

Sistema de seguridad para elaborar nanopartículas de carbono a escala de laboratorio

Safety system for the production of carbon nanoparticles on a laboratory scale

Sistema de segurança para elaborar nanopartículas de carbono à escala laboratorial

Dania Soguero González¹, Jorge Castillo Álvarez² y Luis Felipe Desdín García¹

(1) Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN). La Habana, Cuba.

(2) Centro Nacional de Seguridad Nuclear (CNSN). La Habana, Cuba

Cita: Soguero-González D, Castillo-Álvarez J, Desdín-García LF. Sistema de seguridad para elaborar nanopartículas de carbono a escala de laboratorio. Rev. salud ambient. 2012;12(1):46-51

Recibido: 17 de enero de 2012. **Aceptado:** 21 de mayo de 2012. **Publicado:** 28 de junio de 2012

Autor para correspondencia: Dania Soguero González. Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN). Calle 30 No. 502, Esq. 5ta Ave, Miramar, La Habana, Cuba. P.O.B. 6122, www.ceaden.cu, Tel: 53 – 7 – 2023139, Fax: 53 – 7 – 2021518. Correo e: sdania@ceaden.edu.cu

Financiación: Ninguna

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses en relación con la publicación del presente artículo.

Resumen

Las nanopartículas de carbono (NPC) han sido de las más utilizadas, debido a sus propiedades. Muchas de estas propiedades que hacen tan útil a las NPC también pueden hacerlas tóxicas para las células y el organismo y por lo tanto deben ser manipuladas con precaución. El Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN) está desarrollando un programa de investigación que incluye la síntesis NPC usando el método de descarga de arco sumergida en agua. En este trabajo se describe el sistema de nanoseguridad implementado en los laboratorios del CEADEN para el desarrollo de las mejores prácticas con NPC. Dicho sistema se construyó sobre la base de un análisis de seguridad. Se usó el método ¿Qué pasa si? y un procedimiento que emplea un árbol de decisiones que permite clasificar los laboratorios en clases de acuerdo a niveles de peligrosidad. Se identificaron los peligros de importancia significativa. Para la estimación del riesgo de estas se construyó una matriz Probabilidad/Consecuencia, donde se reflejó el riesgo asociado a cada uno de los eventos analizados y se clasificó en las categorías de alto, medio y bajo riesgo. Finalmente, se procedió a implementar las medidas de protección personal, técnicas y organizativas definidas a partir del análisis de riesgo efectuado en forma de procedimientos.

Palabras Claves: nanotecnología, nanopartículas, seguridad, prácticas, laboratorio

Abstract

Carbon nanoparticles (CNPs) are among the most extensively used nanoparticles, because of their unique and superior properties. However, many of the properties that make CNPs so useful can also make them toxic to cells and organisms and, therefore, they should be treated with caution. The Center for Technological Applications and Nuclear Development (CEADEN) is currently carrying out a research program that includes synthesis of CNPs using submerged arc discharge in water. This article describes the nanosafety system implemented in the laboratories of CEADEN to promote the best practices with CNPs. This system has been based on a prior safety analysis. The 'What if' method was used in combination with decision tree analysis to classify laboratories according to relative danger levels, so-called biological safety levels. The significantly important dangers were identified. Risk assessment of these dangers was undertaken using a Probability/Consequence matrix that reflected the risk associated with each of the events analyzed, which were then classified into three categories of high, medium and low risk. Finally, the protective, technical and organizational measures defined from the risk analysis were implemented in the form of safety procedures.

Keywords: nanotechnology, nanoparticles, safety, practices, laboratory

Resumo

As nanopartículas de carbono (NPC) têm sido das mais utilizadas, devido às suas propriedades. Muitas destas propriedades que as tornam tão úteis também as podem tornar tóxicas para as células e para o organismo e por isso devem ser manipuladas com precaução. O Centro de Aplicações Tecnológicas e Desenvolvimento Nuclear (CEADEN) tem em curso um projeto de investigação

que inclui a síntese de NPC usando o método de descarga de arco submergida em água. Neste trabalho descreve-se o sistema de nanosegurança implementado nos laboratórios do CEADEN para o desenvolvimento das melhores práticas com NPC. O referido sistema foi elaborado tendo como base uma análise de segurança. Aplicou-se o método "What If?" e um procedimento que utiliza uma árvore de decisão para a classificação de laboratórios em classes de acordo com os níveis de perigo. Identificaram-se os perigos de importância significativa. Para a estimativa do risco construiu-se uma matriz probabilidade/consequência, onde se refletiram os riscos associado a cada um dos eventos analisados sendo classificados nas categorias de alto, médio e baixo risco. Finalmente, procedeu-se à implementação das medidas de proteção pessoal, de engenharia e organizacionais definidas a partir da análise de riscos na forma de procedimentos.

