



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

IV. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2021eko ekainaren 9, 10 eta 11a
Gasteiz, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

**Grafeno oxidoak bakarrik eta
adsorbatutako
bentzo(a)pirenoarekin itsas
muskuiluetan eragindako kalteak**

*Nagore Gonzalez Soto, Eider Bilbao
eta Miren P. Cajaraville*

313-320 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iv.05.41>



Grafeno oxidoak bakarrik eta adsorbatutako bentzo(a)pirenoarekin itsas muskuiluetan eragindako kalteak

González-Soto, N., Bilbao, E., Cajaraville, M.P.

*ZBIT ikerketa taldea, Zoologia eta Animalia Zelulen Biologia Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Plentziako Itsas estazioa (PIE-UPV/EHU) Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, Euskal Herria.
nagore.gonzalez@ehu.eus*

Laburpena

Industria eta teknologiaren garapenak ezaugarri bereziak dituzten material berrien sorrera ekarri du; horien artean, grafenoak eta bere eratorriek interes handia piztu dute. Esponentzialki hazten ari den ekoizpenaren ondorioz, grafenoa eta bere eratorriak itsasora iristen ari dira eta, itsas organismoetan eragin ditzaketen kalteen inguruko kezka zabaldu da. Gainera, grafenoak eta eratorriek, azalera-bolumen erlazio handia eta hidrofobikoak izateagatik arrisku gehigarri bat dute: kutsatzaile organiko iraunkorren garraiatzaileak izan daitezke. Gure ikerketaren xedea, grafeno oxidoak, bakarrik zein kutsatzaile organiko iraunkorrek adsorbatuta dituela, muskuiluetan eragindako kalteak aztertzea izan da.

Hitz gakoak: Nanomaterialak, grafenoa, kutsatzaile organikoak, itsasoa, toxikologia

Abstract

The industrial and technological development has resulted in the generation of new materials with special characteristics. Among such materials, graphene and its derivatives have attracted great interest. Due to the exponential increase in production of graphene and its derivatives, they are reaching the marine environment and so there is a widespread concern about the damage they could cause to marine organisms. In addition, graphene and its derivatives pose an additional risk due to their high surface to volume ratio and hydrophobicity: they can act as carriers of persistent organic pollutants. The aim of our research has been to study the damage caused to mussels by the exposure to graphene oxides, alone or with adsorbed persistent organic pollutants.

Keywords: Nanomaterials, graphene, organic pollutants, marine environment, toxicology

