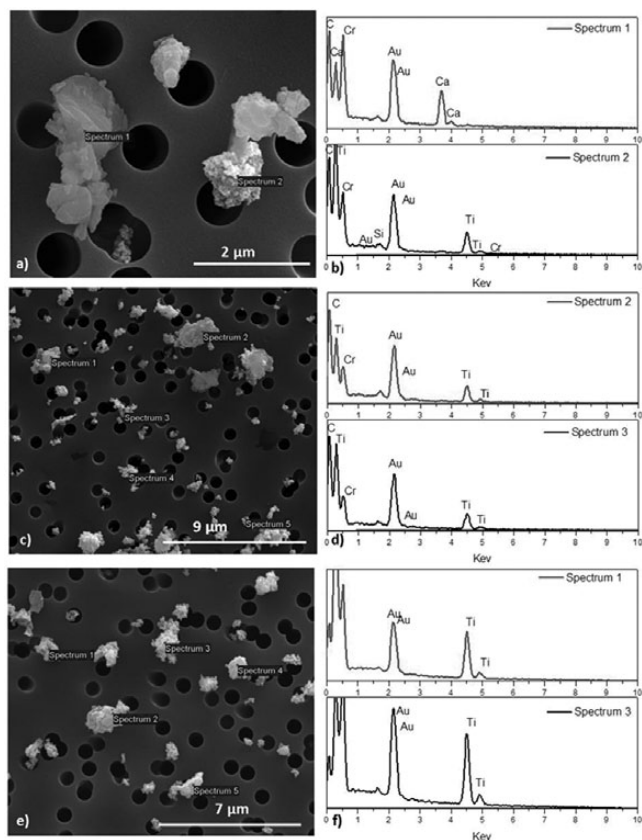


6 Source strength S_i ($\text{cm}^{-3} \text{ s}^{-1}$) versus particle diameter calculated from 20-s ELPI data during sanding paints and during sanding machine emissions.

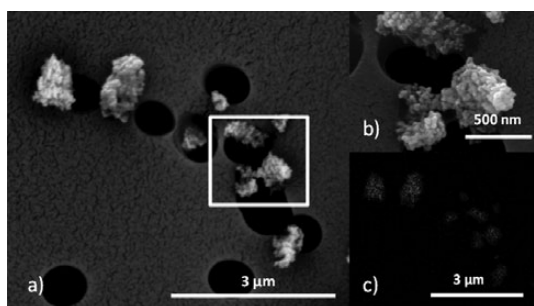


7 SEM images of dust collected on a PC filter during sanding paint-based composites.

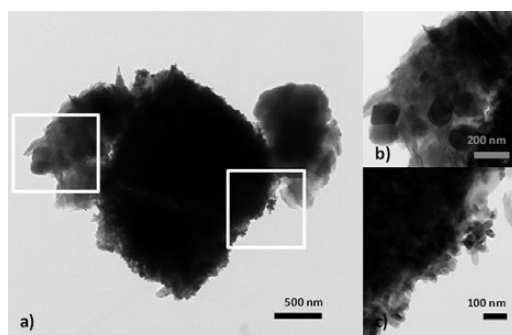
Ti signals for Paint2 and Paint3 and only a 32% of the Paint1 fragments. Examples of dust collected and EDX analysis for Paint2 and Paint3 show nanoparticles aggregates inside the paint matrix. Samples were also studied by TEM. Figure 10 shows a particle composed by an aggregate (Fig. 10c) joined to paint pigments (Fig. 10b).



8 SEM images of dust collected during sanding (a) Paint1, (b) Paint2, and (c) Paint3 spectra results of EDX analysis.



9 (a) SEM images of dust collected during sanding of Paint2. (b) Enlargement of the boxed region of Fig. 9a to show the structure of the aggregates. (c) Ti mapping from EDX data corresponding to the image of Fig. 9a.



10 TEM images of dust collected during sanding Paint2.

CONCLUSIONS

The dust released from machining consists mostly of particles with diameters >100 nm. In agreement to previous studies (Koponen *et al.*, 2009, 2011; Göhler *et al.*, 2013; Saber *et al.* 2012c), no free nanoparticles were found in collected samples.

The aim of the study was to compare and characterize particle emissions during sanding and sawing processes using nanocomposites and conventional products without ENMs. As already discussed, obtaining a high reproducibility in experiments involving reworking of nanocomposites is difficult, and the quantitative

results given in this work (e.g. source strength values) represent an order of magnitude estimation, without statistical significance. In spite of this, some general conclusions can be drawn, as discussed next.

During sanding, particle emissions from the sanding machine itself must be seen as bias of the measurement background and part of the emission. In most cases, no significant differences of the generated particle size distributions were found between the tested nanocomposites and their equivalent non-nano-containing counterparts. However, the appearance of the generated sanding particles differed depending on the content of ENM: Particles emitted from nanocomposites with CNTs presented fiber-shaped protrusions likely caused by the presence of embedded CNTs, although no free isolated CNTs were found in any of the dust samples. The physical appearance of sanding dusts from the painted boards was also different: Aggregates and agglomerates are attached to the matrix in nanocomposites emissions. In addition, in sanding experiments, on painted boards, submicron-sized agglomerates mostly constituted by nanoparticles could be identified by electron microscopy. However, even in this case, individual nanoparticles or agglomerates constituted by only a few nanoparticles could not be found.

Working with a cleaned chamber allowed to achieve a reduced initial background and this enabled the estimation of source strength values for different particle diameters. Comparison between the S_i values derived from machine sanding of different materials indicates that the contribution of dust particles with diameters >100 nm is the most important contribution due to the nanocomposite material itself. Particles <100 nm in size are almost exclusively due to emissions generated by the sanding device.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary Figures S1–S4 can be found at <http://annhyg.oxfordjournals.org/>.

FUNDING

European Community's Seventh Framework Programme (FP7/2007–2013); NanoSustain (247989); NanoValid (263147), FPU scholarship (AP2008-02067); Danish Working Environment Research Fund (Danish Centre for Nanosafety, 20110092173/3).

ACKNOWLEDGMENTS

Flügger and Beck&Jørgensen A/S kindly produced the test paints and supplied the painted boards.

DISCLAIMER

The findings and conclusions in this paper are those of the authors and do not necessarily represent the views of the National Institute for Occupational Safety and Health.

REFERENCES

- Bello D, Wardle B, Yamamoto N *et al.* (2009) Exposure to nanoscale particles and fibers during machining of hybrid advanced composites containing carbon nanotubes. *J Nanopart Res*; 11: 231–49.
- Bello D, Wardle BL, Zhang J *et al.* (2010) Characterization of exposures to nanoscale particles and fibers during solid core drilling of hybrid carbon nanotube advanced composites. *Int J Occup Environ Health*; 16: 434–50.
- Cena LG, Peters TM. (2011) Characterization and control of airborne particles emitted during production of epoxy/carbon nanotube nanocomposites. *J Occup Environ Hyg*; 8: 86–92.
- Ci L, Bai J. (2006) The reinforcement role of carbon nanotubes in epoxy composites with different matrix stiffness. *Compos Sci Technol*; 66: 599–603.
- Elsaesser A, Howard CV. (2012) Toxicology of nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev*; 64: 129–37.
- Fry J, Kiendler-Scharr A, Rollins A *et al.* (2009) Organic nitrate and secondary organic aerosol yield from NO₃ oxidation of β -pinene evaluated using a gas-phase kinetics/aerosol partitioning model. *Atmos Chem Phys*; 9: 1431–49.
- George S, Pokhrel S, Xia T *et al.* (2010) Use of a rapid cytotoxicity screening approach to engineer a safer zinc oxide nanoparticle through iron doping. *ACS Nano*; 4: 15–29.
- Göhler D, Nogowski A, Fiala P *et al.* (2013) Nanoparticle release from nanocomposites due to mechanical treatment at two stages of the life-cycle. *J Phys Conf Ser*; 429: 012045.
- Göhler D, Stintz M, Hillemann L *et al.* (2010) Characterization of nanoparticle release from surface coatings by the simulation of a sanding process. *Ann Occup Hyg*; 54: 615–24.
- Gojny FH, Wichmann MHG, Fiedler B *et al.* (2005) Influence of different carbon nanotubes on the mechanical properties of epoxy matrix composites – a comparative study. *Compos Sci Technol*; 65: 2300–13.
- Golanski L, Gaborieau A, Guiot A *et al.* (2011) Characterization of abrasion-induced nanoparticle release from paints into liquids and air. *J Phys Conf Ser*; 304: 012062.
- Golanski L, Guiot A, Pras M *et al.* (2012) Release-ability of nano fillers from different nanomaterials (toward the acceptability of nanoparticle). *J Nanopart Res*; 14: 1–9.