Palavras-chave: nanotecnologia, nanopartículas, segurança, práticas, laboratório

INTRODUCCIÓN

Las nanociencias están entre las áreas de investigación de crecimiento más vertiginoso debido a sus potenciales aplicaciones. Sin embargo, muchas de las propiedades que hacen útiles a los nanomateriales pueden, de igual forma, constituir fuentes potenciales de riesgos¹. Estos se relacionan con la toxicidad, reactividad química, incendio y explosión².

A escala nanométrica se manifiestan fenómenos de naturaleza cuántica que difieren notablemente de los observados a escala macro. La toxicidad de los nanomateriales depende de las concentraciones, dimensiones, formas, cristalinidad, agregación, química superficial y tipo de célula con la que interactúan³, por lo que su evaluación requiere un análisis casuístico.

Desafortunadamente, los datos referentes a la nanotoxicidad son aún escasos, con frecuencia controversiales y el número de nuevos tipos de nanomateriales crece rápidamente. Por otra parte, aún son pocas las regulaciones o estándares de que se dispone para evaluar sus efectos toxicológicos⁴. También existen dudas de si los test diseñados para evaluar una sustancia en estado microscópico resultan apropiados para iguales fines cuando esta se encuentra en estado nano⁵. En este escenario, resulta prudente considerar que todos los nanomateriales pueden ser potencialmente dañinos a menos que se obtenga la información suficiente para probar lo contrario⁶.

Entre los nanomateriales más promisorios se encuentran los nuevos alótropos del carbono. El descubrimiento del C₆₀ fue el primer paso⁷ en el conocimiento de nuevas nanoestructuras carbonáceas. Esta familia ha seguido creciendo con los descubrimientos de los nanotubos de paredes múltiples⁸ (MWNT), nanotubos de pared simple⁹ (SWNT), nanocebollas¹⁰ (CNO), nanocuernos de pared simple¹¹ (SWNH) y otras nanopartículas. Dichas nanoestructuras han sido también dotadas de función, derivadas e incluidas en numerosos productos sintéticos compuestos (*composites*). Tales nanomateriales exhiben

potenciales aplicaciones en variados campos de la actividad humana¹²⁻¹⁷. Sin embargo, también se han reportado estudios que indican algunos efectos adversos como resultado de la exposición a estos¹⁸⁻²⁰.

Existen variados procedimientos de síntesis de nanopartículas de carbono^{21,22} (NPC). Todos ellos entrañan riesgos de exposición por inhalación, contacto dérmico o ingestión²³. Entre dichos procedimientos se destaca por su sencillez, economía y versatilidad la descarga de arco sumergida (DAS), que consiste en provocar una descarga de arco entre dos electrodos de grafito sumergidos en agua destilada²⁴. La burbuja de gases producida actúa en calidad de reactor donde se sintetizan las NPC. Los componentes gaseosos consisten fundamentalmente en H₂ y CO ambos inflamables y el segundo tóxico²⁵. La síntesis se produce con altas corrientes (30 - 100 A).

En el proceso se forman MWNT, CNO y otras estructuras de dimensiones nanoscópicas y potencial toxicidad. La naturaleza hidrofóbica de los CNO determina que estos floten, mientras que el resto de las nanoestructuras precipitan²⁶. Los productos se separan por decantación durante 24 h después de concluida la síntesis y finalmente se purifican en un horno en presencia de aire a 400 °C durante 1 h. El resto de las operaciones (caracterización, funcionalización, derivatización y elaboración de compuestos, etc.) resultan típicas para el trabajo con NPC.

De la información disponible sobre la toxicidad de las NPC y las peculiaridades del método DAS, se infiere la pertinencia de adoptar medidas de seguridad cuando este sea empleado. Para ello se requiere, como primer paso, la caracterización del riesgo que representan las NPC para la salud humana²⁷. Como segundo paso se emplearán métodos de análisis de riesgos que permitan identificar las circunstancias que pudieran conducir a una cadena de eventos que desemboque en la materialización de una exposición potencial. Y finalmente, a partir de la evaluación de los riesgos de ocurrencia de las exposiciones potenciales, se adoptarán las medidas de carácter técnico, organizativo y de protección personal que garanticen las mejores prácticas en el trabajo con NPC.