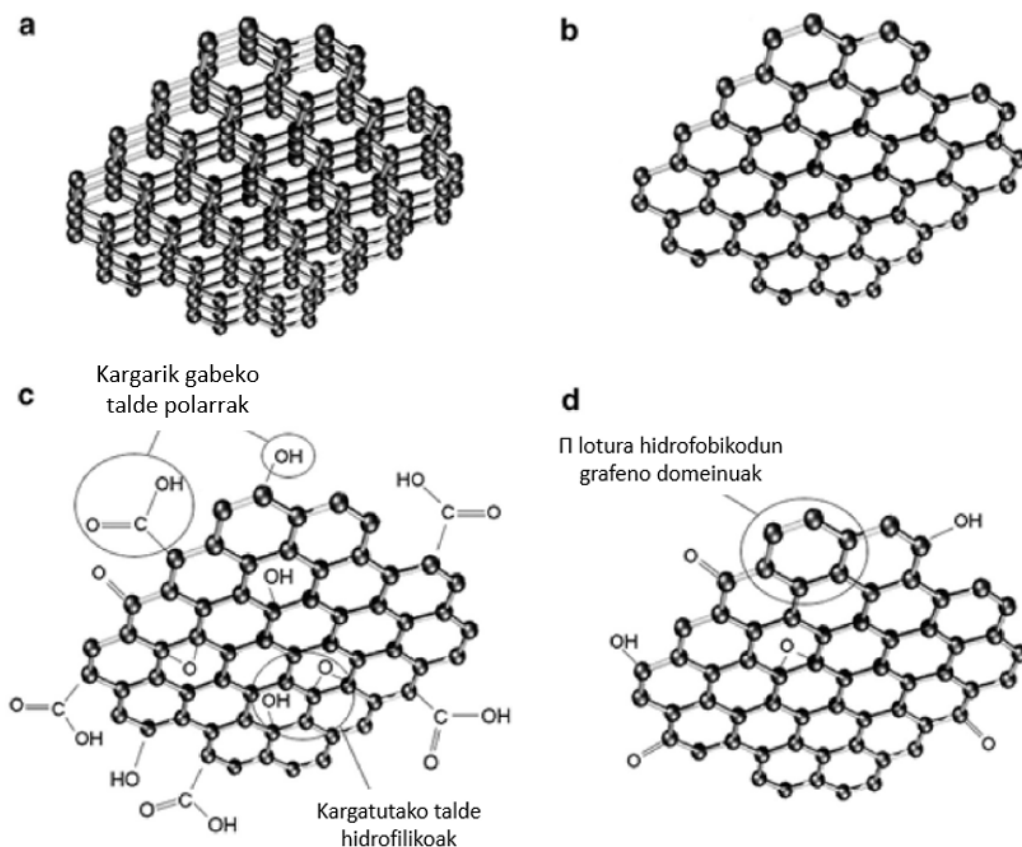
1. Sarrera eta motibazioa

Gizartean etengabe sortzen ari diren beharrianak asetzeko helburuz, etengabeak dira industria eta teknologiaren aurrerapenak; honela, nanoteknologia bezalako teknologia berriak garatu dira. Nanoteknologiak hazkuntza esponentziala izan du azken hamarkadetan, ikerketa eta robotika mailan lantzetik, egunerokotasunean erabiltzen diren produktu desberdin askoren garapena gauzatzeraino ("The nanodatabase", 2021). Definizioz, nanomaterialak dimentsio bat behintzat, nanoeskalan (<100 nm) duten materialak dira (Nel et al., 2006). Definizio orokor honen baitan, nanomaterialak irizpide ezberdinen arabera sailka daitezke: osagai nagusiaren arabera, nano dimentsio kopuruaren arabera, formaren arabera... Oinarri atomikoa kontuan hartuta, nanomaterialak bi talde handitan banatu daitezke: karbonoan oinarritutako nanomaterialak eta oinarri metalikoa daukaten nanomaterialak (Fadeel eta Garcia-Bennett, 2010).

Azken urteotan, karbonoan oinarritutako nanomaterialek ikertzaileon zein industriaren arreta bereganatu dute (Madannejad et al., 2019), batez ere, grafenoaren aurkikuntzaren ostean (2004). Grafenoa atomo bateko lodiera duen karbonoaren alotropo bat da, non karbono atomoek sp^2

lotura kobalenteen bidez sare kristalinoa eratzen duten. Grafeno xaflen luzera oso aldakorra izan daiteke, nanometro eskasetatik, eskala makroskopikoraino (Novoselov et al., 2004). Egitura honek hainbat ezaugarri bereizgarri ematen dizkio grafenoari, hala nola, ezaugarri termikoak, mekanikoak eta optikoak... grafenoa aplikazio ezberdinetan erabiltzea ahalbidetuz, besteak beste, biomedikuntzan, bateria berrien sorkuntzan edo automobilgintzan (Zhang et al., 2016). Grafenoaren oxigeno, hidrogeno eta karbono atomoen arteko proportzioak aldatuz, grafeno oxidoa eta grafeno oxido erreduzitua lor daitezke grafenotik (1. irudia) (De Marchi et al., 2018). Aldaketa hauek errektiboagoak eta biobateragarriagoak egiten dituzte grafeno oxidoa eta grafeno oxido erreduzitua grafenoarekin alderatuta, hurrenez hurren (De Marchi et al., 2018). Nanomaterial hauek material hibridoak eratzeko eta bakterioak hiltzeko erabil daitezke (De Marchi et al., 2018). Horrela, azken urteotan, grafenotik eratorritako nanomaterialen ekoizpena zeharo ari da emendatzen.

1. irudia. Grafenotik eratorritako nanomaterialen adibideak, a) geruza anitzeko grafenoa, b) geruza bakarreko grafenoa, c) grafeno oxidoa, d) grafeno oxido erreduzitua (de Marchi et al., 2018-tik moldatua).