- Hirth S, Cena L, Cox G *et al.* (2013) Scenarios and methods that induce protruding or released CNTs after degradation of nanocomposite materials. *J Nanopart Res*; 15: 1504.
- Huang G, Park JH, Cena LG *et al.* (2012) Evaluation of airborne particle emissions from commercial products containing carbon nanotubes. *J Nanopart Res*; 14: 20.
- Hunt G, Lynch I, Cassee F *et al.* (2013) Towards a consensus view on understanding nanomaterials hazards and managing exposure: knowledge gaps and recommendations. *Materials*; 6: 1090–117.
- Hussain F, Hojjati M, Okamoto M *et al.* (2006) Review article. Polymer-matrix nanocomposites, processing, manufacturing, and application: an overview. *J Compos Mater*; 40: 1511–75.
- Koivisto AJ, Yu M, Hämeri K *et al.* (2012) Size resolved particle emission rates from an evolving indoor aerosol system. *J Aerosol Sci*; 47: 58–69.
- Koponen IK, Jensen KA, Schneider T. (2009) Sanding dust from nanoparticle-containing paints: physical characterisation. *J Phys Conf Ser*; 151: 012048.
- Koponen IK, Jensen KA, Schneider T. (2011) Comparison of dust released from sanding conventional and nanoparticle-doped wall and wood coatings. *J Expo Sci Environ Epidemiol*; 21: 408–18.
- Korhonen H. (2004) Model studies of the size distribution dynamics of atmospheric aerosols. Helsinki: Finnish Association for Aerosol Research 2004.
- Krivda A, Tanaka T, Frechette M *et al.* (2012) Characterization of epoxy microcomposite and nanocomposite materials for power engineering applications. *IEEE Electr Insul Mag*; 28: 38–51.
- Kuhlbusch TA, Asbach C, Fissan H *et al.* (2011) Nanoparticle exposure at nanotechnology workplaces: a review. *Part Fibre Toxicol*; 8: 22.
- Liu L, Wagner HD. (2005) Rubbery and glassy epoxy resins reinforced with carbon nanotubes. *Compos Sci Technol*; 65: 1861–68.
- Maynard AD. (2006) Nanotechnology: assessing the risks. *Nano Today*; 1: 22–33.
- Mazzuckelli LF, Methner MM, Birch ME *et al.* (2007) Identification and characterization of potential sources of worker exposure to carbon nanofibers during polymer composite laboratory operations. *J Occup Environ Hyg*; 4: D125–D30.
- Mentel TF, Wildt J, Kiendler-Scharr A *et al.* (2009) Photochemical production of aerosols from real plant emissions. *Atmos. Chem. Phys*; 9: 4387–406.
- Methner M, Crawford C, Geraci C. (2012) Evaluation of the potential airborne release of carbon nanofibers during the preparation, grinding, and cutting of epoxy-based nanocomposite material. *J Occup Environ Hyg*; 9: 308–18.
- Mikkelsen L, Jensen KA, Koponen IK *et al.* (2013) Cytotoxicity, oxidative stress and expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells exposed to dust from paints with or without nanoparticles. *Nanotoxicology*; 7: 117–34.
- Nørgaard AW, Jensen KA, Janfelt C *et al.* (2009) Release of VOCs and particles during use of nanofilm spray products. *Environ Sci Technol*; 43: 7824–30.
- Perez-Lopez B, Merkoci A. (2011) Nanomaterials based biosensors for food analysis applications. *Trends Food Sci Tech*; 22: 625–39.
- Rana S, Alagirusamy R, Joshi M. (2009) A review on carbon epoxy nanocomposites. *J Reinf Plast Comp*; 28: 461–87.
- Saber AT, Jacobsen NR, Mortensen A *et al.* (2012a) Nanotitanium dioxide toxicity in mouse lung is reduced in sanding dust from paint. *Part Fibre Toxicol*; 9: 4.
- Saber AT, Jensen KA, Jacobsen NR *et al.* (2012b) Inflammatory and genotoxic effects of nanoparticles designed for inclusion in paints and lacquers. *Nanotoxicology*; 6: 453–71.
- Saber AT, Koponen IK, Jensen KA *et al.* (2012c) Inflammatory and genotoxic effects of sanding dust generated from nanoparticle-containing paints and lacquers. *Nanotoxicology*; 6: 776–88.
- Schlagenhauf L, Chu BT, Buha J *et al.* (2012) Release of carbon nanotubes from an epoxy-based nanocomposite during an abrasion process. *Environ Sci Technol*; 46: 7366–72.
- Schripp T, Wensing M, Uhde E *et al.* (2008) Evaluation of ultrafine particle emissions from laser printers using emission test chambers. *Environ Sci Technol*; 42: 4338–43.
- Szymczak W, Menzel N, Keck L. (2007) Emission of ultrafine copper particles by universal motors controlled by phase angle modulation. *J Aerosol Sci*; 38: 520–31.
- Vorbau M, Hillemann L, Stintz M. (2009) Method for the characterization of the abrasion induced nanoparticle release into air from surface coatings. *J Aerosol Sci*; 40: 209–17.
- Wiesner MR, Lowry GV, Alvarez P *et al.* (2006) Assessing the risks of manufactured nanomaterials. *Environ Sci Technol*; 40: 4336–45.
- Wohlleben W, Brill S, Meier MW *et al.* (2011) On the lifecycle of nanocomposites: comparing released fragments and their in-vivo hazards from three release mechanisms and four nanocomposites. *Small*; 7: 2384–95.
- Wohlleben W, Meier MW, Vogel S *et al.* (2013) Elastic CNT-polyurethane nanocomposite: synthesis, performance and assessment of fragments released during use. *Nanoscale*; 5: 369–80.

ANEXO I

ANEXO I

1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOMATERIALES

A continuación se describirán las principales técnicas y equipos utilizados en la presente tesis para sintetizar y caracterizar nanomateriales.

1.1 Síntesis de nanomateriales

Durante la síntesis de materiales se han utilizado diversos equipos que serán brevemente descritos a continuación.

- **Horno microondas**

El horno microondas (*Milestone Ethos Plus*) ha sido principalmente utilizado en los tratamientos térmicos realizados durante la síntesis de nanopartículas de óxido de titanio (**Artículos 1, 3 y 6**). Se trata de un horno microondas modular que está equipado con sensores de control de presión y temperatura. La principal ventaja de este equipo es su rapidez en comparación con otros instrumentos convencionales como hornos de secado o placas calefactoras.

- **Centrifuga**

La centrifugación se ha utilizado tanto para aislar como para limpiar y purificar los materiales sintetizados. La principal ventaja de esta técnica es que permite separar el material sintetizado sin necesidad de una etapa de secado y por tanto, se evitan o reducen los posibles procesos de aglomeración o agregación de los materiales. El modelo de centrifuga utilizado es un B4i-U Jouan® Rotor AB50.10 con una velocidad máxima de 10000 rpm.

Anexo I: Instrumentación

- **Equipos de ultrasonificación**

La sonicación es una técnica que se basa en la aplicación de la energía del sonido (generalmente ultrasonidos) y sus aplicaciones más habituales en un laboratorio suelen ser la dispersión de muestras en un medio líquido. Los equipos más comúnmente utilizados son sondas de sonicación y baños de sonicación. El equipo utilizado principalmente fue un baño de ultrasonidos Ultrasons 3000514 de Selecta®

1.2 Caracterización de nanomateriales

Los nanomateriales utilizados en la presente tesis han sido caracterizados de forma exhaustiva utilizando múltiples técnicas que serán descritas brevemente.

1.2.1 Técnicas microscópicas

Las técnicas microscópicas permiten obtener información gracias a la interacción de la radiación electromagnética con la materia. Su principal ventaja respecto a la microscopía óptica sus resoluciones son mucho mayores. Las aplicaciones más habituales de las técnicas microscópicas son la imagen y la difracción electrónica aunque pueden tener muchos otros usos.

- **Microscopía de barrido electrónico (SEM)**

La microscopía de barrido electrónico o *Scanning Electron Microscopy (SEM)* utiliza electrones secundarios que se generan cuando un haz de electrones interactúa con la superficie de la muestra a estudiar. De esta manera, se obtiene un tipo de imagen que permite estudiar la morfología y el tamaño del objeto a estudio.

El microanálisis de rayos equis o *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX)* permite realizar un análisis elemental utilizando la medida del espectro de emisión de rayos X característico de cada muestra. Estas técnicas se han realizado en un microscopio SEM FEI F INSPECT con una sonda EDX INCA Penta FETX3.

Se ha trabajado con distintos tipos de muestras. Las formadas por material pulverulento se preparan en una cinta de carbono y se metalizan con una fina capa de

Anexo I: Instrumentación

oro/paladio de entre 5 y 9 nm de espesor. Cuando la muestra se trata de partículas recogidas a partir de un aerosol sobre un filtro de policarbonato, este también será metalizado. El proceso de metalización se lleva a cabo en un equipo modelo SC7620 "mini" *Sputter Coater* de Quorum Technologies®

- **Microscopía de transmisión electrónica (TEM)**

La microscopía de transmisión electrónica o *Transmission Electron Microscopy* (TEM) utiliza distintos procesos de interacción electrón–materia para obtener información sobre la muestra a estudio. Esta técnica permite tanto obtener imágenes como realizar análisis físicos y químicos para obtener información cristalográfica y de composición elemental.