* Las siglas corresponden a la denominación en lengua inglesa.

La lógica descrita previamente se aplicó a la elaboración del sistema de nanoseguridad implementado en el Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN) para garantizar las mejores prácticas con NPC obtenidas a partir del método de síntesis DAS. En el presente trabajo se describe y fundamenta dicho sistema de nanoseguridad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para elaborar el sistema se partió del análisis de seguridad del proceso. Se evaluó la factibilidad de aplicar los métodos que se emplean en el análisis de riesgos²⁸: Riesgos y Estudios de Operabilidad (REO), Modos de Fallo y Análisis de Efectos (MFAE), ¿Qué pasa si? y Árboles de Fallo (AF). El análisis de factibilidad descartó los métodos REO, MFAE y AF ya que la revisión de la bibliografía sobre la toxicidad de los nanomateriales implicados en los procesos indicó que la información disponible actualmente era insuficiente para aplicar las herramientas de dichas técnicas, lo que imposibilitaba establecer valores umbrales límites precisos. Además, en el caso hipotético de que se dispusiese de los datos necesarios, la versatilidad del método DAS y la variedad de experimentos en un entorno académico exigiría un gran volumen de trabajo y una alta demanda de personal especializado.

El análisis de seguridad se realizó empleando el método ¿Qué pasa si?, método de carácter inductivo que utiliza información específica de un proceso para generar una serie de preguntas que son pertinentes durante el tiempo de vida de la instalación, así como cuando se introducen cambios al proceso o a los procedimientos de operación. Consiste en definir tendencias, formular preguntas, desarrollar respuestas y evaluarlas, incluyendo la más amplia gama de consecuencias posibles. El método utiliza información específica del proceso, como diagramas, para generar preguntas en una lista de verificación. Un equipo de expertos elabora dicha lista empleando la pregunta ¿Qué pasa si?, las cuales son contestadas colectivamente y resumidas en forma de tablas. El propósito del método consiste en: I) identificar las condiciones y situaciones peligrosas que puedan resultar de barreras y controles inadecuados, II) reconocer aquellos eventos que pudieran provocar accidentes mayores y III) efectuar las recomendaciones pertinentes para reducir el riesgo de la instalación, así como mejorar la operación de la misma.

Para desarrollar la evaluación de seguridad se tomó como referencia la información disponible en artículos científicos y patentes, la documentación que describe los procedimientos de operación de las instalaciones y el análisis de la seguridad de cada paso de estos. La evalua-

ción de riesgo comprendió tres etapas: I) identificación de peligros, II) estimación cualitativa de riesgos asociados a cada peligro y III) valoración cualitativa del riesgo.

En paralelo se usó un método²⁹ basado en un “árbol de decisiones” que permite clasificar los laboratorios en clases de acuerdo a niveles de peligrosidad, en correspondencia con enfoques análogos aplicados en los laboratorios con riesgos biológicos, químicos o radiactivos. El siguiente paso de este método consiste en adoptar una lista de medidas de prevención/protección (barreras de seguridad) acorde a cada nivel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En un primer paso se aplicó el método ¿Qué pasa si? al proceso DAS y se identificaron los peligros presentes (Tabla 1). Cada peligro fue registrado con un código para facilitar el análisis posterior acorde a su naturaleza (carácter laboral común o específico al trabajo con nanopartículas) y conforme a la etapa concreta del proceso.

La estimación del riesgo se realizó sobre la base del criterio de siete expertos, valorando la probabilidad de ocurrencia y la magnitud de las consecuencias de los distintos eventos, considerando que están implementadas todas las medidas de seguridad, tanto organizativas, como tecnológicas previstas en el proceso.

A partir del análisis previo se seleccionaron los peligros de importancia significativa. Para la estimación del riesgo se construyó una matriz probabilidad/consecuencia, donde se reflejó el riesgo asociado a cada uno de los eventos analizados y se le clasificó en las categorías de alto, medio y bajo riesgo (Tabla 2). La probabilidad de ocurrencia de un incidente (contaminación y exposición) fue evaluada con un valor medio, con una fuerte dependencia del factor humano y en especial de la capacitación del personal. De todos los escenarios identificados, los mayores riesgos correspondieron al derrame de líquido con NPC en el paso de obtención de CNO por decantación y al derrame de líquido con NPC en el transporte a los laboratorios de caracterización. La inhalación y el contacto con la piel fueron identificadas como las rutas de exposición más importantes.