Beste edozein materialekin bezala, grafenoa edo bere eratorriak dauzkaten produktuen ekoizpenak eta erabilpenak nanomaterial hauek ingurumenean sartzea ahalbidetu dezake; besteak beste, ekoizpenean, garraioan zein hondakinen kudeaketan zehar, dela emisio

atmosfera bidez zein ur araztegien bidez (De Marchi et al., 2018). Ur inguruneke organismoak grafenoa eta bere eratorriak sortu dezaketen kutsadurarekiko sentikorak dira; are gehiago material hauen azken geralekuak itsasoa eta ozeanoak izanik. Ondorioz, azken urteotan grafenoa eta bere eratorriak itsas organismoetan eragin ditzaketen kalteen inguruko kezka nabarmenki zabaldu da (Corsi et al., 2014).

2. Arloaren egoera eta ikerketaren helburuak

Gaur egun grafenoa eta bere eratorrien ingurumeneko kontzentrazioa guztiz ezezaguna da. Alde batetik, ez delako garatu nanomaterial hauen ingurumeneko kontzentrazioak neurtzeko behar den teknologiarik eta bestetik, ez delako garatu ingurumeneko kontzentrazioak estimatzeko modelo matematikorik. Ikertzaile batzuk iradoki dutenez, grafenoaren eta bere eratorrien ingurumeneko kontzentrazioak, karbonoan oinarritzen diren beste nanomaterialen tarte berean egotea espero da; antzeko egitura eta pareko aplikazioak dauzkatelako. Horrela, grafenoak eta bere eratorriak ingurune urtarretan duten kontzentrazioa ng/L eta µg/L artean egotea espero da (Sun et al., 2016; De Marchi et al., 2018).

Grafenoa eta bere eratorrien toxizitatea aztertzea helburu duten ikerketa lanetan, zelulen mintzen integritatearen murrizketa eta estres oxidatiboa, genotoxizitatea, hantura zein osasun maila orokorraren murrizketa behatu dira (Madannejard et al., 2019). Bilaketa bibliografikoa ingurune urtarretako organismoetara mugatzen bada, grafenoaren eta bere eratorrien inguruko informazioa oraindik eskasa da. Izan ere, informazio gehiena ur gezatako animalia ereduetan oinarritzen baita; *Danio rerio* zebra arrainean eta *Daphnia magna* krustazeoan, nagusiki (De Marchi et al., 2018). Honek asko zailtzen du itsasoan aurkitu beharreko ingurumen kontzentrazio atalaskak ezartzea; izan ere, nanomaterialek portaera ezberdina dute ur gezetan eta ur gazitan eta ondorioz baita toxizitate ezberdina ere. Gainera, maila trofiko ezberdinetan kokatuta dauden organismoetan neurtu den toxizitatea ezberdina izan da, mikroalga, bibalbioak edo/ta poliketok aztertu direnean (De Marchi et al., 2018; 2019).

Gainera, itsas ingurunean kutsatzaileak ez dira bakarka agertzen, eta beraz, kutsatzaileen toxizitate bateratua ikertzea ezinbestekoa da ekosistemen osasuna eta jasangarritasuna bermatzeko. Batez ere, grafenoa eta grafenotik eratorritako nanomaterialak bezalako konposatu berriak ingurunera sartu daitezkeelako eta dagoeneko bertan dauden kutsatzaileekin elkarrekintzak sortu ditzaketelako. Grafenoa eta grafenotik eratorritako nanomaterialak bakarka aztertzeak, konposatu hauen toxizitate profila gutxiatea ondoriozta lezake. Izan ere, grafenoak eta grafenotik eratorritako nanomaterialek duten azalera-bolumen erlazio handia eta hidrofobizitatea direla eta, ur inguruneetan dauden hainbat konposatu adsorbatu ditzakete, esate baterako, tindatzaileak (Robati et al., 2016), kutsatzaile organikoak (Wang et al., 2014), metal astunak (Wu et al., 2018) eta farmakoak (Nam et al., 2015). Hori dela eta, grafenoa eta bere eratorriak zenbait kutsatzailearen ezabaketarako proposatu dira; horien artean, petrolio isurketenak (Iqbal & Abdala, 2012). Ezabaketa praktika honen eragozpenetako bat grafenoa eta bere eratorriak ingurumenera modu ez kontrolatuan askatzea izango litzateke, era honetan, adsorbatutako kutsatzaileak itsas organismoentzako eskuragarriagoak bilakatuz. Fenomeno honi, hots, grafeno eta bere eratorriak ingurune urtarretan dauden substantzia toxikoak adsorbatu eta adsortzio horrek kutsatzaileak bioeskuragarriago egiteari “Troikiako Zaldia” fenomeno deritza (Sanchis et al., 2016). Troikiako Zaldia fenomeno hori bereiziki kezkarria da kutsatzaile organiko iraunkorretaz (POP, ingelesetik *persistent organic pollutants*) ari garenean. POPak prozesu kimiko, biologiko eta fotolitiko bitartez nekez degradatzen diren konposatu organikoak dira (Ritter et al., 2007). Laborategi lanetan frogatu denez, grafenoak eta bere eratorriak POPak adsorbatu ditzakete, ur inguruneke POPen dinamikak aldatuz (Wang et al., 2014; Martinez-Alvarez et al., 2021). POPen artean bentzo(a)pireno hidrokarburo aromatikoa poliziklikoa aipagarria da, genotoxikoa, mutagenikoa eta disruptore endokrinoa izateaz gain, estres oxidatiboa eta minbizia sortzeko gai delako eta itsas ingurunean aurki daitezkeelako (Water Framework Directive, 2008).