En general, a la hora de obtener imágenes suelen utilizar dos tipos de electrones, los electrones difractados (imágenes de campo oscuro) o los electrones directos (imágenes de campo claro). Es posible, también, obtener imágenes cuyo contraste depende del peso atómico de los elementos que componen el objeto observado mediante microscopía de transmisión de electrones de barrido o *Scanning Electron Transmission Microscopy* (STEM). Por otro lado, al medir fenómenos de difracción mediante el *Selected Area Electron Diffraction* (SAED) se puede obtener información cristalográfica de la muestra.

Habitualmente las muestras deben ser muy finas, con un espesor del orden de los 200 a los 300 nm para que, así, puedan ser atravesadas por los electrones. En la presente tesis las muestras se presentan sobre una rejilla de cobre que actúa como soporte. Cuando se parte de una dispersión líquida, esta se diluye y ultrasónica para obtener concentraciones del orden de 100 µg/ml y se añade una gota de dicha dispersión a la rejilla de cobre. Si se parte de un aerosol, se recogen con un dispositivo de filtrado que consiste en un porta filtros de acero inoxidable que contiene un filtro de policarbonato sobre el que se fija una rejilla de cobre.

La microscopía de transmisión electrónica y la difracción de electrones han sido llevadas a cabo con microscopios de transmisión de la compañía FEI® modelos Tecnai® T20 y F30 que se encuentran en el Laboratorio de microscopías avanzadas en el

Anexo I: Instrumentación

Instituto de investigación en nanociencia de aragón (INA). Además, las dimensiones de las partículas se midieron utilizando el programa IMAQ Vision Builder.

1.2.2 Técnicas de análisis coloidal en medio líquido

Cuando un sólido cargado se encuentra en un medio líquido, en la superficie de dicho sólido se forma la llamada doble capa eléctrica. Es decir, la superficie de un sólido en un medio líquido se encuentra rodeada de una capa de solvatación. Las propiedades y espesor de dicha capa varían dependiendo de numerosos factores como las características superficiales del material y las propiedades del líquido.

La espectroscopía de correlación fotónica (DLS) y las medidas de potencial zeta, permiten obtener información sobre la superficie de un sólido y por tanto sus propiedades en una dispersión en un medio líquido.

- **Espectroscopía de correlación fotónica (DLS)**

La espectroscopía de correlación fotónica o *Dinamic Light Scattering (DLS)* se trata de una técnica no destructiva que permite obtener información sobre dispersiones coloidales. En general se utiliza para conocer el grado de dispersión de una muestra sólida midiendo el diámetro hidrodinámico de las partículas que la componen. Normalmente, se utiliza para tamaños submicrométricos (desde los 2 nm hasta las 3 μm) en medio líquido. El diámetro hidrodinámico se determina a partir del movimiento browniano de las partículas cuando son iluminadas por un láser de baja intensidad. Para realizar medidas de correlación fotónica en la presente tesis se utilizó un equipo Brookhaven 90Plus®.

- **Potencial zeta**

El potencial Zeta (ζ) es un parámetro que es función de la carga superficial de las partículas suspendidas en un líquido y que puede utilizarse para predecir y controlar la estabilidad de una dispersión coloidal o de una emulsión. El potencial zeta se puede calcular a partir de medidas de movilidad electroforética de una dispersión coloidal en un campo eléctrico.

Anexo I: Instrumentación

El estudio del potencial zeta de las distintas dispersiones coloidales en el presente trabajo se llevó a cabo mediante un instrumento de medida Brookhaven 90Plus que incorpora los sistemas de medida ZetaPLUS y ZetaPALS.

1.2.3 Técnicas espectrométricas

Las técnicas espectrométricas se basan en la interacción de la radiación electromagnética con un analito de forma que permiten identificarlo o calcular su concentración. Estas técnicas se pueden dividir a su vez en técnicas espectroscópicas y en técnicas no espectroscópicas. Las técnicas espectroscópicas, en las que el analito sufre procesos de absorción, emisión o luminiscencia, a su vez se dividen en técnicas atómicas y moleculares,

- **Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)**

La espectroscopía de rayos X (XPS), también conocida como *Electrón Spectroscopy for Chemical Analysis (ESCA)*, es una técnica no destructiva de superficie que proporciona información cuantitativa sobre el estado químico de todos los elementos, excepto hidrógeno y helio. En la presente tesis, las muestras analizadas estaban en forma de polvo seco. Para llevar a cabo los análisis se ha utilizado un equipo Axis Ultra del fabricante KRATOS.

- **Espectroscopia de fluorescencia de rayos X (EDX)**

La espectrometría de fluorescencia de rayos-X (EDX) consiste en analizar la radiación X característica generada por una muestra. Esta técnica permite obtener análisis químicos elementales de manera rápida y no destructiva. En la presente tesis, esta técnica se ha utilizado generalmente mediante un equipo acoplado a los microscopios de transmisión, una sonda FEI-F Inspect and INCA Penta FETX3.

- **Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR)**

Esta técnica utiliza la radiación electromagnética de las regiones del espectro infrarrojo para obtener información de las moléculas que forman las muestras a

Anexo I: Instrumentación

analizar. Cuando las moléculas interactúan con dicha radiación se producen cambios en su energía vibracional y rotacional, los cambios en la energía vibracional serán los que se utilicen para obtener información de los grupos funcionales de la muestra a estudio.

Las muestras se presentan en forma de polvo seco, introduciéndolas directamente en el portamuestras del equipo para su análisis. Se utilizó un equipo modelo Vertex 70 de Bruker Optics® con un porta muestras para reflectancia total atenuada (*ATR, attenuated Total Reflectance*) *MKII Golden Gate*. El análisis de datos se llevó a cabo utilizando el software que provee el fabricante (OPUS).

- **Espectroscopía ultravioleta visible (UV-VIS)**

Esta técnica permite obtener información de las moléculas presentes en las muestras a analizar utilizando radiación electromagnética de las regiones del espectro visible, ultravioleta cercana (UV) y en algunos casos infrarroja cercana (NIR). Dicha radiación es absorbida por la muestra provocando transiciones electrónicas que permiten ser observadas.

En la presente tesis se ha utilizado esta técnica para analizar las transiciones electrónicas de los sólidos sintetizados por lo que las muestras se han analizado en forma de polvo. Para ello se ha utilizado un espectrofotómetro Jasco V-670 con una celda de reflectancia difusa.

1.2.4 Otras técnicas

- **Difracción de rayos X (DRX)**

Esta técnica se basa en el fenómeno de la difracción de Rayos X, que consiste básicamente en un proceso de interferencias constructivas de ondas de rayos X que se produce en determinadas direcciones de espacio, y permite obtener información cristalográfica de un material normalmente en forma de polvo. Para analizar las distintas muestras mediante la técnica de difracción de rayos X se utilizó un Rigaku D/max equipado con un ánodo rotatorio y una fuente de $\text{CuK}\alpha$.

Anexo I: Instrumentación

- **Adsorción de nitrógeno**

La técnica de fisisorción de nitrógeno permite estudiar la superficie específica y la porosidad de distintos materiales. Se basa en el principio de adsorción/desorción de una monocapa de nitrógeno gas en la superficie de los materiales a estudio, generalmente partículas en polvo.

Para conocer el área superficial y volumen de poro de los materiales sintetizados se utilizó un equipo de adsorción de nitrógeno TriStar 3000 Gas Adsorption Analyzer (Micromeritics Instrument Corporation). Las muestras fueron previamente evacuadas a 200 °C durante 12 horas antes de ser sometidas al proceso de adsorción/desorción de nitrógeno.

ANEXO II

ANEXO II

- 1.1 Renuncia de los coautores no doctores a la inclusión en otra tesis doctoral de los trabajos incluidos en la presente Tesis.**

Renuncia de los coautores no doctores a la inclusión en otra tesis doctoral de los trabajos incluidos en la presente Tesis.

Don Marcus Levin con pasaporte: 45570233 y correo electrónico mle@arbejdsmiljoforskning.dk , no estando en posesión del Título de Doctor y como coautor del trabajo que a continuación se detalla:

Ms Marcus Levin, Passport number: 45570233 and email mle@arbejdsmiljoforskning.dk as author of the paper named:

“Comparison of dust release from epoxy and paint nanocomposites and conventional products during sanding and sawing”

incluido en la Tesis Doctoral titulada “Aerosoles formados por nanomateriales. Monitorización y evaluación de la exposición en entornos laborales” presentada por la doctoranda Virginia Gómez Jiménez con DNI 78753909T y los directores de tesis son Silvia Irusta y Jesús Santamaría,

which was included in Virginia Gómez Jiménez (DNI 78753909T) PhD dissertation entitled “Aerosoles formados por nanomateriales. Monitorización y evaluación de la exposición en entornos laborales” and supervised by Silvia Irusta and Jesús Santamaría.