Paralelamente se aplicó el método de “árbol de decisiones” a partir de su algoritmo básico. Sobre la base de la elevada productividad del método DAS que llega a alcanzar una 120 mg/min de NPC en forma de suspensiones acuosas posteriormente llevadas a nanopolvos factibles de generar aerosoles se llegó a la conclusión de clasificar el laboratorio de síntesis de NPC por el método DAS en clase tres por su nivel de peligrosidad.

Tabla 1. Identificación de peligros de importancia significativa a partir del análisis de operaciones durante los procesos de síntesis y purificación.

No.	¿Qué pasa si?	Causa	Consecuencias	Medidas de Seguridad	Observaciones
1	No uso del VAL	NE	I de CO, H ₂ y NPC + PP	CP + LC	Reforzar medidas organizativas
2	No se baja tapa de CQ al inicio experimento.	NE	I de CO, H ₂ y NPC,	CP + EF	Automatizar sistema para bloquear funcionamiento.
3	No se conecta la ECQ	NE, DT	I de CO, H ₂ y NPC.	CP + LC + EF	Automatizar sistema para bloquear funcionamiento
4	No se chequea estado de conexión de la electrónica y la electricidad.	NE, DT	Descarga eléctrica a personal. DL con NPC.	CP + LC + EF	Reforzar medidas organizativas.
5	No se mantiene los rangos de temperaturas y nivel de agua adecuados o la refrigeración.	NE, DT	Hierve el agua, contaminación de instalación. I + PP	CP + LC + EF	Automatizar control para bloquear funcionamiento
6	Desconexión prematura de ECQ y apertura CQ	NE, DT	I de CO, H ₂ y NPC. PP	CP + EF	Automatizar sistema para bloquear funcionamiento en ausencia ECQ
7	En el proceso de decantación no se espera el enfriamiento del recipiente.	CEA	Quemadura, derrame y dispersión de NPC	CP + EF	Potencial accidente laboral. Botiquín primeros auxilios.
8	DL con CNP en proceso de separación	CEA	Contaminación superficies. I + PP	CP + EF	Listos medios de descontaminación.
9	No se realiza limpieza del local al concluir los trabajos.	NE, CEA	Transporte contaminación con CNP hacia otras áreas. I + PP	LC	Reforzar medidas organizativas
10	No cambiarse el VAL al terminar los trabajos.	NE, CEA	Llevar la contaminación hacia otras áreas. I + PP	CP + EF	Reforzar medidas organizativas
11	No se descontaminan los recipientes y medios con los que se manipularon las NPC	NE	Contaminación y transporte a otras áreas. I + PP	LC	Reforzar medidas organizativas
12	DL con CNP durante traslado a los laboratorios de caracterización.	CEA	Contaminación de otras áreas y del vestuario. I + PP	Recipientes con tapas LC + EF	Listos medios de descontaminación.

Nota: Abreviaturas: CEA – carencia de entrenamiento apropiado, CP – capacitación del personal, CQ – campana química, CV – contaminación del vestuario, DL – derrame de líquido, DT – desperfecto técnico, ECQ – extracción de la campana química, EF – ensayos en frío (simulacros del experimento sin NPC), I – inhalación, LC – lista de chequeo de operaciones a ejecutar, NE – negligencia, PP – penetración de NPC por la piel, VAL – Vestuario apropiado de laboratorio que incluye los medios de protección.

La aplicación de ambos métodos condujo a resultados semejantes en la determinación de los medios de protección personal y medidas técnicas y organizativas. En el caso de las técnicas se concluyó que: i) la ventilación deberá ser garantizada por un diseño de laboratorio químico con un reciclaje del aire de 5 – 10 veces por hora, filtraje de aire de salida con filtro F7 con mantenimiento periódico, baja presión en el local (> 20mPa) y captura en la fuente. ii) El piso deberá estar recubierto de linóleo o resina. iii) El acceso de trabajo al local deberá estar restringido y existirá un registro de las personas que han

estado presentes en los locales (potencialmente expuestas). iv) Una exclusiva y existencia de ducha de seguridad. v) En caso de usar aspiradoras para la limpieza, deberán ser del tipo empleado para la limpieza de fibras de asbestos.