Testuinguru honetan gure ikerketaren xedea izan da, grafeno oxidoak, bakarrik zein bentzo(a)pireno adsorbatuta duela, *Mytilus galloprovincialis* itsas muskuiluen molekula, zelula, ehun zein organismo mailan eragindako kalteak aztertzea.

3. Ikerketaren muina

Mytilus galloprovincialis muskuiluak Mundakan batu ziren 2019ko otsailean, eta esperimenteria hasi baino lehen, 21 egunez aklimatatu ziren laborategian. Esperimenteria zehar muskuiluak 7 egunez mantendu ziren baldintza estandarretan (kontrola), grafeno oxidoaren pean (GO tratamendua, 500 µg/L), aurrez bentzo(a)pireno adsorbatua zuen grafeno oxidoaren pean (GO+BaP tratamendua, 500 µg/L GO + 100 µg/L bentzo(a)pireno) eta bentzo(a)pirenoaren pean (BaP tratamendua, 96.7 µg/L; kontzentrazioa, GO+BaP tratamenduaren bentzo(a)pireno adsorbatuaren kontzentrazioari dagokio (Martinez-Alvarez et al., 2021)). Talde esperimental bakoitzeko 2 akuario jarri ziren, bakoitza 57 muskuilurekin.

Grafeno oxidoa Graphenean (Donostia) erosi zen. Xaflen luzera 500 nm eta mikra gutxi batzuen artekoa zen, lodiera 2 nm baino txikiagoa zen eta oxigenozko edukia %40 ingurukoa zen (Martinez-Alvarez et al., 2021). Bentzo(a)pirenoa adsorbaturik zeukan grafeno oxidoa hurrengo eran prestatu zen (Martinez-Alvarez et al., 2021): Grafeno oxidoa eta bentzo(a)pireno disoluzioa (100 µg/L) 500 µg: 10 mL proportzioan nahastu ziren. Nahastea 24 orduz iluntasunean mantendu zen orbital batean irabiatzen. Ondoren, 9000 g-tan 30 minutuz zentrifugatu zen. Jalkina, MilliQ uretan bersuspenditu zen, nahastea muskuiluei bota aurretik.

7 egunen buruan, muskuiluetatik hemolinfa erauzi eta muskuiluak disezcionatu ziren tratamendu ezberdinek eragindako kalteak aztertzeko. Muskuiluen hemozitoetan, katalasa entzima antioxidatzailearen jardura eta zelulen bideragarritasuna ikertu ziren, zelula mailako biomarkatzaile moduan. Ehun ezberdinetan itu-entzimen jardura neurtu zen: efektu neurotoxikoen markatzaile gisa muskulu aduktorean Azetilkolinesterasa (AChE); metabolismo aerobikoaren markatzaile gisa, digestio guruineko Isozitrato Deshidrogenasa; digestio guruin eta zakatzetan, bioeraldaketa metabolismoko bigarren faseko Glutation-S-Transferasa (GST); eta Glutation peroxidasa, Superoxido Dismutasa (SOD) eta katalasa entzima antioxidatzaileak. Gainera, digestio guruinaren eta gonadaren azterketa histopatologikoa burutu zen ehun mailako kalteak aztertzeko; eta organismo mailan: sexua, ugalketa zikloaren fasea, indize gonadala eta baldintza-indizea (ingelesezko *condition index*) zehaztu ziren. Akuario bakoitzeko 7-10 muskuilu erabili ziren teknika bakoitzerako.