RENUNCIA a la inclusión del trabajo previamente mencionado en otra tesis doctoral

En Zaragoza, a Junio de 2014

Renounce to use this paper in his own PhD dissertation

Zaragoza, Jun 2014

Firma del coautor del trabajo incluido en la presente Tesis Doctoral:

Author Signature



**Renuncia de los coautores no doctores a la inclusión en otra tesis doctoral
de los trabajos incluidos en la presente Tesis**

Don Alberto Clemente, con DNI 78746860N y correo electrónico albertoclmnt@gmail.com, no estando en posesión del Título de Doctor y como coautor del trabajo que a continuación se detalla:

“Identification of TiO₂ nanoparticles using La and Ce as labels: application to the evaluation of surface contamination during the handling of nanosized matter”

incluido en la Tesis Doctoral titulada “Aerosoles formados por nanomateriales. Monitorización y evaluación de la exposición en entornos laborales” presentada por la doctoranda Virginia Gómez Jiménez con DNI 78753909T y siendo los directores de tesis Silvia Irusta y Jesús Santamaría, RENUNCIA a la inclusión del trabajo previamente mencionado en otra tesis doctoral.

Firma del coautor del trabajo incluido en la presente Tesis Doctoral:

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'A. Clemente', written over a horizontal line.

En Zaragoza, a 1 de Septiembre de 2014.

1.2 Áreas temáticas y factor de impacto de las revistas en donde se ha publicado el trabajo realizado.

Como áreas temáticas se elegirá las denominadas en inglés *subject categories*.

Aerosol and air quality research, ISSN: 1680-8584

Artículo	<u>Gómez V.</u> , Alguacil F. J., and Alonso M., "Deposition of Aerosol Particles below 10 nm on a Mixed Screen-Type Diffusion Battery". Aerosol and air quality research, Volume 12, 2012, p. 457-462.
Áreas temáticas	Environmental sciences Chemistry, Environmental Pollution
Factor de impacto	Journal Citation Reports: Factor de Impacto (2013): 2.664 Factor de Impacto (5 años): 2.537

Applied Catalysis A: General, ISSN: 0926-860X

Artículo	<u>Gómez, V.</u> Balu, A. M., Serrano-Ruiz J. C., Irusta S., Dionysiou D. D., Luque R., Santamaría J., "Microwave-assisted mild-temperature preparation of neodymium-doped titania for the improved photodegradation of water contaminants". Applied Catalysis A: General, 2012, 441–442(0): p. 47-53.
Áreas temáticas	Chemistry, Physical Environmental Sciences
Factor de impacto	Journal Citation Reports: Factor de Impacto (2013): 3.674 Factor de Impacto (5 años): 4.038

Anexo II

Journal of Hazardous Materials, ISSN: 0304-3894

	Gómez V., Irusta S., Balas F. and Santamaria, J., "Intense generation of respirable metal nanoparticles from a low-power soldering unit". J Hazard Materials, 2013, 257: 84-89.
Artículo	<u>Gomez, V.</u> , Irusta, S., Balas, F., Navascués N. and Santamaria J. "Unintended emission of nanoparticle aerosols during common laboratory handling operations". Journal of Hazardous Materials, 2014. 279(0): p. 75-84
Áreas temáticas	Engineering, Environmental Civil Engineering Environmental Sciences
Factor de impacto	Journal Citation Reports : Factor de Impacto (2013): 4.331 Factor de Impacto (5 años): 5.123

Aerosol Science and technology. ISSN: 0278-6826

Artículo	<u>Gómez V.</u> , Irusta S., Balas F. and Santamaria J., "Generation of TiO ₂ aerosols from liquid suspensions: Influence of colloid characteristics". Aerosol Science and Technology, 2013: p. 1383-1392.
Áreas temáticas	Engineering, Chemical Environmental sciences Meteorology & atmospheric sciences
Factor de impacto	Journal Citation Reports: Factor de Impacto (2013): 3.155 Factor de Impacto (5 años): 2.922

Journal of Nanoparticle Research. ISSN: 1388-0764

Artículo	Campardelli R., Della Porta G., <u>Gomez V.</u> , Irusta S., Reverchon E. *, Santamaria J. “Encapsulation of titanium dioxide nanoparticles in PLA microspheres using supercritical emulsion extraction to produce bactericidal nanocomposites”. Journal of Nanoparticle Research, 2013. 15(10): p. 1-11
Áreas temáticas	Chemistry, multidisciplinary Nanoscience & Nanotechnology Materials Science, multidisciplinary
Factor de impacto	Journal Citation Reports: Factor de Impacto (2013): 2.278 Factor de Impacto (5 años): 2.927

Annals of Occupational Hygiene. ISSN: 0003-4878

Artículo	<u>Gomez V.</u> , Levin M., Saber A., Irusta S., Dal Maso M., Hanoi R., Santamaria J., Jensen K.A., Wallin H., Koponen I.K., “Comparison of Dust Release from Epoxy and Paint Nanocomposites and Conventional Products during Sanding and Sawing” Annals of Occupational Hygiene, 2014
Áreas temáticas	Public, Environmental & Occupational Health Toxicology
Factor de impacto	Journal Citation Reports: Factor de Impacto (2013): 2.068 Factor de Impacto (5 años): 2.148

Environmental Science: Nano

Artículo Gómez V., Clemente A., Irusta S., Balas F. and Santamaria J. "Identification of TiO₂ nanoparticles using La and Ce as labels. Application to the evaluation of surface contamination during the handling of nano-sized matter". Environmental Science: Nano, 2014.

**Áreas
temáticas** Nanomaterial interactions with environmental & biological systems

**Factor de
impacto** La revista **Environmental Science: Nano**, pertenece a la Royal Society of Chemistry, es de reciente creación y todavía no ha sido incluida en el JCR

1.3 Aportaciones del doctorando

Los profesores Jesús Santamaría y Silvia Irusta, directores de la presente Tesis Doctoral,

CERTIFICAN

Que D^a Virginia Gómez ha participado activamente en todos los trabajos incluidos en esta memoria como ejecutora principal. Tanto la realización de las tareas como la interpretación de los resultados han estado a su cargo tanto en los trabajos realizados en el Instituto de Nanociencia de Aragón como durante las estancias realizadas en el *National Research Centre for the Working Environment (NRCWE)* supervisada por el Dr. Keld A. Jensen como la realizada en el Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas (CENIM-CSIC) supervisada por el Dr. Manuel Alonso. Las principales excepciones han sido: la mayor parte de las imágenes de microscopía electrónica que han sido realizadas por la Dra. N. Navascués, la síntesis de microesferas de PLA y el estudio de su efecto bactericida que han sido realizados por la Dra. R. Campardelli en colaboración con el *Department of Industrial Engineering* de la Universidad de Salerno y las medidas experimentales de las propiedades fotocatalíticas en la degradación del fenol en agua que han sido realizados en colaboración con el Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Córdoba.

Y para que conste, adjuntamos el presente certificado

En Zaragoza a de de 2014

Fdo. Silvia Irusta

Fdo. Jesús Santamaría

BIBLIOGRAFÍA

1. Varmus, H. *National Cancer Institute at the National Institutes of Health*.
2. NSTC, *Nanotechnology: Shaping The World Atom By Atom*. Report from the National Science and Technology Council, 1999.
3. Roco, M.C., C.A. Mirkin, and M.C. Hersam, *Nanotechnology research directions for societal needs in 2020: Retrospective and outlook*. Vol. 1. 2011: Springer.
4. Hendren, C.O., et al., *Estimating Production Data for Five Engineered Nanomaterials As a Basis for Exposure Assessment*. Environmental Science & Technology, 2011. **45**(7): p. 2562-2569.
5. Leitch, M., E. Casman, and G. Lowry, *Nanotechnology patenting trends through an environmental lens: analysis of materials and applications*. Journal of Nanoparticle Research, 2012. **14**(12): p. 1-23.
6. EC, *Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition on nanomaterial (2011/696/EU)*. Official Journal of the European Union 2011.
7. (ISO), I.S.O., *Nanotechnologies: Terminology and Definitions for Nano-Objects – Nanoparticle, Nanofibre and Nanoplate.*, in ISO/TS 27687,. 2008. p. 7 p.
8. (ISO), I.S.O., *Workplace atmospheres. Ultrafine, nanoparticle and nano-structured aerosols. Inhalation exposure characterization and assessment in PD ISO/TR 27628:2007*. 2007.
9. EC (2012) *Nanomaterials: Case by case safety approach for breakthrough technology*.
10. *Project on Emerging Nanotechnologies. Consumer Products Inventory*. . 2013; Available from: <http://www.nanotechproject.org/cpi>.
11. Pauwels, D.R.T.K.E. *Project on Emerging Nanotechnologies*. 2005; Available from: <http://www.nanotechproject.org>.
12. Ceresana, *Market Study: Carbon Black (UC-5605)*. 2013.
13. Street, R.A., *Technology and applications of amorphous silicon*. Vol. 37. 2000: Springer.
14. Zou, H., S. Wu, and J. Shen, *Polymer/silica nanocomposites: preparation, characterization, properties, and applications*. Chem. Rev, 2008. **108**(9): p. 3893-3957.
15. Chandrasekhar, S., et al., *Review processing, properties and applications of reactive silica from rice husk—an overview*. Journal of Materials Science, 2003. **38**(15): p. 3159-3168.