Los medios de protección personal exigidos consisten en: i) Gafas de protección. ii) Empleo de nasobuco (mascarilla). iii) Uso de bata de mangas largas. iv) Prohibición del uso de calzado abierto. v) Protección de las manos con guantes desechables.

Tabla 2. Matriz Probabilidad/Consecuencia para los peligros de importancia significativa

Consecuencia	Probabilidad		
	Baja	Media	Alta
Baja	No.11 No se descontaminan los recipientes y medios con los que se manipularon las NPC	No.4 No se chequea estado de conexión de la electrónica y la electricidad.	
		No.7 En el proceso de decantación no se espera el enfriamiento del recipiente.	
Media		No.1 No uso del VAL.	
		No.2 No se bajar tapa de CQ al inicio experimento.	
		No.3 No se conecta la ECQ.	
		No.6 Desconexión prematura de ECQ y apertura CQ.	
		No.9 No se realiza limpieza del local al concluir los trabajos.	
		No.10 No cambiarse el VAL al terminar los trabajos.	
Alta		No.8 DL con CNP en proceso de separación.	
		No.12 DL con CNP durante traslado a los laboratorios de caracterización.	

Nota: La numeración de los peligros se corresponde con los eventos identificados en la Tabla 1 y las abreviaturas empleadas son las mismas.

En el aspecto organizativo se deberá definir una persona responsable de la nanoseguridad en el laboratorio, establecer el control de ordenamiento y recepción de materiales con sus puntos de recolección, la restricción de mujeres embarazadas al trabajo con nanomateriales, así como las siguientes medidas: i) Restricción del trabajo con nanopartículas solo al área autorizada. ii) En el tratamiento del material contaminado, se deberá prever recipiente para recepcionar material contaminado, bolsas plásticas para materiales contaminados con espesor mayor a 100 micrones y la disponibilidad de contenedores para su almacenamiento. iii) La eliminación de sustancias con nanopartículas en forma líquida y sólida se realizará con empaquetamiento doble. iv) la evacuación de residuales en los sistemas de tratamiento de residuales domésticos se prohíbe, debiéndose realizar a través de canales de tratamiento especiales. v) El transporte de nanomateriales se deberá hacer con empaquetamientos dobles.

El proceso de limpieza deberá ser realizado por personal del laboratorio empleando medios húmedos exclusivamente y con el empleo de los mismos medios de protección que se determinaron para el trabajo con nanopartículas y bajo la supervisión del responsable del laboratorio.

Finalmente se procedió a implementar las medidas de protección personal, técnicas y organizativas definidas a partir del análisis de riesgo efectuado, en forma de

procedimientos. De manera que el sistema de nanoseguridad a escala de laboratorio del Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear quedó integrado por cuatro procedimientos. El primero de estos es el Procedimiento Técnico General de Nanoseguridad para la Síntesis de Nanopartículas que sirve de marco regulatorio general y otros tres procedimientos de carácter específico: i) Procedimiento Técnico de seguridad para la síntesis de nanoestructuras de carbono por el método DAS, ii) Procedimiento Técnico de descontaminación y limpieza de locales donde se trabaje con nanopartículas y iii) Procedimiento Técnico de nanoseguridad para el tratamiento de los desechos de nanopartículas.

Los procedimientos mencionados deberán estar sometidos a una revisión periódica para poder incorporar las experiencias acumuladas y la nueva información descrita en la literatura científica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Maynard A.D. Nanotechnology: assessing the risk. *Nanotoday* 2006; 1, 2, pp. 22 – 3.
2. Strategic Research Agenda. European Technology Platform Industrial Safety. 2011, Disponible en www.industrialsafety-tp.org.
3. The Royal Society and Royal Academy of Engineering. *Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties*. 2004, Disponible en www.nanotec.org.uk/finalReport.htm,