Bestalde, muskuilu osoak gorde ziren RAMAN espektroskopia eta analisi kimikoen bidez grafeno oxidoa eta bentzo(a)pirenoa ehunetan barneratu eta metatzen diren aztertzeko, hurrenez hurren. Azkenik, muskuiluen gorotzetan grafeno oxidoa aztertu zen RAMAN espektroskopiaren bidez.

3.1. Grafeno oxidoaren barneraketa eta bentzo(a)pirenoaren biometaketa muskuiluetan

RAMAN espektroskopia erabiliz, GO eta GO+BaP tratamenduen pean mantendutako muskuiluetan grafeno oxidoa topatu zen muskuiluen digestio traktuaren argian. Zakatzetan eta gonadan ordea ez. Honek, grafeno oxidoa irentsiz barneratu zela iradokitzen du. Gainera, GO eta GO+BaP tratamenduen pean mantendutako muskuiluen gorotzetan grafeno oxidoa topatu zen, barneratutako grafeno oxidoaren proportzio bat digestio prozesuan zehar kanporatzen dela ondorioztatuz.

Analisi kimikoek GO+BaP eta BaP tratamenduen pean mantendutako muskuiluen ehunetan bentzo(a)pirenoa metatu zela erakutsi zuten, grafeno oxidoa, adsorbatzen dituen konposatuen itsas uretango garraiatzailea izan daitekeela baieztatuz. Hala ere, GO+BaP tratamenduaren pean mantendutako muskuiluek BaP tratamenduaren pean mantendutako muskuiluek baino bentzo(a)pireno gutxiago metatu zuten, seguruen, grafeno oxidoaren proportzio bat gorotzekin

batera kanporatu izanagatik. Horrela, bentzo(a)pirenoa desadsorbatzeko beharrezko denbora, grafeno oxidoak muskuiluen barnean pasatuko denbora baino luzeagoa izango litzateke.

3.2. Hemozitoen bideragarritasuna eta jarduera entzimatiakoak

Zelula mailan, GO+BaP eta BaP tratamenduen pean mantendutako muskuiluen hemozitoen bideragarritasuna murriztu egin zen, baina tratamendu ezberdinen katalasa entzimaren jarduera antzekoa izan zen.

Ehun mailan, muskulu aduktore, digestio guruin edo zakatzetan neurturiko entzimen jarduera ez zen aldatu grafeno oxidoaren eraginaren pean. GO+BaP eta BaP tratamenduen pean mantendutako muskuiluetan ordea, AchE entzimaren eta bioeraldaketaren II. faseko GST entzimaren jarduera inhibitu ziren muskulu aduktorean eta digestio guruinean, hurrenez hurren. Era berean, BaP tratamenduaren pean mantendutako muskuiluen kasuan SOD entzima antioxidatzailearen jardueraren inhibizioa eman zen digestio guruinean eta GO+BaP tratamenduaren pean mantendutako muskuiluetan berriz, katalasaren indukzioa.

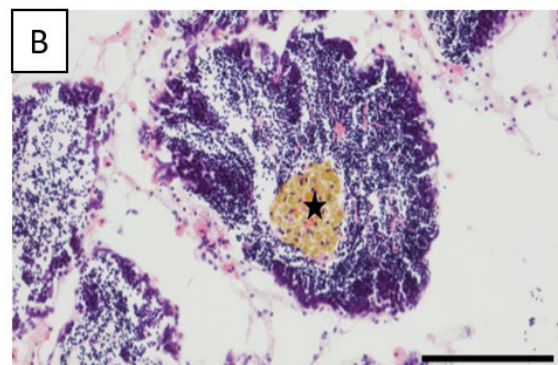
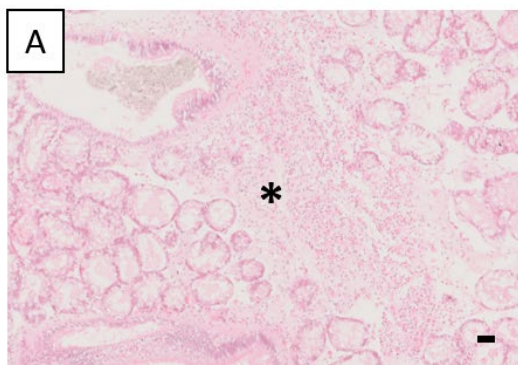
Hortaz, emaitzak osotasunean aztertuta, bentzo(a)pirenoa da aztertutako entzimen jardueretan aldaketa gehien eragin dituen kutsatzailea, GO eta GO+BaP tratamenduekin alderatuta. Gainera, grafeno oxidoari adsorbatutako bentzo(a)pirenoak kalte gehigarriak eragin ditu muskuiluen osasunean grafeno oxidoarekin alderatuta, “Troiako Zaldia” fenomenoaren adierazlea izan daitekeena.