Bibliografía

16. Weir, A., et al., *Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products*. Environmental Science & Technology, 2012. **46**(4): p. 2242-2250.
17. Newman, M.D., M. Stotland, and J.I. Ellis, *The safety of nanosized particles in titanium dioxide–and zinc oxide–based sunscreens*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2009. **61**(4): p. 685-692.
18. Ci, L. and J. Bai, *The reinforcement role of carbon nanotubes in epoxy composites with different matrix stiffness*. Composites Science and Technology, 2006. **66**(3–4): p. 599-603.
19. Gojny, F.H., et al., *Influence of different carbon nanotubes on the mechanical properties of epoxy matrix composites – A comparative study*. Composites Science and Technology, 2005. **65**(15–16): p. 2300-2313.
20. Liu, L. and H.D. Wagner, *Rubbery and glassy epoxy resins reinforced with carbon nanotubes*. Composites Science and Technology, 2005. **65**(11–12): p. 1861-1868.
21. Sebastian, V., M. Arruebo, and J. Santamaria, *Reaction Engineering Strategies for the Production of Inorganic Nanomaterials*. Small, 2013: p. n/a-n/a.
22. Savolainen, K., et al., *Nanosafety in Europe 2015–2025: towards safe and sustainable nanomaterials and nanotechnology innovations*. Finnish Institute of Occupational Health, Helsinki, 2013.
23. Commission, E., *Impact of Engineered Nanomaterials on Health: considerations for benefit risk assessment*, J.r. report, Editor. 2011.
24. Maynard, A.D., et al., *Safe handling of nanotechnology*. Nature, 2006. **444**(7117): p. 267-269.
25. Nel, A., Y. Zhao, and L. Mädler, *Environmental Health and Safety Considerations for Nanotechnology*. Accounts of Chemical Research, 2013. **46**(3): p. 605-606.
26. <http://www.eshorizonte2020.es/>. [cited 2014].
27. Oberdörster, G., V. Stone, and K. Donaldson, *Toxicology of nanoparticles: A historical perspective*. Nanotoxicology, 2007. **1**(1): p. 2-25.
28. CE, *Types and uses of nanomateriales, including safety aspects*. 2012: Brussels.
29. Aschberger, K., et al., *Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health — Lessons learned from four case studies*. Environment International, 2011. **37**(6): p. 1143-1156.
30. Fu, P.P., et al., *Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species*. Journal of Food and Drug Analysis, (0).
31. Wiesner, M.R., et al., *Assessing the Risks of Manufactured Nanomaterials*. Environmental Science & Technology, 2006. **40**(14): p. 4336-4345.

Bibliografía

32. Grassian, V.H., *When Size Really Matters: Size-Dependent Properties and Surface Chemistry of Metal and Metal Oxide Nanoparticles in Gas and Liquid Phase Environments*—The Journal of Physical Chemistry C, 2008. **112**(47): p. 18303-18313.
33. Lu, X., et al., *Nanotoxicity: A Growing Need for Study in the Endocrine System*. Small, 2013. **9**(9-10): p. 1654-1671.
34. Johnston, H.J., et al., *A critical review of the biological mechanisms underlying the in vivo and in vitro toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics*. Nanotoxicology, 2010. **4**(2): p. 207-246.
35. Seabra, A.B., et al., *Nanotoxicity of Graphene and Graphene Oxide*. Chemical Research in Toxicology, 2014. **27**(2): p. 159-168.
36. Savolainen, K., et al., *Nanotechnologies, engineered nanomaterials and occupational health and safety – A review*. Safety Science, 2010. **48**(8): p. 957-963.
37. Long, T.C., et al., *Titanium Dioxide (P25) Produces Reactive Oxygen Species in Immortalized Brain Microglia (BV2): Implications for Nanoparticle Neurotoxicity*—Environmental Science & Technology, 2006. **40**(14): p. 4346-4352.
38. Seager, T.P. and I. Linkov, *Coupling multicriteria decision analysis and life cycle assessment for nanomaterials*. Journal of Industrial Ecology, 2008. **12**(3): p. 282-285.
39. Som, C., et al., *The importance of life cycle concepts for the development of safe nanoproducts*. Toxicology, 2010. **269**(2): p. 160-169.
40. Nowack, B.B., C.; Geertsma, R.; Heugens, E.; Ross, B.; Toufeksian, M.; Wijnhoven, S.; Aitken, R., *Analysis of the occupational, consumer and environmental exposure to engineered nanomaterials used in 10 technology sectors*. Nanotoxicology, 2012. **7**(6): p. 1152-1156.
41. Balas, F., et al., *Reported nanosafety practices in research laboratories worldwide*. Nat Nano, 2010. **5**(2): p. 93-96.
42. Wang, C.-s., *Inhaled Particles*, ed. A. Hubbard. Vol. 5. 2005.
43. Protection., I.I.C.o.R., *Human respiratory tract model for radiological protection*. . Ann ICRP, 1994. **24** (1-3): p. 1-482.
44. Oberdörster, G., et al., *Translocation of Inhaled Ultrafine Particles to the Brain*. Inhalation Toxicology, 2004. **16**(6-7): p. 437-445.
45. Oberdorster, G., et al., *Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats*. J Toxicol Environ Health A, 2002. **65**(20): p. 1531-43.

Bibliografía

46. Stern, S.T. and S.E. McNeil, *Nanotechnology Safety Concerns Revisited*. Toxicological Sciences, 2008. **101**(1): p. 4-21.
47. Colvin, V.L., *The potential environmental impact of engineered nanomaterials*. Nature biotechnology, 2003. **21**(10): p. 1166-1170.
48. Larese, F.F., et al., *Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin*. Toxicology, 2009. **255**(1): p. 33-37.
49. Sharifi, S., et al., *Toxicity of nanomaterials*. Chemical Society Reviews, 2012. **41**(6): p. 2323-2343.
50. Crosera, M., et al., *Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature*. International Archives of Occupational and Environmental Health, 2009. **82**(9): p. 1043-1055.
51. Popov, A., et al. *ZnO and TiO₂ particles: a study on nanosafety and photoprotection*. in *SPIE Photonics Europe*. 2010: International Society for Optics and Photonics.
52. Haase, A., J. Tentschert, and A. Luch, *Nanomaterials: A Challenge for Toxicological Risk Assessment?*, in *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. 2012, Springer. p. 219-250.
53. Schulte, P.A., et al., *Occupational exposure limits for nanomaterials: state of the art*. Journal of Nanoparticle Research, 2010. **12**(6): p. 1971-1987.
54. Tran, L.N.A., Jose María, *La nanotoxicología y la evaluación del riesgo de las nanopartículas artificiales (ERNA)*. Seguridad y Medio Ambiente, 2009. 114.
55. *Review of the Federal Strategy for Nanotechnology-Related Environmental, Health, and Safety Research*, N.R. Council, Editor. 2009, National Academies Press.
56. Foss Hansen, S., et al., *Late lessons from early warnings for nanotechnology*. Nat Nano, 2008. 3(8): p. 444-447.
57. *Approaches to Safe Nanotechnology*. 2009, National Institute of Occupational Safety and Health.
58. *Health and Safety Practices in Occupational Settings Relevant to Nanotechnologies*, in *ISO Technical Report 12885, 2008*. 2008, International Organization for Standardization Nanotechnologies
59. *Impact of Engineered Nanomaterials on Health: Considerations for Benefit-Risk Assessment*. 2011, JRC of the European Commission: Luxembourg.
60. NIOSH, *Approaches to Safe Nanotechnology: Managing the Health and Safety Concerns with Engineered Nanomaterials*, in *U.S. DHHS (NIOSH) 2009a*, Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for

Bibliografía

Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health Cincinnati, OH.

61. NIOSH, *Qualitative Risk Characterization and Management of Occupational Hazards: Control Banding (CB). A literature review and critical analysis*. 2009b, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH),: Cincinnati, OH.
62. Grassian, V.H., *Nanoscience and Nanotechnology. Environmental and Health Impacts*. 2008.
63. Butz, T., *Quality of Skin as a Barrier to ultra-fine Particles*, in *Nanoderm Summary*. 2007.
64. Bennett, S.W., et al., *Photoinduced Disaggregation of TiO₂ Nanoparticles Enables Transdermal Penetration*. PLoS ONE, 2012. **7**(11): p. e48719.
65. Methner, M., C. Crawford, and C. Geraci, *Evaluation of the Potential Airborne Release of Carbon Nanofibers During the Preparation, Grinding, and Cutting of Epoxy-Based Nanocomposite Material*. Journal of Occupational and Environmental Hygiene, 2012. **9**(5): p. 308-318.
66. Maynard, A.D., et al., *Exposure to Carbon Nanotube Material: Aerosol Release During the Handling of Unrefined Single-Walled Carbon Nanotube Material*. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 2004. **67**(1): p. 87-107.
67. Kuhlbusch, T., et al., *Nanoparticle exposure at nanotechnology workplaces: A review*. Particle and Fibre Toxicology, 2011. **8**(1): p. 22.
68. Peters, T.M., et al., *Airborne monitoring to distinguish engineered nanomaterials from incidental particles for environmental health and safety*. J Occup Environ Hyg, 2009. **6**(2): p. 73-81.
69. Ono-Ogasawara, M., F. Serita, and M. Takaya, *Distinguishing nanomaterial particles from background airborne particulate matter for quantitative exposure assessment*. Journal of Nanoparticle Research, 2009. **11**(7): p. 1651-1659.
70. Kumar, P., P. Fennell, and A. Robins, *Comparison of the behaviour of manufactured and other airborne nanoparticles and the consequences for prioritising research and regulation activities*. Journal of Nanoparticle Research, 2010. **12**(5): p. 1523-1530.
71. Kirchner, C., et al., *Cytotoxicity of Colloidal CdSe and CdSe/ZnS Nanoparticles*. Nano Letters, 2004. **5**(2): p. 331-338.
72. Medintz, I.L., et al., *Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing*. Nat Mater, 2005. **4**(6): p. 435-446.