4. Aitken RJ, Hankin SM, Ross B, Tran CL, Stone V, Fernández TF, Donaldson K, Duffin R, Chaudhry Q, Wilkins TA, Wilkins SA, Levy LS, Rocks SA, Maynard A. EMERGNANO: A review of completed and near completed environment health and safety research on nanomaterials and nanotechnology. Institute of Occupational Medicine (IOM). March 2009. Report TM/09/01.
5. Warheit DB, Donner EM. Rationale of genotoxicity testing of nanomaterials: regulatory requirements and appropriateness of available OECD test guidelines. *Nanotoxicology*. 2010; 4, 409 -13.
6. Andorno R. The precautionary principle: A new legal standard for a Technological Age. *J. Int. Biotechnol. Law* 2004, 1, 11 – 19.
7. Kroto HW, Heath JR, O'Brien SC, Curl RF, Smalley RE. C₆₀: Buckminsterfullerene. *Nature* 1985; 318, 162 – 3.
8. Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 1991; 354, 56 – 8.
9. Iijima S, Ichihashi T. Single – shell carbon nanotubes of 1 – nm diameter. *Nature*, 1993; 363, 603 – 5.
10. Ugarte D. Onion – like graphitic particles. *Carbon*, 1993; 33, 7, 989–93.
11. Iijima S, Yudasaka M, Yamada R, Bandow S, Suenaga K, Kokai F, Takahashi K. Nano – aggregates of single – walled graphitic carbon nano – horn. *Chemical Physics Letters*, 1999; 309, 165 – 170.
12. Khare R, Bose S. Carbon Nanotube Based Composites - A Review. *Journal of Minerals & Materials Characterization & Engineering* 2005; 4, 1, 31-46.
13. Kohli P, Martin CR. Smart Nanotubes for Biotechnology. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2005, 6, 35-47.
14. Wei W, Sethuraman A, Jin C, Monteiro-Riviere NA, Narayan RJ. Biological Properties of Carbon Nanotubes. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 2007; 7, 1–14.
15. Bal S, Samal SS. Carbon nanotube reinforced polymer composites—A state of the art. *Bull. Mater. Sci.*, 2007; 30, 4, 379 – 86.
16. Xu B. Prospects and research progress in nano onion-like fullerenes. *New Carbon Materials* 2008; 23, 4, 289 – 301.
17. Sharon M, Sharon M. Carbon Nanomaterials: Applications in Physico-chemical Systems and Biosystems. *Defence Science Journal*, 2008; 58, 4, 460-85.
18. Hussain MA, Kabir MA, Sood AK. On the cytotoxicity of carbon nanotubes. *Current Science*, 2009; 96, 5.
19. Grabinski C, Hussain S, Lafdi K, Braydich-Stolle L, Schlager J. Effect of particle dimension on biocompatibility of carbon nanomaterials. *Carbon* 2007; 45, 2828 – 2835.
20. Ding L, Stilwell J, Zhang T, Elboudwarej O, Jiang H, Selegue JP, Cooke PA, Gray JW, Chen FF. Molecular Characterization of the Cytotoxic Mechanism of Multiwall Carbon Nanotubes and Nano-Onions on Human Skin Fibroblast. *Nano Letters* 2005; 5, 12, 2448 -68.
21. Endo M, Lijima S, Dresselhdhaus MS. *Carbon Nanotubes*. Pergamon. Oxford First Edition. Elsevier Science Limited: 1996.
22. He C, Zhao N. Production of carbon onions. Chapter 24. *Handbook of Nanophysics 2 Cluster and Fullerenes*, Boca Raton (FL), CRC Press; 2011.
23. Wiesner MR, Lowry GV, Alvarez P, Dionysiou D, Biswas P. Assessing the risk of manufactured nanomaterials. *Environmentals Science & Technology* 2006; July 15: 4336 – 4345
24. Sano N, Wang H, Chhowalla M, Alexandrou I, Amaratunga G. Synthesis of carbon “onions” in water. *Nature* 2001; 414: 506 – 7.
25. Hsin YL, Hwang KC, Chen FR, Kai JJ. Production and in-situ Metal Filling of Carbon Nanotubes in water. *Adv. Mater.* 2001; 13,11:830 – 3.
26. Sano N, Wang H, Alexandrou I, Chhowalla M, Teo K, Amaratunga G. Properties of carbon onions produced by an arc discharge in water. *J. Applied Physics* 2002; 92, 5:2783 – 2788.
27. Normas básicas internacionales de seguridad para la protección radiológica y para la seguridad de las fuentes de radiación. *Colección Seguridad No. 115*. STI/PUB/996. Viena, 1997, p.315.
28. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Part E: Risk characterization. *European Chemicals Agency*, May 2008. Disponible en www.echa.eu.
29. Grosso A, Petri-Fink A, Magrez A, Riediker M, Meyer T. Management of nanomaterials safety in research environment. *Particle and Fibre Toxicology* 2010; 7:40:1-8.