3.3 Digestio guruinaren eta gonadaren azterketa histopatologikoa eta organismo mailako erantzunak

Muskuiluen ehunetako azterketa histopatologikoan, grafeno oxidoak hantura motako erantzuna eragin dezakeela ikusi zen, zelula arreen metaketak nabarmenak izanik.

Digestio guruinaren ehun konektiboan zelula arreen metaketa behatu zen GO, GO+BaP eta BaP tratamenduen pean mantendutako muskuiluetan. GO tratamenduaren pean egondako muskuiluetan gainera, infiltrazio hemozitikoak ageri ziren (2.A. irudia). GO eta GO+BaP tratamenduaren pean mantendutako muskuiluetan, zelula arreen metaketak digestio traktuaren epitelioan ere ageri ziren. Orohar, GO+BaP tratamenduaren pean mantendutako muskuiluen zelula arreen metaketa GO tratamenduaren pean egondako muskuiluena baino handiagoa zen.

2. a) GO tratamenduaren pean mantendutako muskuilu baten digestio guruinaren ebaki histologikoa, hematoxilina & eosinarekin (H&E) tindatuta, infiltrazio hemozitiko duena. b) BaP tratamenduaren pean mantendutako muskuilu ar baten gonadaren ebaki histologikoa, H&Erekin tindatuta, folikulu gonadalaren barnean zelula arreen metaketa duena. Eskala: 100 μ m.



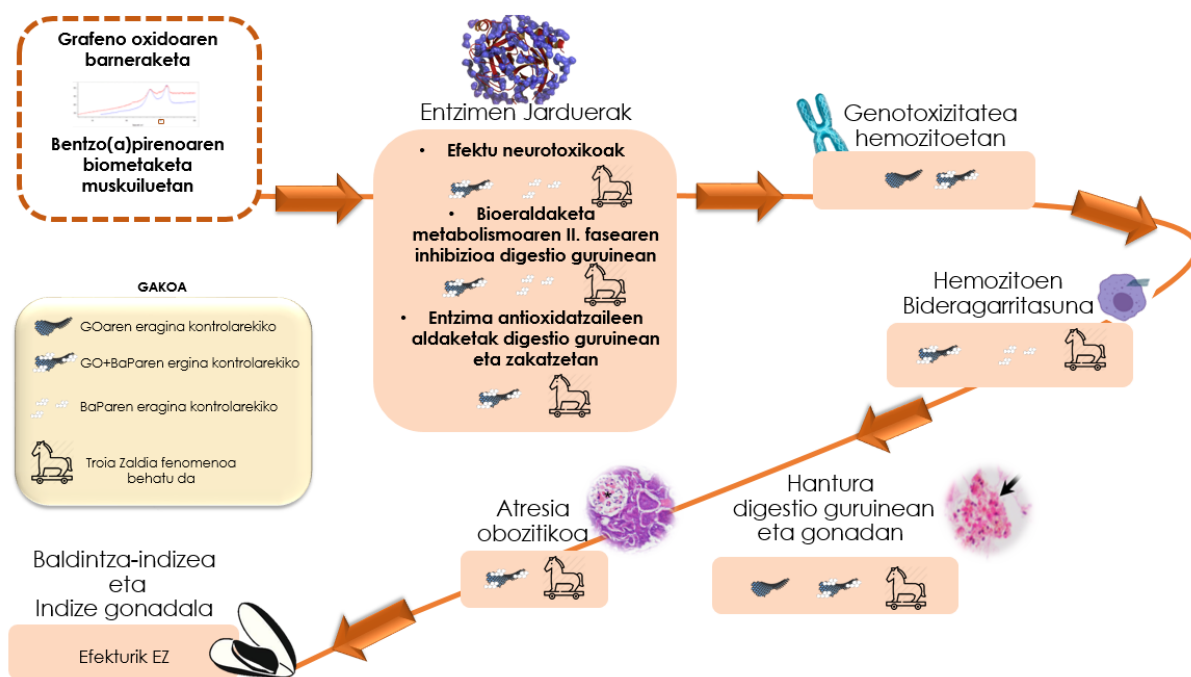
Gonadan, zelula arreen metaketak GO eta BaP tratamenduen pean egondako muskuiluetan behatu ziren soilik (2.B. irudia); fibrosia, berriz, GO tratamenduaren pean egondako muskuiluetan bakarrik. GO+BaP eta BaP tratamenduen pean egondako muskuiluek infiltrazio hemozitikoak erakutsi zituzten gonadaren ehun konektiboan.