Bibliografía

73. Roff, M.W., *A novel lighting system for the measurement of dermal exposure using a fluorescent dye and an image processor*. Ann Occup Hyg, 1994. **38**(6): p. 903-19.
74. Gibson, N., et al., *Radiolabelling of engineered nanoparticles for in vitro and in vivo tracing applications using cyclotron accelerators*. Archives of Toxicology, 2011. **85**(7): p. 751-773.
75. Hong, H., et al., *Molecular imaging and therapy of cancer with radiolabeled nanoparticles*. Nano Today, 2009. **4**(5): p. 399-413.
76. Oughton, D.H., et al., *Neutron activation of engineered nanoparticles as a tool for tracing their environmental fate and uptake in organisms*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008. **27**(9): p. 1883-1887.
77. Dybowska, A.D., et al., *Synthesis of isotopically modified ZnO nanoparticles and their potential as nanotoxicity tracers*. Environmental Pollution, 2011. **159**(1): p. 266-273.
78. Larner, F., et al., *Tracing Bioavailability of ZnO Nanoparticles Using Stable Isotope Labeling*. Environmental Science & Technology, 2012. **46**(21): p. 12137-12145.
79. Neubauer, N., M. Seipenbusch, and G. Kasper, *Functionality Based Detection of Airborne Engineered Nanoparticles in Quasi Real Time: A New Type of Detector and a New Metric*. Annals of Occupational Hygiene, 2013.
80. Neubauer, N., et al., *A highly sensitive technique for detecting catalytically active nanoparticles against a background of general workplace aerosols*. Journal of Physics: Conference Series, 2011. **304**(1): p. 012011.
81. Work, E.-O.E.A.f.S.a.H.a., *Literature Review - Workplace exposure to nanoparticles* European Agency for Safety and Health at Work (EU-OSHA), Editor. 2008.
82. (SCENIHR), S.C.o.E.a.N.I.H.R., *Risk Assessment of Products of Nanotechnologies*. 2009, European Commission.
83. Talapin, D.V., et al., *Evolution of an ensemble of nanoparticles in a colloidal solution: theoretical study*. The Journal of Physical Chemistry B, 2001. **105**(49): p. 12278-12285.
84. Corradi, A.B., et al., *Conventional and Microwave-Hydrothermal Synthesis of TiO₂ Nanopowders*. Journal of the American Ceramic Society, 2005. **88**(9): p. 2639-2641.
85. Du, G., et al., *Preparation and structure analysis of titanium oxide nanotubes*. Applied Physics Letters, 2001. **79**: p. 3702.
86. Campardelli, R., et al., *Encapsulation of titanium dioxide nanoparticles in PLA microspheres using supercritical emulsion extraction to produce bactericidal nanocomposites*. Journal of Nanoparticle Research, 2013. **15**(10): p. 1-11.

Bibliografía

87. Gomez, V., et al., *Microwave-assisted mild-temperature preparation of neodymium-doped titania for the improved photodegradation of water contaminants*. Applied Catalysis A: General, 2012(0): p. p. 47-53.
88. Gomez, V., et al., *Generation of TiO₂ Aerosols from Liquid Suspensions: Influence of Colloid Characteristics*. Aerosol Science and Technology, 2013: p. null-null.
89. Fan, C., P. Xue, and Y. Sun, *Preparation of Nano-TiO₂ Doped with Cerium and Its Photocatalytic Activity*. Journal of Rare Earths, 2006. **24**(3): p. 309-313.
90. Li, G., C. Liu, and Y. Liu, *Different effects of cerium ions doping on properties of anatase and rutile TiO₂*. Applied Surface Science, 2006. **253**(5): p. 2481-2486.
91. Quan, X., et al., *Comparative study of lanthanide oxide doped titanium dioxide photocatalysts prepared by coprecipitation and sol-gel process*. Materials Chemistry and Physics, 2009. **114**(1): p. 90-98.
92. Silva, A.M.T., et al., *Ce-doped TiO₂ for photocatalytic degradation of chlorophenol*. Catalysis Today, 2009. **144**(1-2): p. 13-18.
93. Wei, C.-h., et al., *Preparation, characterization and photocatalytic activities of boron- and cerium-codoped TiO₂*. Journal of Environmental Sciences, 2007. **19**(1): p. 90-96.
94. Xu, J., et al., *Synthesis of Gd-doped TiO₂ nanoparticles under mild condition and their photocatalytic activity*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2009. **334**(1-3): p. 107-111.
95. Bingham, S. and W.A. Daoud, *Recent advances in making nano-sized TiO₂ visible-light active through rare-earth metal doping*. Journal of Materials Chemistry, 2011. **21**(7): p. 2041-2050.
96. El-Bahy, Z.M., A.A. Ismail, and R.M. Mohamed, *Enhancement of titania by doping rare earth for photodegradation of organic dye (Direct Blue)*. Journal of Hazardous Materials, 2009. **166**(1): p. 138-143.
97. Maeda, K., et al., *Photocatalyst releasing hydrogen from water*. Nature, 2006. **440**(7082): p. 295-295.
98. Fujishima, A., T.N. Rao, and D.A. Tryk, *Titanium dioxide photocatalysis*. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 2000. **1**(1): p. 1-21.
99. Gaya, U.I. and A.H. Abdullah, *Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: a review of fundamentals, progress and problems*. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 2008. **9**(1): p. 1-12.
100. Le Brun, P.P.H., et al., *A review of the technical aspects of drug nebulization*. Pharmacy World & Science, 2000. **22**(3): p. 75-81.

Bibliografía

101. Mie, G.A., *A contribution to the optics of turbid media*. Ann. Phys., 1908. **25 (4)**: p. 377-445.
102. Czitrovszky, A., *Aerosols-Science and Technology* D.I. Agranovski, Editor. 2010.
103. Mäkynen, J., et al., *Optical particle counters: Response, resolution and counting efficiency*. Journal of Aerosol Science, 1982. **13(6)**: p. 529-535.
104. Chen, B.T., Y.S. Cheng, and H.C. Yeh, *Experimental responses of two optical particle counters*. Journal of Aerosol Science, 1984. **15(4)**: p. 457-464.
105. Vincent, J.H., *Aerosol Sampling: Science, Standards, Instrumentation and Applications*, ed. L. John Wiley & Sons. 2007.
106. Manchester, _____ U.o.; Available from <http://www.cas.manchester.ac.uk/restools/instruments/aerosol/opc/cavity/index.html>.
107. Wilson, J.C. and B.Y.H. Liu, *Aerodynamic particle size measurement by laser-doppler velocimetry*. Journal of Aerosol Science, 1980. **11(2)**: p. 139-150.
108. J Bricard, P.D., G Madelaine..., *Detection of ultra-fine particles by means of a continuous flux condensation nuclei counter*. Fine particles, 1976: p. 565-580.
109. Stolzenburg, M.R. and P.H. McMurry, *An Ultrafine Aerosol Condensation Nucleus Counter*. Aerosol Science and Technology, 1991. **14(1)**: p. 48-65.
110. Baron, P.A. and K. Willeke, *Aerosol Measurement - Principles, Techniques, and Applications* 2ed. 2001: John Wiley & Sons.
111. Kudo, A. and K. Takahashi, *A method of determining aerosol particle size distribution applying Boltzmann's law*. Atmospheric Environment (1967), 1972. **6(8)**: p. 543-549.
112. Liu, B.Y.H. and D.Y.H. Pui, *Equilibrium bipolar charge distribution of aerosols*. Journal of Colloid and Interface Science, 1974. **49(2)**: p. 305-312.
113. Liu, B.Y.H. and D.Y.H. Pui, *Electrical neutralization of aerosols*. Journal of Aerosol Science, 1974. **5(5)**: p. 465-472.
114. Rich, T.A., L.W. Pollak, and A.L. Metnieks, *Estimation of average size of submicron particles from the number of all and uncharged particles*. Pure and Applied Geophysics, 1959. **44(1)**: p. 233-241.
115. Takahashi, K. and A. Kudo, *Electrical charging of aerosol particles by bipolar ions in flow type charging vessels*. Journal of Aerosol Science, 1973. **4(3)**: p. 209-216.
116. Marjamaki, M., et al., *PERFORMANCE EVALUATION OF THE ELECTRICAL LOW-PRESSURE IMPACTOR (ELPI)*. Journal of Aerosol Science, 2000. **31(2)**: p. 249-261.
117. Hewitt, G.W., *The charging of small particles for electrostatic precipitation*. Trans. Am. Inst. Elect. Engr. , 1957. **76**: p. 300-306.

Bibliografía

118. Knutson, E.O. and K.T. Whitby, *Aerosol classification by electric mobility: apparatus, theory, and applications*. Journal of Aerosol Science, 1975. **6**(6): p. 443-451.
119. Knutson, E.O. and K.T. Whitby, *Accurate measurement of aerosol electric mobility moments*. Journal of Aerosol Science, 1975. **6**(6): p. 453-460.
120. Tammet, H., A. Mirme, and E. Tamm, *Electrical aerosol spectrometer of Tartu University*. Atmospheric Research, 2002. **62**(3-4): p. 315-324.
121. Su-Jung Tsai, A.A., Earl Ada, *Airborne Nanoparticle Release Associated with the Compounding of Nanocomposites using Nanoalumina as Fillers*. Aerosol and Air Quality Research, 2008.
122. Kim, S.C., M.S. Harrington, and D.Y. Pui, *Experimental study of nanoparticles penetration through commercial filter media*. Journal of Nanoparticle Research, 2007. **9**(1): p. 117-125.
123. Cheng, Y. and H. Yeh, *Theory of a screen-type diffusion battery*. Journal of Aerosol Science, 1980. **11**(3): p. 313-320.
124. Fierz, M., S. Weimer, and H. Burtscher, *Design and performance of an optimized electrical diffusion battery*. Journal of Aerosol Science, 2009. **40**(2): p. 152-163.
125. He, C., et al., *Contribution from indoor sources to particle number and mass concentrations in residential houses*. Atmospheric Environment, 2004. **38**(21): p. 3405-3415.
126. Ferro, A.R., R.J. Kopperud, and L.M. Hildemann, *Source strengths for indoor human activities that resuspend particulate matter*. Environmental Science & Technology, 2004. **38**(6): p. 1759-1764.
127. Hadinoto, K., et al., *Novel Formulation of Large Hollow Nanoparticles Aggregates as Potential Carriers in Inhaled Delivery of Nanoparticulate Drugs*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2006. **45**(10): p. 3697-3706.
128. Yeo, L.Y., et al., *Ultrasonic nebulization platforms for pulmonary drug delivery*. Expert Opinion on Drug Delivery, 2010. **7**(6): p. 663-679.
129. Shimada, M., et al., *Development and Evaluation of an Aerosol Generation and Supplying System for Inhalation Experiments of Manufactured Nanoparticles*. Environmental Science & Technology, 2009. **43**(14): p. 5529-5534.
130. Asimakopoulou, A., et al. *Development of a dose-controlled multiculture cell exposure chamber for efficient delivery of airborne and engineered nanoparticles*. in *Journal of Physics: Conference Series*. 2013: IOP Publishing.
131. Schmoll, L.H., et al., *Nanoparticle aerosol generation methods from bulk powders for inhalation exposure studies*. Nanotoxicology, 2009. **3**(4): p. 265-275.

Bibliografía

132. Chen, X.B. and S.S. Mao, *Synthesis of titanium dioxide (TiO₂) nanomaterials*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2006. **6**(4): p. 906-925.
133. Newman, M.D., M. Stotland, and J.I. Ellis, *The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2009. **61**(4): p. 685-692.
134. Nohynek, G.J., et al., *Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety*. Critical Reviews in Toxicology, 2007. **37**(3): p. 251-277.
135. Skocaj, M., et al., *Titanium dioxide in our everyday life; is it safe?* Radiology and Oncology, 2011. **45**(4): p. 227-247.
136. Wiechers, J.W. and N. Musee, *Engineered Inorganic Nanoparticles and Cosmetics: Facts, Issues, Knowledge Gaps and Challenges*. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2010. **6**(5): p. 408-431.
137. Cozzoli, P.D., A. Kornowski, and H. Weller, *Low-Temperature Synthesis of Soluble and Processable Organic-Capped Anatase TiO₂ Nanorods*. Journal of the American Chemical Society, 2003. **125**(47): p. 14539-14548.
138. Noël, A., et al., *Generating Nano-Aerosols from TiO₂ (5 nm) Nanoparticles Showing Different Agglomeration States. Application to Toxicological Studies*. Journal of Occupational and Environmental Hygiene, 2012. **10**(2): p. 86-96.
139. Suttiponparnit, K., et al., *Role of surface area, primary particle size, and crystal phase on titanium dioxide nanoparticle dispersion properties*. Nanoscale research letters, 2011. **6**(1): p. 1-8.
140. Krarnes, J., H. Büttner, and F. Ebert, *Submicron particle generation by evaporation of water droplets*. Journal of Aerosol Science, 1991. **22**, Supplement 1(0): p. S15-S18.
141. Park, J.Y., P.H. McMurry, and K. Park, *Production of Residue-Free Nanoparticles by Atomization of Aqueous Solutions*. Aerosol Science and Technology, 2011. **46**(3): p. 354-360.
142. Swift, D., *Aerosol Measurement in the Health Care Field, in Aerosol Measurement Principles, Techniques and Applications*. , ed. K.W.a.P. Baron. 1993, New York.
143. Bahadur, J., et al., *Evaporation-induced self assembly of nanoparticles in non-buckling regime: Volume fraction dependent packing*. Journal of Colloid and Interface Science, 2010. **351**(2): p. 357-364.
144. Hinds, W.C., *Aerosol technology: properties, behavior, and measurement of airborne particles*, ed. L. John Wiley & Sons. 1999.
145. Mohammadi, M., et al., *Synthesis of high surface area nanocrystalline anatase-TiO₂ powders derived from particulate sol-gel route by tailoring processing parameters*. Journal of sol-gel science and technology, 2006. **40**(1): p. 15-23.

Bibliografía

146. Mostofi, R., et al., *Performance of Mechanical Filters and Respirators for Capturing Nanoparticles—Limitations and Future Direction*. *Industrial Health*, 2010. **48**(3): p. 296-304.
147. Pui, D.Y., et al., *Recirculating air filtration significantly reduces exposure to airborne nanoparticles*. *Environmental Health Perspectives*, 2008. **116**(7): p. 863.
148. Fierz, M., et al., *Design, calibration, and field performance of a miniature diffusion size classifier*. *Aerosol Science and Technology*, 2011. **45**(1): p. 1-10.
149. Cheng, Y.-S., *Instruments and samplers based on diffusional separation*. *Aerosol Measurement: principles, techniques and applications*, ed. P. Kulkarni, P. Baron and K. Willeke, 2011: p. 365-380.
150. Baron, P.A. and K. Willeke, *Aerosol Measurement - Principles, Techniques, and Applications (2nd Edition)*. 2005: John Wiley & Sons.
151. Brown, R.C., *Air Filtration: An Integrated Approach To The Theory And Applications Of Fibrous Filters*. 1993: Pergamon Title. 296.
152. David H.F. Liu, B.G.L., *Air Pollution*, ed. C. Press. 1999.
153. Hopke, P.K., *Radon and its decay products: Occurrence, properties, and health effects*. 1987, American Chemical Society, Washington, DC.
154. Lee, K.W. and B.Y.H. Liu, *Theoretical Study of Aerosol Filtration by Fibrous Filters*. *Aerosol Science and Technology*, 1982. **1**(2): p. 147 - 161.
155. Stechkina, I. and N. Fuchs, *Studies on fibrous aerosol filters—I. Calculation of diffusional deposition of aerosols in fibrous filters*. *Annals of Occupational Hygiene*, 1966. **9**(2): p. 59-64.
156. Thomas, D., et al., *An improved model for the penetration of charged and neutral aerosols in the 4 to 80nm range through stainless steel and dielectric meshes*. *Journal of Aerosol Science*, 2012.
157. V. Gómez, F.J.A., M. Alonso, *Deposition of Aerosol Particles below 10 nm on a Mixed Screen-Type Diffusion Battery*. *Aerosol and air quality research*, 2012. **Volume 12**: p. Pages 457-462
158. Huang, Z., et al., *Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis*. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2000. **130**(2): p. 163-170.
159. Dos Santos, T., et al., *Quantitative Assessment of the Comparative Nanoparticle-Uptake Efficiency of a Range of Cell Lines*. *Small*, 2011. **7**(23): p. 3341-3349.
160. Justin M. Zook, R.I.M., Laurie E. Locascio, Melissa D. Halter & John T. Elliott, *Stable nanoparticle aggregates/agglomerates of different sizes and the effect of their size on hemolytic cytotoxicity*. *Nanotoxicology*, 2011. **5**(4): p. 517-530.
161. Albanese, A. and W.C.W. Chan, *Effect of Gold Nanoparticle Aggregation on Cell Uptake and Toxicity*. *ACS Nano*, 2011. **5**(7): p. 5478-5489.