GO, GO+BaP eta BaP tratamenduen pean egondako muskuiluek 2 eta 3 graduko atresia obozitikoa erakutsi zuten, GO+BaP tratamenduaren pean egondako muskuiluetan bereiziki handia zena. Honek, grafeno oxidoari adsorbatutako bentzo(a)pirenoak muskuiluen osasunean kalte gehigarriak sor ditzakela adierazten du. Bestalde, ez zen desberdintasunik aurkitu muskuiluen sexuen arteko proportzioa, ugalketa zikloaren fasea, indize gonadala edo/eta baldintza-indizea aztertzean.

4. Ondorioak

Laburbilduz, grafeno oxidoak eta bentzo(a)pireno adsorbatua duen grafeno oxidoak efektu kaltegarriak eragin ditzakete itsas muskuiluen osasunean (3. irudia). Gainera, grafeno oxidoak bentzo(a)pirenoa moduko POPak garraia ditzake adsorbatuta eta ondorioz, eragin ditzakeen zelula eta ehun mailako efektuak areagotu daitezke. Azkenik, nanomaterialek itsas ingurunean duten eragina aztertzeke orduan, “Troiaiko Zaldia” delako fenomeno kontuan hartu beharrekoa dela ondorioztatzen da.

3. GO, GO+BaP eta BaP tratamenduen pean mantendutako muskuiluetan behatutako efektuak laburbiltzen dituen eskema.



5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan asko dago egiteke itsasoan eman daitezken balizko kutsadura egoerak simulatzeko, bereiziki kutsatzaileen kontzentrazio errealak erabiliz. Esperimentu ugari burutu beharko da oraindik tamaina, mota eta forma ezberdineko nanomaterialekin eta izaera anitzeko

kutsatzaileekin, benetako arriskua ezagutu nahi baldin bada. Gainera, konbinaketa horiek hainbat itsas organismoetan izan ditzaketen eraginak frogatzear daude.

Ikerketa hau abiapuntutzat hartuta, grafenotik eratorritako nanomaterialek bakarka zein adsorbatutako kutsatzaileak dituztenek, itsas muskuiluetan zein beraien gameto eta enbrioietan epe luzera izan ditzaketen eraginak argitzea izango da gure lan taldearen hurrengo erronka.