Bibliografía

162. Ashley, K., et al., *Analytical Performance Criteria. Standardized surface dust sampling methods for metals, with emphasis on beryllium*. J Occup Environ Hyg, 2009. **6**(12): p. 15459620903022597.
163. Ashley, K., et al., *Trace beryllium determination in polyvinyl alcohol wipes by extraction and fluorescence detection: interlaboratory analysis*. Analytical Methods, 2011. **3**(8): p. 1906-1909.
164. Demou, E., W.J. Stark, and S. Hellweg, *Particle Emission and Exposure during Nanoparticle Synthesis in Research Laboratories*. Annals of Occupational Hygiene, 2009. **53**(8): p. 829-838.
165. Leppänen, M., et al., *Exposure to CeO₂ nanoparticles during flame spray process*. Nanotoxicology, 2012. **6**(6): p. 643-651.
166. Walser, T., et al., *Exposure to engineered nanoparticles: Model and measurements for accident situations in laboratories*. Science of The Total Environment, 2012. **420**(0): p. 119-126.
167. Ham, S., et al., *Task-based exposure assessment of nanoparticles in the workplace*. Journal of Nanoparticle Research, 2012. **14**(9): p. 1-17.
168. Johnson, D.R., et al., *Potential for occupational exposure to engineered carbon-based nanomaterials in environmental laboratory studies*. Environ Health Perspect, 2010. **118**(1): p. 49-54.
169. Schneider, T. and K.A. Jensen, *Combined single-drop and rotating drum dustiness test of fine to nanosize powders using a small drum*. Annals of Occupational Hygiene, 2008. **52**(1): p. 23-34.
170. O'Shaughnessy, P.T., *Occupational health risk to nanoparticulate exposure*. Environmental Science: Processes & Impacts, 2013. **15**(1): p. 49-62.
171. Johnson, D.R., et al., *Potential for occupational exposure to engineered carbon-based nanomaterials in environmental laboratory studies*. Environmental health perspectives, 2010. **118**(1): p. 49-54.
172. Methner, M., et al., *Nanoparticle Emission Assessment Technique (NEAT) for the Identification and Measurement of Potential Inhalation Exposure to Engineered Nanomaterials—Part B: Results from 12 Field Studies*. Journal of Occupational and Environmental Hygiene, 2009. **7**(3): p. 163-176.
173. Herrmann, J.-M., *Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants*. Catalysis Today, 1999. **53**(1): p. 115-129.
174. Asahi, R., et al., *Visible-light photocatalysis in nitrogen-doped titanium oxides*. Science, 2001. **293**(5528): p. 269-271.

Bibliografía

175. Rengaraj, S., et al., *Preparation, characterization and application of Nd–TiO₂ photocatalyst for the reduction of Cr (VI) under UV light illumination*. Applied Catalysis B: Environmental, 2007. **77**(1): p. 157-165.
176. Shah, S., et al., *Study of Nd³⁺, Pd²⁺, Pt⁴⁺, and Fe³⁺ dopant effect on photoreactivity of TiO₂ nanoparticles*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002. **99**(Suppl 2): p. 6482-6486.
177. Tanarro, C.G., V., *Nanopartículas : ¿un riesgo pequeño?* Fundación Mapfre, 2009. MAP20100012024.
178. Zimmer, A.T., P.A. Baron, and P. Biswas, *The influence of operating parameters on number-weighted aerosol size distribution generated from a gas metal arc welding process*. Journal of Aerosol Science, 2002. **33**(3): p. 519-531.
179. Buonanno, G., L. Morawska, and L. Stabile, *Exposure to welding particles in automotive plants*. Journal of Aerosol Science, 2011. **42**(5): p. 295-304.
180. Downs, A.M.R. and J.E. Sansom, *Colophony allergy: a review*. Contact Dermatitis, 1999. **41**(6): p. 305-310.
181. Keira, T., et al., *Adverse effects of colophony*. Industrial Health, 1997. **35**(1): p. 1-7.
182. McDonald, J.C., et al., *Incidence by occupation and industry of acute work related respiratory diseases in the UK, 1992-2001*. Occupational and Environmental Medicine, 2005. **62**(12): p. 836-842.
183. Pengelly, I., et al., *Workplace exposure to rosin-based solder flux fume during hand soldering*. Annals of Occupational Hygiene, 1998. **42**(5): p. 295-302.
184. Perks, W.H., et al., *Work-related respiratory disease in employees leaving an electronics factory*. Thorax, 1979. **34**(1): p. 19-22.
185. Rongo, L.M.B., et al., *Occupational exposure and health problems in small-scale industry workers in Dar es Salaam, Tanzania: a situation analysis*. Occupational Medicine, 2004. **54**(1): p. 42-46.
186. Weir, D.C., et al., *Occupational asthma due to soft corrosive soldering fluxes containing zinc chloride and ammonium chloride*. Thorax, 1989. **44**(3): p. 220-223.
187. Gomez, V., et al., *Intense generation of respirable metal nanoparticles from a low-power soldering unit*. J Hazard Mater, 2013. **257**: p. 84-9.
188. Herat, S., *Green Electronics through Legislation and Lead Free Soldering*. CLEAN – Soil, Air, Water, 2008. **36**(2): p. 145-151.
189. Efendiev, Y. and M.R. Zachariah, *Hierarchical hybrid Monte-Carlo method for simulation of two-component aerosol nucleation, coagulation and phase segregation*. Journal of Aerosol Science, 2003. **34**(2): p. 169-188.

Bibliografía

190. Britto, R.S., et al., *Effects of carbon nanomaterials fullerene C-60 and fullerol C-60(OH)(18-22) on gills of fish Cyprinus carpio (Cyprinidae) exposed to ultraviolet radiation*. Aquatic Toxicology, 2012. **114**: p. 80-87.
191. George, S., et al., *Surface Defects on Plate-Shaped Silver Nanoparticles Contribute to Its Hazard Potential in a Fish Gill Cell Line and Zebrafish Embryos*. Acs Nano, 2012. **6**(5): p. 3745-3759.
192. Elsaesser, A. and C.V. Howard, *Toxicology of nanoparticles*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2012. **64**(2): p. 129-137.
193. Maynard, A.D., *Nanotechnology: assessing the risks*. Nano Today, 2006. **1**(2): p. 22-33.
194. Göhler, D., et al., *Characterization of Nanoparticle Release from Surface Coatings by the Simulation of a Sanding Process*. Annals of Occupational Hygiene, 2010. **54**(6): p. 615-624.
195. Golanski, L. and et al., *Characterization of abrasion-induced nanoparticle release from paints into liquids and air*. Journal of Physics: Conference Series, 2011. **304**(1): p. 012062.
196. Schlagenhauf, L., et al., *Release of carbon nanotubes from an epoxy-based nanocomposite during an abrasion process*. Environmental Science & Technology, 2012.
197. Vorbau, M., L. Hillemann, and M. Stintz, *Method for the characterization of the abrasion induced nanoparticle release into air from surface coatings*. Journal of Aerosol Science, 2009. **40**(3): p. 209-217.
198. Golanski, L., et al., *Release-ability of nano fillers from different nanomaterials (toward the acceptability of nanoprodukt)*. Journal of Nanoparticle Research, 2012. **14**(7): p. 1-9.
199. Koponen, I.K. and et al., *Sanding dust from nanoparticle-containing paints: Physical characterisation*. Journal of Physics: Conference Series, 2009. **151**(1): p. 012048.
200. Wohlleben, W., et al., *On the Lifecycle of Nanocomposites: Comparing Released Fragments and their In-Vivo Hazards from Three Release Mechanisms and Four Nanocomposites*. Small, 2011. **7**(16): p. 2384-2395.
201. Cena, L.G. and T.M. Peters, *Characterization and Control of Airborne Particles Emitted During Production of Epoxy/Carbon Nanotube Nanocomposites*. Journal of Occupational and Environmental Hygiene, 2011. **8**(2): p. 86-92.
202. Göhler, D., et al., *Nanoparticle release from nanocomposites due to mechanical treatment at two stages of the life-cycle*. Journal of Physics: Conference Series, 2013. **429**(1): p. 012045.

Bibliografía

203. Szymczak W., M.N., Keck L., *Emission of ultrafine copper particles by universal motors controlled by phase angle modulation*. Journal of Aerosol. Sci., 2007. **38**, **520-531**.
204. Koponen, I.K., K.A. Jensen, and T. Schneider, *Sanding dust from nanoparticle-containing paints: physical characterisation*, in *Inhaled Particles X*, L. Kenny, Editor. 2009, Iop Publishing Ltd: Bristol.
205. Bello, D., et al., *Exposure to nanoscale particles and fibers during machining of hybrid advanced composites containing carbon nanotubes*. Journal of Nanoparticle Research, 2009. **11**(1): p. 231-249.
206. Hirth, S., et al., *Scenarios and methods that induce protruding or released CNTs after degradation of nanocomposite materials*. Journal of Nanoparticle Research, 2013. **15**(4): p. 1-15.
207. Huang, G., et al., *Evaluation of Airborne Particle Emissions from Commercial Products Containing Carbon Nanotubes*. J Nanopart Res, 2012. **14**(11): p. 20.
208. Koponen, I.K., K.A. Jensen, and T. Schneider, *Comparison of dust released from sanding conventional and nanoparticle-doped wall and wood coatings*. J Expos Sci Environ Epidemiol, 2011. **21**(4): p. 408-418.
209. Saber, A.T., et al., *Inflammatory and genotoxic effects of sanding dust generated from nanoparticle-containing paints and lacquers*. Nanotoxicology. **0**(0): p. 1-13.