6. Erreferentziak

- Corsi, I., Cherr, G.N., Lenihan, H.S., Labille, J., Hasselov, M., Canesi, L., Dondero, F., Frenzilli, G., Hristozov, D., Puentes, V., Della Torre, C., Pinsino, A., Libralato, G., Marcomini, A., Sabbioni, E., Matranga, V. (2014). Common strategies and technologies for the ecosafety assessment and design of nanomaterials entering the marine environment. *ACS Nano* 8, 9694-9709.
- De Marchi, L., Coppola, F., Soares, A.M.V.M., Pretti, C., Monserrat, J.M., de la Torre, C., Freitas, R. (2019). Engineered nanomaterials: From their properties and applications, to their toxicity towards marine bivalves in a changing environment. *Environmental Research* 178, 108683.
- De Marchi, L., Pretti, C., Gabriel, B., Marques, P.A.A.P., Freitas, R., Neto, V. (2018). An overview of graphene materials: Properties, applications and toxicity on aquatic environments. *Science of the Total Environment* 631–632, 1440–1456
- Fadeel, B., Garcia-Bennett, A.E. (2010). Better safe than sorry: understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 62, 362–374.
- Iqbal M.Z., Abdala A.A. (2012). Oil spill cleanup using graphene. *Environmental Science and Pollution Research* 20, 3271–3279.
- Madannejad, R., Shoaie, N., Jahanpeyma, F., Darvishi, M.H., Azimzadeh, M., Javadi, H. (2019). Toxicity of carbon-based nanomaterials: Reviewing recent reports in medical and biological systems. *Chemico-biological Interactions* 307, 206–222.
- Martinez-Alvarez, I., Le Menach, K., Devier, M.H., Barbarin, I., Tomovska, R., Cajaraville, M.P., Budzinski, H., Orbea A. (2021). Uptake and effects of graphene oxide nanomaterials alone and in combination with polycyclic aromatic hydrocarbons in zebrafish. *Science of The Total Environment* 775, 145669.
- Nam, S.W., Jung, C., Li, H., Yu, M., Flora, J.R.V., Boateng, L.K., Her, N., Zoh, K.D., Yoon, Y. (2015). Adsorption characteristics of diclofenac and sulfamethoxazole to graphene oxide in aqueous solution. *Chemosphere* 136, 20–26.
- Nel, A., Xia, T., Madler, L., Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311, 622–627.
- Novoselov, K. S., Fal, V. I., Colombo, L., Gellert, P. R., Schwab, M. G., Kim, K. (2012). A roadmap for graphene. *Nature* 490, 192-200.
- Ritter, L., Solomon, Kr., Forget, J., Stemeroff, M., O'leary, C. (2007). "Persistent organic pollutants". *United Nations Environment Programme*.
- Robati, D., Mirza, B., Rajabi, M., Moradi, O., Tyagi, I., Agarwal, S., Gupta, V.K. (2016). Removal of hazardous dyes-BR 12 and methyl orange using graphene oxide as an adsorbent from aqueous phase. *Chemical Engineering Journal* 284, 687–697.
- Sanchís, J., Olmos, M., Vincent, P., Farré, M., Barceló, D. (2016). New insights on the influence of organic co-contaminants on the aquatic toxicology of carbon nanomaterials. *Environmental Science & Technology* 50, 961-969.
- Sun, T.Y., Bornhöft, N.A., Hungerbühler, K., Nowack, B. (2016). Dynamic probabilistic modeling of environmental emissions of engineered nanomaterials. *Environmental Science & Technology* 50, 4701–4711.
- The nanodatabase: <http://nanodb.dk/en/search-database/> Retrieved 2021-03-10

- Water Framework Directive, 2008. Environmental Quality Standards Directive (EQSD). 105/EC. http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/priority_substances.htm. 2021-03-10
- Wang, J., Chen, Z., Chen, B. (2014). Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by graphene and graphene oxide nanosheets. *Environmental Science & Technology* 48, 4817–4825.
- Wu, L.K., Wu, H., Zhang, H.-B., Cao, H.-Z., Hou, G.Y., Tang, Y.P., Zheng, G.Q. (2018). Graphene oxide/CuFe₂O₄ foam as an efficient absorbent for arsenic removal from water. *Chemical Engineering Journal* 334, 1808–1819.
- Zhang, J., Terrones, M., Park, C. R., Mukherjee, R., Monthieux, M., Koratkar, N., Kim, Y. S., Hurt, R., Frackowiak, E., Enoki, T., Chen, Y., Chen Y., Bianco, A. (2016). Carbon science in 2016: Status, challenges and perspectives. *Carbon* 98, 708-732.

7. Eskerrak eta oharrak

- Ikerketa hau, Espainiako Gobernuko MINECok (CTM2016-81130-R, NACE) eta Eusko Jaurlaritzak (N. Gonzalez-Sotoren doktoretza aurreko beka eta IT810-13 eta IT1302-19 ikerketa talde finkatuaren bitartez) finantzatu dute.
- Egileok Nagore Blasco, Mireia Irazola eta Radmila Tomovska ikertzaileak eskertu nahi ditugu beraien partehartzeagatik; bereziki, analisi histopatologikoetan, RAMAN espektroskopian eta grafeno oxido horniduran emandako laguntzagatik, hurrenez hurren.